



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION COMPARATIVA DE CUATRO DIFERENTES
TRATAMIENTOS PARA LA ERRADICACION DE
Syphacia muris EN UNA COLONIA CONVENCIONAL
DE RATAS CEPA WISTAR.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
PEDRO PALOMARES PEREZ

ASESORES: M. V. Z. CARLOS VILLAGRAN VELEZ
M. V. Z. MIGUEL ANGEL MARTINEZ CASTILLO
M. V. Z. HECTOR MALAGON RIVERO

MEXICO, D. F.

1993



TEMA CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HIPOTESIS	7
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	11
LITERATURA CITADA	14
CUADROS	17
GRAFICAS	20

RESUMEN

PALOMARES PEREZ PEDRO: Evaluación comparativa de cuatro diferentes tratamientos para la erradicación de Syphacia muris en una colonia convencional de ratas cepa Wistar (bajo la dirección de MVZ Carlos Villaqrán Vélez; MVZ Miquel A. Martínez Castillo y MVZ Héctor Malagón Rivero).

En el presente trabajo se evaluó la eficacia de cuatro diferentes tratamientos contra el oxiuro Syphacia muris, reconocido como uno de los parásitos más comunes de la rata de laboratorio. El bioensayo fué realizado en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma De México; se utilizaron 96 ratas hembras cepa Wistar con un peso entre 300 y 350g mismas que se dividieron aleatoriamente en 6 grupos a las cuales se les suministró: a) Pamoato de Pirvinium, b) Ivermectina por vía oral, c) Ivermectina por vía subcutánea, d) Mebendazol, e) Sin tratamiento y con medidas higiénicas estrictas, f) Sin Tratamiento y con medidas higiénicas normalmente aplicadas en este bioterio. Al analizar los resultados se observó que la eficacia de la Ivermectina por vía oral y la del Mebendazol fueron equivalentes entre sí ($p > 0.05$) pero superiores a los tratamientos con Ivermectina subcutánea y Pamoato de Pirvinium ($p < 0.05$), las que a su vez no mostraron diferencia significativa entre ellas ($p > 0.05$), aunque sí con respecto a los grupos sin tratamiento ($p < 0.05$).

Los hallazgos anteriores permiten concluir, que es posible obtener ratas libres de Syphacia muris aplicando cualquiera de los dos primeros tratamientos reforzándolos con medidas higiénicas estrictas.

INTRODUCCION

Desde tiempos inmemorables (Aristoteles y Erasistratus, 300 años A. C), la investigación ha requerido de distintas especies animales para la experimentación en el campo de las ciencias biomédicas, tanto para el progreso del conocimiento de los procesos fisiológicos vitales, así como para el perfeccionamiento de los métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades, no solo del hombre, sino también de los animales (13, 21).

El uso generalizado de los animales en experimentación biomédica data de principios del siglo XIX, el cual inicialmente estaba limitado a investigaciones fisiológicas sin objetivos terapéuticos inmediatos (13, 21), sin embargo, progresivamente las investigaciones fueron más formales y específicas requiriendo para esto animales de mayor calidad (13).

En la actualidad, la obtención de animales de laboratorio con características microbiológicas y genéticas son cada vez más específicas dentro de las investigaciones, que se han logrado obtener en una gran variedad de razas, cepas y líneas de animales que confieren un incremento indiscutible en la confiabilidad de los estudios emprendidos. Es inobjetable que la medida de que se tenga un mejor control de las variables que inciden en la experimentación, mayor será la certeza del resultado obtenido (2, 13).

Es por, ello que en la actualidad la atención dedicada a los animales de laboratorio constituye una rama de la profesión veterinaria, con un alto potencial de desarrollo, tomando en cuenta que en nuestro país esta actividad no ha sido correctamente explotada (5, 18).

La importancia de los animales de laboratorio en México ha ido en aumento, y en los últimos quince años es cuando han recibido la atención que se merecen (9, 22), al darse cuenta el sector gubernamental de las ventajas que representa el contar con animales de buena calidad, indispensables para la producción y certificación de sus productos biológicos (vacunas básicamente). A finales de la década de los 70's en que el Gobierno federal decretó:

"Todo producto de origen biológico producido en el país, debe ser evaluado también en él" ; ésto demandó el contar con bioterios con capacidad y calidad adecuadas según las necesidades y especificaciones del producto (9).

Por otro lado, aún cuando se han descrito más de 1'200, 000 especies como animales de laboratorio, y sólo 9 de éstas constituyen el 90 % del total utilizado para fines biomédicos, las cuales incluyen al: ratón, rata, cobayo, hamster, conejo, perro, gato, pollo y mono (15). El ratón es la especie animal más utilizada siguiéndole la rata (1, 12, 17). La rata actualmente utilizada en el laboratorio desciende de la rata salvaje noruega, razón por la cual es denominada Rattus norvegicus (13, 25).

A mediados del siglo XVIII, se empezaron a utilizar mutantes albinos ciertos roedores como animales de experimentación en Europa y es aproximadamente al inicio del siglo XIX, cuando se introducen como tal a los Estados Unidos de Norteamérica. En este sentido, correspondió al Instituto Wistar en Filadelfia, E.U.A., desarrollar las primeras cepas de ratas de laboratorio así como el iniciar su distribución mundial (13).

Ahora bien, considerando la importancia de la rata como animal de laboratorio dentro de la investigación biomédica, es de interés hacer notar que las enfermedades constituyen una limitación para la obtención de resultados confiables, y dentro de ellas, las parasitarias son de los principales padecimientos de estos roedores (7, 10, 19).

Respecto a los parásitos, Syphacia muris es el nemátodo más común que afecta a la rata de laboratorio (4, 10, 14), aún cuando la literatura no reconoce a este parásito como problema de salud en la misma (7, 21), puesto que es relativamente inofensivo. La infestación con este parásito, puede alterar el resultado de la investigación, debido a que cambia el comportamiento de la rata y le ocasiona pérdida de peso y en infestaciones más graves, enteritis mucoide, obstrucción intestinal y prolapso rectal (4, 10, 19). Syphacia muris es un parásito perteneciente a la familia oxyuridae que se aloja en el ciego y colon del hospedador. Es un cusano blanco que mide de 2.8 a 4 mm de largo por 100 micras de ancho

; la cola es delgada y puntiaguda, semejante a un alfiler; su huevo es ligeramente aplanado de un lado y mide 72 - 82 micras de largo por 25 - 26 de ancho (7, 10, 13). El ciclo de vida de este parásito tiene una duración de 11 - 25 días. La infestación es posible de tres formas; a) directa por la ingestión de huevos embrionados depositados en la región perianal; b) indirecta, por la ingestión de agua o alimento contaminado con huevos viables; c) retroinfección, cuando el huevecillo ecloca en la región perineal y la larva migra hacia el colon (10, 21, 24). De lo anterior, se concluye que el principal problema causado por esta parasitosis, es el cambio de comportamiento biológico de los animales de laboratorio y su interferencia con la investigación (13, 19). La erradicación es en extremo difícil por la alta resistencia que los huevos ofrecen al ambiente y por su fácil diseminación (4, 10, 13); sin embargo el uso de jaulas de alojamientos dotadas con filtros, reduce notablemente la diseminación aérea de dicha parasitosis.

Para combatir a los oxiurias se ha utilizado piperazina, triclorfón combinado con atropina, pamoato de pirvinium, diclorvos, mebendazol e ivermectinas (2, 3, 10, 14).

Asimismo, se han utilizado diversas soluciones antisépticas como medidas complementarias para aumentar la efectividad de los tratamientos, pero con ninguno de ellos se ha logrado su erradicación, aún cuando la literatura reconoce que la obtención de crías por cesárea, constituye la única técnica efectiva para obtener ratas y ratones libres de

parásitos (10, 13). En forma adicional existen algunos reportes en los cuales se menciona que es posible eliminar a Syphacia muris de colonias de ratas, mediante la administración de ivermectinas por vía oral / o subcutánea (3, 11, 20).

HIPOTESIS

Es posible obtener ratas libres de Syphacia muris a partir de un grupo parásitado, mediante un adecuado tratamiento antihelmíntico y adoptando medidas higiénicas convenientes y estrictas.

OBJETIVO

Evaluar la efectividad de cuatro diferentes tratamientos para la erradicación de Syphacia muris en ratas de laboratorio complementado con medidas higiénicas que se consideren apropiadas.

MATERIAL Y METODOS.

El experimento se realizó en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, cuyas características físicas permiten la reproducción de animales convencionales criados sin barreras. Para esta experiencia se emplearon 96 ratas cepa Wistar, hembras, con un peso de 300 a 350 gramos, las cuales se distribuyeron aleatoriamente en 6 grupos de 16 animales cada uno, mismos que se tuvieron en observación alojadas en forma individual mientras duró el experimento, tiempo en el cual fueron sometidos a exámenes parasitológicos: directo (por la técnica de Graham) y por flotación (según la técnica de Faust (16)) esto con la finalidad de comprobar el grado de parasitosis. Dichos exámenes se efectuaron al inicio del tratamiento, a la mitad del mismo y por último al finalizar el estudio a los 15 días después de la conclusión. A cada grupo se le administró un tratamiento específico y además se sometió a técnicas estrictas de limpieza, incluyéndose el cambio de cama (viruta esterilizada), de caja, tapa y bebedero diariamente. Por otro lado, los grupos fueron objeto de un baño por inmersión con una solución jabonosa* cada 7 días, con la finalidad de destruir huevos que permanezcan adheridos en el cuerpo y ano de los animales (25). *Comunicación personal de MVZ Malagón Rivero H.: Solución constituida por 2% de sulfato de cobre, 1% de carbonato de calcio, 1% de deltametrina, 0.05% de fenol C.b.p. 100 litro

ESQUEMA DE TRATAMIENTOS.

- Gpo. 1 Pamoato de pirvinium: 0. 8 mg/ litro de agua de bebida por 30 días.+ Citrato de piperazina 0. 014grs/ litro de agua.

- Gpo. 2 Ivermectina: 200 microgramos/Kg de peso corporal diariamente por vía oral durante 5 días.

- Gpo. 3 Ivermectina: 200 microgramos/Kg de peso corporal por vía subcutánea y se repite a los 10 días.

- Gpo. 4 Mebendazole: 100 miligramos/Kg de peso corporal por 2 días y repetir a los 7 días; vía oral.

- Gpo. 5 Sin tratamiento y con medidas higiénicas estrictas.

- Gpo. 6 Sin tratamiento y con medidas higiénicas normales del bioterio(cambio de cama, jaula y bebedero cada 3 días sin esterilizar.

Los resultados se analizaron con base en la presencia (parasitados) ó ausencia (no parasitados) de huevos de Syphacia muris, a los cuales se les sometió a una prueba de Ji Cuadrada de Independencia. Además se realizaron las pruebas de homogeneidad de variancias de COCHRAN, el análisis de variancia entre tratamientos y la prueba de Diferencia Mínima significativa Honesta de Tukey (6, 19,23).

RESULTADOS.

Al analizar los datos obtenidos con el número de animales parasitados 15 días después de finalizado el experimento, por medio de una Ji cuadrada, se observó asociación entre los tratamientos aplicados y la tasa de parasitismo ($P < 0.05$); ver cuadro No. 1. Posteriormente, se realizó la prueba de homogeneidad de variancias de Cochran, satisfaciéndose ésta ($p < 0.05$); posteriormente se aplicó el análisis de variancia con el número de animales parasitados en cada uno de los tratamientos a lo largo del experimento, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p < 0.05$) ver cuadro No. 2 y gráfica No.1. Para identificar diferencias entre parejas de tratamiento se realizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa Honesta de Tukey (DMSH); ver cuadro 3, observándose en los tratamientos 2 y 4 el menor número de animales parasitados, seguidos en mayor cantidad por el 1 y 3, y el máximo para el 5 y 6, respectivamente; ver figura 2.

DISCUSION

Los resultados obtenidos durante el experimento muestran que existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (fig. 2). Así, se observó que los tratamientos a base de mebendazol (Tx.4) e ivermectina oral (Tx.2) son los que menor número de animales parasitados permitieron al final del tratamiento (4 y 5 animales parasitados, respectivamente); es necesario mencionar que entre ellos no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Un segundo grupo en cuanto a grado de efectividad fue el tratado con ivermectina subcutánea (Tx. 3) y pamoato de pirvinium (Tx. 1) los cuales mostraron una eficacia mediana (cuestionable 40-50%) al dejar parasitados 8 y 9 animales respectivamente. Al igual que lo antes mencionado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($p > 0.05$). Por otro lado, los grupos de animales identificados como lote 5 y 6 que no fueron sometidos a ningún tratamiento, permitieron encontrar al final 15 y 16 animales parasitados respectivamente no observándose diferencia significativa entre ellos ($p > 0.05$). Al ser comparados estos resultados con los obtenidos por Battles A: H., y Adams S. W. se encontraron diferencias en cuanto al grado de efectividad de las ivermectinas ya que éstos mencionan un porcentaje de efectividad de hasta un 98.9 % ;sin embargo obtiene la efectividad mediante una fórmula que compara el promedio de formas adultas recuperadas del grupo

control contra el promedio de formas adultas del grupo bajo tratamiento (3, 20).

En el presente estudio, aún cuando en la necropsia no fueron encontrados formas adultas en ninguno de los lotes bajo tratamiento, se consideraron positivos a todos los animales en los cuales se encontraron huevos en el lavado gastrointestinal, al cual se le practicó examen parasitológico según la técnica de Faust (16).

Es conveniente mencionar las complicaciones que fueron encontradas durante el experimento. La mayor de ellas consistió en la dificultad para encontrar el diluyente adecuado a utilizar. El diluyente seleccionado fué etilenglicol el cual provocó en el grupo en tratamiento de ivermectina oral problemas de incoordinación y depresión durante 60 a 90 minutos posteriores a su administración. Sin embargo la literatura reporta que la dosis letal 50 en la rata es de 5 - 8 ml-Kg de etilenglicol por vía oral (8), siendo superior a la dosis empleada 1 ml/ Kg de peso corporal.

CONCLUSIONES

1. Es posible obtener ratas libres de en Syphacia muris en bioterios convencionales al ser sometidas a tratamientos específicos siempre y cuando se mantengan bajo medidas estrictas de higiene.

2. No existe diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento con ivermectina por vía oral y el tratamiento con mebendazol.

3. Existe diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento con ivermectina por vía oral y vía subcutánea, siendo mejor la primera.

4. Para ser más confiables estos resultados se recomienda el estudio comparativo de las ivermectinas administradas por estas dos rutas con un número mayor de animales por grupo y con diferentes diluyentes.

5. Estos resultados ameritan volver a compararlos con los obtenidos bajo el tratamiento con mebendazol.

LITERATURA CITADA

- 1.- Arrington L. R., : Introductory Laboratory Science. The breeding, care and management of experimental animals. 2th ed. The interstate Printes and Publisher, Illinois, 1978.
- 2.- Baker J. H., Russell L. J.,: The laboratoriy Rat. II Volume Academic Press, Inc. U. S. A., 1982.
- 3.- Battles A. H., Adams S. W.,: Efficacy of Ivermectin Againts Natural Infection of Syphacia muris in Rats , Lab animal Sci. , 37 (6); 791-792 (1987).
- 4.- Benirchke K., Garner F. M, and Jones T. C.,; Pathology Laboratory Animals. Springer Verlag New York Inc., United States of America, 1978
- 5.- Bieby J.,: Laboratory Animal and its Future importance to the Veterinary Profession. Vet Rec. 90. 204-207 (1972).
- 6.- Conover W. J.,: Practical Non Parametric Statistics. Second. Edition. Texas Tech University. U. S. A. 1980
- 7.- Cristopher R. R., Joseph E. W.,: Experimental Transmission of Syphacia muris Rats, Mice, Hámster and Gerbil. Lab. Animal Sci., 2(4), (1980).
- 8.- Couto Jurado R.,: Toxicologia Veterinaria. 2ª ED. Salvat Barcelona. España, 1989.
- 9.- Domínguez J. A.,: Laboratory Animals Science in México. A.C.L.A.M., 14 (1984)
- 10.- Flynn R. J.,: Parasites of Laboratory Animals. State University Press., Iowa, 1973.

- 11.- Flynn B. M., Brown P. A.,: A Method to Eliminate Syphacia Obvelata Infestación in Mice Prior to Their Introduction into a Pinworm Free Colony. Lab Animal Sci. 37.(4): 526. 1987.
- 12.- Foster H. L., : History of Comercial Production of Laboratory Rodents. Lab Animal Sci., 30 (4); 793-798 (1980)
- 13.- Fox J. G and Loew F. W.,: Laboratory Animals Medicine. A. C. L. A. M. Academic Press Inc. United States of America, 1984.
- 14.- Harkness J.E. and Wagner E.,: The biology and Medicine of Rabbit and Rodents. Lea and Fabiger. Philadelphia, 1984.
- 15.- Howar Jones.,: El Código Etico del C. O. I. C. M. sobre los experimentos con los animales. Crónica de la O.M.S., 39: 55 - 60. (1985).
- 16.- Laboratorio Central Veterinario.: Manual de Técnica Parasitológica Veterinaria., Weybridge (Gran Bretaña) Ed. Acribia: España, 1973.
- 17.- Martínez Castillo M. A.: Manual para el Cuidado y Utilización de los Animales de Laboratorio: Ratas, Ratones y Conejos: Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia., Universidad Nacional Autonoma de México. México, 1984.
- 18.- M. D. en Español: Los Derechos de los Animales, Moralidad o Conveniencia, M. D. en Español; México, 1982.

- 19.- National Research Council,: Academic Guide to Infectious Diseases of Mice and Rats. National Academic Press. Washington, 1991.
- 20.- Ostlin D. A. Nartowicz and Mickle.: Efficacy of ivermectin against Syphacia obvelata (nematoda) in mice. Journal Helminth. 59: 257- 561. (1985)
- 21.- Scoot Kellog H., and Wagner J. E.: Experimental Transmission of Syphacia obvelata among Mice, Rats, Hamster and Gerbil. Lab Animal Sci., 32: 500-501 (1982).
- 22.- Reglamento para el Trato de los animales utilizados en la Investigación y Enseñanza dentro de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1988.
- 23.- Steel G .D., Torrie H. J.: Principles and Procedures of Statistics. Second Ed. Mc Graw-Hill Book. U. S. A. 1980.
- 24.- Taffs L. F.: Pinworm Infections in laboratory rodents a review. Laboratory Animals., 10; 1-13 (1976).
- 25.- The UFAW Hand Book on the care and Manegement of Laboratory Animals. 6 th Churchill, Livinstone, 1987.

Cuadro No. 1	Total de ratas parasitadas, 15 días después de aplicado el tratamiento contra <i>Syphacia muris</i> .		
	TRATAMIENTO	PARASITADOS	NO PARASITADOS
Pamoato de pirvinium	8	8	16
Ivermectina oral	5	11	16
Ivermectina subcutanea	9	7	16
Mebendazol	4	12	16
Sin tratamiento c / h	15	1	16
Sin tratamiento s / h	16	0	16
TOTAL	57	39	96

Notas : c / h : Con medidas estrictas de higiene.

s / h : Sin medidas estrictas de higiene (manejo normal).

Resultados de la prueba de Ji cuadrada para el número de animales parasitados con respecto al tratamiento : $X^2 = 32.518$, g.l = 5

P = 4.242E-6 : (P < 0.05).

Cuadro No. 2	Total de ratas parasitadas durante las tres fases experimentales ensajadas y resultados del analisis de varianza.		
	TRATAMIENTO	FASE No. 1	FASE No. 3
Pamoato de pirvinium	16	9	8
Ivermectina oral	16	5	5
Ivermectina subcutanea	16	7	9
Mebendazol	16	6	4
Sin tratamiento c / h	16	15	15
Sin tratamiento s / h	16	16	16

Notas : c / h : Con medidas estrictas de higiene.

s / h : Sin medidas estrictas de higiene (manejo normal).

Fase No. 1 : Al inicio del experimento.

Fase No. 3 : Al final del experimento.

Fase No. 4 : 15 dias despues del experimento.

Resultados de la prueba de Analisis de varianza para el numero de animales parasitados en cada fase experimental.

F = 78.738 (P < 0.05).

Cuadro No. 3	Resultados de la prueba de diferencia mínima significativa honesta de Tukey (D.M.S.H.).				
	TRATAMIENTO (MEDIA)	1	2	3	4
2	2.67 **	---	---	---	---
3	8.67 N.S	2.80 *	---	---	---
4	3.33 **	8.66 N.S	2.66 **	---	---
5	6.67 **	9.34 **	7.34 **	10.00 **	---
6	8.00 **	10.67 **	8.67 **	11.33 **	1.33 N.S

Notas : * : $P < 0.05$.

** : $P < 0.01$.

Valor crítico del estadístico de prueba, $q_{3, 05} (6, 12) = 3.41$

Valor crítico del estadístico de prueba, $q_{3, 01} (6, 12) = 4.767$

N.S : No significativo.

(1) : Pamoato de pirvinium, (2) : Ivermectina oral,

(3) : Ivermectina subcutanea, (4) : Mebendazol,

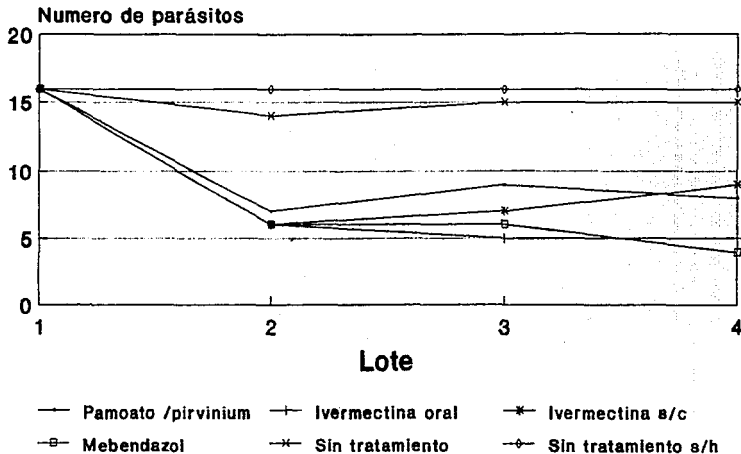
(5) : Sin tratamiento con higiene estricta.

(6) : Sin tratamiento con manejo normal.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Variación en número de animales desparasitados durante el experimento

20



Grafica # 1

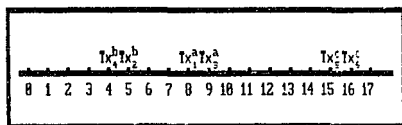


Figura No. 2 Número de animales parasitados con *Syphacia muris* durante el periodo experimental.

Notas: Tx_1 : Pamoato de pirvinium.

Tx_2 : Ivermectina oral.

Tx_3 : Ivermectina subcutanea.

Tx_4 : Mebendazol.

Tx_5 : Sin tratamiento con higiene estricta.

Tx_6 : Sin tratamiento con manejo normal.

a, b, c: Literales iguales indican que no hay diferencia estadisticamente significativa ($P > 0.05$).