

“Vigencia de los Postulados de Koch en la reproducción de *Trichinella spiralis* en modelo experimental”

Rosa Gabriela Reveles Hernández¹, Claudia Maldonado Tapia¹,
Isabel Chávez Ruvalcaba¹, José Jesús Muñoz Escobedo², María
Alejandra Moreno García¹.

1.-Unidad Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Zacatecas.

2.-Unidad Académica de Odontología. UAZ. Cuerpo Académico de Biología Celular y Microbiología- C.103. Universidad Autónoma de Zacatecas. México.

E. mail: amoreno_29@hotmail.com

Resumen.

En el laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Universidad Autónoma de Zacatecas, se trabajó con modelos animales en la experimentación, como son rata, raton, cerdo, conejo, perro, gato, hámster. Los cuales nos permiten completar el ciclo biológico del parásito *Trichinella spiralis in vivo*” (Postulados de Koch), para así lograr comprender la adaptación al hospedero en condiciones específicas y controladas dentro del bioterio.

Se revisara los aspectos históricos con relación al manejo de animales en la investigación; así como el manejo de estos en el laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

El anexo lo vamos a abordar el aspecto histórico de los animales en la experimentación, continuar con las características de los animales y terminamos con la metodología de reproducción de *Trichinella spiralis* en los diferentes modelos experimentales.

Palabras Claves: Postulados de Koch, Modelo Experimental, *Trichinella spiralis*.

Aspectos Históricos.

Generalidades:

La convivencia entre las especies humanas y otras especies animales ha adoptado diversas formas. La caza, la domesticación, la crianza controlada, la utilización como alimento, son algunos.

La muerte sacrificial para aplacar divinidades, la reverencia ritual a ciertos animales (el buey Apis, el cocodrilo, el Anubis, el toro, el halcón, el águila) y sus derivados totémicos indican una identificación con fuerzas y poderes que engloban por igual a hombres y otros seres vivos. La caza, la pesca, las corridas de toros, las peleas de los gallos o de perros atestiguan una dominación en parte lúdica, en parte agresiva y violenta.

El uso de seres vivos con el fin de adquirir conocimiento data de épocas lejanas. En la antigüedad se practicaba la vivisección no solo en animales, también en seres humanos. Los reyes de Persia les permitían a sus médicos experimentar con hombres condenados a muerte. En la edad media se adquirieron muchos conocimientos gracias al trabajo con animales. Durante los siglos XVI, XVII, y XVIII, hombres de ciencia como Graff, Harvey, Malpighi, Aselli y Haller, estudiaron aspectos de Fisiología e Histología por medio de la experimentación animal. (1, 2,5).

No se conocía la anestesia y se justificó el sufrimiento, provocado por el hecho de adquirir conocimiento y además se pensaba que los animales no sentían, puesto que no tenían alma (Santo Tomas de Aquino). Luego Descartes, preconiza que los animales presentaban respuestas a estímulos dolorosos de manera refleja y que eran autómatas que no sentían ni pensaban de forma racional y consciente.

Aparecen grupos de pensamiento a favor y en contra de la experimentación con animales, y se recuerda los avances logrados por Pasteur, Lister, Koch, Salk, entre otros. (1,2, 4,5).

En 1959 Russel y Burch, publican su libro: "The Principles of Human Experimental Technique", lanzando el principio de las "3R" de la técnica humanitaria, vigentes aun, Reemplazar, Reducir y Refinar. Estos conceptos se han vuelto clásicos en la literatura sobre animales de experimentación, de lectura y aplicación obligatoria en el diseño del modelo experimental a utilizarse. Se acumularon un grupo de hechos en el siglo pasado que polarizaron el pensamiento humanista de muchas personas quienes

conmovidas por estos sucesos se reunieron y modificaron su proyección moral (4,5).

Algunos de estos hechos fueron.

1. Experimentación en humanos en Alemania, Japón, Estados Unidos y otros países, antes y durante la segunda Guerra Mundial.
2. La explosión atómica y experimentos subsiguientes.
3. Códigos Internacionales de Ética: Nuremberg, Helsinki, Deberes del médico, Deberes de la enfermera, Derecho y deberes del paciente, Juramento ético-profesional del médico y la enfermera, etc.
4. La guerra química y biológica.
5. La Revolución Científico Técnica.
6. La prolongación artificial de la vida.
7. Los trasplantes de órganos.
8. El caso de Karen Ann Quilan mantenida en vida vegetativa por años.
9. Los casos de los Baby Jane Doc, niños nacidos con Síndrome de Down y otras malformaciones.
10. La utilización de sustancias radioactivas en niños con problemas mentales en escuelas de Estados Unidos.
11. El gran proyecto de manipulación del genoma humano.
12. La contaminación y el peligro de destrucción del medio ambiente, entre otros. De hechos la investigación con estos, es muchos casos una obligación. Según el Código de Nuremberg, preparado después de la Segunda Guerra Mundial como resultado de las atrocidades cometidas por los nazis, cualquier experimento hecho en humanos, debe ser diseñado y basado en el resultado de investigación animal. Los nazis había declarado como delito a los experimentos con animales pero permitían la investigación con judíos y personas asociales. La Declaración de Helsinki, adoptada en 1964 por la XIII Asamblea

Médica Mundial y revisada en 1975, también cita que la investigación médica en sujetos humanos "debe ser basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experimentación con animales (6, 7, 8, 9,10).

Es crucial distinguir entre los derechos de los animales y su bienestar de estos tanto como su salud. Los animales de laboratorio deben ser utilizados como reactivos biológicos y ecológicos en beneficio de la Ciencia y la Salud Pública (7).

El ratón y rata como animal de laboratorio

Se sabe que los hombres han tenido curiosidad por investigar los ratones y sus variantes de color desde antes de la era cristiana. Por ejemplo, existen escritos de origen chino, de tres mil años de antigüedad, que mencionan la existencia de ratones manchados. Este interés se expandió más tarde desde Japón hacia Europa, donde se publicaron datos sobre la herencia del color del pelaje del ratón ya en el siglo XVIII. Después del hombre, el ratón es sin duda el mamífero más conocido, debido a que sobre esta especie se han realizado la mayor parte de las experiencias *in vivo* de la biología y la medicina. Haciendo a un lado la investigación en neurobiología, la cirugía experimental y la nutrición, para las cuales se elige animales más grandes, el ratón es el animal de laboratorio del cual nos servimos para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a una agresión, a una intoxicación o a una infección experimental. Formalmente, el primer uso del ratón como animal de experimentación data del año 1664, cuando Robert Hook los usó para estudiar las propiedades del aire. De la misma manera, el ratón ha sido el animal de experimentación elegido por los genetistas a principios de siglo XX (3,4).

Los primeros experimentos fueron realizados por Lucien Cuénot y William E. Castle (primera década de 1900) sobre la herencia del color del pelaje, y sirvieron para confirmar que las leyes de Mendel podían ser aplicadas también a los mamíferos.

La rata, después del ratón, es el animal de experimentación más utilizado en investigaciones biomédicas, especialmente en fisiología, toxicología, farmacología, comportamiento, inmunología y oncología. Esto se ve apoyado por el hecho de que algunas líneas y cepas de rata de laboratorio presentan una susceptibilidad específica para ciertas enfermedades complejas como la obesidad o el cáncer. Su mayor tamaño permite realizar ciertos protocolos que son muy difíciles de llevar a cabo en el ratón. Por ejemplo, con el

desarrollo de las técnicas de microcirugía, y desde la existencia de líneas definidas (con un detallado conocimiento de sus parámetros inmunológicos), la rata de laboratorio se ha convertido, por lejos, en la especie más importante como modelo en transplantes de órganos (5).

Hasta la década de 1980, el uso de la rata en estudios genéticos se vio empobrecido por el poco desarrollo de su mapa genético y la baja disponibilidad de líneas genéticamente definidas. En los últimos años, esto ha cambiado mucho gracias al desarrollo de mapas detallados y a la decisión de llevar a cabo la secuenciación completa del genoma de la rata. Esta decisión está basada en el hecho de que la rata y el ratón han tenido, históricamente, un papel muy diferente en las investigaciones. Mientras que el ratón fue el animal donde se estudiaron la mayoría de las enfermedades monogénicas, la rata, debido a su historia como modelo para la fisiología, es un modelo más apto para la evaluación de fenotipos cuantitativos y enfermedades complejas. Es así que, en la actualidad, la rata está siendo utilizada cada vez más en genética experimental; en particular, es el modelo preferido para el estudio de varias enfermedades de genética compleja, como lo son la hipertensión, la diabetes, las enfermedades renales, las enfermedades autoinmunes y los desórdenes del comportamiento (4,5).

El animal de laboratorio es una de las piezas fundamentales en las ciencias biomédicas. Son usados como modelos para investigar y comprender las causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan al humano y a los animales, y en el desarrollo, producción y control de medicamentos, alimentos y otros insumos.

Por esta razón se requiere la producción de animales “estandarizados o definidos” con características genéticas y sanitarias definidas, criados en ambientes controlados que respeten los requerimientos de la especie, con el correcto cumplimiento de los principios éticos y de bienestar animal (5).

Los roedores constituyen el 95 % de los animales utilizados en experimentación, fundamentalmente ratones y ratas. Las líneas consanguíneas (líneas endogámicas, cepas endocriadas o inbred strain) son los animales genéticamente estandarizados. Existen más de 478 cepas consanguíneas de ratón y 234 de rata de laboratorio. Dentro de éstas, las hay de usos generales o especiales, como los modelos para enfermedades autoinmunes, endócrinas y tumorales (5).

Características de las Cepas de Animales de Experimentación.

Cepa de rata Long Evans. Cepa exogámica de ratas desarrollada en 1915 por cruzamiento de diversas hembras blancas del Instituto Wistar con un macho gris salvaje. De esta cepa exogámica original se derivaron cepas endogámicas, incluyendo las ratas canela Long Evans (ratas Endogámicas LEC) y las ratas Otsuka-Long Evans-Tokushima Fatty (ratas Endogámicas OLETF), las que sirven para modelos de enfermedades de Wilson y para la diabetes mellitus no insulino dependiente, respectivamente.

Cepa de rata Sprague Dawley. La rata Sprague Dawley es de usos múltiples, utilizada ampliamente en la investigación médica. Su principal ventaja es su tranquilidad y facilidad de manejo. Esta cepa de rata fue la primera producida por las Granjas Sprague Dawley (más tarde para convertirse en Compañía de Animales Sprague Dawley) en Madison, Wisconsin. Las instalaciones de cría se adquirieron por primera vez por Gibco y luego por Harlan (ahora Harlan Sprague Dawley) en enero de 1980. El tamaño promedio de la camada de la rata Sprague Dawley es de 10,5. El peso corporal de adultos es de 250-300g para las hembras, y 450-520g para los machos. La vida útil típica es 2,5-3,5 años. Estas ratas suelen tener mayor relación de cola para la longitud del cuerpo en comparación con ratas Wistar.

Cepa de ratón BALB/c Es un ratón albino de laboratorio criado a partir del ratón casero de donde se derivan una serie de subcepas. Actualmente, más de 200 generaciones desde su origen en Nueva York en 1920 se distribuyen a nivel mundial, y entre las cepas más utilizadas endocriadas en la experimentación animal.

Ratones BALB/c son útiles para la investigación en cáncer e inmunología. Las subcepas BALB/c son "especialmente conocida por la producción de plasmocitomas por inyección de aceite mineral," un proceso importante para la producción de anticuerpos monoclonales. También se ha reportado que tienen una "baja incidencia de tumor mamario, pero desarrollan otros tipos de cáncer en edad adulta, con mayor frecuencia neoplasias reticular, tumores de pulmón y tumores renales. La mayoría de subcepas tienen una "larga vida útil reproductiva", se caracterizan por mostrar altos niveles de ansiedad y por ser relativamente resistentes a la arterosclerosis inducida por dieta, haciendo de ellos un modelo útil para la investigación cardiovascular (4).

Cepa de conejo New Zealand (Nueva Zelanda) son una raza de conejo, que a pesar del nombre, son estadounidenses de origen. En 1916, W.S. Preshaw crió en la primera camada de conejos Nueva Zelanda con un plan para producir un conejo que sería excelente para la carne y el comercio de pieles. Originalmente no fueron criados para ser una mascota doméstica. En su lugar, fueron criados por su piel excelente y la carne. Los conejos con piel de alta calidad se usan para hacer abrigos y adornos de piel. Los de calidad más baja se utilizan para hacer sombreros de fieltro y los revestimientos de guantes. Los conejos raza Nueva Zelanda también se utiliza para fines de laboratorio. Más de un millón de conejos Nueva Zelanda participan en diferentes pruebas de laboratorio. Los conejos reaccionan de manera similar a los humanos a enfermedades y medicamentos. Esta reacción les permite ser utilizados en laboratorios farmacéuticos, centros de investigación del cáncer, y hospitales universitarios. Los conejos raza Nueva Zelanda se han utilizado para desarrollar pruebas y medicamentos para enfermedades como la diabetes, la difteria, la tuberculosis, el cáncer y enfermedades del corazón. Los efectos de las cremas para la piel, cosméticos, dietas especiales, y los aditivos de los alimentos también han sido probados en conejos Nueva Zelanda.

Cepa Hámster Existen básicamente cuatro especies de hámster utilizadas como animal de experimentación: el hámster Sirio, el hámster Chino, el hámster Zungaria y el hámster Armenio. Todas son originarias de Asia (región del Cáucaso) y pertenecen al orden de los roedores, familia Cricetidae. Son criaturas muy bien adaptadas a la vida en el desierto y por lo tanto a conservar agua en su organismo, la cual obtienen principalmente de la comida.

El hámster Sirio (*Mesocricetus auratus*), también llamado hámster dorado (en inglés, *Syrian Hamster* o *Golden Hamster*), tiene su origen como animal de laboratorio (y como mascota) en la captura de una hembra y sus crías realizada en 1930 en Siria. Llevadas primero a Israel (*Hebrew University*, Jerusalén), fueron introducidas en Inglaterra y posteriormente a Estados Unidos. Desde entonces, el hámster Sirio ha sido muy utilizado como modelo de enfermedades infecciosas (virales en particular), parasitarias, oncología (carcinogénesis), inmunología, cronobiología, endocrinología y reproducción. El hámster Sirio tiene un cariotipo de 22 pares de cromosomas ($2n=44$) y un mapa genético poco desarrollado.

Modelo Experimental de Perro, Gato y Cerdo

Estos animales se consideran animales domesticados conservados con el propósito de brindar compañía o para el disfrute del poseedor.

Los animales de compañía son seleccionados por su comportamiento y adaptabilidad, por su interacción con los humanos, en la que posiblemente se utilicen como herramientas de caza o seguridad.

El origen de la domesticación animal se estableció alrededor del año 9000 a. C. en el suceso de la sedimentación humana conocido como revolución neolítica. Se comenzó a utilizar a los animales con propósitos alimenticios, pero tiempo después se descubrió que podían ser utilizados como herramientas de caza o compañeros de caza, adoptando un valor más productivo como tales que como alimento.

Desde el siglo pasado se utilizan estos animales como modelos experimentales, ya que cada uno de ellos son modelos para comportamiento, problemas cardiovasculares, o respuestas neurológicas. Tienen características específicas para su mantenimiento y alimentación de estos (4).

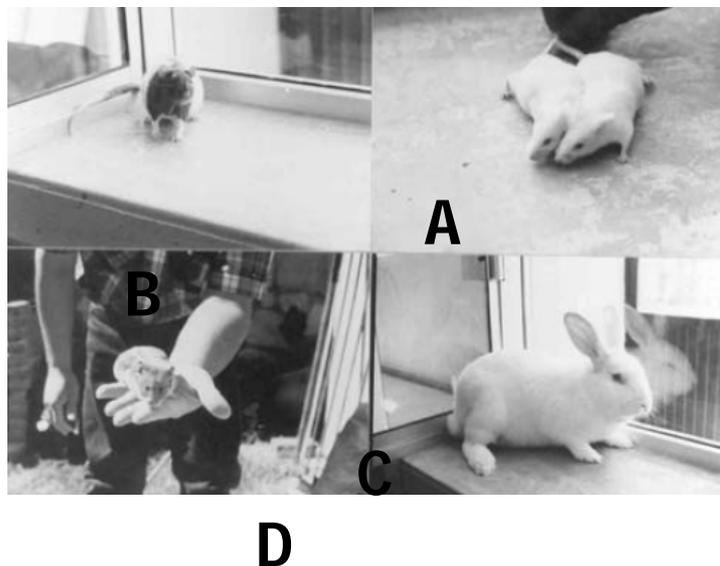


Figura No. 1.- Fotografías de modelos experimentales. **A)** Rata de cepa Long Evans, **B)** Ratón de cepa Balb/c, **C)** Hásterm Sirio; **D)** Conejo New Zelanda. Tomada del artículo Características de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis* (11).



Figura No. 2.- Fotografía del modelo experimental de perro para la reproducción del ciclo Biológico de *Trichinella spiralis* Tomada del artículo Características de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis* (11).



Figura No. 3.- Fotografía del modelo experimental de cerdo para la reproducción del ciclo Biológico de *Trichinella spiralis*, en el bioterio de cerdos del laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Universidad Autónoma de Zacatecas. México.

**Metodología de infestación con el parásito. *Trichinella spiralis*.
Reproducción de los Postulados de Koch.**

En el laboratorio de Biología Celular y Microbiología una de las líneas de investigación es la de Relación Huésped parásito de *Trichinella spiralis*. Para el mantenimiento de la cepa y la infectividad del parásito se trabaja *in vivo* en animales de laboratorio, como son ratón, rata, conejo, hámster, cerdo, perro y gato en un momento de la historia del laboratorio.

El origen de la cepa de *Trichinella spiralis* se obtuvo de un brote que se dio en la comunidad de Laguna del Carretero, municipio de Villanueva Zacatecas. México en 1976, donde un grupo de investigadores del antes Centro Universitario de Investigación y Docencia (CUID), obtuvieron unas muestras de carne de cerdo que fue consumida por algunos miembros de la comunidad y algún desafortunadamente murieron y otros presentaron síntomas agresivos de la infección por *Trichinella spiralis*.

Algunos fragmentos de dicha carne infestada se le dieron a unos ratones de la cepa Balb/c y se comenzó con la reproducción del ciclo biológico, haciendo pases en ratas de la cepa Long Evans, conejos New Zelanda. Hasta la actualidad se hacen lo que llamamos los pases de parásitos.

Técnica de Reproducción del Ciclo Biológico de *Trichinella spiralis* en diferentes modelos experimentales, reproduciendo los postulados de Koch.

Modelo Experimental Ratón Balb/c

- 1.- Identificación de los animales experimentales que están designados a la Conserva de *Trichinella spiralis*. Infectados con Larvas Infectantes (LI) de *Trichinella spiralis*.
- 2.- Localizado el ratón, se sacrifica con una sobre dosis de anestésico.
- 3.- Se verifica que el ratón ya no presente latidos, que no tenga reflejos en sus extremidades.
- 4.- Al comprobarlo se comienza disección de las extremidades (patas delanteras y traseras), continuando con retirar la piel del ratón.
- 5.- Al ratón se le eviscerar para solo obtener la masa muscular donde localizamos al parásito.

6.- Se debe recolectar el diafragma, macetero y lengua; ya que son lugares de alojamiento del parásito. Con respecto a los huesos del ratón, son pequeños y se trituran con facilidad.

7.- La masa muscular obtenida se homogeniza a través de una molienda de esta. La piel, extremidades y vísceras serán envueltas en un papel para ser depositados en el recolector de residuos infecto-contagiosos para su adecuada eliminación.

8.- Realizada la homogenización de la masa muscular se continua con el conteo de las Larvas Infectantes (LI) de *Trichinella spiralis*. *Figura No. 4 y No. 5.*



Figura No. 4 y 5.- Se observa la forma en que se homogeniza la masa muscular y la balanza para pesar la cantidad exacta que se le dará a cada animal.

9.- En un portaobjetos se coloca 0.5 miligramos para ser comprimida entre dos portaobjetos y sellada en los extremos con una cinta adhesiva, a este procedimiento se le denomina técnica de compresión en placa. *Figura No. 6.*

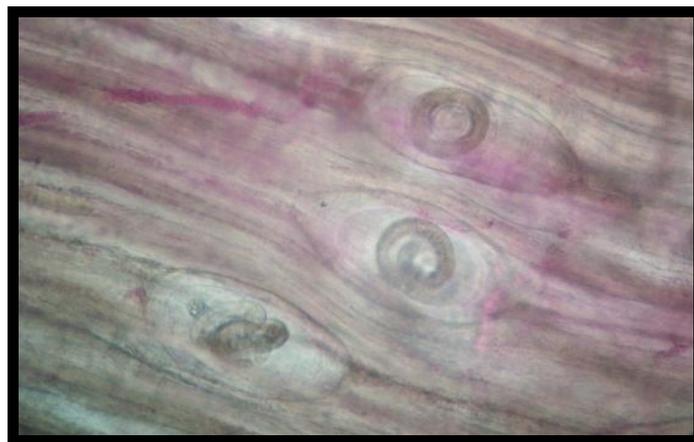


Figura No. 6.- Larvas infectantes (LI) de *Trichinella spiralis* observadas al microscópico óptico a 10 X

10.- En el microscopio óptico se observa la compresión en placa en el objetivo de 10 X. El conteo de las LI de *Trichinella spiralis* es en toda la muestra, ya que nos dará una aproximación del número de LI de *Trichinella spiralis* en esa cantidad de masa muscular que se revise.

11.- Al término del conteo se pesa la cantidad de masa muscular para tener el peso exacto de la muestra.

12.- Realizando una operación sencilla (regla de tres), de la siguiente manera:

En la muestra se contó 195 LI de *Trichinella spiralis* y tuvo un peso de 0.500 mg de masa muscular, y necesitamos 100 LI de *Trichinella spiralis* para infectar un ratón. Qué cantidad necesitamos de masa muscular para la infección individual de un ratón.

195 LI de *Trichinella spiralis* ----- **0.500 mg** de masa muscular

100 LI de *Trichinella spiralis* ----- **X** (Resultado es 0.256 mg de masa muscular).

X es la cantidad de masa muscular en miligramos necesaria para la infección de un ratón.

14.- Determinando la cantidad se procede a la infección de manera individual.

15.- Se preparan las porciones de cada animal, colocándolo en papel aluminio para ser administradas. *Figura No. 7.*



Figura No. 7.- Rata Long Evans en caja individual para su infección.

16.- La cantidad de masa muscular por individuo es vía oral.

17.- Se prepara una caja con una pequeña cama de aserrín y el paquete con la masa muscular.

18.- Se dejan aproximadamente 1 hora en cada caja, ya que los animales fueron dietados un día anterior.

19.- Al termino del consume de la masa muscular, se colocan en su caja debidamente etiquetada, con el número de animales, sexo y fecha de infección.

20.- Existen cantidades diferentes para cada uno de los animales de laboratorio.

Modelo Experimental	Cantidad de LI de <i>Trichinella spiralis</i>	Tipo de Infección
Ratón Balb/c	100 LI	Mantenimiento o Experimentación
Rata Long Evans o Sprague Dawley	500 LI	Mantenimiento o Experimentación
Hámster	100 LI	Mantenimiento o Experimentación
Conejos New Zelanda	3,500 LI	Mantenimiento o Experimentación
Cerdo	6 LI por 1 gr/peso	Experimentación
Perro	4,000 LI	Experimentación
Gato	3,500 LI	Experimentación

Tabla 1.- Modelos Experimentales utilizados en el laboratorio de Biología Celular y Microbiología y cantidad de LI de *Trichinella spiralis* utilizadas para mantenimiento de la viabilidad e infectividad del parásito.

21.- Con respecto a la parte de mantenimiento es con el objetivo que el modelo experimental tenga un proceso infeccioso que lo soporte y nos ayude a completar el ciclo biológico del parásito que es de aproximadamente 30 días sin perder ningún animal.

22.- Al hablar de la experimentación, los parámetros antes mencionados son la parte media donde dependiendo de nuestro experimento podemos disminuir o elevar el número de LI de *Trichinella spiralis*.

23.- En todos los modelos experimentales debemos tomar en cuenta su edad y condiciones físicas de estos, para lograr éxito en la infección.

24.- En el **modelo experimental de hámster** Sirio es la misma metodología que en el ratón.

Modelo Experimental Rata Long Evans o Sprague Dawley

1.- Identificación de los animales experimentales que están designados a la Conserva de *Trichinella spiralis*.

2.- Localizada la rata, se sacrifica con una sobre dosis de anestésico.

3.- Se verifica que la rata ya no presente latidos, que no tenga reflejos en sus extremidades.

4.- Al comprobarlo se comienza la disección de las extremidades (patas delanteras y traseras), continuando con retirar la piel de la rata.

5.- A la rata se le eviscerar para solo obtener la masa muscular donde localizamos al parasito.

6.- Se debe recolectar el diafragma, macetero y lengua; ya que son lugares de alojamiento del parasito. Con respecto a los huesos de la rata, la cabeza, las patas traseras, la columna y la parte de las costillas se retiran. Porque si no se hace esto se quedan muchos fragmentos de hueso que altera nuestro conteo en el microscopio.

7.- La masa muscular obtenida se homogeniza a través de una molienda de esta. La piel, extremidades, vísceras y huesos serán envueltas en un papel para ser depositados en el recolector de residuos infecto-contagiosos para su adecuada eliminación.

8.- Realizada la homogenización de la masa muscular se continua con el conteo de las Larvas Infectantes (LI) de *Trichinella spiralis*.

9.- En un portaobjetos se coloca una cantidad de 0.5 miligramos para ser comprimida entre dos portaobjetos y sellada en los extremos con una cinta adhesiva, a éste procedimiento se le denomina técnica de compresión en placa.

10.- En el microscopio óptico se observa la compresión en placa en el objetivo de 10 X. El conteo de las LI de *Trichinella spiralis* es en toda la muestra, ya que nos dará una aproximación del número de LI de *Trichinella spiralis* en esa cantidad de masa muscular que se revise.

11.- Al término del conteo se pesa la cantidad de masa muscular para saber el peso exacto de la muestra.

12.- Realizando una operación sencilla (regla de 3), de la siguiente manera:

En la muestra se conto 276 LI de *Trichinella spiralis* y tuvo un peso de 0.500 mg de masa muscular, y necesitamos 500 LI de *Trichinella spiralis* para infectar una rata. Qué cantidad necesitamos de masa muscular para la infección individual de cada rata.

276 LI de *Trichinella spiralis* ----- **0.500 mg** de masa muscular

500 LI de *Trichinella spiralis* ----- **X** (Resultado es 0.905 mg de masa muscular)

X es la cantidad de masa muscular en miligramos necesaria para la infección de cada rata.

13.- Determinada la cantidad se procede a la infección de manera individual.

15.- Se preparan las porciones de cada animal, colocándolo en papel aluminio para ser administradas.

16.- La cantidad de masa muscular por individuo es vía oral.

17.- Se prepara una caja con una pequeña cama de aserrín y el paquete con la masa muscular.

18.- Se dejan aproximadamente 1 hora en cada caja, ya que los animales fueron dietados un día anterior.

19.- Al termino del consume de la masa muscular, se colocan en su caja debidamente etiquetada, con el número de animales, sexo y fecha de infección.

Modelo Experimental Conejo New Zelanda

- 1.- Identificación de los animales experimentales que están designados a la Conserva de *Trichinella spiralis*.
- 2.- Localiza el conejo, se sacrifica con una sobre dosis de anestésico.
- 3.- Se verifica que el conejo ya no presente latidos, que no tenga reflejos en sus extremidades.
- 4.- Al comprobarlo se comienza disección de las extremidades (patas delanteras y traseras), continuando con retirar la piel del conejo.
- 5.- Al conejo se le eviscerar para solo obtener la masa muscular donde localizamos al parasito.
- 6.- Se debe recolectar el diafragma, macetero y lengua; ya que son lugares de alojamiento del parasito. Con respecto a los huesos del conejo, la cabeza se debe descarnar, al igual que las patas delanteras y traseras, retirar la columna, las costillas. Para solo recolectar el musculo.
- 7.- La masa muscular obtenida se homogeniza a través de una molienda de esta. La piel, extremidades, vísceras y huesos serán envueltas en un papel para ser depositados en el recolector de residuos infecto-contagiosos para su adecuada eliminación.
- 8.- Realizada la homogenización de la masa muscular se continua con el conteo de las Larvas Infectantes (LI) de *Trichinella spiralis*.
- 9.- En un portaobjetos se coloca una cantidad de 0.5 miligramos para ser comprimida entre dos portaobjetos y sellada en los extremos con una cita adhesiva, a esté procedimiento se le denomina técnica de compresión en placa.
- 10.- En el microscopio óptico se observa la compresión en placa en el objetivo de 10 X. El conteo de las LI de *Trichinella spiralis* es en toda la muestra, ya que nos dará una aproximación del número de LI de *Trichinella spiralis* en esa cantidad de masa muscular que se revise.
- 11.- Al término del conteo se pesa la cantidad de masa muscular para saber el peso exacto de la muestra.

12.- Realizando una operación sencilla (regla de tres), de la siguiente manera:

En la muestra se conto 589 LI de *Trichinella spiralis* y tuvo un peso de 0.500 mg de masa muscular, y necesitamos 3500 LI de *Trichinella spiralis* para infectar un conejo. Qué cantidad necesitamos de masa muscular para la infección individual de cada conejo.

589 LI de *Trichinella spiralis* ----- 0.500 mg de masa muscular

3500 LI de *Trichinella spiralis* ----- X (Resultado es 2.971 mg de masa muscular)

X es la cantidad de masa muscular en miligramos necesaria para la infección de cada conejo.

13.- El modelo experimental en **conejo** es frecuente que se utilice para los pases de conserva. Cuando se infecta a conejo es vía oral y se administra 3,500 LI de *Trichinella spiralis*, y tiene la particularidad de ser forzada la administración, para lograr el éxito de la infección.

Modelo Experimental Perro

1.- Cuando se trabajo con este tipo de modelo experimental, solo es para un proyecto, no es de mantenimiento de la cepa.

2.- Realizada la obtención de masa muscular del cualquier modelo experimental, ratón, rata o conejo se prepara la muestra con la cantidad de aproximadamente 4, 000 LI de *Trichinella spiralis* para el modelo en perro, que permite que se cumpla el ciclo biológico del parásito. Sin olvidar que esta cantidad puede variar dependiendo de las necesidades del proyecto que se trabaja y las características del perro en peso y talla.

3.- Se dieta al perro desde un día antes para su mejor consumo.

4.- La administración es de fácil manejo en los perros, es de forma individual.

5.- Cumpliendo con el objetivo de la infección del parásito en el modelo experimental.

Modelo Experimental Gato

- 1.- En relación al **gato**, la administración es por vía oral, no es un modelo de mantenimiento.
- 2.- Realizada la obtención de masa muscular del cualquier modelo experimental, ratón, rata o conejo se prepara la muestra con la cantidad de aproximadamente 3,500 LI de *Trichinella spiralis* para el modelo en gato, que permite que se cumpla el ciclo biológico del parásito. Sin olvidar que esta cantidad puede variar dependiendo de las necesidades del proyecto que se trabaja.
- 3.- Se dieta al gato desde un día antes para su mejor consumo.
- 4.- La administración es de fácil manejo en los perros, es de forma individual.
- 5.- Cumpliendo con el objetivo de la infección del parásito en el modelo experimental.

Modelo Experimental Cerdo

- 1.- Cuando se trabajo con este tipo de modelo experimental, solo es para un proyecto, no es de mantenimiento de la cepa.
- 2.- Realizada la obtención de masa muscular del cualquier modelo experimental, ratón, rata o conejo se prepara la muestra con la cantidad de aproximadamente de 6 LI de *Trichinella spiralis* por gramo de peso. Que permite que se cumpla el ciclo biológico del parásito. Sin olvidar que esta cantidad puede variar dependiendo de las necesidades del proyecto que se trabaja.
- 3.- Con el cerdo hay que tener la particularidad de pesar antes a los animales para saber el peso total y calcular el número de LI de *Trichinella spiralis* que necesitamos.
- 4.- La administración es vía oral, de forma individual para cumplir con éxito la infección en el modelo experimental.

Conclusiones

Cada uno de los modelos nos permite reproducir el ciclo vital de *Trichinella spiralis*, y nuevamente obtener las LI de *Trichinella spiralis* para mantener el parásito viable e infectante en el laboratorio que es de gran utilidad para implementación de técnicas diagnósticas directas e indirectas que son confiables y en etapas tempranas de la infección son oportunas para un mejor tratamiento.

El trabajar con los modelos experimentales permite el estudio de diferentes tratamientos con fármacos e inmunógenos tanto en fase intestinal como muscular, siendo vigentes los postulados de Koch hasta el momento.

Bibliografía.

- 1.- Vásquez López, JA Pautas básicas para el manejo de animales de experimentación en investigación biomédica. www.facultadsalud.unicauca.edu.co
- 2.- Zuñiga JM, Tur JA, Milocco SN, Piñeiro R. Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación animal, 2001. Ed. McGraw-Hill, Madrid España.
- 3.- De Alija A. Animales de Laboratorio y la Norma Oficial Mexicana. *Gaceta Médica, Mexicana* 2002; 138(3).
- 4.- Vaquero Puerta C. Manual de Experimentación Animal, Universidad de Valladolid, 1993, Valladolid España
- 5.- Katiana Galvizu Díaz, Yanet Villar Badía, Marelis Plasencia Pérez. Algunas consideraciones bioéticas en la experimentación en animales, seres humanos y trasplanteología. Rev. Hum. Med. Vol. 11, no. 3 Ciudad de Camaguey. Sep-Dic 2011
- 6.- Acosta Sariego JR. Bioética desde una perspectiva cubana. Publicaciones Acuario. Cap. 1. La Habana: Centro Félix Varela; 2007. p. 37-91.
- 7.- Gokora IH. Ethics and animal use in biomedical research. Adv. Exp. Med. Biol. 2004; 553:359-71. PMID: 15503469 [Pub Med – indexed for Medline
- 8.- Lic. Luis Cuesta Brey, Dra. Kyrenia Sánchez Rodríguez Aspectos éticos de la Experimentación con animales MAYO - AGOSTO 2007 / BIOÉTICA, pag. 25-27
- 9.- http://www.transtechsociety.org/docs/books/Benavides_Guenet_2003/03-GENETICA.pdf

10.-<http://geneticabioterio.wordpress.com/animestandarizados/>

11.- M. en C. Jesús Muñoz E., MVZ. Sergio Saldivar Elías., M. en BE. Gabriela Reveles Hernández., Est. Yersinia Muñoz M., Dra. María Alejandra Moreno García. Características de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis*. REDVET Vol. VIII, N° 1, Enero/2007
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html>

REDVET: 2014, Vol. 15 N° 5

Este artículo Ref.051409_RED VET (MAY1409_RED VET) está disponible en
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050514.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050514./051409.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org) <http://www.veterinaria.org> y con
REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>