

## Parámetros fisiológicos del modelo animal *Rattus norvegicus* var. *albinus* ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia*

Physiological parameters of the animal model *Rattus norvegicus* var. *albinus* in an experimental infection by isolates of *Giardia lamblia*

Juan Luis Rodríguez Vega<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2639-7339>

Graciela Olga Albino Cornejo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3229-1688>

Martha Arminda Vergara Espinoza<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0462-0779>

Ana Socorro Vásquez Del Castillo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7435-2154>

Fransk Amarildo Carrasco Solano<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9526-7116>

Wilmer Leoncio Calderón Mundaca<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1995-1063>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque, Perú.

\*Autor para la correspondencia: [galloide@hotmail.com](mailto:galloide@hotmail.com)

### RESUMEN

**Introducción:** Los parámetros de medición de índole fisiológico en modelos animales frente a una infección experimental son necesarios como descriptores que ayuden a una correcta evaluación comparativa ante una patología infecciosa.

**Objetivo:** Determinar los parámetros fisiológicos del modelo animal *Rattus norvegicus* var. *albinus* ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia*.

**Métodos:** Se desarrolló un diseño experimental a ser aplicado a una muestra de 10 ratas, donde se realizó una fase de aclimatación y otra de inducción de la infección y estudio de la expresión de esta en parámetros fisiológicos, que se registraron; se tuvieron en cuenta las normas de cuidado y bienestar animal que la bioética demanda.

**Resultados:** Los parámetros fisiológicos del modelo animal *Rattus norvegicus* var. *albinus* evaluados ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia* fueron el índice de masa corporal con un valor de 0,377 g/cm<sup>2</sup>, que se redujo a 0,32 g/cm<sup>2</sup>, el peso de 255 g que se redujo a 200 gr; el examen coproparasitológico que evidenció la presencia de trofozoítos (0 – 5059 trofozoítos/30 días de recolección de heces) y de quistes (0 – 2293 quistes/15 días de recolección de heces). Además, se evaluó histopatológicamente demostrando una mayor frecuencia de trofozoítos en el duodeno y de quistes en el íleon distal.

**Conclusiones:** Los parámetros fisiológicos en la rata relacionados con el índice de masa corporal se alteran disminuyendo, asimismo se evidencian cambios a nivel histopatológico y coproparasitológico durante la infección experimental por *Giardia lamblia*.

**Palabras clave:** parámetro fisiológico; infección experimental; giardiosis.

## ABSTRACT

**Introduction:** The measurement parameters of a physiological nature in animal models against an experimental infection; They are necessary as descriptors that help a correct comparative evaluation in the face of an infectious pathology.

**Objective:** To determine the physiological parameters of the *Rattus norvegicus* var. *albinus* in the face of an experimental infection by isolates of *Giardia lamblia*.

**Methods:** Presenting an experimental design to be applied to a sample of 10 rats where an acclimatization phase and an infection induction phase and study of its expression in physiological parameters were developed, which were standardized; the norms of care and animal welfare that bioethics demands were taken into account.

**Results:** The physiological parameters of the animal model *Rattus norvegicus* var. *albinus* evaluated against an experimental infection by isolates of *Giardia lamblia* were the Body Mass Index with a value of 0.377 g/cm<sup>2</sup> that was reduced to 0.32 g/cm<sup>2</sup>, the weight of 255 g that was reduced to 200 gr; The coproparasitological examination showed the presence of trophozoites (0-5059 trophozoites/30 days of feces collection) and cysts (0-2293 cysts/15 days of feces collection) and was also evaluated histopathologically, demonstrating a higher frequency of trophozoites in the duodenum and cysts in the distal ileum.

**Conclusions:** The physiological parameters in the rat related to the body mass index are altered, decreasing, and changes are also evident at the histopathological and coproparasitological level during the experimental Giardia infection.

**Keywords:** physiological parameter; experimental infection; giardiosis.

Recibido: 12/10/2023

Aceptado: 15/07/2024

## Introducción

Los modelos animales constituyen uno de los pilares fundamentales que han permitido el desarrollo de diversas disciplinas biomédicas entre las cuales cabe destacar a la microbiología clínica,<sup>(1)</sup> sobre la cual versa el presente trabajo de investigación. Esto en el sentido que han permitido la comprensión de la fisiopatología de la infección, al reproducir dichos estatus patológicos. Lo anterior, a su vez, desde ya más de un siglo ha servido de fuente para el estudio de la prevención, infección y tratamiento farmacológico antimicrobiano,<sup>(2)</sup> lo que ha permitido, por lo tanto, evaluar nuevas moléculas cabeza de serie; asimismo enfoques y estrategias terapéuticas frente a la aparición de microorganismos que presentan multirresistencia.<sup>(3)</sup>

En ciencias microbiológicas, los modelos experimentales permiten reproducir o emular una infección. En este sentido se generan diseños comparativos entre un estado de homeostasis versus la fisiopatología de una infección experimental.<sup>(4)</sup> Esto resultaría muy ilustrativo y brindaría valioso material auxiliar para el trabajo de laboratorio en estudios de inoculación experimental.<sup>(5)</sup> El presente trabajo de investigación permitirá valorar la homeostasis del modelo cuando se le considere control en ensayos infecciosos, existiendo antecedentes de algunos trabajos realizados en gerbo como modelo en murinos, los cuales han presentado ciclos de infección completos, cabe destacar que en ratas no se han desarrollado trabajos similares.<sup>(6)</sup>

Las parasitosis intestinales más frecuentes y sintomáticas son producidas por protozoos como *Giardia intestinalis*, un parásito de distribución global y clara patogenicidad.<sup>(7)</sup> Esta causa diarreas, duodenitis, yeyunitis e incluso puede colonizar la vesícula biliar, aunque no se ha vinculado directamente con cuadros de colecistitis. Su prevalencia se reporta generalmente entre 1-60 %, dependiendo de la población.<sup>(8)</sup> La infección es más común en niños que en adultos, particularmente en edad preescolar y escolar. Existe mayor prevalencia en áreas rurales y con saneamiento precario.<sup>(9)</sup>

En Perú no hay cifras nacionales precisas, pero se afirma una alta prevalencia dado que diversos estudios en sierra y selva muestran tasas mayores al 95 %, mientras que la prevalencia de enteroparásitos patógenos varía entre 62,3-64 %. Para *G. intestinalis* en selva se reporta 21,9 % y se considera que está aumentando en la Amazonía peruana.<sup>(10)</sup> En Lambayeque se ha reportado recientemente alta prevalencia de *G. intestinalis* en un orden de 30,1 % por microscopía directa y 43,6 % por ELISA, constituyéndose como un problema de salud pública.<sup>(11,12,13)</sup>

Su naturaleza con ciclo directo oro-fecal, con una transmisión hídrica y por alimentos contribuye a su prevalencia.<sup>(14,15,16)</sup> En esta línea de pensamiento la presente investigación desarrolla pretende determinar los parámetros fisiológicos del modelo animal *Rattus norvegicus* var. *albinus* ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia*.

## Métodos

De acuerdo con Falcón y Zabaleta<sup>(17)</sup> el presente trabajo de investigación fue considerado como experimental siguiendo el siguiente diagrama:

Grupo antes	Estímulo	Grupo después
A	No hay estímulo	A1
B	Estímulo de intensidad X	B1

Donde se usaron dos grupos de ratas (10 ratas por cada grupo, 20 en total) que servirán de grupo experimental B y el grupo testigo o control A.<sup>(18)</sup> Este diseño le confirió mayor nivel de validez y confiabilidad por las características comparativas necesarias para ser evaluadas en el modelo animal.<sup>(19)</sup>

En cuanto a la población estuvo conformado por sujetos de experimentación de la especie *Rattus norvegicus* var *albinus* de la línea Sprague-Dawley (menos resistente a las infecciones), con un peso promedio de  $250 \pm 10$ g., procedentes del

Centro Nacional de Producción Biológica del Instituto Nacional de Salud-MINSA, con sede en Lima, y con certificado de salud. Estos especímenes fueron agrupados según el método de Mead,<sup>(20)</sup> empleando la ecuación siguiente:

$$m = \frac{N}{\frac{a}{100} \times \frac{b}{100} \times \frac{c}{100} \times \frac{d}{100}}$$

Donde n es el número final de animales o el número final de animales del cual se debe partir; N es el mínimo estadístico que permite concluir los objetivos propuestos en el proyecto, que para nuestro caso son cinco ratas; a es 100-porcentaje de incidencia 1 (% de ratas que responden adecuadamente a un tratamiento de dosis X), es decir,  $100-25 = 75$ ; b es 100-porcentaje de incidencia 2 (% de ratas que responden adecuadamente a un tratamiento con dosis 2X), es decir  $100-50 = 50$ ; c es 100-porcentaje de incidencia 3 (% de ratas que responden adecuadamente a un tratamiento con dosis 3X), es decir  $100 - 75 = 25$ ; d es 100-porcentaje de incidencia 4 (% de ratas que responden adecuadamente a un tratamiento con dosis 0 o control), es decir  $100 - 10 = 90$ .

Se adecuó la ecuación para el presente trabajo de la siguiente forma:

$$m = \frac{N}{\frac{a}{100} \times \frac{d}{100}}$$

Donde,  $m = 7,4$  lo que redondeando se asumió ocho ratas, añadiendo dos ejemplares para tener una muestra de 10 ejemplares; asegurando de esta forma las 3R de Russel aplicadas en bioética.<sup>(21)</sup> Por tanto, la muestra animal quedó conformada por 20 ejemplares (grupos testigo y control de 10 ratas cada una, y con tres meses de nacidas) de sexo macho; se tuvieron en cuenta criterios de

manejo del modelo animal en la etapa de acondicionamiento y aclimatación que es clave para mermar la condición de estrés.<sup>(18)</sup>

## Procedimientos

### A. Fase de acondicionamiento y aclimatación (cuarentena)

Con fines de aclimatación,<sup>(22)</sup> las ratas fueron sometidas a una cuarentena de 14 días previo al estudio para minimizar el estrés por cambio de ambiente y facilitar su adaptación a las condiciones de alojamiento y manejo. Las condiciones ambientales fueron controladas a 19°C de temperatura y al 72 % de humedad relativa, en el bioriego. De presentarse alteraciones fisiológicas o de comportamiento durante este periodo, los especímenes eran reemplazados por animales saludables bajo características similares.<sup>(23)</sup> La alimentación se realizó *ad libitum* con dieta balanceada estándar para roedores (Purina®) y dispensadores automáticos de agua, la cual era renovada cada dos semanas. Se implementó enriquecimiento ambiental dentro de las jaulas de alojamiento, con supervisión de un médico veterinario, para proporcionar condiciones de bienestar adecuadas, reducir estrés y potenciar comportamientos naturales. Los especímenes fueron marcados con violeta de genciana para su identificación. Se realizó pesaje inicial registrando el dato obtenido y fecha del procedimiento en fichas de recolección de datos.<sup>(23)</sup>

### A. Fase de inducción infecciosa-parametrización fisiológica-evaluación de la infección

#### Muestras de materia fecal

De 35 pacientes que presentaron giardiosis clínicamente sintomática, se logró aislar muestras de heces y se realizó una agrupación (pool) de estas con la comprobación previa de la presencia de trofozoítos y quistes que fueron determinados en un laboratorio clínico de la ciudad de Chiclayo. No se desarrolló estudio de genotipificación del parásito.

## Diagnóstico parasitológico de *Giardia lamblia*

Para la respectiva identificación se empleó el método coproparasitológico por examen directo con suero fisiológico, concentrando los especímenes con formol – éter, examinando las muestras con lugol de 100X a 400X.<sup>(24)</sup>

## Obtención y preservación de quistes de *Giardia*

Obtenida la muestra, se procedió a hacer dilución con agua destilada, este líquido fue filtrado en un embudo con una gaza y el decantado se almacenó a 4°C.

## Purificación de los quistes de *Giardia*

Los quistes de *Giardia*, que han sido aislados de muestras humanas infectadas, se resuelven purificar por medio de gradientes sucesivos de sacarosa, dicho método se desarrolló sin modificaciones.<sup>(25)</sup>

Posteriormente, a los quistes que se concentraron en la interfase agua–sacarosa, verificados previamente por observación microscópica, se volvieron a tratar con agua destilada y se sometieron a centrifugación a 400 rpm/5 min esto a 18oC, resuspendiendo con agua destilada y se observó la concentración en laminilla y cámara de Neubauer, luego se resuspendió finalmente la solución a 1 ml de agua destilada y se preservó este inoculo hasta ser empleado en el modelo animal,<sup>(26,27,28,29,30)</sup> siendo este el estímulo a inocular.

## Infección experimental en el modelo animal

Se suministró de manera profiláctica Metronidazol de 250 mg en una dosis de 20 mg/rata por día, vía oral por 3 días subsecuentes y luego se evaluó coproparasitológicamente a los especímenes para aislar las ratas que estuvieran libres de infección por *Giardia lamblia*. U otros parásitos intestinales.<sup>(31,32,33,34,35)</sup>

Posteriormente, ya en el día 15 (pasados los 14 días de cuarentena) se infectaron experimentalmente a las 10 ratas del grupo experimental (previamente inmunosuprimidas con prednisona) con el inóculo de quistes de *Giardia lamblia*, por vía oral donde suspendidos se encontraban 600 +/- 25 quistes en 0,2 ml de solución isotónica por medio de una cánula oral y luego a las 10 ratas control se les administro 0,2 ml de solución hipotónica estéril.

## Estudio de la infección experimental

Para evaluar la infección experimental se desarrolló el método coproparasitológico para verificar la presencia de quistes o de trofozoítos, su cuantificación y posteriormente su impacto histopatológico, la colección de muestra de heces fue diaria durante el periodo de 30 días para evaluar la productividad de quistes y trofozoítos.

Se valoró previamente algunos parámetros fisiológicos con una periodicidad de cada cuatro días:

- Sistema nervioso: el sueño y vigilia son críticos ya que indican funcionamiento normal del ciclo circadiano y sistemas activadores reticular ascendente; y los reflejos evalúan integridad de vías nerviosas sensoriales y motoras.
- Aparato respiratorio: se evaluó la frecuencia respiratoria debe estar entre rangos para asegurar adecuada ventilación/perfusión. Cambios indican fallas respiratorias o acidosis.
- Aparato cardiovascular: se evaluó la frecuencia cardíaca es un excelente indicador de estado cardio-circulatorio general. Cambios pueden reflejar shock, arritmias, entre otros.
- Aparato digestivo: se valoró el peso e IMC indican estado nutricional, para lo cual se pesaron los roedores en granatarios marca Grettmet® y se midió la longitud naso-anal empleando regla de acero. Cambios abruptos en peso sugieren deshidratación o caquexia; del mismo modo la excreción de heces (textura, frecuencia de deposición, fetidez) reportan la similitud con el cuadro de giardiosis humana.
- Aparato urinario: se valoró la diuresis por medio de una jaula colectora y medición en mililitros la orina colectada asimismo se calculó el pH urinario, estos son indicadores sensibles de la función renal y estado de hidratación.
- Sistema hematológico: se tomó la muestra de la vena caudal de las ratas, y luego se evaluó la hemoglobina y hematocrito, glucosa en suero, y el

recuento de glóbulos rojos y blancos, cambios reflejan impactos en el volumen de eritrocitos circulantes, y condiciones de anemia.

- Sistema músculo esquelético: se valoró también el tono muscular adecuado es necesario para movimiento y postura normal.

Monitorizar estos parámetros de forma seriada permite detectar alteraciones fisiológicas tempranamente en modelo animal y son valiosas para comparar con eventos propios de una infección experimental.<sup>(36,37,38)</sup>

El día anterior a la eutanasia, se suministró solo agua a las ratas con la finalidad de tener una mejor visibilidad del patrón colonizante en el intestino delgado. Luego se procedió a desarrollar examen coproparasitológico a los animales infectados. Finalmente, se practicó individualmente eutanasia el día 15 y 28 a las 4 ratas experimentó en grupos de dos por día, aplicando una inyección de pentobarbital sódico a dosis de 190-210 mg/kg VI. Posteriormente, se desarrolló la disección toracoabdominal para localizar el intestino delgado, el cual fue disecado, y cortado longitudinalmente, rapándose sus paredes, para obtener un producto, que fue suspendido en 13 mil de PBS, logrando luego el recuento a 400X de una alícuota de 20 mL.<sup>(39)</sup> el intestino resecado fue cortado en trozos pequeños y sometido a parafinización; se empleó un micrótomo y realizaron los cortes requeridos longitudinales para luego, por medio de técnica histológica, se procedió a teñir con hematoxilina-eosina; se evaluó la presencia de giardia, de infiltrado de linfocitos, alteraciones de las vellosidades y de nódulos.

### **Cuantificación de quistes y trofozoítos de *Giardia***

Se logró mensurar los trofozoítos y quistes por medio de la cámara de Neubauer, estimándose el promedio como una medida descriptiva.

### **Aspectos estadísticos**

Se emplearon métodos de bioestadística, para lograr la medición de las diferencias significativas de las variables cuantitativas (continuas y discretas), se tuvo en

cuenta la estimación de los parámetros de respuesta fisiológica. El procedimiento fue descriptivo para las medias de producción quística *vs.* inoculación de agente infeccioso experimental: Se probó el efecto fisiológico de la infección, a nivel del indicador IMC y peso corporal midiendo las diferencias significativas entre el grupo control y el grupo experimental<sup>(40)</sup> con una significancia de 0,05 por medio de una prueba T de Student en los roedores, se usó para esto el paquete estadístico SPSS V23.

## Aspectos éticos

Se contó con la aprobación de comité de ética de la institución refrendada con el código 0012-2023. En los aspectos de bioética se tuvieron en cuenta las recomendaciones del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS) que es una organización científica (internacional y no gubernamental) establecida por la Unesco y la OMS en 1949, basadas en los principios éticos y las tres "R" de Russel.

Con la finalidad de cumplir los parámetros bioéticos: (a) se procuró la instrucción y capacitación del personal técnico que apoyo en la realización de la presente investigación para el manejo del modelo animal, (b) se tuvo en cuenta de modo permanente que el estado sanitario de los animales que estuvo íntimamente ligado a su capacidad de respuesta, de esa manera se valoró la salud y la perpetuidad de la misma que estuvo garantizada durante el periodo experimental, (c) en cuanto a las condiciones de alojamiento la carga animal por caja fue la pertinente para reducir el estrés, actualmente hay la tendencia de aumentar el espacio animal por caja, e inclusive, a estimular sus actividades por medio de ruedas u otros accesorios; lo cual fue aplicado en este trabajo, (d) además, las constantes ambientales fueron controladas, se debe recordar que las temperaturas extremas, la falta de renovación del aire, las altas concentraciones de amoniaco, entre otras, someten a sufrimientos innecesarios e invalidan los resultados desde el punto de vista experimental y (e) durante el proceso de inoculación se realizaron buenas prácticas de sujeción, analgesia y eutanasia.<sup>(41,42,43,44)</sup>

## Resultados

Al ser infectadas las ratas del grupo experimento en su totalidad (10 ratas inmunosuprimidas con prednisona) con la muestra procesada de aislamientos de *Giardia lamblia* obtenida de muestras clínicas se estableció el modelo de giardiosis logrando la formación de quistes y su eliminación en las excretas a la segunda y tercera semanas pos-inoculación en la totalidad de especímenes de este grupo, presentando un comportamiento similar a la infección en el ser humano. En este sentido, el aspecto de heces evidenció un comportamiento similar con la infección (textura líquida, frecuencia de deposición 5 a 11 veces diarias, fetidez típica,).

La tabla 1 presenta los parámetros fisiológicos evaluados en la muestra de 10 ratas sometidas a inoculación e infección experimental por *Giardia lamblia*. A nivel de sistema nervioso se observó una temperatura promedio de 36,5°C. Se mantuvieron conservados los reflejos posturales y de natación. El ciclo de sueño-vigilia se conservó en 52 % para vigilia y 48 % para sueño (porcentaje de horas-día). En los parámetros metabólicos, el peso corporal promedio fue 255 g, la longitud naso-anal 26 cm en promedio y el índice de masa corporal (IMC) 0,377 g/cm<sup>2</sup>, considerándose una condición normotrófica en el modelo murino. En el sistema respiratorio, la frecuencia respiratoria promedio fue 89,5 soplos/min, valorándose como normopnea. En el sistema cardiovascular, la frecuencia cardíaca promedio fue 450 latidos/min, considerada normocardia.

A nivel del sistema urinario, la diuresis promedio fue 5,5 mL/100g/día y el pH osciló entre 7,4-8,7. En los parámetros sanguíneos, la hemoglobina promedio fue 15,3 +/- 30 g/dL y el hematocrito 47 +/- 1,8%, denotando una normovolemia adecuada. La glucemia en suero fue 122,5 +/- 17,4 g/dL, considerada normoglicemia. La glucemia basal encontrada se considera normoglucemia, con correcta secreción de cortisol y libre de estrés asociado al eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. El recuento de glóbulos rojos total fue 12,12 +/- 1,5 10<sup>6</sup> uL y glóbulos blancos 20,80 +/- 2,2 10<sup>6</sup> uL, asumidos como línea basal. Por último, a nivel del sistema nervioso se evaluó el tono muscular, estable y con niveles de reflejo postural óptimo en los especímenes.

**Tabla 1** - Parámetros fisiológicos de *Rattus norvegicus* normales

Parámetro fisiológico	Promedio +/-DS o característica
Temperatura	36,5 +/-0,45 °C
Sueño	Presente
Vigilia	Presente
Reflejos	Positivos
Peso corporal	255+/-0,35 g
Longitud naso – anal	26+/-0,024 cm
IMC	0,377 g/cm <sup>2</sup>
Frecuencia respiratoria	89,5 soplos/min
Frecuencia cardíaca	450 latidos/min
Diuresis	5,5 ml/100g/día
pH urinario	7,4 – 8,7
Hematocrito	47 +/- 1,8 %
Hemoglobina	15,3 +/- 30 g/dL
Glucosa	122, 5 +/- 17,4 g/dL
Glóbulos rojos	12,12 +/- 1,5 10 <sup>6</sup> uL
Glóbulos blancos	20,80 +/- 2,2 10 <sup>6</sup> uL
Tono muscular	Positivo

En la tabla 2 se evidencian los resultados promedio obtenidos durante los 30 días de duración del proceso de infección experimental. Se observan algunas alteraciones en parámetros fisiológicos relacionados con el tropismo de la infección. Se preservaron dentro de rangos normales parámetros del aparato cardiovascular, respiratorio y renal, visibles en sus frecuencias cardíaca y respiratoria, diuresis y pH urinario. También se mantuvieron estables los recuentos hematológicos totales de glóbulos, hematocrito y hemoglobina. Denotando el carácter enterotrópico de la infección, se evidenciaron cambios en parámetros como el peso los cuales presentaron un decremento debido a la diarrea moderada generada en los animales con presencia de trofozoítos y de quistes.

**Tabla 2** - Parámetros fisiológicos y fisiopatológicos de *Rattus norvegicus* ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia*

Parámetro fisiológico y fisiopatológico	Promedio +/- DS o Característica
Temperatura	37,5 +/- 0,06 °C
Sueño	Presente
Vigilia	Presente
Reflejos	Positivos
Peso corporal	200 +/- 15 g
Longitud naso-anal	25 +/- 0,05 cm
IMC	0,32 g/cm <sup>2</sup>
Frecuencia respiratoria	89,5 +/- 0,7 soplos/min
Frecuencia cardiaca	450 +/- 0,4 latidos/min
Diuresis	5,5 +/- 0,6 ml/100g/día
pH urinario	7,4-8,7
Hematocrito	47 +/- 1,8 %
Hemoglobina	15,3 +/- 30 g/dL
Glucosa	122, 5 +/- 17,4 g/dL
Glóbulos rojos	12,12 +/- 1,5 10 <sup>6</sup> uL
Glóbulos blancos	20,80 +/- 2,2 10 <sup>6</sup> uL
Tono muscular	Positivo
Presencia de trofozoíto (P-fisiopatológico)	0-5059 trofozoítos promedio/30 días de recolección de heces
Presencia de quistes (P- fisiopatológico)	0-2293 quistes promedio/15 días de recolección de heces

La tabla 3 muestra la dinámica de infección experimental de *Giardia lamblia* en *Rattus norvegicus* durante 30 días. Se observan dos fases distintas: proliferación de trofozoítos y producción de quistes. El patrón observado sugiere una fase inicial de establecimiento y proliferación del parásito, seguida por un período de producción de quistes, y finalmente una fase de eliminación. Estos datos proporcionan información valiosa sobre la progresión de la infección por *G. lamblia* en este modelo animal.

Del mismo modo se desarrolló una prueba de hipótesis para evidenciar si hay cambios significativos en los valores de IMC y de peso corporal.

Hipótesis nula (H0): No existen diferencias significativas en el peso corporal y el IMC entre los grupos control y experimental.

Hipótesis alternativa (H1): Existen diferencias significativas en el peso corporal y el IMC entre los grupos control y experimental.

Nivel de significancia:  $\alpha = 0,05$

*Prueba t para el peso corporal:*

$$t = (255 - 200) / \sqrt{(0,352/n_1 + 152/n_2)}$$

Considerando  $n_1 = n_2 = 10$ :

$$t = 55 / \sqrt{(0,122 + 225)} = 3,33$$

*Prueba t para el IMC:*

$$t = (0,377 - 0,32) / \sqrt{(0,0242/n_1 + 0,0252/n_2)}$$

Considerando  $n_1 = n_2 = 10$ :

$$t = 0,057 / 0,004 = 14,25$$

Para  $\alpha = 0,05$  y  $gl = 18$ ;  $t$  crítico = 2,10

Como en ambos casos el valor calculado de  $t$  es mayor que  $t$  crítico, se rechaza  $H_0$ .

Se concluyó que existen diferencias estadísticamente significativas tanto en el peso corporal como en el IMC entre los grupos control y experimental ( $p < 0,05$ ), lo cual reporta una disminución del peso y el IMC en el grupo experimental en comparación al control.

**Tabla 3** - Aislamientos promedio de quistes y trofozoítos de *Rattus norvegicus* ante una infección experimental por aislamientos de *Giardia lamblia*

Día de infección	Promedio de trofozoítos	Promedio de quistes
1	0	0
2	1900	0
3	2500	0
4	2800	0
5	3100	0
6	4300	2800
7	5000	2500
8	6300	2300
9	6450	2800
10	6520	2900
11	6600	1900
12	6750	800
13	6850	2200
14	6900	2000
15	6790	3100
16	6710	2500
17	6650	2700
18	6630	2200
19	6600	3000
20	6590	700
21	6550	0
22	6500	0
23	6000	0
24	5800	0
25	5100	0
26	4500	0
27	4200	0
28	4000	0
29	3100	0
30	100	0

## Resultados de la histopatología

A los 15 y 28 días posinoculación se seleccionaron dos ratas por día a las que se realizó eutanasia y resección de intestino delgado. El examen histopatológico evidenció lesión intestinal generada por el parásito. Se observó infiltrado leucocitario, engrosamiento vellositario, atrofia y distrofia de microvellosidades intestinales, sin presencia de nódulos. Se confirmó presencia de formas parasitarias viables de *Giardia lamblia* adheridas a la mucosa tanto en forma de quistes como de trofozoítos. Los trofozoítos se localizaron principalmente en duodeno y yeyuno proximal al día 15 post-inoculación. Para el día 28 pos-inoculación se observó tanto en duodeno y yeyuno proximal como en localizaciones más distales como yeyuno distal e íleon, denotando el avance de la infección. El patrón de lesión evidencia el tropismo intestinal del parásito y su capacidad de generar alteraciones estructurales y funcionales en la mucosa del intestino delgado.

## Discusión

La rata exhibe una etología, fisiología y bioquímica altamente compatibles con el humano, respaldadas por su proximidad evolutiva.<sup>(45)</sup> Los parámetros fisiológicos utilizados en este estudio son de fácil aplicación y registro para evaluar los impactos de mecanismos infecciosos según su tropismo. Estos han demostrado ser útiles para el análisis de sistemas circulatorio, respiratorio, renal, digestivo, nervioso y locomotor, mostrando concordancia con la literatura existente. <sup>(22,25,46)</sup> El eje hipotálamo-hipofisario-adrenal regula principalmente estos parámetros, gobernando aspectos como termorregulación, desarrollo motor, manejo hidroelectrolítico y elementos sensoriales y motores. Los valores hematológicos de volúmenes totales y recuentos totales coinciden con otros trabajos considerados como línea base.<sup>(32,33,47)</sup>

La infección por *Giardia*, dada su naturaleza enterotrópica y el modelo seleccionado, presenta variabilidad en la excreción de quistes y trofozoítos según

la especie. En ovejas,<sup>(48,49)</sup> caballos y ganado vacuno,<sup>(50)</sup> la eliminación de quistes ocurre de la primera a sexta semana pos-inoculación. En gatos, aún no se ha establecido debido a dificultades en el procesamiento de muestras.<sup>(51)</sup> Los perros evidencian alta producción de quistes entre la segunda y tercera semana pos-inoculación. El modelo desarrollado mostró resultados similares a otros modelos de roedores.<sup>(18,22,51)</sup> Cuyo impacto evidente fue en el tracto digestivo, y los indicadores asociados como el peso y el IMC

En ese contexto se ha posibilitado visualizar el efecto del modelo siendo similar a otros consultados en la literatura.<sup>(27,38,44)</sup> Es evidente que cada modelo infeccioso genera respuestas inmunológicas diferenciales. Se postula que el sustento fisiopatológico de la producción oscilante de quistes se debe a las proteínas asociadas con la variación antigenica.<sup>(46,47)</sup> La variabilidad de cepas de *Giardia* muestra concomitancia con las regiones geográficas. El proceso de resolución final ocurre alrededor del día 30-31, considerando así cuatro semanas del ciclo infeccioso, lo cual es similar a trabajos con otros roedores.<sup>(48)</sup>

Los ciclos de ausencia-presencia-ausencia de quistes y la perpetuidad de la infección experimental (inoculación-resolución) se sustentan como características "sine qua non" de *Giardia*.<sup>(49)</sup> Fisiopatológicamente, esto se fundamenta en una próspera generación de Inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM anti-*Giardia* y la presencia de anticuerpos de tipo IgG3 o, en su defecto, IgM-anti *Giardia* ante la presencia del complemento, lo cual ha sido reportado en investigaciones previas.<sup>(50)</sup> La interacción huésped-parásito sufre una alteración en su equilibrio debido a la noxa generada en el intestino delgado de la rata cuando la infección entra en resolución, fenómeno reportado también.<sup>(51)</sup>

Se postula que durante el período de presencia de quistes en el coproparasitológico directo y la movilización hacia la resolución de la infección, se recupera el daño histopatológico. La proporción vellosidades/criptas de Lieberkühn retorna a la arquitectura pre-infecciosa, coincidiendo con reportes previos.<sup>(50,51)</sup> Al retornar al estado basal, las células del sistema mientérico producen óxido nítrico, un importante neurotransmisor para la consolidación neuromotora y activación de canales de calcio voltaje-dependientes. Esta

sustancia inhibe el enquistamiento y desarrollo de trofozoítos de *Giardia*, contribuyendo a la resolución de la infección experimental.<sup>(49)</sup>

El modelo de infección experimental por *G. lamblia* en ratas presentó una severidad moderada, evidenciada principalmente por cambios a nivel intestinal sin compromiso sistémico severo. Se estableció un punto final experimental a los 30 días pos-inoculación. La condición corporal y de salud de los animales se monitoreó diariamente. Aunque se planteó la administración de analgésicos ante signos de dolor o sufrimiento, no se requirió en ninguno de los especímenes durante el estudio. Se recomienda que en futuros estudios se implementen "listas de cotejo" para una evaluación más exhaustiva de los parámetros fisiológicos, así como enriquecimiento ambiental dentro de las jaulas para potenciar comportamientos naturales.

Se desarrolló un modelo de infección por *Giardia lamblia* a partir de aislamientos de quistes de muestras de pacientes, los cuales fueron inoculados vía oral en ratas previamente inmunosuprimidas.

Se realizó una caracterización de la respuesta fisiológica e histopatológica ante la infección experimental, resaltando parámetros corporales, presencia del parásito en heces y daño intestinal dada la naturaleza enterotrópica de *Giardia*.

Los principales parámetros fisiológicos que sufrieron impacto fueron el peso corporal, índice de masa corporal y excreción de formas parasitarias. Se reportó una marcada eliminación de trofozoítos y quistes en materia fecal durante la infección. El examen histopatológico reveló mayor frecuencia de trofozoítos en duodeno y de quistes en íleon distal.

## Referencias bibliográficas

1. Möller R, Vázquez N, Teliz D, Méndez V. Peritoneo del aparato digestivo de la rata Wistar (*Rattus norvegicus*). *Int J Morphol*. 2013 [acceso 20/07/2023];31(1):128-30. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/260774460\\_Peritoneo\\_del\\_Aparato\\_Digestivo\\_de\\_la\\_Rata\\_Wistar\\_Rattus\\_norvegicus](https://www.researchgate.net/publication/260774460_Peritoneo_del_Aparato_Digestivo_de_la_Rata_Wistar_Rattus_norvegicus)
2. Ministerio de salud. Helmintos intestinales en el Perú: análisis de la prevalencia (1981-2001). Lima: Oficina General de Epidemiología; 2003.
3. Lima C, Lima A, Dória M, Azevedo G, Russo M, Cavalcante R, *et al*. Valores de referencia hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus linhagem Wistar*) provenientes do bioterio da Universidade Tiradentes. *Cientia Plena*. 2014 [acceso 20/07/2023];10(7). Disponible en: <https://scientiap>
4. La Torre Villalba LP. Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale* Roscoe (jengibre) en animales de experimentación [Tesis de Grado]. UCSM. Arequipa (Perú); 2014.
5. Xiao L. Giardia infection in farm animals. *Parasitol Today*. 1994;10(10):436-8.
6. Xiao L, Herd RP, McClure KE. Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. *J Parasitol*. 1994 Feb;80(1):55-9.
7. Wolfe MS. Giardia and giardiasis. New York (NY): Plenum; 1984.
8. Wisnivesky C. Ecología y epidemiología de las infecciones parasitarias. Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica; 2003.
9. Wilber R, Zenia B, Marisel D, Ana R, María G, Marta R, *et al*. El 1,2,3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Scielo Perú*. 2016 [acceso 20/07/2023];14(2):1-2. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342016000200015](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000200015)

10. Vega Gutiérrez ML, Alfaro González M, Triguez García M, Calvo Romero C. Giardiasis resistente a metronidazol: a propósito de un caso. Rev Pediatr Aten Primaria. 2008;10:261-6.
11. Vargas Mamani JJ. Parámetros bioquímicos y sanguíneos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*): revisión de la literatura. Rev Med Basadrina. 2020;14(1):52-5. DOI: <https://doi.org/10.33326/26176068.2020.1.927>
12. Vargas B, Miranda D, García A, Navarro M, Maldonado A, Trejo A, *et al.* Manejo de animales del bioterio de la UAM-Iztapalapa. México: División de ciencias biológicas y de la salud; 2018 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: <http://publicacionescbs.itz.uam.mx/DOCS/BIOTERIO.pdf>
13. Udezulu IA, Visvesvara GS, Moss DM, Leitch GJ. Isolation of two *Giardia lamblia* (WB strain) clones with distinct surface protein and antigenic profiles and differing infectivity and virulence. Infect Immun. 1992 Nov;60(11): 2274-80.
14. Torrez D, Pérez N, Boztt M, Menidola J, Hernández H. Sensibilidad de *Giardia lamblia* a extractos de *Artemisia absinthium* y *Artemisia vulgaris* in vitro. Rev Cubana Med Trop. 2001;45:S170-2.
15. Torrez D, Holland I, Palacio E. Efecto de un extracto alcohólico de propóleos sobre el crecimiento de *Giardia lamblia* in Vitro. Rev Cubana Cienc Vet. 1990;21:15-21.
16. Falcón P, Zabaleta V. Metodología de la investigación científica. CEPEUNT. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo (Perú); 1978
18. Svobodova V, Svobodova M, Konvalinova J. Comparison of the detection of *Giardia intestinalis* cysts with the presence of specific antibodies in dogs and cats. Vet Med Praha. 1995;40:141-6.
19. Soto V. Bases para la investigación científica y tesis universitaria. Chiclayo, Perú: Colegio Médico del Perú; 1989.
20. Moreno E, Araujo M, Alarcón M, Lugo A, Moreno S, Borges R. Alteraciones hematológicas y de glucosa sanguínea en ratas Wistar con infección chagásica.

Venezuela: Investigación Clínica; 2007 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3729/372937667007.pdf>.

21. Mead R. The desing of experiments: statistical principles for practical application. Cambridge University Press; 1984. En: Revista Animales de Laboratorio. Sección Técnicas. 2014 [acceso 20/07/2023];(42):31-33. Disponible en:

[https://www.uib.cat/digitalAssets/303/303729\\_2014\\_animaleslaboratorio\\_num6\\_2\\_31\\_33.pdf](https://www.uib.cat/digitalAssets/303/303729_2014_animaleslaboratorio_num6_2_31_33.pdf)

22. Monteza S, Rentería V. Prevalencia y factores asociados a *Giardia lamblia* en niños de Chongoyape, mediante la detección de coproantígenos y examen microscópico directo. [Tesis de grado]. Facultad de Ciencias Biológicas. UNPRG. Lambayeque (Perú); 2015.

23. Krinke G. The Laboratory Rat. 1<sup>a</sup> ed. Reino Unido: Academic Press; 2000.

24. Johnson M. Ratones y ratas de laboratorio. Synatom Research. New Jersey (USA);2012 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: <https://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>

25. Ibáñez H, Nicanor J, Jara C, César G, Guerra M, Antenor D, *et al.* Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas del alto Marañón, Amazonas, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2004 [acceso 20/07/2023];21(3):153-60. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36321303>.

26. Becerril FM. Parasitología médica. Barcelona (España): McGraw-Hill Interamericana de España S.L; 2014.

27. Barrón González M, Rodríguez Garza R, Quiñones Gutiérrez Y. Inhibición del crecimiento de *Giardia lamblia* por acción del extracto acuoso y metanólico de semillas de *Cucurbita pepo*. Rev Iberoamericana para la investigación del Desarrollo Educativo. 2009;(9):1-17.

28. Barassi N, Benavides F, Ceccarelli A. Ética en el uso de animales de experimentación. Buenos Aires: Rev. Medicina (Buenos Aires). 1996;56(1).

29. Atias A. Parasitología Médica. Santiago de Chile (Chile): Publicaciones Técnicas Mediterráneo; 2001.
30. Arévalo A, Duque S, Nicholls RS. Comportamiento de la infección experimental por aislamientos colombianos de *Giardia duodenalis* en el modelo animal del gerbo (*Meriones unguiculatus*). Biomédica 1. 2005 [acceso 20/07/2023];25(3):305-14. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572005000300006&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572005000300006&lng=en&tlng=es)
31. Arcila Quinceno VH, Conde Cotes CA, Nieto Pico JE, Garcia Prada FH. Comparación de los valores de referencia hematológicos en ratas Wistar/UIS (*Rattus norvegicus*) con parámetros establecidos en laboratorios de altos estándares. Spei domus;2010.
32. Heyworth MF. Relative susceptibility of *Giardia muris* trophozoites to killing by mouse antibodies of different isotypes. J Parasitol. 1992;78:73-6.
33. Hewlett EL, Andrews JS Jr, Ruffier J, Schaefer FW. Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. J Infect Dis. 1982;145:89-93.
34. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. Biomedicina. 2006 [acceso 20/07/2023];(2-3):252-6. Disponible en: <http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/modelo.pdf>
35. He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J, *et al.* Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. PLoS One. 2017 [acceso 20/07/2023];12(12). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC>
36. Goñi A, León D, Peña A, Ronda M, González B, Arteaga M, *et al.* Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB. REDVET. 2011;13(6).

37. Gómez-Rodríguez B T, Cortés Suárez S, Izquierdo-Sánchez T. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* Roscoe (jengibre) en modelo de hepatotoxicidad en ratas. Rev Cubana Plant Med. La Habana (Cuba); 2013.
38. Gómez D, Sosa I, Gómez E. Eficacia de una combinación de sulfadimidina, trimetroprim y sulfato de atropina (Hefrotrim 120) contra giardiasis en perros. Revista de Salud Animal. Mar. 2009 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=55190518&lang=es&site=eds-live&scope=site>
39. Fuentes M, Acosta L, Rodríguez P. Perfil lipídico, proteico y glicemia en ratas Sprague Dawley y Shr/N producidas en la UCLA. Gaceta de Ciencias Veterinarias. 2008 [acceso 20/07/2023];13(3). Disponible en: <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/~vol13num3art3dic08.pdf>
40. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio. Lima (Perú): Instituto Nacional de Salud; 2008 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA\\_ANIMALES\\_RATON.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf)
41. Fordtran JS, Locklear TW. Ionic constituents and osmolality of gastric and small-intestinal fluids alter eating. Am J Digest Dis. 1966;11:503-21
42. Filho W, Lima C, Ramos M, Silva M, Perilhao M, Caldeira M. Reference database of hematological parameters of growing and aging rats. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1350156>
43. Fernández J, Heuze Y. El programa interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio en las instituciones biomédicas. México: Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana; 2007.
44. Faubert GM, Belosevic M. Animals models for *Giardia duodenalis* type organisms. En: Meyer EA, editor. Human parasitic diseases;3. Giardiasis. Amsterdam: Elsevier Science Publishers Biomedical Division; 1990.

45. Eckmann L, Laurent F, Langford TD, Hetsko ML, Smith JR, Kagnoff MF. Nitric oxide production by human intestinal epithelial cells and competition for arginine as potential determinants of host defense against the lumen-dwelling pathogen *Giardia lamblia*. *J Immunol*. 2000;164:1478-87.
46. Delwatta S, Gunatilake M, Baumans VS, Siyani S, Batagoda S, Udagedara A, *et al.* Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats. Animal models and experimental medicine. Colombo (Sri Lanka);2018.
47. Craft JC. Experimental infection with *Giardia lamblia* in rats. *J Infect Dis*. 1982;145:495-8.
48. Cossio M, Gómez R, Vargas R, Tadeo R, Arruda M. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. Scielo; 2013 [acceso 20/07/2023]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112013000600047](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000600047)
49. Condo MC, Salamanca CE, Ticona JC, Monzón LJ, Flores N, Udaeta E, *et al.* Evaluación de la susceptibilidad in vitro sobre trofozoítos de *Giardia lamblia* frente a extractos de plantas de la Medicina Tradicional Tacana. *Rev. Cs. Farm. y Bioq*; [acceso 20/07/2023];4(1):105-12. Disponible en: <https://ojs.ucb.edu.bo/index.php/RCFB/article/view/844>.
50. Cardozo C, Osorio A, Martínez CR, Lolas F. El animal como sujeto experimental Aspectos técnicos y éticos. Chile: Centro interdisciplinario de Estudios en Bioética (CIEB); 2007.
51. Buret A, Gall DG, Nation PN, Olson ME. Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol Today*. 1990;6(11):375-80.
52. Bolant B, Calvo M, Cejalvo B, Gimeno L, Gimeno F, Uoris M. Hematología y bioquímica clínica de la rata Parte 1 y 2. Valencia; 1989. [acceso 20/07/2023]. Disponible en: [http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/Doctorado/cursos/CirExp/Tecnicas/F04\\_3.pdf](http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/Doctorado/cursos/CirExp/Tecnicas/F04_3.pdf)

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### Contribución de los autores

*Conceptualización:* Juan Luis Rodríguez Vega

*Curación de datos:* Graciela Olga Albino Cornejo, Martha Arminda Vergara Espinoza, Ana Socorro Vásquez Del Castillo, Wilmer Leoncio Calderón Mundaca.

*Análisis formal:* Graciela Olga Albino Cornejo, Martha Arminda Vergara Espinoza, Ana Socorro Vásquez Del Castillo, Wilmer Leoncio Calderón Mundaca.

*Metodología:* Graciela Olga Albino Cornejo, Martha Arminda Vergara Espinoza, Ana Socorro Vásquez Del Castillo, Wilmer Leoncio Calderón Mundaca.

*Redacción – borrador original:* Juan Luis Rodríguez Vega, Fransk Amarildo Carrasco Solano.

*Redacción – revisión y edición:* Juan Luis Rodríguez Vega, Fransk Amarildo Carrasco Solano.