Enfermedades parasitarias, parasitología

Rev. Med. Vet. (Buenos Aires) 2007; 88, 6: 237-241

Caracterización del quiste hidatídico en la especie porcina.

Negro, P. S.¹; Ardusso, G. L.¹; Pagano, F. G.¹; Bonifacio, D. R.¹; Bassi, A. R.¹; Giudici, C. J.¹; Ruiz, C. N.¹; Moriena, R. A.²

- 1. Parasitología y Enfermedades Parasitarias Fac. Cs. Veterinarias UNR pnegro@fveter.unr.edu.ar
- 2. Parasitología y Enfermedades Parasitarias Fac. Cs. Veterinarias UNNE

Palabras claves: Echinococcus granulosus, metacestode, cerdos.

RESUMEN

La Echinococcosis quística (Hidatidosis) producida por el Echinococcus granulosus es una enfermedad parasitaria de importancia en salud pública y veterinaria. El cerdo se comporta como hospedador intermediario desarrollando la forma larvaria o quiste hidatídico. Este trabajo se presenta información sobre características del quiste hidatídico de cerdos procedentes del sur de la provincia de Santa Fe, Argentina. Se halló una tasa de positividad del 8,1%. El órgano más afectado fue el hígado. El promedio de quistes por animal fue 4,2. La media del tamaño de los guistes fue 14,3 mm. La fertilidad hallada fue 21,5% y la vitalidad 73,8 %. El número de ganchos por protoescólex osciló entre 23 a 30, el rango del largo total de los ganchos grandes fue de $27.9 - 28.3 \,\mu m$ y el de los ganchos chicos 24.1 - 24.5μm. Se remitieron muestras para estudios moleculares correspondiendo las mismas a la cepa G7 cerdo. Teniendo en cuenta la procedencia de los animales, se destaca la importancia del cerdo como hospedador intermediario en el mantenimiento del ciclo del E. granulosus en el Sur de la provincia de Santa Fe.

Keywords: Echinococcus granulosus, metacestode, swine.

SUMMARY

Echinococcus cyst characterisation in swine.

(hydatidosis) produced Cystic echinococcosis Echinococcus granulosus is a parasitic disease of importance to public and veterinary health. Swine behave as intermediary hosts developing a larval form or echinococcus cyst. This paper gives information about the characteristics of the echinococcus cyst in swine from the south of Santa Fe province, Argentina. An 8.1% rate was found positive, being the liver the most frequently affected organ. The cyst mean rate per animal was 4.2. The mean cyst size was 14.3 mm. The fertility and vitality rates recorded were 21.5% and 73.8% respectively. The protoscolex hooks varied from 23 to 30 in number, with a total length range of 27.9 – 28.3 μm for the big hooks and $24.1 - 24.5 \mu m$ for the small ones. Samples of G7 swine strains were sent for molecular tests. Taking the animals' origins, the swine role in keeping the E. granulosus cycle in the South of Santa Fe Province can be considered as that of intermediary host.

Introducción

La Echinococcosis Quística (Hidatidosis) es una enfermedad parasitaria producida por el Echinococcus granulosus. Este cestode afecta a los cánidos en su estadío adulto y a más de 100 mamíferos, entre ellos al en su estadío larvario o denominado metacestode auiste hidatídico. El hombre se integra como hospedador intermediario accidental y su riesgo se relaciona con la contaminación del medio ambiente con huevos del parásito eliminados por los cánidos, como el de los hospedadores resto intermediarios animales1.

Tradicionalmente se identifica a la región patagónica como el área endémica de Hidatidosis más importante de la República Argentina, sin embargo en el resto del país se reconocen múltiples áreas de riesgo que le dan a la zoonosis el carácter de endemia nacional. Si bien en nuestro país el *E. granulosus* persiste a través del ciclo perro – ovino, se han identificado áreas (sur de Santa

Fe y Córdoba) donde el binomio más importante es el perro – cerdo; en la zona precordillerana el ciclo se mantiene entre el perro y el ovino y en el área de la puna se presenta un ciclo entre el perro y las llamas⁴.

Dentro del E. granulosus existen variables genéticas que permiten diferenciar distintas cepas por medio técnicas moleculares. reconocen en el mundo 9 cepas diferentes designadas como: G1 (oveja común), G2 (oveia Tasmania), G3 (búfalo), G4 (equina), G5 (vaca), G6 (camello), G7 (cerdo), G8 (cérvido), G9 detectado en casos humanos en Polonia¹². De las cepas mencionadas, en la República Argentina se han identificado las cepas G1, G2, G5, G6 y G7^{2,8,9}

De acuerdo a información de referencia, no está esclarecido si la cepa porcina sería infectiva para el hombre¹³, si bien en Polonia se han hecho estudios moleculares de quistes extraídos de humanos y correspondieron a la cepa G7¹²; en Argentina se están realizando estudios en la población humana que

presenta esta patología en las zonas donde se mantiene el binomio cerdo perro para saber qué sucede con esta cepa.

En el sur de la provincia de Santa Fe el ganado porcino ocupa el segundo lugar en número de cabezas existentes e impacto económico de las explotaciones ganaderas, con una existencia de 505.098 cabezas y 2108 establecimientos en producción. En los establecimientos faenadores se decomisa alrededor del 8% de de cerdos (fundamenvísceras talmente hígado y pulmón) por presentar Hidatidosis (SENASA, Delegación Caseros).

Por lo expresado se destaca la importancia de profundizar los estudios de la Hidatidosis en la especie porcina.

Materiales y Métodos

Procesamiento de muestras:

En una primera etapa se trabajó en un establecimiento faenador de cerdos de la localidad de Casilda, registrando: categoría, sexo y procedencia de los animales, datos que fueron proporcionados por la sección Inspección Veterinaria. En la playa de faena se realizó inspección y palpación de vísceras torácicas (corazón y pulmones) y abdominales (hígado, riñones, bazo, páncreas, estómago, intestinos). Los órganos positivos y los sospechosos fueron trasladados al Laboratorio de la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias -Universidad Nacional de Rosario (UNR), teniendo en cuenta las normas de bioseguridad vigentes para el traslado de las mismas.

En el Laboratorio de Parasitología se realizó una reinspección de los órganos, y foliado de los mismos (cortes con cuchillo distanciados un centímetro) para aumentar la detección de quistes. Se registró el tipo de órgano, se contaron los quistes hidatídicos y se determinó su lugar de asiento en cada víscera.

Los quistes hidatídicos se midieron con regla milimetrada, registrando el valor del diámetro mayor de los mismos. Se realizó incisión identificar estructuras características (membrana cuticular, membrana germinativa, arenilla y líquido hidatídico). Luego de la apertura del quiste se extrajo líquido hidatídico con pipeta Pasteur, se lo colocó sobre un portaobjetos, y se observó a microscopio óptico; la presencia de protoescólices determinó la fertilidad del quiste, la ausencia la infertilidad. Se agregó azul de tripán al 1% para determinar la vitalidad, en los protoescólices vitales la membrana de los mismos se tiñó suavemente y en los no vitales el colorante penetró en su interior y los tiñó intensamente⁶.

Los quistes sospechosos fueron remitidos al Servicio de Diagnóstico de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias - UNR.

En la segunda etapa se trabajó sobre 17 quistes hidatídicos fértiles y vitales, provenientes de cerdos de faenas domiciliarias, registrándose de 5 protoescólices de cada quiste hidatídico los siguientes datos:

-Número de ganchos rostelares.

-Largo total de ganchos rostelares chicos (con ocular micrométrico al microscopio óptico a 400 aumentos).
-Largo total de ganchos rostelares grandes (con ocular micrométrico al microscopio óptico a 400 aumentos). Estos registros se compararon con los obtenidos de quistes hidatídicos de otras especies (bovina y ovina) que ingresaron al Laboratorio de Parasitología en el período de estudio.

Se remitió líquido hidatídico de 8 quistes a institutos de referencia para determinar estudio de la cepa, en los cuales, para caracterizar la cepa se extrajo ADN de protoescólices de los quistes hidatídicos, se purificó el ADN por métodos estandard, se amplificó por PCR (reacción en cadena de polimerasa) el fragmento correspondiente al espaciador transcripto ITS1 de los genes ribosomales, se lo sometió a digestión con enzimas de restricción y se fraccionaron los productos a través de una electroforesis en geles de agarosa^{2,9}.

Análisis estadísticos:

Se utilizó el test de independencia de atributos 11 basado en la distribución del χ^2 para establecer la relación entre sexo y presencia de quistes

hidatídicos y para determinar relación entre tamaño y fertilidad de los quistes.

Se determinó el intervalo de confianza para el análisis de los registros de la longitud de los ganchos. El efecto sobre el número de ganchos se probó con el test de Kruskal – Wallis¹⁰.

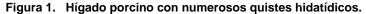
Resultados

Sobre un total de 912 cerdos inspeccionados se hallaron quistes hidatídicos en 74, determinándose una tasa de positividad del 8,1%.

Las categorías correspondieron en un 85% a cerdos jóvenes de peso aproximado a los 110 Kg.

No se halló asociación significativa entre sexo y presencia de quistes hidatídicos (p > 0,05).

El principal órgano afectado fue el hígado (Figura 1) contabilizándose un total de 298 metacestodes, prevaleciendo la ubicación en el lóbulo externo izquierdo con 108 hidátides (36,2%), 60 se hallaron en el lóbulo medio izquierdo (20,1%), 61 en el lóbulo externo derecho (20,5%), 60 en el lóbulo interno derecho (20,1), 6 en el lóbulo y/o proceso caudado (2 %) y 3 (1%) en el lóbulo cuadrado.





En 4 animales (5,4%) se hallaron quistes en pulmones, en los cuales también hubo localización hepática. El promedio de quistes por animal fue 4,2. La media del tamaño de los

quistes fue de 14,2 mm. El mayor registro fue de 130 mm.

La fertilidad de los quistes fue del 21,5% y la vitalidad fue del 73,8%. La Figura 2 muestra como se observan

los protoescólices vitales y la Figura 3 los no vitales.

Figura 2. Protoescólices vitales 100x.

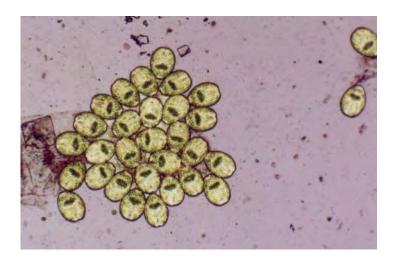
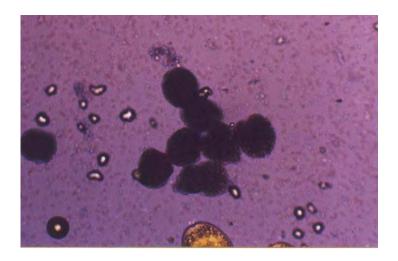


Figura 3. Protoescólices no vitales 100x.



Se halló asociación significativa entre tamaño y fertilidad de los quistes (p <0.05).

En las serosas de los órganos abdominales de 4 animales se hallaron estructuras semejantes a quistes hidatídicos, pero presentaban una membrana traslúcida y contenían un solo escólex; su tamaño osciló entre 60 a 120 mm. Por sus características, ubicación y tamaño, las mismas fueron identificadas como

Cisticercus tenuicollis (metacestode de la Taenia hydatigena).

Seis estructuras dudosas fueron remitidas al Servicio de Anatomía Patológica. Los estudios anátomo e histopatológicos determinaron microabscesos, granulomas parasitarios y necrosis focal inespecífica descartando el diagnóstico de Hidatidosis.

En 68 riñones se detectaron estructuras compatibles con quistes hidatídicos, pero ninguna corres-

pondió a Hidatidosis debido a que no se halló membrana prolígera; la membrana externa era transparente y el líquido que presentaban era semejante a orina. Todas estas estructuras identificadas macroscópicamente en la playa de faena correspondieron a quistes renales no hidatídicos (Figura 4).

Figura 4. Quiste renal no hidatídico.



Sobre 17 quistes hidatídicos fértiles y vitales, provenientes de cerdos de faenas domiciliarias, se registraron medidas de los ganchos de 5 protoescólices (en total 85), con el objetivo de tener registros de datos para identificar por medio de la morfometría características que pudieran utilizarse para la

diferenciación de la cepa porcina con otras especies animales del *E. granulosus*, teniendo como referencia a otros autores que lograron caracterizar cepas de acuerdo a esta metodología⁷. Estos registros se compararon con datos de quistes hidatídicos de otras especies que ingresaron al Laboratorio de

Parasitología en el período de estudio. Se presentan en la Tabla 1 los datos obtenidos. Se remitió líquido hidatídico de 8 quistes para estudios moleculares a institutos de referencia. Los resultados determinaron que correspondieron al genotipo G7 cerdo en todos los casos.

Tabla 1. Medidas de los ganchos de los protoescólices del *E. granulosus* de distintas especies animales.

	PORCINO	BOVINO	OVINO
Número de protoescólices observados	85	8	4
Número de ganchos (rango)	23 - 30	26 - 35	30 - 38
Largo total ganchos grandes (rango en µm)	27,9 - 28,3	7,5 - 29	25
Largo total ganchos chicos (rango en µm)	24,1 - 24,5	23,4 - 24	22,1 - 22,3

Discusión y conclusiones

La tasa de positividad hallada en este trabajo se encuentra dentro de los porcentajes notificados por el SENASA para decomisos de órganos por Hidatidosis porcina en la provincia de Santa Fe (5 a 8 %).

La fertilidad observada (21,5%), menor a la hallada en un estudio previo (50,9%)⁵ realizado en la Cátedra de Parasitología, podría atribuirse a la categoría de muestreo, pues en el trabajo actual la mayoría de los animales inspeccionados que resultaron positivos correspondieron a animales jóvenes y en el anterior predominaron reproductores descarte. La mayoría de los quistes hidatídicos menores a 20 mm resultaron infértiles, se sabe que el quiste hidatídico en sus primeras etapas de formación es incapaz de generar protoescólices, y en general lo hace cuando llega a cierto tamaño³ que generalmente oscila entre los 18 a 20 mm.

El órgano más afectado fue el hígado. La marcada preferencia por el asentamiento en el lóbulo izquierdo se debería posiblemente a la mayor distribución y variaciones en la

disposición y emergencia desde el lado izquierdo de la arteria hepática. La cepa G7 cerdo del *E. granulosus* tiene preferencia por este órgano para su desarrollo¹³.

En general la identificación de esta estructura parasitaria es sencilla, no existiendo grandes dificultades con diagnósticos diferenciales a excepción de los quistes hallados en riñón, si bien es una localización posible; muchas veces en playa de faena los operarios confunden quistes renales no hidatídicos, comúnmente conocidos como hidronefrosis, con quistes hidatídicos, notificándolos en planillas de decomiso, lo que puede producir una sobreestimación de decomisos de este órgano por Hidatidosis.

Ponce Gordo, F. y Cuesta Bandera, C. (1997) caracterizaron protoescólices en porcinos de España registrando medidas de longitud de ganchos grandes, en un rango entre 25 y 27,4 µm y de ganchos chicos entre 21,1 y 22,7µm. Para bovinos del mismo país determinaron para ganchos grandes 24,2 - 24,7µm y para ganchos chicos 20,8 µm.

Si bien son escasos los datos obtenidos en nuestro estudio para comparar con los registros bovinos, se sometieron estos datos a análisis estadísticos, los que proporcionaron diferencias significativas entre las distintas especies estudiadas. La longitud promedio de los ganchos en la muestra de origen bovino indicó, que en esta especie, los ganchos chicos son más cortos que los relevados en porcinos (22,8 µm), mientras que los ganchos grandes son más largos (28,5 µm).

Se concluye que el cerdo cumple un rol epidemiológico en el mantenimiento del ciclo del E. granulosus en el sur de la provincia de Santa Fe. Se continuará con estudios del metacestode de este parásito en las especies porcina bovina y ovina (a pesar de que esta especie se encuentra en menor proporción que las otras) para establecer un criterio de identificación de las cepas mediante estudios de la morfometría de los protoescólices comparándolos con estudios moleculares.

El poder establecer esta caracterización con animales de la zona de influencia permitiría continuar con estudios epidemialógicos, utilizando a la morfometría como criterio de identificación.

Bibliografía

- Acha, P.N.; Szyfres, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3º ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica № 580. pp 195 - 211.
- Cerrone, G. E. 1999. Argentine Echinococcus granulosus strains molecular analysis. Archivos Internacionales de la Hidatidosis. Vol XXXIII pp150 -151.
- González, H., Plaza, J.; Abalos, P. Fertilidad del quiste hidatídico en tres especies animales en Chile y estudio de la vitalidad de sus escólices. Bol. Chile. Parasit., 1981, 36: 14-19.
- Guarnera, E. A. 1998. Hidatidosis en provincias no patagónicas. En: Temas de Zoonosis y Enfermedades Emergentes. AAZ. pp 181-183.
- Negro, P.S.; Ardusso, G.L.; Pagano, F.G.; Giudici, C.J. 1994. Hidatidosis en porcinos en departamentos del sur de la provincia de Santa Fe. XXIII Jornadas Internacionales de Hidatidología y V Seminario Patagónico de control de la Hidatidosis. Puerto Madryn. Argentina.
- Pauluzzi, S.; Sorice, F.; Castagnari e L.E.; Serra, P. Studio sulla vitalità degli scolici di *Echinococcus* granulosus mediante sostanze coloranti. 1964. Giorn. Mal. Infet. Parast., 16:446-447.

- Ponce Gordo, F.; Cuesta Bandera, C. 1997.
 Differentiation of Spanish Strains of Echinococcus granulosus using Larval Rostellar Hook Morphometry. International Journal of Parasitology 27: 41-49.
- Rosenzvit, M.; Zhang, L.H.; Kamenetzky, L. Canova, S.G.; Guarnera, E.A.; Mc Manus, D.P. 1999. Genetic variations and epidemiology of *Echinococcus* granulosus in Argentina. Parasitology 118 (525-530).
- Rosenzvit, M. 1999. The Echinococcus granulosus strain situation in Argentina. Archivos Internacionales de la Hidatidosis. Vol XXXIII pp145-149.
- Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. 1971 Métodos estadísticos. México: Compañía Editorial Continental S.A. pp 20-24,30-32.
- Sockal, R.R.; Rohlf, F.J. Biometría. 1979 Principios estadísticos en la investigación biológica. Madrid: H. Blume Ediciones. pp169-172.
- Stefaniak Jerzy. Sixteen cases of liver cystic Echinococcosis in humans caused by pig strain in Poland. 1999. Archivos Internacionales de la Hidatidosis. Vol XXXIII. pp329.
- Thompson, R.C.A. In: Thompson, R.C.A. and Lymbery A.J. 1995. Echinococcus and Hydatid Disease. CAB Internacional: pp 1-50.