

OBTENCIÓN DE *Echinococcus granulosus* EN CANINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON PROTOESCÓLICES DE QUISTES HIDATÍDICOS*

OBTAINING OF *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* IN EXPERIMENTALLY INFECTED DOGS WITH PROTOSCOLICES OF HYDATID CYSTS

Sofía Rosales G.¹, César Gavidia C.^{1,2}, Luis Lopera B.¹, Eduardo Barrón G.¹, Berenice Ninaquispe B.¹, Carmen Calderón S.¹ y Armando Gonzáles Z.¹

RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo reproducir experimentalmente el ciclo biológico del *Echinococcus granulosus* en perros. Se utilizó 12 perros (4-50 meses de edad) que fueron infectados experimentalmente con 80,000 a 308,000 protoescólices de quistes hidatídicos de pulmón e hígado de ovinos procedentes de Junín y Ayacucho. Los perros se sacrificaron 28 a 39 días post infección (p.i). El intestino delgado se dividió en tres porciones iguales (anterior, media y posterior). Los parásitos fueron separados del intestino y contados. Además, en tres perros se determinó el grado de dispersión del parásito en las tres porciones del intestino delgado. Ocho de los 12 perros se infectaron, recolectándose entre 1,299 a 65,000 parásitos adultos por perro. Los animales sacrificados el día 28 p.i resultaron negativos, mientras que ocho de los nueve perros sacrificados a partir del día 30 p.i. resultaron positivos. El sitio de mayor predilección del parásito fue la porción media del intestino delgado. Se demostró que la inoculación de protoescólices de quistes hidatídicos ovinos, vía oral, es efectiva para reproducir el ciclo biológico del *E. granulosus* en perros.

Palabras clave: *Echinococcus granulosus*, infección experimental, post infección, protoescólex

ABSTRACT

The objective of the present study was to experimentally reproduce the biological cycle of *Echinococcus granulosus* in dogs. Twelve dogs, 4-50 months old, were infected with 80,000-308,000 protoscolices recovered from lung and liver hidatyd cysts in sheep reared in the central highlands of Peru. Dogs were slaughtered 28-39 days post infection (p.i) and the small intestine was divided in three equal portions (anterior, medium, and posterior) and parasites were counted. The location of parasites in the three portions of intestine was recorded in three dogs. Eight out of 12 dogs resulted positive to the infection

* Fuente financiadora: NIAID-NIH Perú TMRC Program Grant AI 51976

¹ Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

² E-mail: cgauidiac@unmsm.edu.pe, cmgavidia@yahoo.com

and the number of parasites varied from 1,299 till 65,000 per dog. Animals slaughtered on the 28th p.i day resulted negative. The preferred site for parasites was the medium portion of the small intestine. It was shown that the oral inoculation of protoscolices from sheep hydatid cysts was effective to reproduce the biological cycle of the *E. granulosus* in dogs.

Key words: *Echinococcus granulosus*, experimental infection, post infection, protoescolex

INTRODUCCIÓN

La hidatidosis o Equinocosis Quística es una enfermedad zoonótica de distribución geográfica mundial (Larrieu *et al.*, 2004). Es altamente endémica en algunos países de Latinoamérica, con altos índices de morbilidad en Argentina, Brasil, Chile, Perú y Uruguay (Apt *et al.*, 2000). Tiene una alta prevalencia en la Sierra Central y Sur del país (Chambilla *et al.*, 1998), especialmente en Junín, Pasco, Puno y Arequipa (Huamán, 1987), ocasionando grandes pérdidas económicas (Leguía, 1999).

La hidatidosis es producida por la fase larval del parásito *Echinococcus granulosus* que se aloja en órganos como hígado y pulmón de los hospedadores intermediarios (hombre y ungulados). Es un problema de salud pública debido a las malas prácticas de higiene y salubridad del hombre, relacionada a la crianza extensiva de ganado, a los bajos niveles socioeconómicos y a la escasa educación sanitaria de las personas (González *et al.*, 1998). Los hospedadores intermediarios se infectan cuando ingieren plantas contaminadas con huevos. Las personas mayormente se infectan por contacto directo con perros infectados, ya que estos pueden transportar los huevos en el pelo o pueden diseminar los huevos en el suelo donde los niños acostumbran jugar (Jiménez *et al.*, 2004).

El hospedador definitivo y principal diseminador del parásito es el perro que se infecta al consumir vísceras crudas infectadas con quistes hidatídicos con protoescolices viables de los hospedadores intermediarios

(Dixon, 1997). La convivencia de este carnívoro con el hombre y la relación amical existente entre ellos permite que se mantenga la cadena de transmisión y la persistencia de la infección (Chuquisana *et al.*, 2000). Por este motivo, los cánidos tienen un considerable valor para realizar estudios e implementar programas de control de *E. granulosus*.

Todavía no se han completado los estudios sobre la respuesta inmune sistémica y local a la presencia del parásito en el intestino delgado del perro. Una vacuna aplicada a los hospedadores definitivos podría ser efectiva en programas de control de la hidatidosis por las características del ciclo del parásito, reduciendo la cantidad de huevos que infectan al humano (Moreno *et al.*, 2004); por lo tanto, es necesario contar con un modelo de experimentación animal donde se replique el ciclo de vida del parásito en ambientes controlados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño General

El estudio se realizó en el Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Se emplearon 12 perros cruzados, de ambos sexos, entre 4 y 50 meses de edad. Se alojaron en caniles y se les suministró concentrado comercial y agua *ad libitum*. Se les desparasitó tres veces en un lapso de 15 días con la combinación de Praziquantel (50 mg/

kg), Febantel (150 mg/kg) y Emboato de Pirantel (50 mg/kg), con la finalidad de evitar la interferencia de otros parásitos en el desarrollo del *E. granulosus*. Dos meses después de su llegada fueron vacunados contra parvovirus, distemper, parainfluenza, hepatitis y leptospira, y se les aplicó una dosis de refuerzo a los 15 días. Los perros fueron infectados al 3^{er} mes con 80,000 a 308,000 protoescólices de quistes hidatídicos de pulmón e hígado de origen ovino, provenientes de la zona ganadera de Junín y Ayacucho, y colectados en el camal de Yerbateros (Lima). Los quistes tenían una viabilidad de 75 a 85%.

Infección Experimental

Los quistes hidatídicos se evaluaron físicamente y aquellos calcificados o menores de 1 cm de diámetro fueron descartados. El lugar donde se iba a punzar el quiste fue desinfectado con alcohol y se extrajo el líquido hidatídico con una jeringa de 10 ml y aguja 20 x 1". El líquido fue devuelto suavemente de manera que la arenilla hidatídica quede suspendida en el fluido y, finalmente, fue extraído y colocado en un tubo Falcon de 50 ml, donde se esperó que ocurra la sedimentación para retirar el sobrenadante.

Se evaluó la viabilidad de los protoescólices (p.e.) con el colorante vital eosina en solución acuosa al 0.1% y se determinó el número de p.e. totales y vivos. El número mínimo de p.e. administrados a los canes fue de 80,000 y se hizo en base a p.e. vivos/ml. Los perros quedaron en ayunas por 24 horas previo a la infección experimental y la dosis infectiva se colocó en una jeringa dosificadora con 5 ml de agua.

Los animales se sacrificaron entre los 28 y 39 días de la infección; para esto, se dejaron en ayuno de 24 horas y se les anestesió con xylacina (2 mg/kg) y ketamina (10 mg/

kg). Se realizó una laparotomía medial, se ligaron los extremos del intestino delgado y se extrajo. Luego de esto, se sacrificó al animal con una inyección letal de embutramida, mebezonio y tetracaína (3 mg/kg). El intestino delgado se dividió en tres porciones iguales (anterior, media y posterior) y se realizó una incisión longitudinal en cada sección. Cada una de ellas fue fijada en láminas de corcho y sumergidas en bandejas con suero fisiológico. Estas se colocaron en un agitador por 30 min, se retiró el suero fisiológico con los parásitos suspendidos y se procedió a raspar la mucosa intestinal. La solución con los *E. granulosus* se colocó en placas Petri, se observaron con lupas y se contó el número de tenias. Así mismo, en tres animales se contó el número de parásitos para cada porción del intestino delgado.

RESULTADOS

De los 12 perros infectados experimentalmente, ocho presentaron *E. granulosus* en el intestino delgado (Cuadro 1). Los perros que fueron sacrificados el día 28 post infección (p.i.) resultaron negativos. Así mismo, de los nueve perros sacrificados a partir del día 30 p.i., ocho resultaron positivos y uno resultó negativo a la infección experimental (Cuadro 1). El porcentaje de recuperación de tenias varió entre 0.6 y 30.9%.

El mayor número de parásitos se encontró en la porción media del intestino delgado (Cuadro 2). Se encontraron algunas diferencias por efecto de la procedencia de los quistes hidatídicos, pero el escaso número de perros no permitió hacer un análisis estadístico detallado.

Cuadro 1. Porcentaje de recuperación de *Echinococcus granulosus* en perros infectados con protoescolices de quistes hídricos en pulmón e hígado de ovinos

ID	Edad (m)	Sexo ¹	Dosis infectiva (en miles)	Días post infección	Tenias (n)	Recuperación (%)
1	50	M	80	28	0	-
2	50	H	80	28	0	-
3	6	H	200	28	0	-
4	6	M	210	32	1,299	0.6
5	6	H	210	30	1,500	0.7
6	6	M	210	31	3,300	1.5
7	6	H	210	30	4,000	1.9
8	6	H	210	33	65,000	30.9
9	6	M	220	32	0	-
10	4	H	220	39	1,896	0.9
11	11	M	264	32	18,500	7.0
12	6	H	308	35	26,539	8.6

¹M: macho; H: hembraCuadro 2. Resultado de la dispersión de los *Echinococcus granulosus* en tres porciones del intestino delgado de perros infectados con protoescolices de quistes hídricos en pulmón e hígado de ovinos

Dosis infectiva ¹	<i>E. granulosus</i> recuperados del intestino delgado (n)						Total (n)
	Anterior		Medio		Posterior		
	n	%	n	%	n	%	
220	107	5.6	1,750	92.2	39	2.2	1,896
264	1,600	8.6	14,100	76.2	2,800	15.0	18,500
308	15,000	56.1	11,500	43.3	39	0.1	26,539

¹En miles

DISCUSIÓN

En la infección experimental se utilizaron protoescolices de quistes hidatídicos de origen ovino debido a que es el rumiante de mayor población en el Perú y es la especie más importante para el mantenimiento del ciclo del parásito (Rojas, 2003). La viabilidad de los protoescolices empleados en el presente trabajo (70-85%) fue superior a otros reportes en ovinos (Llamazares *et al.*, 1997).

Las diferencias encontradas entre protoescolices de quistes hidatídicos de diversas zonas ganaderas probablemente pueda deberse a la presencia de subespecies de *E. granulosus* (hay 9 subespecies identificadas) que permite que tengan diferentes características que afectan el ciclo de vida, hospedadores intermediarios, porcentaje de desarrollo, antigenicidad, evidencia genética a la respuesta inmune, dinámica de transmisión, sensibilidad a los tratamientos, etc. (Dixon, 1997; Mc Manus y Zhang, 2003).

El hallazgo de ejemplares de *E. granulosus* en el intestino delgado a partir del día 30 p.i. hace suponer que el periodo de prepatencia del parásito en perros en el país es de aproximadamente 30 días. Otros estudios indican periodos prepatentes de 28 a 32 días (Gemmell *et al.*, 1986; Jenkins y Richard, 1986; Jenkins *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2004).

Se encontró una gran variación entre el número de protoescolices inoculados (80,000 a 308,000) y el número de parásitos recuperados (1,299 a 65,000). Es posible que esta variación se deba a su viabilidad y a la resistencia inmune de los perros (Saad, 1987; Zhang *et al.*, 2003). Los resultados no indicaron una relación aparente entre la edad de los perros y la susceptibilidad. Estudios similares señalan que no existe tal asociación (Gemmell *et al.*, 1986; Lymbery *et al.*, 1989).

Aparentemente, existe una predilección del *E. granulosus* por el tercio medio del in-

testino delgado, resultado comparable con los resultados de Zúñiga *et al.* (1999); sin embargo, otros estudios demuestran una mayor proporción de parásitos en el tercio anterior del intestino delgado (Gemmell *et al.*, 1986; Lymbery *et al.*, 1989; Moreno *et al.*, 2004). Las porciones anterior y media del intestino delgado son denominadas sitio de restricción y allí se da la agregación de los parásitos para la fertilización o adherencia individual (Lymbery *et al.*, 1989).

CONCLUSIONES

La infección experimental, via oral, con protoescolices de quistes hidatídicos ovinos es efectiva para reproducir el ciclo biológico del *E. granulosus* en perros.

LITERATURA CITADA

1. **Apt W, Perez C, Galdanez E, Compano S, Vega F, Vargas D, Rodríguez J, Retamal C, Cortés P, Zulantay I, Rycke P. 2000.** Equinococosis/hidatidosis en la Séptima Región de Chile: diagnóstico e intervención educativa. Rev Panam Salud Pública 7: 1-9.
2. **Chambilla V, Carpio M, Hilari H, Ciriaco Z. 1998.** Prevalencia de la hidatidosis y prevalencia de la echinococosis en la provincia de Melgar-Puno. Rev Per Parasitol 13: 42-46.
3. **Chuquisana J, Chávez A, Casas E. 2000.** Determinación del *Echinococcus granulosus* en perros en el cono Norte de Lima. Rev Inv Vet, Perú 11(2): 24-29.
4. **Dixon J. 1997.** Echinococosis. Comp Immun Microbiol Infec Dis 20(1): 87-94.
5. **Gemmell M, Lawson J, Roberts M. 1986.** Population dynamics in echinococosis and cysticercosis: biological parameters of *Echinococcus granulosus* in dogs and sheep. J Parasitol 92: 599-620.

6. **González J, González G, Saffo A, Bessone A, Chasagnade M, Ugnia L, Eyers M, Esposito N, Bernades G, Alcabo A, Guendulain M, Flores M. 1998.** Equinococosis canina en un sector del departamento de Río Cuarto, provincia de Córdoba, Argentina. *Arch Med Vet* 30(2): 157-163.
7. **Huamán N. 1987.** Análisis de la casuística de patología quirúrgica del hospital Daniel Alcides Carrión-Callao (1969-1987). Tesis de Maestría. Lima: Facultad de Medicina, Univ. Peruana Cayetano Heredia. 42 p.
8. **Jenkins D, Rickard M. 1986.** Specific antibody responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg* 35(2): 345-349.
9. **Jenkins D, Fraser A, Bradshaw H, Craig P. 2000.** Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. *J Parasitol* 86(1): 140-145.
10. **Jimenez S, Pérez A Juste R, Quiñones C. 2004.** Diecisiete años del programa de control de la hidatidosis en la Rioja: Resultados y valoración económica. *Bol Epidemiol Rioja* 196: 26-30.
11. **Larrieu A, Belloto A, Aramburu P, Tamayo H. 2004.** Cystic echinococcosis: Epidemiology and control in South America. *Rev Parasitol Latinoam* 59(1): 82-89.
12. **Leguía G. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Lima: Ed. de Mar. 190 p.
13. **Llamazares J, Alavarez A, Redondo P, Prieto J. 1997.** Estudio de la fertilidad y viabilidad de quistes hidatídicos ovinos. *Rev Española Salud Pública* 71(5): 445-449.
14. **Lymbery A, Hobbs R, Thompson R. 1989.** The dispersion of *Echinococcus granulosus* in the intestine of dogs. *J Parasitol* 75: 562-570.
15. **Mc Manus D, Zhang W. 2003.** Echinococcosis. *Seminars. The Lancet* 362: 1295-1304.
16. **Moreno M, Benavidez U, Carol H, Rosenkranz H, Welle M, Carmonac C, Nieto A, Chabalgoity J. 2004.** Local and systemic responses to *Echinococcus granulosus* in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol* 119: 37-50.
17. **Rojas M. 2003.** Neoparasitosis de perros y gatos peruanos. Lima: Ed. La Molina. 83 p.
18. **Saad M. 1987.** Experimental transmission of hydatid infection from camels and cattle to dogs. *Ann Trop Med Parasitol* 82(4): 363-365.
19. **Zhang W, Li J, Mc Manus D. 2003.** Concepts immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev* 16(1): 18-36.
20. **Zúñiga I, Jaramillo C, Martínez J, Cárdenas J. 1999.** Infección experimental de equinococosis canina a partir de quiste hidatídico de origen porcino en México. *Rev Salud Pública* 33(3): 1-5.