

Estudio de las alteraciones histopatológicas en cerdos infectados experimentalmente con *Trichinella spiralis*

RIBICICH, M.¹; CHAVEZ, M.³; CARFAGNINI, J.³; BASSO, N.¹; ROSA, A.¹; FRANCO, A.²

RESUMEN

La triquinelosis es una enfermedad zoonótica. El ciclo cerdo/hombre es el que reviste mayor importancia epidemiológica. El alojamiento del nematode *Trichinella spiralis* en los músculos esqueléticos, así como el tránsito de las larvas recién nacidas por el organismo, dan lugar a modificaciones patológicas en los distintos órganos y tejidos. Se estudiaron las lesiones producidas por esta enfermedad en 14 cerdos inoculados por vía oral con 100, 500, 5000 y 50000 larvas infectantes de *Trichinella spiralis*. A los 100 días postinoculación se sacrificaron los animales y se tomaron muestras de tejido muscular y de distintos órganos para realizar exámenes histopatológicos.

Se obtuvieron muestras de los siguientes órganos: corazón, pulmón, riñón, hígado, bazo, linfonódulos y músculos de la lengua, base de lengua, maseteros, intercostales, de la paleta, sublumbares, cuello, región lateral del muslo, diafragma y cutáneo. Los resultados permitieron caracterizar la migración diferencial de *Trichinella spiralis* y las alteraciones patológicas observadas.

Palabras clave: (*Trichinella spiralis*), (cerdos), (patología), (músculos)

¹ Parasitología y Enfermedades Parasitarias, ² Veterinaria en Salud Pública, ³ Patología Básica, Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. Chorroarín 280. (1427CWO) Bs. As.

E-mail: mrubicich@fvet.uba.ar

Recibido: octubre 2003. Aceptado: septiembre 2004. Versión on line: octubre 2004.

Study of the histopathological changes produced in experimentally inoculated pigs with *Trichinella spiralis*

SUMMARY

Trichinellosis is a zoonotic disease and the cycle between pig/man is an important tool in the epidemiology. The housing in the skeletal muscles of the nematode *Trichinella spiralis* and the passage of the new born larvae through the body, produce deep pathologic changes in different organs and tissues.

In this work we have studied the histopathological changes produced by larvae migration in 14 pigs that were orally inoculated with 100, 500, 5000 and 50.000 infective larvae of *T.spiralis*. Pigs were killed at 100 days post-inoculation and muscular tissues and organs were analyzed by histopathology. Samples of heart, lung, kidney, liver, spleen, lymph nodes, and muscles of tongue, tongue base, masseters, intercostals, shoulder, sublumbar, neck, cutaneous, of lateral of thigh and diaphragm were obtained. Results described the predilection site selected by larvae during the migration phase and the pathological changes produced by that in different organs and muscles of pigs.

Key words: (*Trichinella spiralis*), (pigs), (pathology), (muscles)

INTRODUCCIÓN

Trichinella spiralis tiene un ciclo de vida directo, el cual se inicia tras la ingestión de carne parasitada cruda o insuficientemente cocida. El hombre y diversos animales domésticos y sinantrópicos tales como cerdos, perros, gatos, caballos, roedores y otros animales silvestres son los hospedadores susceptibles señalados con mayor frecuencia en la bibliografía^{2,3}. En los cerdos, la transmisión puede ocurrir por el consumo ocasional de roedores de granja, animales domésticos y salvajes o sus carroñas, como consecuencia del canibalismo o por alimentarlos con residuos de carne cruda o insuficientemente cocida.

Excepto el breve lapso en el que las larvas de primer estadio (L₁) se liberan de las fibras musculares por efecto de las enzimas proteolíticas en el estómago del hospedador, el único período en el que *T. spiralis* se encuentra

fuera de las células, es la etapa de migración hacia los músculos estriados. Antes de penetrarlas, *T. spiralis* debe localizar las células a infectar y son ellas las que le brindaran un ecosistema adecuado para su completo desarrollo^{1,4}.

El crecimiento de *T. spiralis* ha sido estudiado extensivamente³. Dentro de la fibra muscular la larva crece, se enrolla y amplía un segmento de la fibra muscular del huésped, generando cambios estructurales y metabólicos. Los núcleos se alargan, las miofibrillas se reducen y la lámina basal se incrementa, engrosa y aumentan los pliegues alrededor del segmento afectado. El retículo endoplasmático prolifera y las mitocondrias aumentan en número y reducen su tamaño⁸. Los cambios generados por la penetración del parásito se ven reflejados en ambos protagonistas de este evento: la célula muscular por un lado y el parásito por otro¹². Dentro de la célula muscular el parásito induce una serie de modificaciones que tendrán como

resultado el desarrollo de una entidad altamente especializada y anatómicamente independiente, *la célula nodriza*⁹. El tránsito por el organismo en búsqueda de las células blanco que le brindarán alojamiento va a reflejarse en los síntomas característicos de la infección³.

La rata y el ratón han sido hasta el presente los animales más utilizados en el estudio de las lesiones histopatológicas producidas por *T. spiralis*^{5,6,10}.

El presente trabajo es uno de los pocos realizados en la especie porcina. El cerdo es considerado un miembro de la cadena epidemiológica y principal transmisor de este parásito al hombre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Infección de los cerdos

Se estudiaron 14 cerdos, cruce *Landrace* con *Large White*, de 60 días de edad y un peso promedio inicial aproximado de 20 Kg. La experiencia se llevó a cabo en el criadero de cerdos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Se organizaron 5 grupos de cerdos para realizar la inoculación experimental con larvas infectantes de *T. spiralis*.

Grupo 1: 3 cerdos inoculados con 100 larvas, grupo 2: 3 cerdos inoculados con 500 larvas, grupo 3: 3 cerdos inoculados con 5000 larvas, grupo 4: 3 cerdos inoculados con 50000 larvas, el grupo control (no inoculados) se conformó con 2 animales.

Los cerdos fueron sacrificados con tiopental sódico, 100 días después de la inoculación, previa sedación por vía endovenosa con maleato de acepromacina.

A los tres cerdos inoculados con 50000 larvas (grupo 4) se les realizó la eutanasia y necropsia a los 17 y 22 días post-inoculación,

para estudiar las lesiones producidas durante la fase aguda de la enfermedad.

Recolección de muestras y análisis histopatológico

Se tomaron muestras de distintos músculos y órganos de los animales sacrificados para realizar los exámenes histopatológicos previstos en el protocolo del estudio. Las muestras seleccionadas fueron conservadas en formol al 10%.

Se obtuvieron muestras de corazón, pulmón, riñón, hígado, bazo y linfonódulos y de los siguientes músculos: lengua, base de lengua, maseteros, de la espalda, lumbares, del cuello, cutáneo, diafragma, región lateral del muslo y sublumbares (íleo-psoas, cuadrado lumbar, psoas menor).

Las muestras fueron procesadas por los métodos usuales y los cortes de tejido fueron coloreados con hematoxilina y eosina, previo al estudio microscópico.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se pueden observar en las tablas 1, 2 y 3 y en las fotografías 1, 2 y 3.

Los cerdos del grupo control no evidenciaron lesiones histopatológicas en ninguno de los órganos y músculos analizados.

Las lesiones histopatológicas observadas en el grupo 1 (inoculado con 100 larvas) se correspondieron con alteraciones hemodinámicas. En los animales de este grupo no se observaron larvas de *T. spiralis* y las alteraciones en las muestras de los músculos intercostales, de la espalda y cutáneo, fueron compatibles con un proceso inflamatorio localizado de curso sub-agudo.

En el grupo 2 (inoculado con 500 larvas) los hallazgos histológicos se corresponden con una migración larvaria selectiva que se concentra en los músculos maseteros e intercostales (Foto 1).

Tabla 1. Hallazgos histopatológicos en hígado, riñón, pulmón, bazo, linfonódulos y corazón durante la fase aguda y crónica de la infección por *Trichinella spiralis* en cerdos

| | Hígado | Riñón | Pulmón | Bazo | Linfonódulos | Corazón |
|-------------------------|---|--|--|--------------------------------|----------------------|--|
| Grupo control | - | - | - | - | - | - |
| Grupo 1 | Fenómenos congestivos | Congestión difusa | Edema bronquiolar | - | Hiperplasia reactiva | - |
| Grupo 2 | - | - | Enfisema Inflamación peribronquial | - | - | - |
| Grupo 3 | Congestión difusa Infiltrado de células Inflamatorias | - | Congestión Inflamación peribronquial | - | - | - |
| Grupo 4 (fase aguda) | Áreas centrolobulillares hemorrágicas | Degeneración y dilatación de las células tubulares | Inflamación peribronquial y peribronquiolar Congestión Edema | Hiperplasia folicular reactiva | Hiperplasia reactiva | Áreas degenerativas Edema Congestión |

(-) sin evidencias de lesiones histopatológicas

Tabla 2. Hallazgos histopatológicos en lengua, base de lengua, maseteros, músculos de la paleta y músculos sublumbar durante la fase aguda y crónica de la infección por *Trichinella spiralis* en cerdos

| | Lengua | Base de lengua | Maseteros | Músculos de la espalda | Músculos Sublumbares |
|-------------------------|--|---|--|---|---|
| Grupo control | - | - | - | - | - |
| Grupo 1 | - | - | - | Áreas de necrosis coagulativa y reacción inflamatoria | - |
| Grupo 2 | - | - | <i>T. spiralis</i> (++) Inflamación | - | - |
| Grupo 3 | <i>T. spiralis</i> (+++) Importante reacción inflamatoria. Presencia de edema intra y extracelular | <i>T. spiralis</i> (+++) Ausencia de reacción inflamatoria | <i>T. spiralis</i> (+++) Inflamación y áreas hemorrágicas | Degeneración de las fibras musculares Edema intracelular | Degeneración de las fibras musculares Edema intracelular |
| Grupo 4 (fase aguda) | <i>T. spiralis</i> (+++++) Moderada reacción inflamatoria | <i>T. spiralis</i> (+++++) Moderada reacción inflamatoria | <i>T. spiralis</i> (+++++) Moderada reacción inflamatoria | <i>T. spiralis</i> (++) Inflamación | <i>T. spiralis</i> (++) Moderada Inflamación |

(-) sin evidencias de lesiones histopatológicas

Tabla 3. Hallazgos histopatológicos en los músculos intercostales, del cuello, cutáneo, diafragma y de la región lateral del muslo durante la fase aguda y crónica de la infección por *Trichinella spiralis* en cerdos

| | Intercostales | Músculos Del cuello | Músculo Cutáneo | Diafragma | Músculos de la región lateral del muslo |
|----------------------|---|---|--|--|---|
| Grupo control | - | - | - | - | - |
| Grupo 1 | Areas con exudado hemorrágico | - | - | - | - |
| Grupo 2 | <i>T. spiralis</i> (++) Exudado hemorrágico | - | - | - | - |
| Grupo 3 | <i>T. spiralis</i> (++) | Degeneración de las fibras musculares Edema intracelular | Reacción inflamatoria Edema extracelular | <i>T. spiralis</i> (+++) Importante reacción inflamatoria | Degeneración de las fibras musculares Edema intracelular |
| Grupo 4 (fase aguda) | <i>T. spiralis</i> (++) Degeneración masiva de las fibras musculares | <i>T. spiralis</i> (+++) Moderada Inflamación | <i>T. spiralis</i> (+++) Moderada Inflamación | <i>T. spiralis</i> (+++++) Moderada inflamación | <i>T. spiralis</i> (+++) Moderada Inflamación |

(-) sin evidencias de lesiones histopatológicas

En el pulmón se encontraron alteraciones equiparables a las neumonías intersticiales provocadas por *Mycoplasma hyopneumoniae*.

En el grupo 3 (inoculado con 5000 larvas) se observó una importante infectación larvaria en casi todos los grupos musculares muestreados. Se destaca la migración selectiva determinante de una mayor concentración de larvas en el diafragma, la base de la lengua, lengua, maseteros e intercostales (Foto 2). Este grupo y el inoculado con 50000 larvas fueron los que presentaron mayor carga parasitaria en los estudios histopatológicos y en todos los músculos analizados fueron encontradas larvas de *T. spiralis* acompañadas en la mayoría de los casos con una moderada a intensa reacción inflamatoria, con un claro predominio de eosinófilos (Foto 3).

Los estudios macroscópicos realizados en el bazo de los animales estudiados durante la

fase aguda de la enfermedad evidenciaron agrandamiento, hiperplasia e hiperemia, mientras que los microscópicos evidenciaron una hiperplasia folicular reactiva.

En ninguno de los animales de los grupos estudiados fueron halladas larvas de *T. spiralis* en el miocardio en la fase crónica de la enfermedad. En los animales inoculados con 50000 larvas, que murieron durante la fase aguda, tampoco fueron halladas larvas en el miocardio y fluidos pericárdicos.

El hígado de los cerdos inoculados con 5000 y 50000 larvas presentó congestión difusa, infiltrados focales de células inflamatorias polimorfonucleares y áreas centrolobulillares hemorrágicas.

En la presente experiencia los riñones de los animales inoculados no evidenciaron alteraciones.

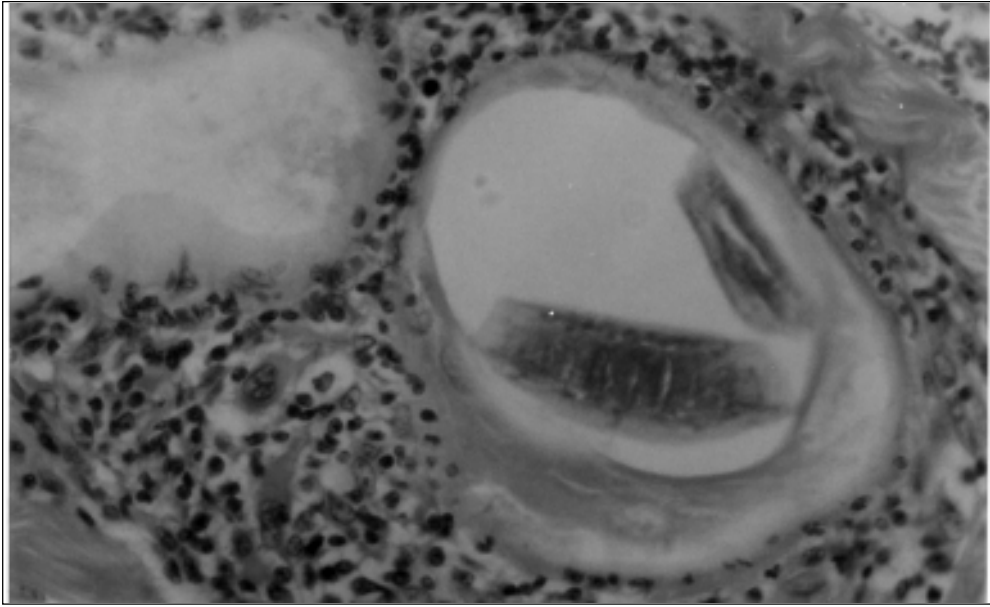


Foto 1. Músculos intercostales. Grupo 2. Corte de larva de *Trichinella spiralis*, rodeada de importante reacción inflamatoria mixta. (40X)

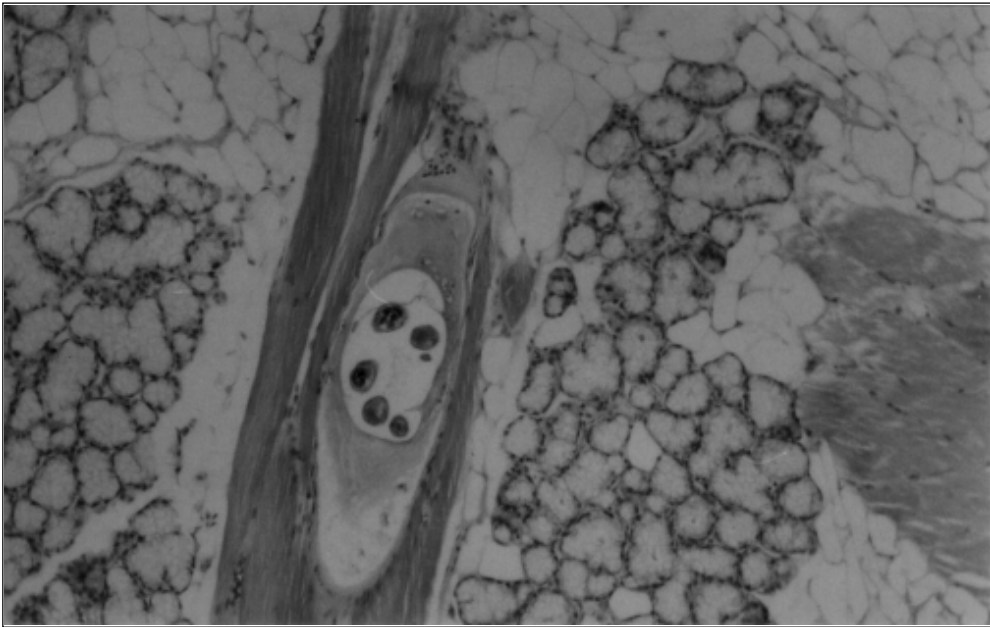


Foto 2. Base de la lengua. Grupo 3. Gran cantidad de cortes de larvas de *T. spiralis* acompañados por inflamación y edema de los tejidos circundantes.(10X)

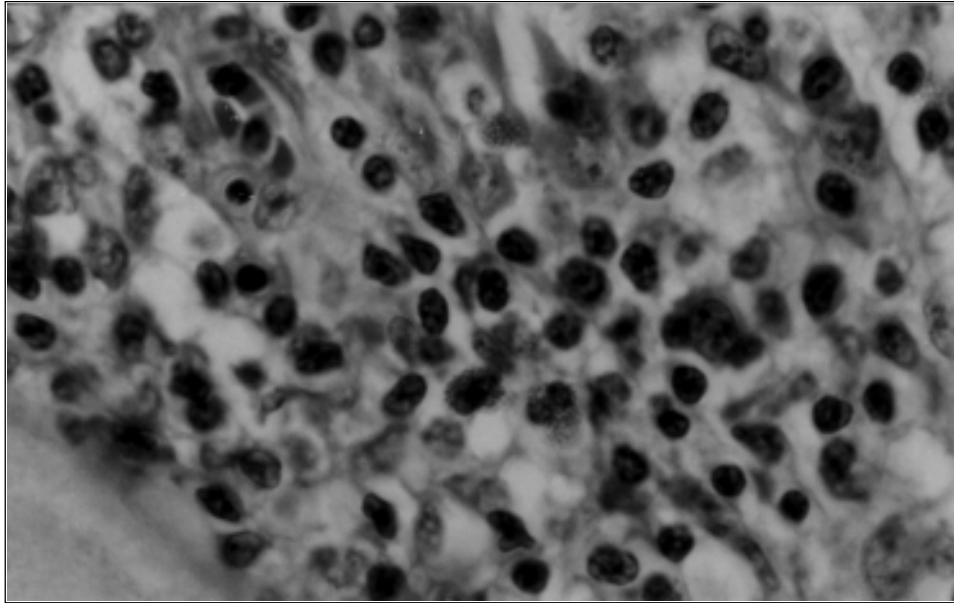


Foto 3. Vista a mayor aumento (100X) del predominio de eosinófilos y macrófagos en las áreas reactivas.

DISCUSIÓN

Los estudios histológicos sobre músculos de cobayos infectados experimentalmente con *T spiralis* evidenciaron a los 30 días post-infección, las larvas enrolladas y recubiertas por una fina capa de tejido eosinófilo (cápsula) sin adición de reacción inflamatoria. A los 56 días se evidenció una franca reacción inflamatoria periquística e intersticial, compuesta por eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas e histiocitos y las larvas completamente enroscadas^{13,15}.

Si bien el bazo de los cerdos en la presente experiencia, no fue invadido por larvas recién nacidas, se pudo identificar un compromiso indirecto, expresado en agrandamiento, hiperplasia e hiperemia del mismo. Estas condiciones pueden explicarse como consecuencia del proceso inflamatorio generalizado y el desarrollo de inmunidad a los antígenos de *Trichinella*^{7,11,14,16}. El corazón, es un

órgano que ha sido objeto de intensas investigaciones y en personas a las que se le ha practicado autopsia fue posible observar: líquido en el pericardio, pericardio y epicardio hiperémico, degeneración grasa del miocardio y alteraciones macroscópicas en la coloración del mismo. Microscópicamente se observó que el fluido pericárdico podía contener unas pocas larvas recién nacidas. En el miocardio se observó ligero edema, pequeñas hemorragias focales, necrosis focales dispersas de las fibras musculares e inflamación intersticial constituida por: neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, macrófagos e histiocitos. Sin embargo, aunque el miocardio se halla involucrado durante la infección aguda por *Trichinella* los quistes no se desarrollan en el mismo y las larvas pueden aparecer muertas y reabsorbidas, en la cavidad del pericardio o dentro de la cavidad cardíaca¹¹.

En la presente experiencia no se observaron alteraciones histológicas en el tejido cardíaco analizado, sin embargo en los animales que

murieron durante la fase aguda de la enfermedad se observó presencia de líquido en el pericardio, con ausencia de larvas de *T spiralis*.

Con respecto al hígado, en infecciones experimentales^{3,8}, se observó metamorfosis grasa similar a la producida por la intoxicación con fósforo en humanos y ratas, con infiltración linfocitaria que representa la migración de la larva, áreas de degeneración grasa focal y necrosis, agrandamiento del hígado con manchas amarillentas e hiperemia en mayor o menor grado.

Asimismo, otros estudios indicaron que la larvas de *T. spiralis* pueden estar presentes en el hígado de ratones, cerdos, gatos, perros y cobayos³.

En la presente experiencia se observaron alteraciones hepáticas (congestión difusa y e infiltrados focales de células inflamatorias) en los cerdos inoculados con mas de 500 larvas de *T spiralis*.

En el riñón distintos estudios han revelado la presencia de larvas recién nacidas³, con respuesta inflamatoria, a veces de apariencia nodular y alteraciones distróficas del epitelio tubular con intensa degeneración granulovascular. Es posible que el daño renal refleje la invasión del tejido renal por unas pocas larvas o la inflamación e hipersensibilidad tipo III, mediada por complejos inmunitarios.

Es fundamental destacar que la interacción entre dos organismos, por un lado el parásito y por otro el huésped, no es estática y permite comprender las diferencias encontradas en los distintos órganos y tejidos estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARRIAGA,C; MUÑIZ,E; MORILLA,A AND ORTEGA-PIERRES,G. 1989. *Trichinella spiralis*: Recognition of Muscle Larva Antigens during Experimental Infection of Swine and Its Potential Use in Diagnosis. Exp. Parasitol. 69.363-372.
2. BOTERO, D.; RESTREPO, M. (ed.) Parasitosis Humanas. Segunda Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. 1992.
3. CAMPBELL, W.C. (ed.) *Trichinella* and Trichinosis. Plenum Press. New York and London. 1983.
4. DESPOMMIER, D.D. 1993. *Trichinella spiralis* and the concept of the niche. Parasitology. 79 (4), 472-482.
5. DESPOMMIER, D.D.; SUKHDEO, M.; MEEROVITCH, E. 1978. *Trichinella spiralis*: site selection by the larva during the enteral phase of the infection in mice. Exp. Parasitol. 44: 209-215
6. DESPOMMIER, D.D., ARON, L., AND TURGEON, L. 1975. *Trichinella spiralis*: Growth of the intracellular (muscle) larva. Exp. Parasitol. 37: 108-116.
7. GAMBLE, H.R. 1996. Detection of trichinellosis in pigs by artificial digestion and enzyme immunoassay. J. Food Prot. Vol 59, 3. 295-298.
8. GOULD, S.E. 1970. Trichinosis in Man and Animals. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois
9. JASMER, D.P. 1995. *Trichinella spiralis*: Subversion of differentiated mammalian skeletal muscle cells. Parasitol. Today, Vol 11, 5.
10. JUBB, K.V.F; KENNEDY P, C ; NIGEL PALMER. (ed.) Pathology of Domestic Animals. Fourth Edition. Volume 1. Academic Press, Inc. 1993.
11. MAJNO, GUIDO; ISABELLE JORIS. (ed.) Cells, Tissues and Disease. Principles of General Pathology. Blackwell Science. 1996.
12. PURKERSON, M. AND DESPOMMIER, D.D. 1974. in Trichinellosis (Kim, C., de), pp 7-23 In text Publishers.
13. RIBICICH, M.; MIGUEZ, M.; ARGIBAY, T.; BASSO, N.; FRANCO, A; 2001. Localization of *Trichinella spiralis* in muscles of commercial and parasitologic interest in pork. Parasite Vol 8. 246-248.
14. SANTILLÁN, G; RIBICICH, M; MOLINA, V.

- Inmunología de la triquinosis en un modelo experimental en cerdos. 2° Congreso Argentino de Zoonosis. 1° Congreso Argentino de Enfermedades Emergentes. 1° Congreso Latinoamericano de Enfermedades Emergentes. Bs. As. Argentina.1998. pag. 150.
15. STEFFAN, P. 1987. Experimental infection with *Trichinella spiralis* in rabbits and guinea pigs. Studies on inoculation technique, diagnostic methods, pathogenesis, and anthelmintic efficacy of ivermectin. Inédito
16. VAN KNAPEN, F., FRANCHIMONT, J.H., RUITENBERG, E.J., ANDRE, P., BALDELLI, B., GIBSON, T.E., GOTTAL, C., HENRIKSEN, S.A., KOHLER, G., RONEUS, O., SKOVGAARD, N., SOULE, C., STRICKLAND, K.L., AND TAYLOR, S.M. 1981. Comparison of four methods for the early detection of experimental *Trichinella spiralis* infections in pigs. Vet. Par., 9: 117-123.

