



Investigación epidemiológica

Angiostrongylus costaricensis

Rina G. de Kaminsky



Contacto.

Correo electrónico: rinagk@yahoo.com

Departamento de Pediatría, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras y Servicio de Parasitología, Hospital Escuela, Tegucigalpa, Honduras.



Utilidad

- Las técnicas descritas son útiles para:
 - A.- 1) Determinar especie e infección en roedores y
2) Determinar especie e infección hospederos intermediarios.
 - B.- Recobrar estadíos infectantes.
 - C.- Mantener ciclo en el laboratorio.
 - D.- Estudiar patología tisular en roedor o babosa.



Se requiere que el o los investigadores posean conocimientos biológicos sobre *Angiostrongylus costaricensis*, dispongan de bibliografía y de alguna práctica de laboratorio.

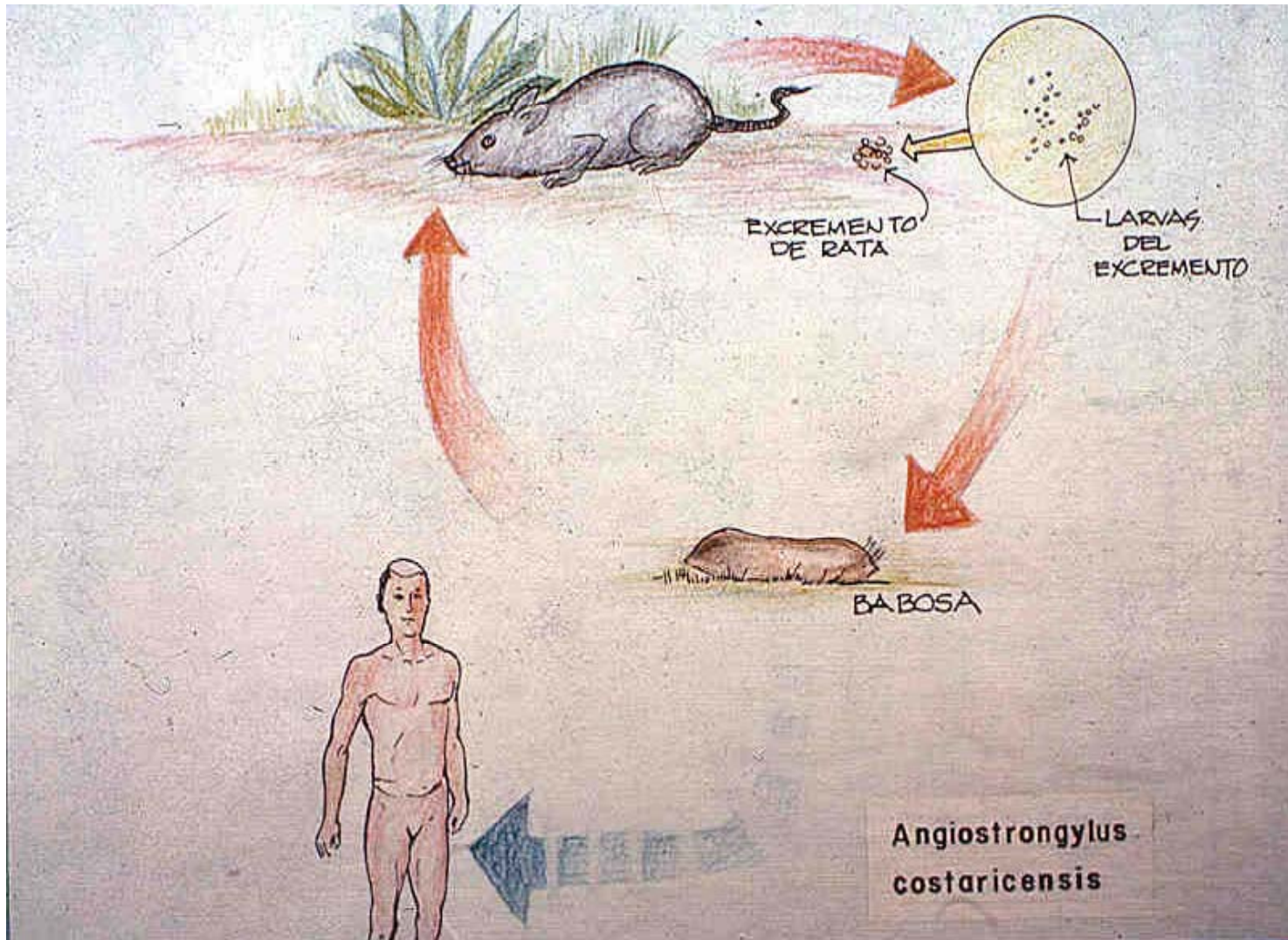


Introducción

- *Angiostrongylus costaricensis* nemátodo metastrongilideo.
- Dos hospederos: arterias mesentéricas de *Sigmodon hispidus* y otros mamíferos, hospederos definitivos.
- Tejidos de babosas, familia Veronicellidae, hospederos intermediarios.



Ciclo e infección accidental





Humano hospedero accidental
inadecuado. Contacto con
babosas infectadas o larvas en
baba por manos o alimentos (?)



Distribución geográfica

- Hasta la fecha solo documentado en países de América Latina.
- Adonde se ha buscado, se ha encontrado, tanto en babosas como en humanos y roedores.



Estadística hondureña

- Caso original en 1972 y 5 casos adicionales publicados en 1983 registros documentados de primeros casos locales.
- Hasta 1997, 30 casos en forma anecdótica.
- Resumen congreso 2006: 6 casos en revisión de 55,944 biopsias.



Estudio longitudinal

- Investigación en Valle de Yegüare, Honduras, mostró:
- 29.4% de *Sigmodon hispidus* infectado.
- 4% de *Mus musculus*.
- 10% babosas infectadas.
- 5 casos subclínicos (serología positiva) de personas de la región.

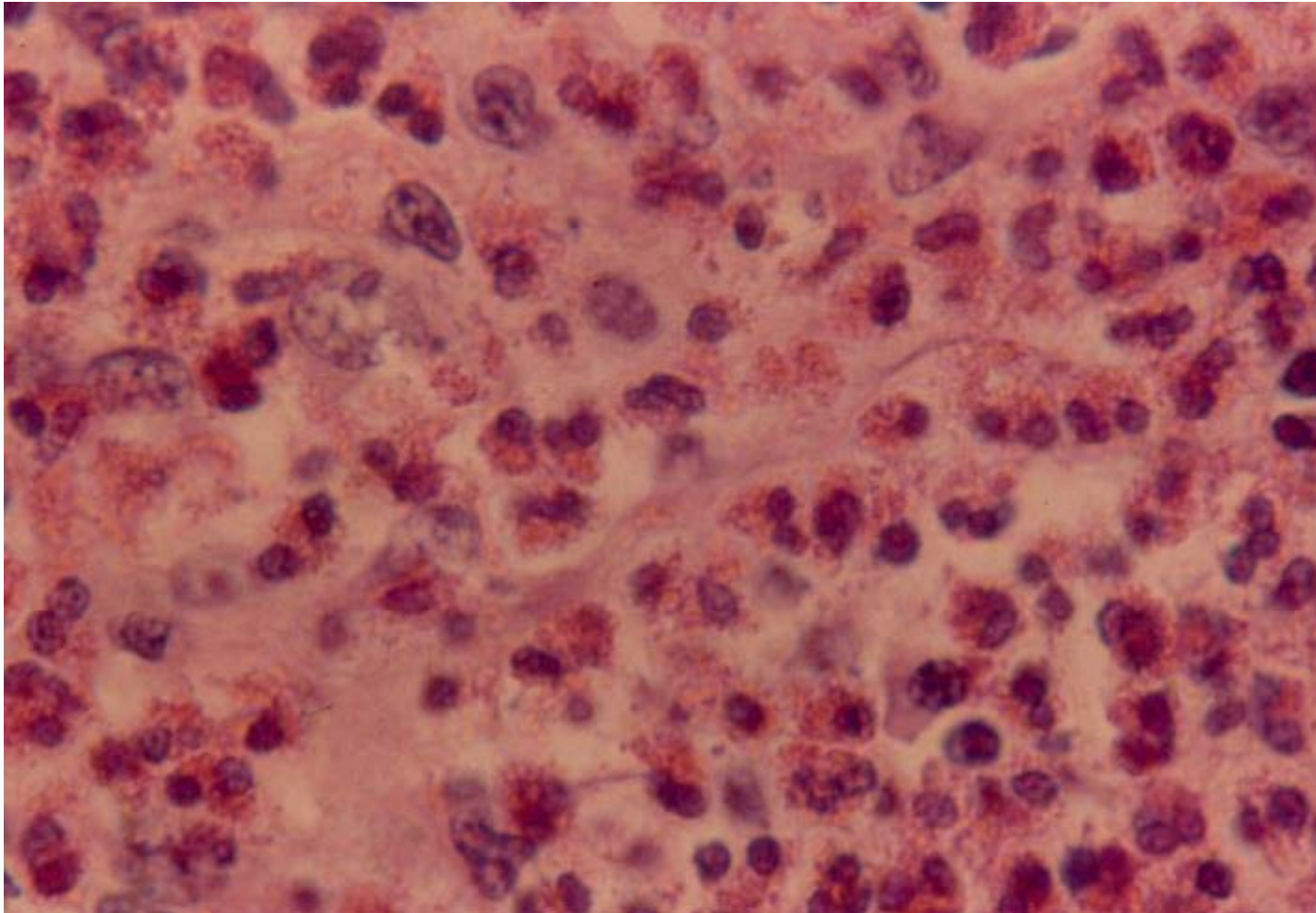


Patología al humano

- Urgencia abdominal similar a apendicitis.
- Presentación crónica subclínica.
- Granulomatosis eosinofílica abdominal.
- Otras.

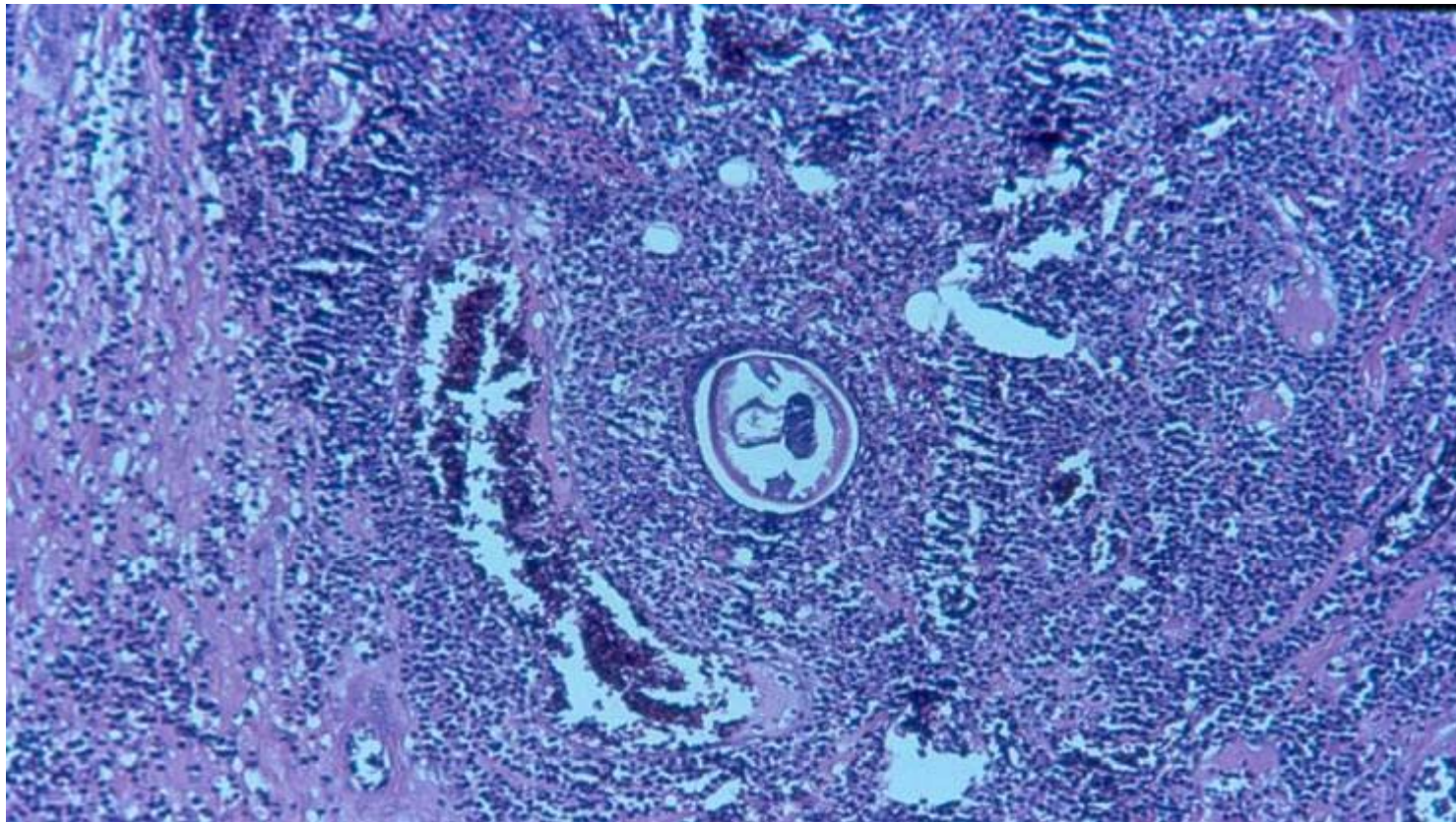


Eosinofilia tisular, angiostrongilosis abdominal





Angiostrongylus costaricensis en arteria mesentérica, humano.





Investigación epidemiológica

- A.- 1) Determinar especie de roedores y presencia de infección por *A. costaricensis*.
- 2) Determinar especie de babosas y presencia de larvas de *A. costaricensis*.



Captura de roedores



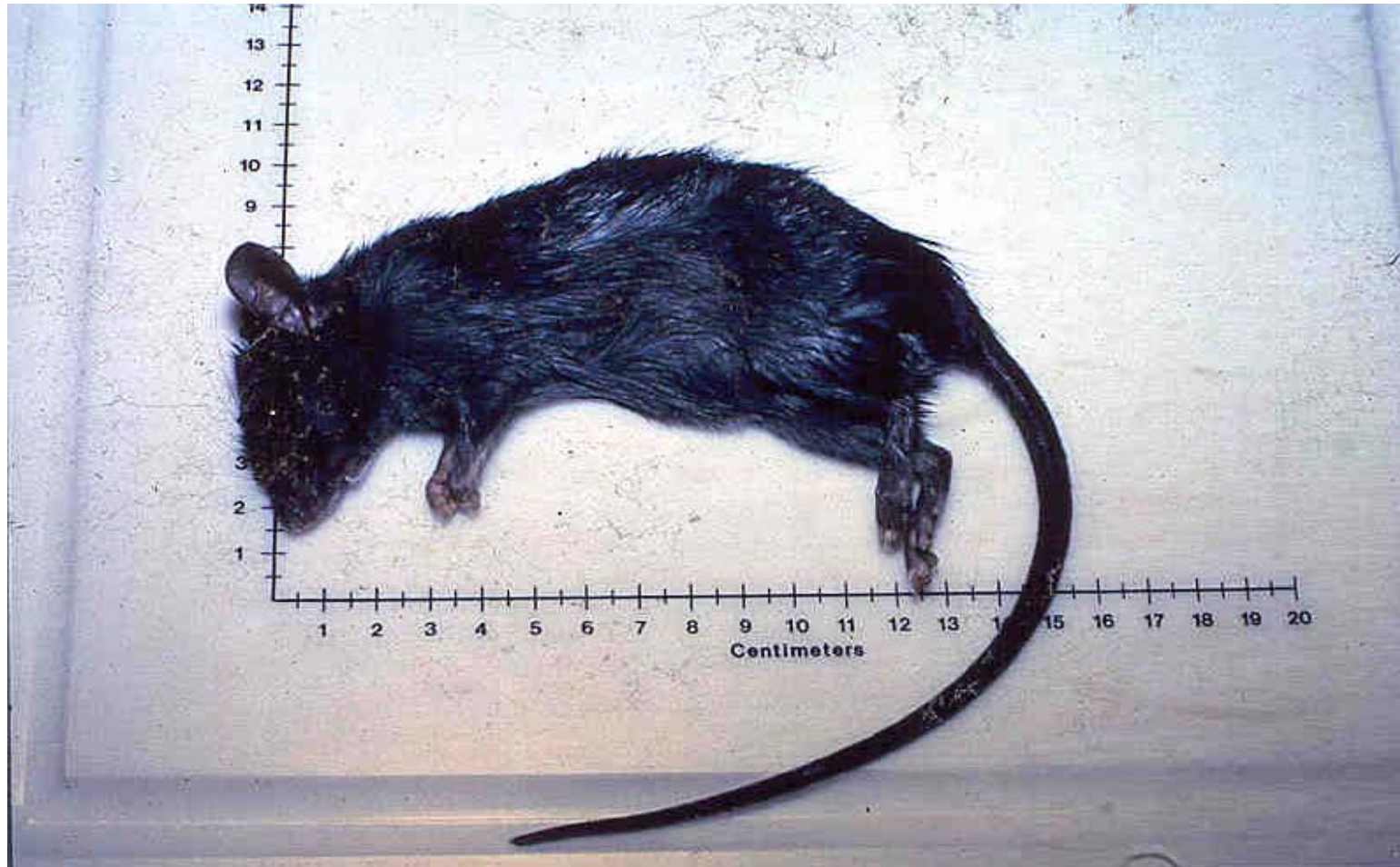


Hospederos definitivos

- Al capturar roedores, tratar de identificar género y especie.
- Solicitar asistencia al Departamento de Biología.
- Tomar medidas y fotografiar.



Medidas para especiación





Largo de cola





Largo de patas





Largo de oreja y trago



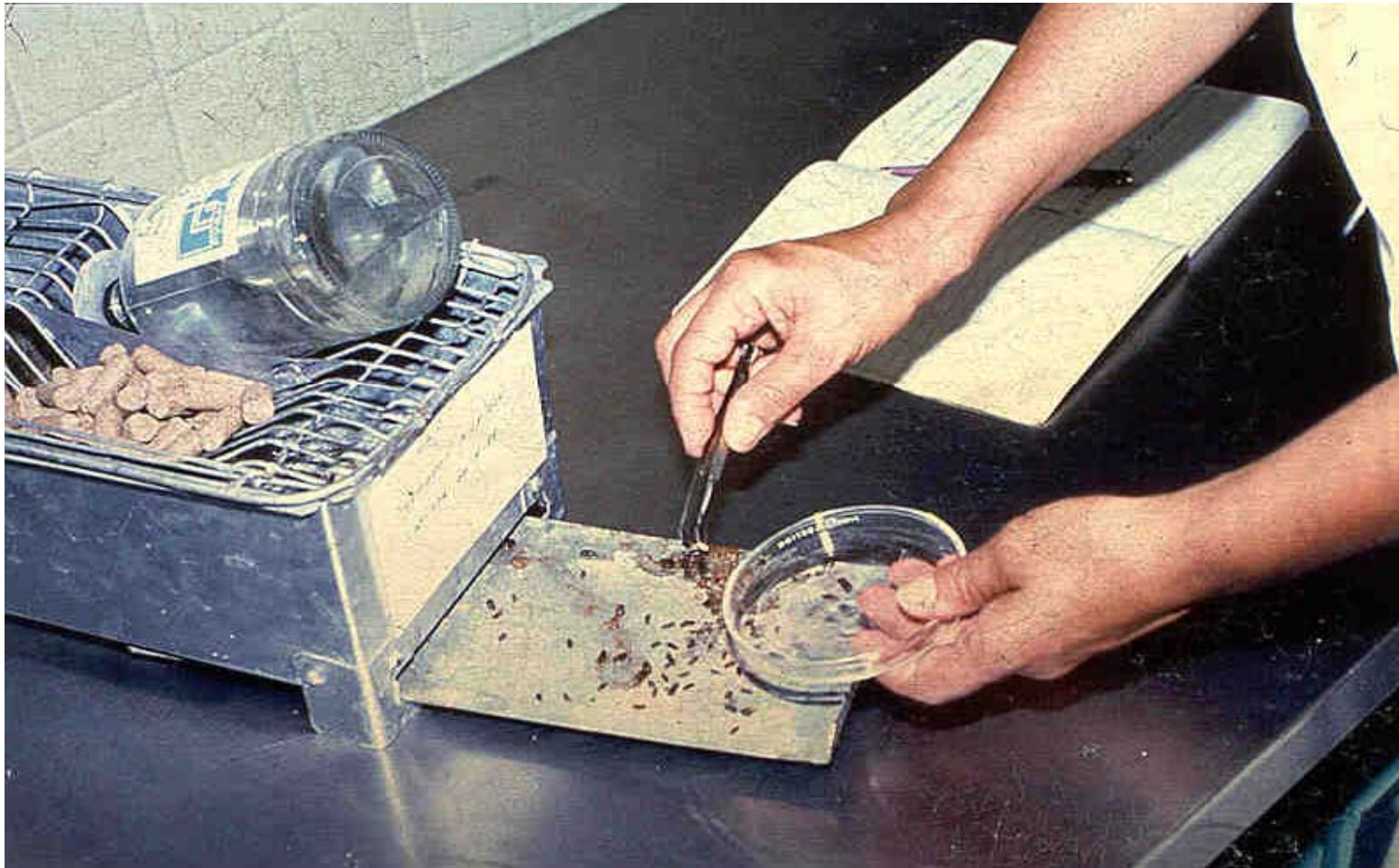


A. 1) Determinar infección en roedores

Se puede examinar las heces por Baermann o por examen directo durante varios días.

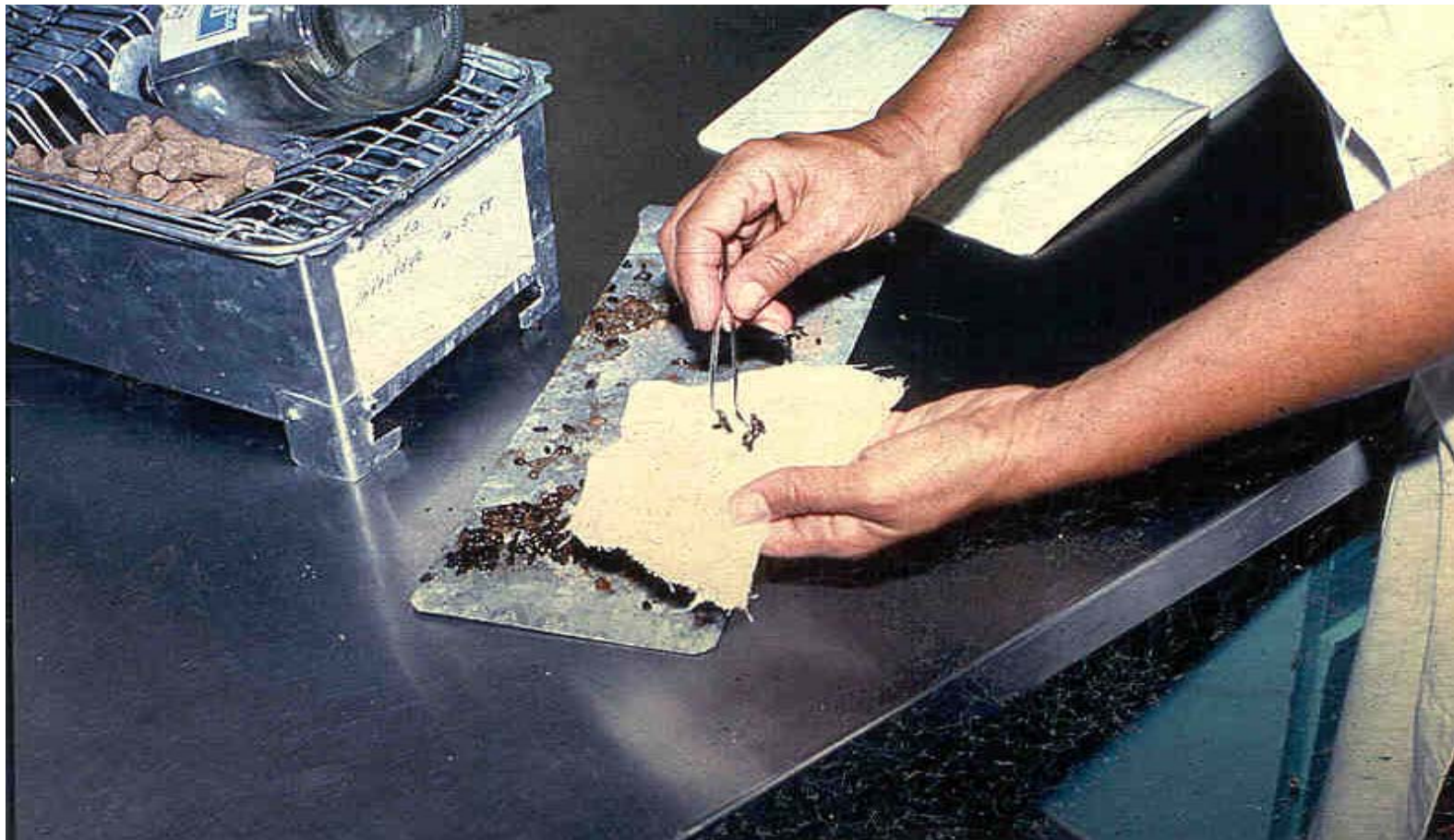


Recobrar heces fondo falso jaula





Preparando Baermann





Además de heces, puede también realizarles una autopsia y recobrar gusanos adultos de arterias mesentéricas.



Autopsia del roedor para
procurar el parásito de arterias
mesentéricas.

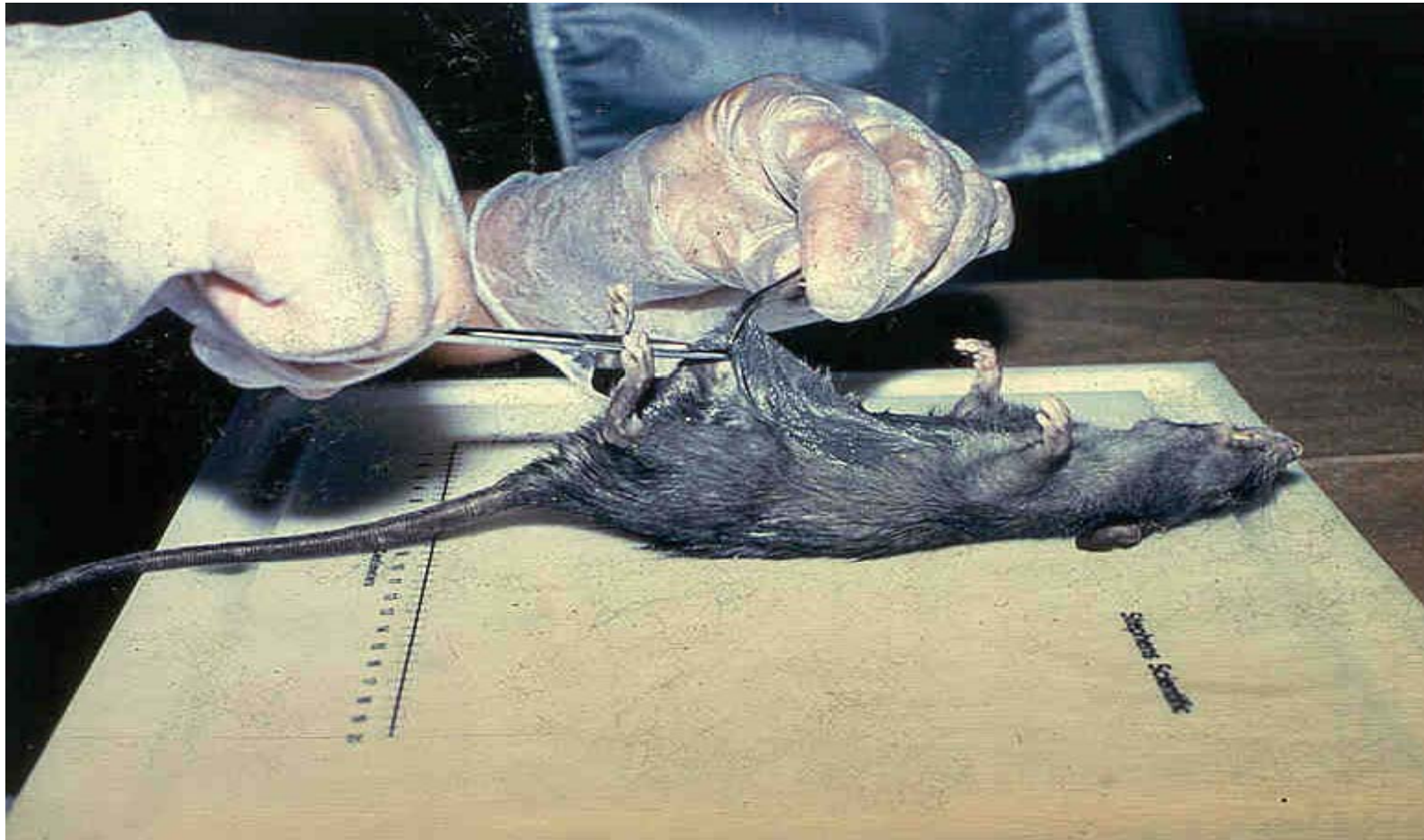


Mojar abdomen con alcohol para evitar pelos



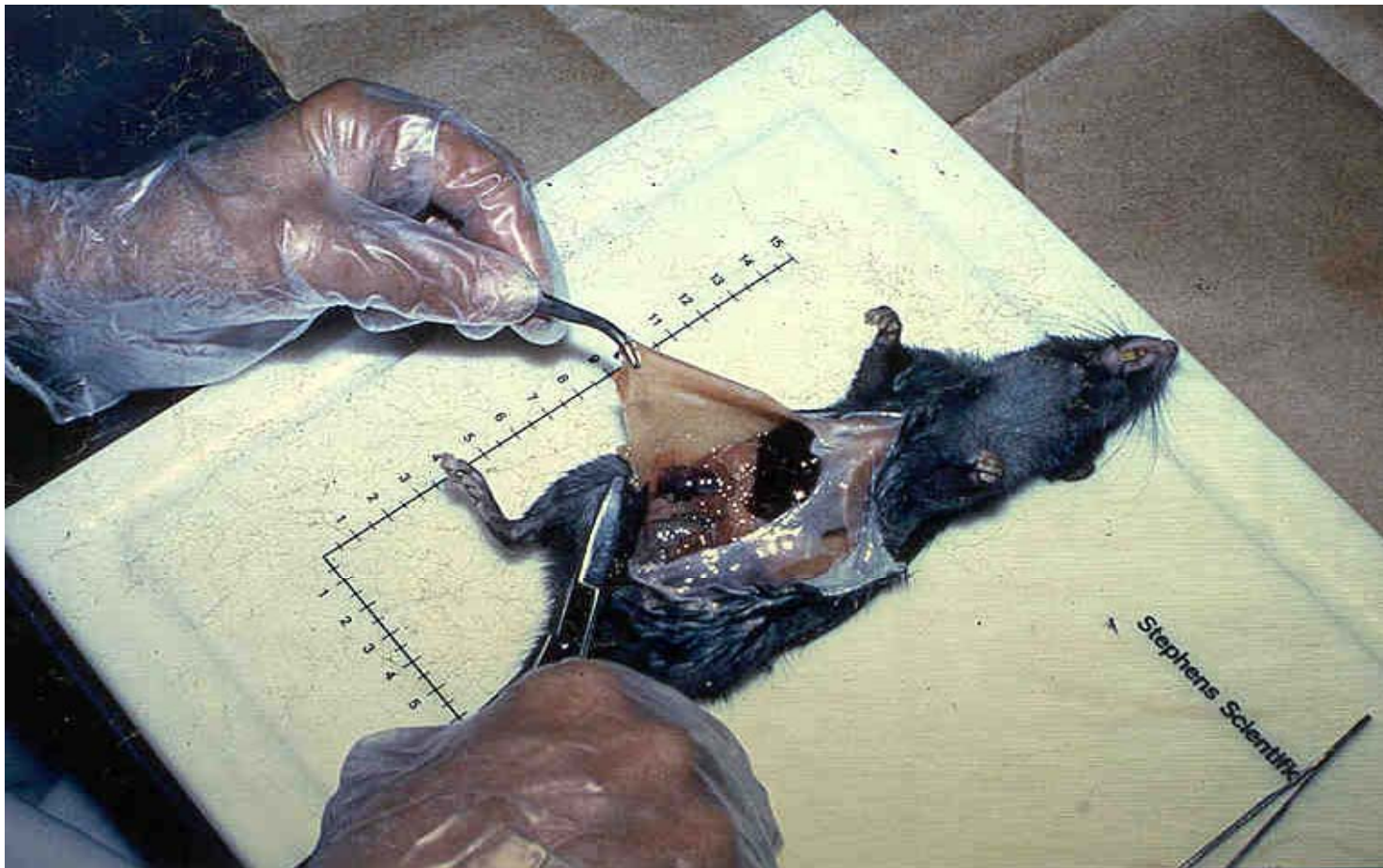


Iniciar autopsia





Separar piel de abdomen y peritoneo





Exponer órganos abdominales



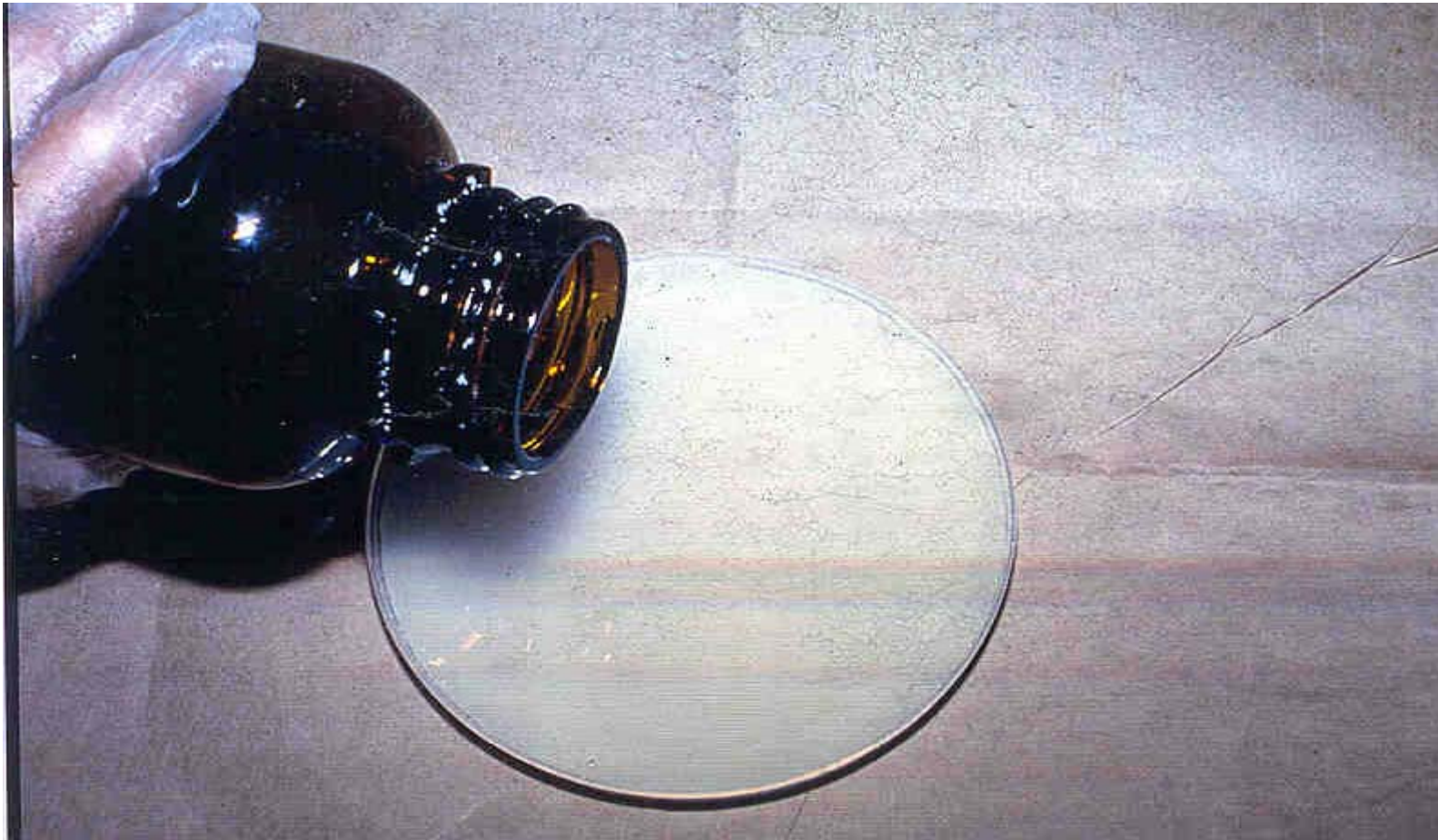


Inspección de órganos

- Preparar de antemano caja de Petri 25 cm de diámetro con capa de parafina para fijar órganos a examinar.
- Antes de examinar órganos, verter solución salina 0.8% en la caja.

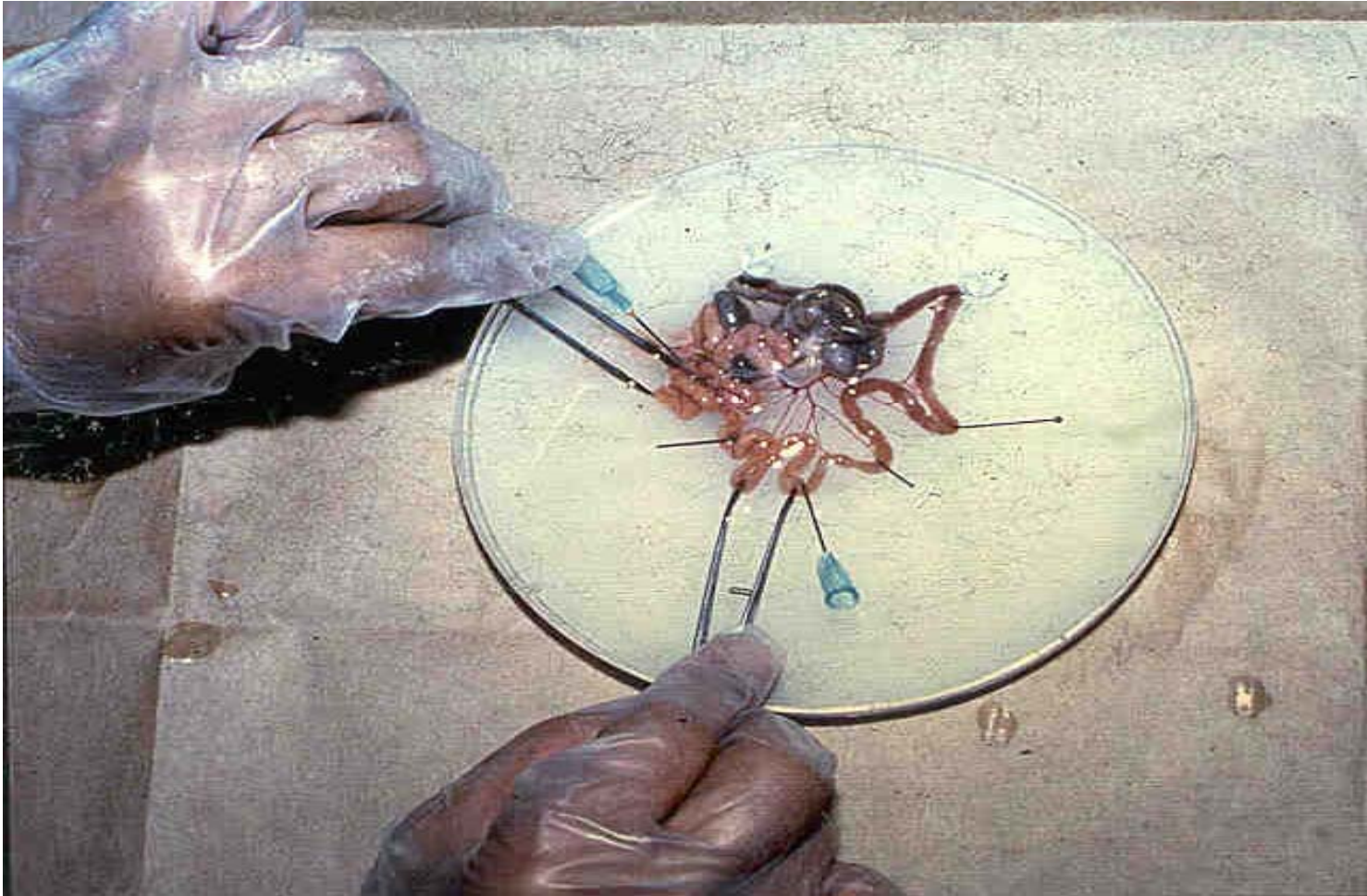


Verter solución salina en
caja de Petri parafinada





Pinchar y separar órganos con alfileres



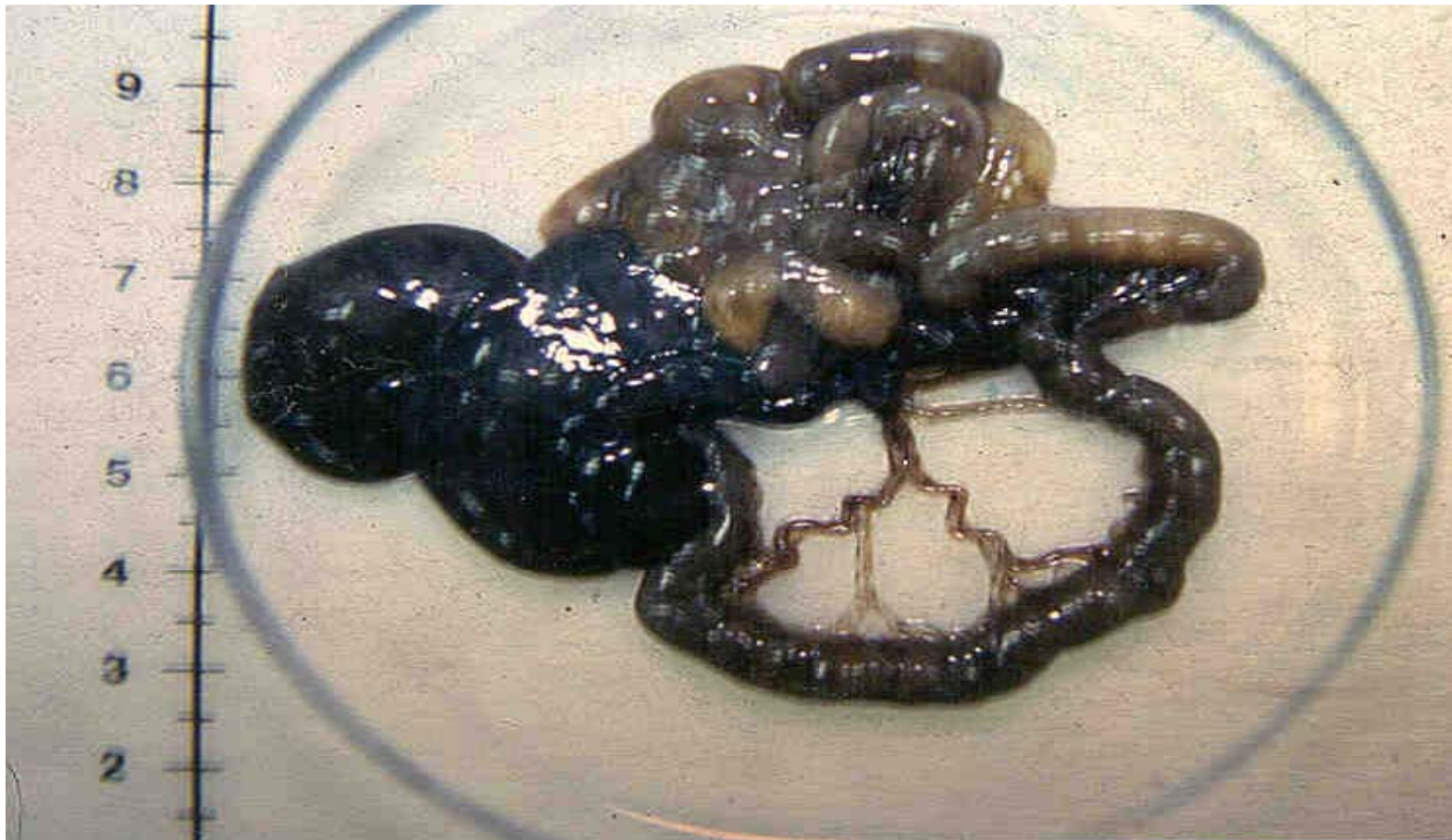


Examinar bajo estereoscópico





Arterias expuestas y llenas de gusanos





Recobrar *Angiostrongylus*

- Hacer un corte cuidadoso en arteria.
- Exponer los gusanos.
- Extraer con pinceles.
- Colocar en solución salina 0.8%.



Gusanos adultos lavados y congelados para preparar antígeno.

O fijar, aclarar y montar para estudio morfológico.



Confirmar la especie de
Angiostrongylus costaricensis
una vez aclarados y montados en
gelatina glicerizada, ayudado con
llaves taxonómicas.

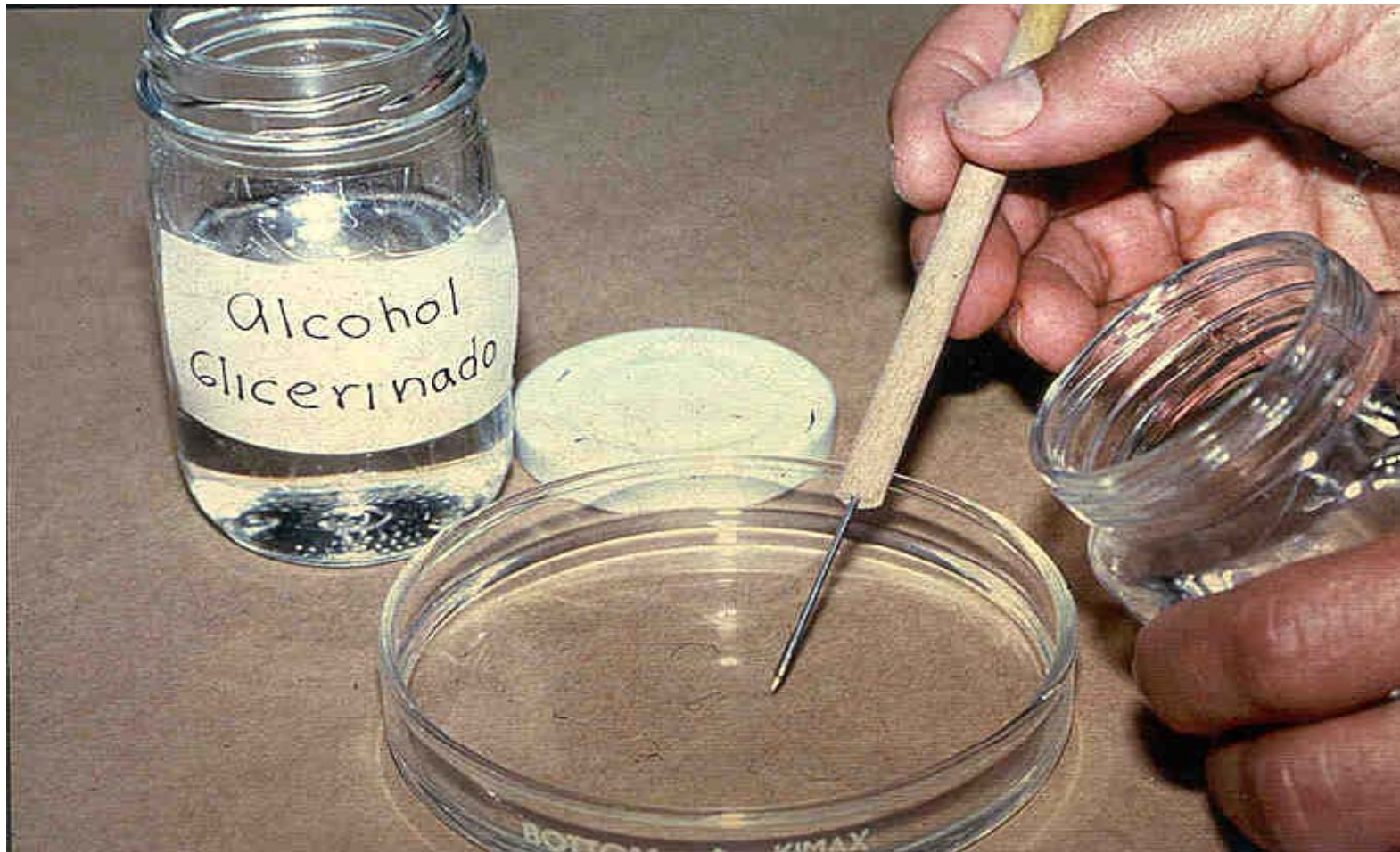


Fijar en formalina 10% opcional





Aclarar en alcohol glicerinado





Descartar roedor en forma apropiada



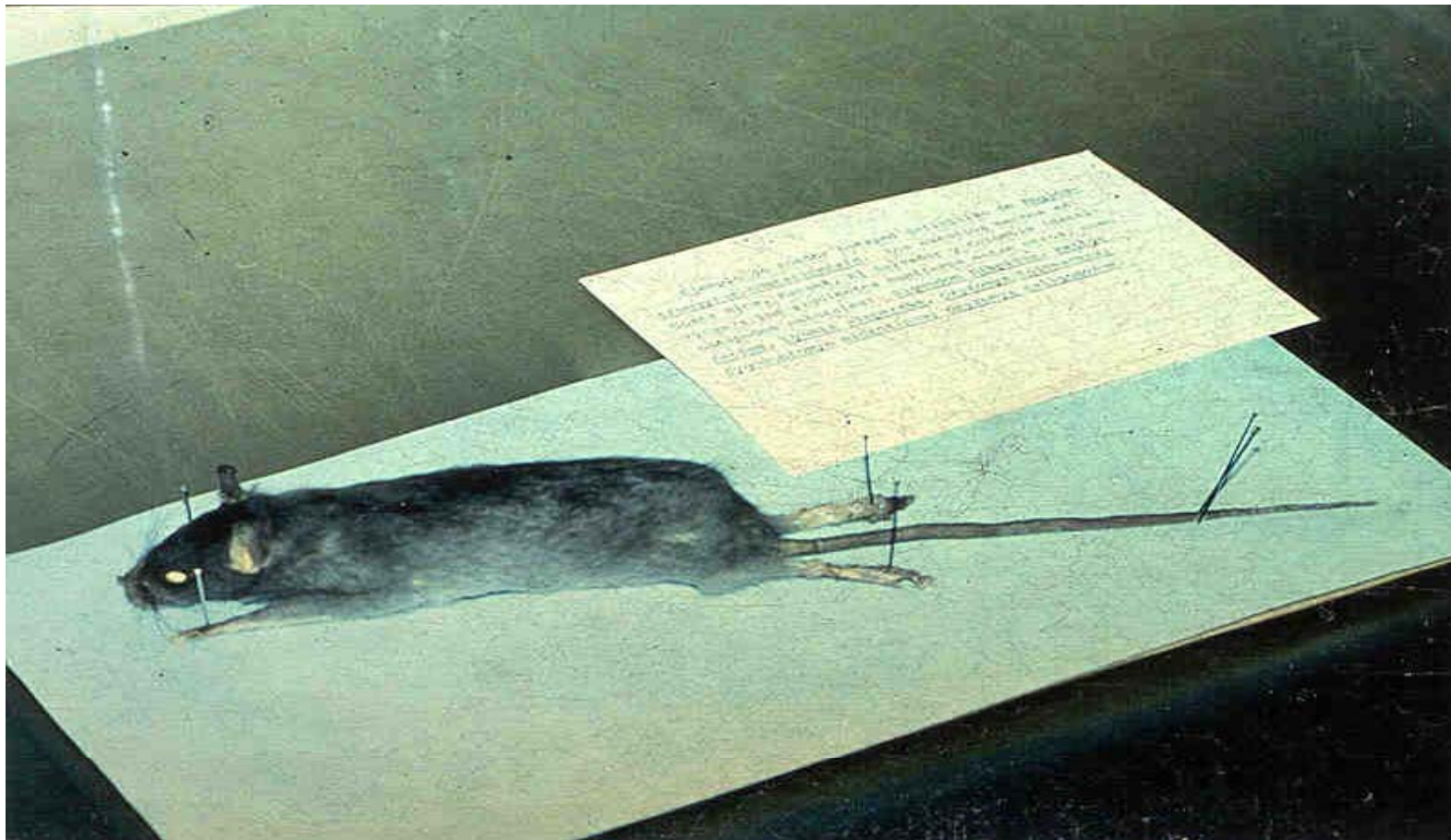


Sellar e incinerar





O preparar para museo





Desinfectar. Lavado de manos.



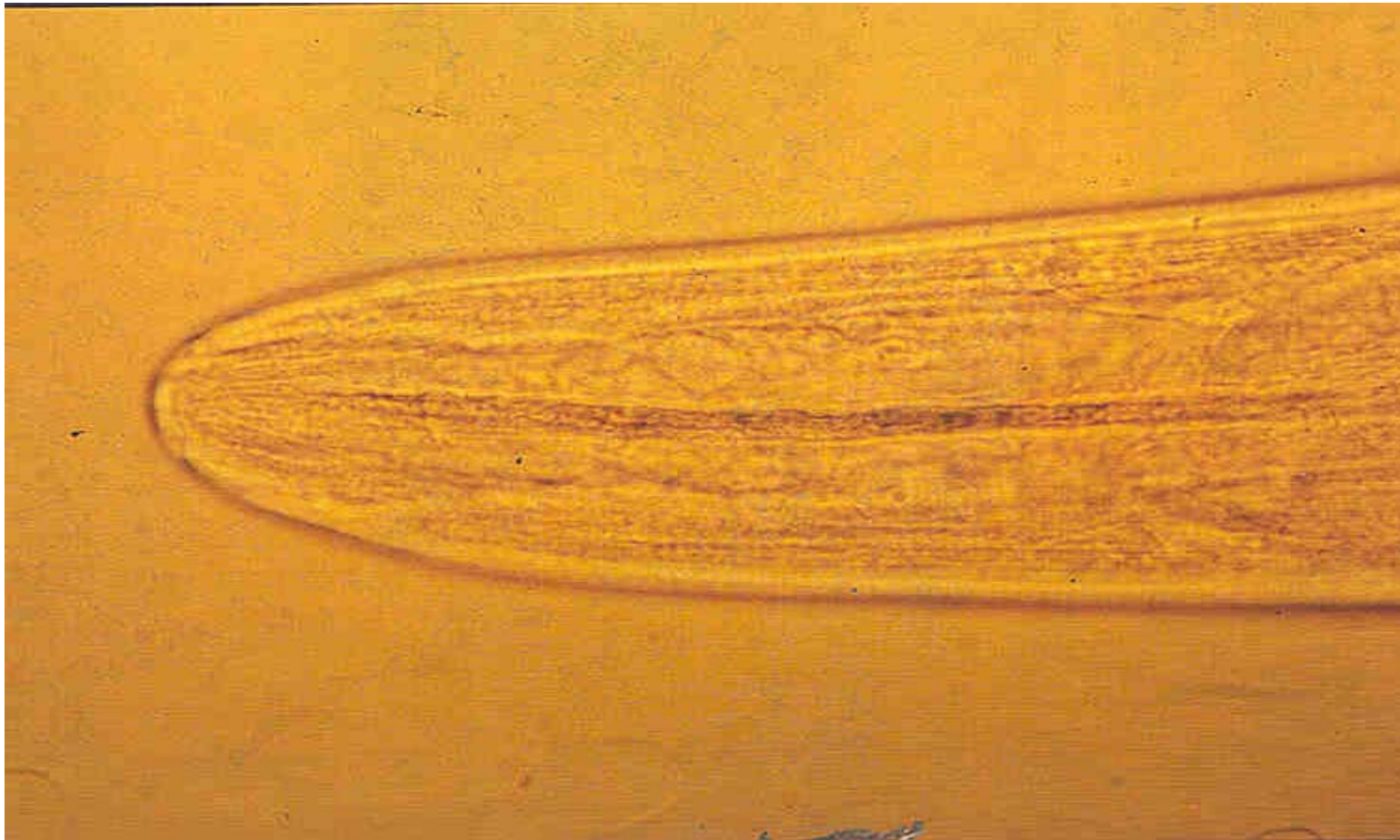


Morfología gusanos adultos

- Aspecto filiforme
- Intestino oscuro y grueso
- Órganos reproductores blanquecinos
- Largo total del macho: 22 mm
- Largo total de la hembra: 42 mm
- Grosor entre 140 y 325 μm



Extremo anterior, hembra

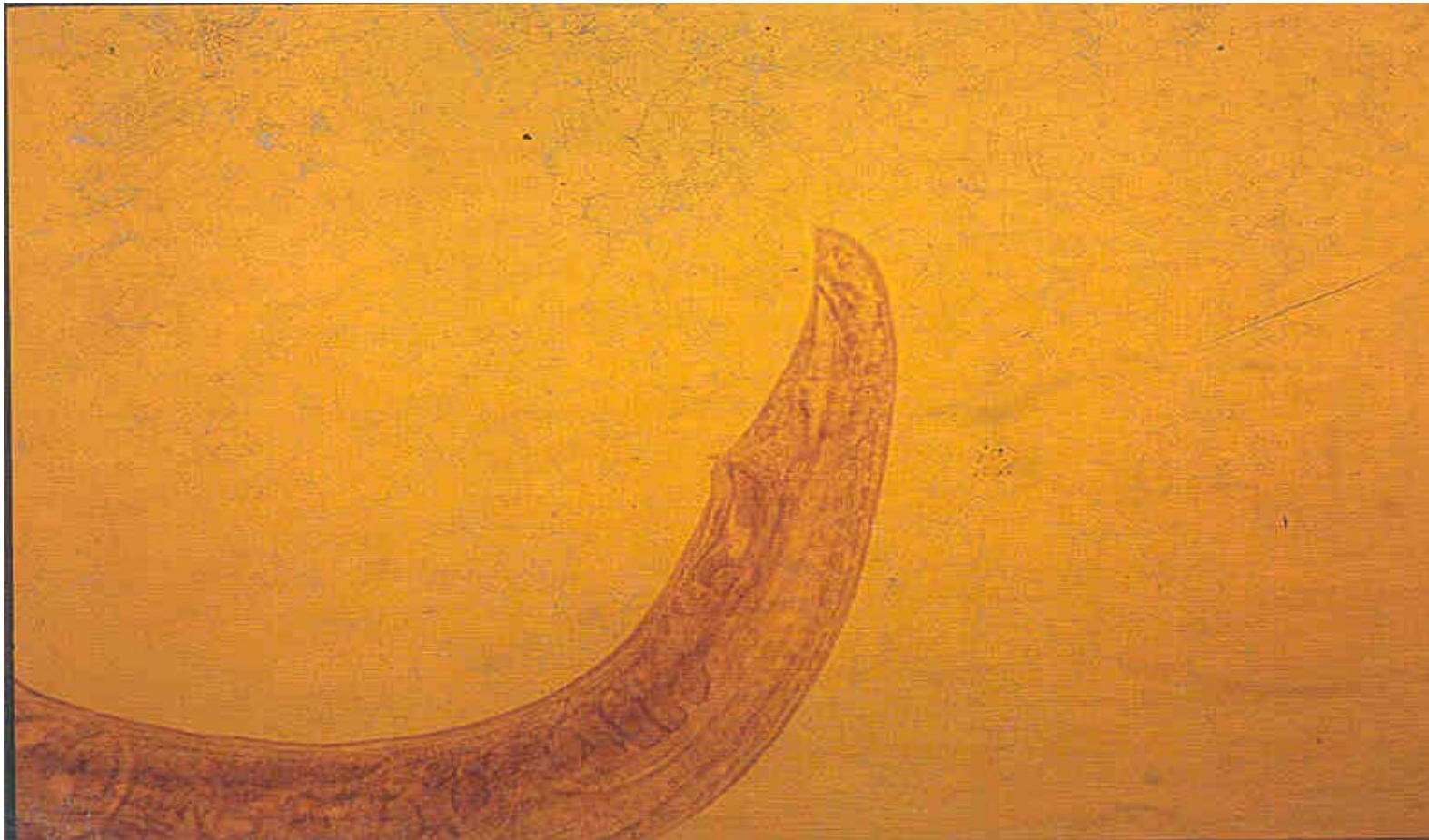




Parte posterior hembra: cola cónica y bien doblada ventralmente.



Extremo posterior, hembra





Ano colocado entre 60-65 μ m y vulva a menos de 300 μ m de la punta.



Detalle posterior ano y vulva





Macho con bursa simétrica.

Rayos ventrales fusionados
excepto en la punta.

Rayos laterales muy separados de
estos.

Dos espículas.



Detalle posterior macho





A.- 2) Determinar especie de babosa y presencia de larvas de *A. costaricensis*.

Recolectar babosas en lugares húmedos bajo piedras, palos, hojas, basura y otros desechos.



Caja hermética con tierra húmeda y hojas de col o lechuga. Ficha de recolección.





Llenado de ficha de recolección

- Nombre del recolector y fecha
- Identificar sitio geográfico
- Sitio exacto donde se encontraron
- Tipo de cultivo o de malezas
- Época del año
- Número de babosas recolectado
- Estimado de número de babosas en el sitio



Especiación de babosas.





Babosas de Honduras
(Soleolifera: Veronicellidae): Biología,
ecología, distribución, descripción,
importancia económica y claves para
su identificación.

Caballero Rafael. Ceiba 1991;
32:107-126.



A.- 2) Determinar infección en babosas

Materiales para digerir
artificialmente y recobrar
larvas infectantes.



Materiales y soluciones

- Líquido de digestión artificial
- Pepsina en polvo
- Acido clorhídrico puro
- Agua destilada
- Probeta
- Balanza
- Platos de balanza
- Beaker



Materiales, digestión artificial

Pág. 59, Manual de Parasitología.





Pesar 5 g de pepsina





Preparar líquido de digestión artificial:

7 mL de ácido clorhídrico puro (HCl) mezclado con 1,000 mL de agua destilada y...



Agregar líquido de digestión a pepsina





Preparación del método

- Desmenuzar tejido o licuar
- 20-30 mL de líquido de digestión por cada gramo de tejido
- Mezclar bien
- Llevar a incubación a 37°C varias horas o toda la noche
- Agitar periódicamente



Cantidad de líquido según peso de babosa





Picar finamente las babosas





20-30 mL líquido de digestión
artificial / 1 g. de tejido





Incubación a 37°C varias horas





Desinfectar. Lavado de manos.





B.- Recobrar estadíos infectantes de *A. costaricensis* por digestión artificial de babosas.



Recobrar larvas L3

- Digestión es completa cuando no hay restos de tejido.
- Filtrar por gasa a vaso de sedimentación.
- Esperar una hora o más.
- Retirar sedimento del fondo con pipeta



Pasar por gasa y dejar reposar

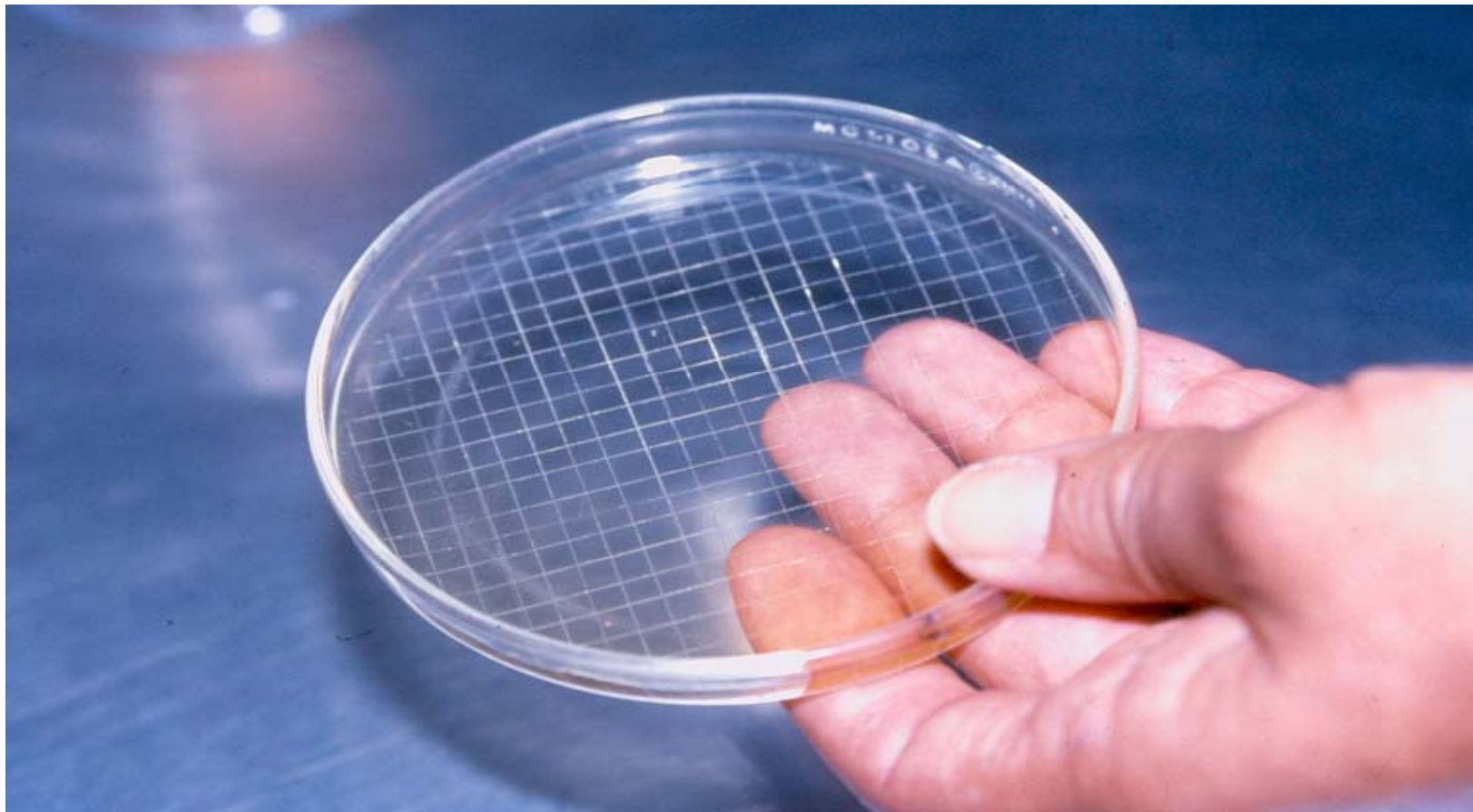




Esperar una o más horas;
recobrar y examinar sedimento

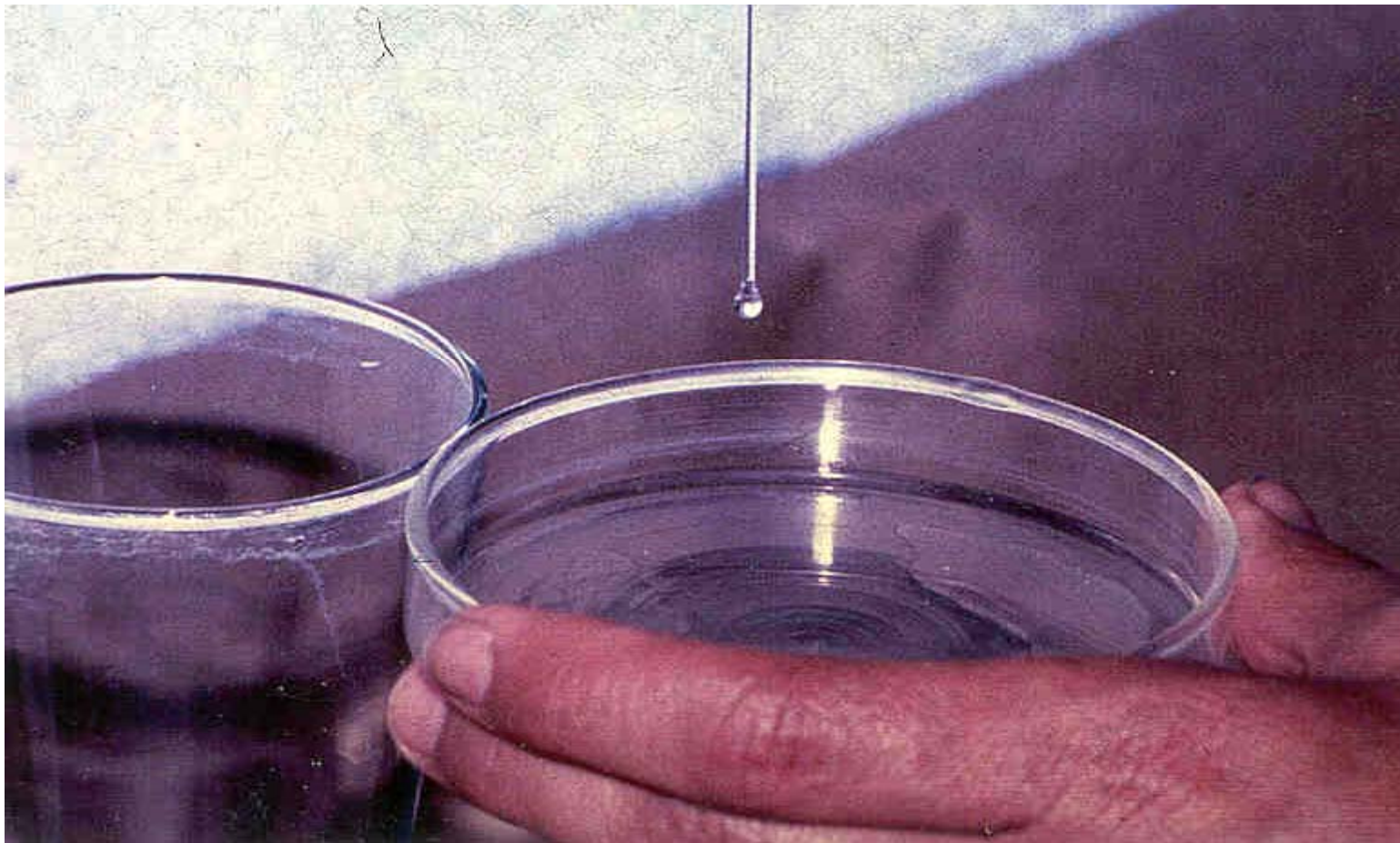


Caja con fondo cuadrículado facilita conteo





Sedimento de Baermann en caja cuadriculada





Buscar y contar larvas





Identificación de larvas de
Angiostrongylus costaricensis
recobradas de babosas, hospedero
intermediario.

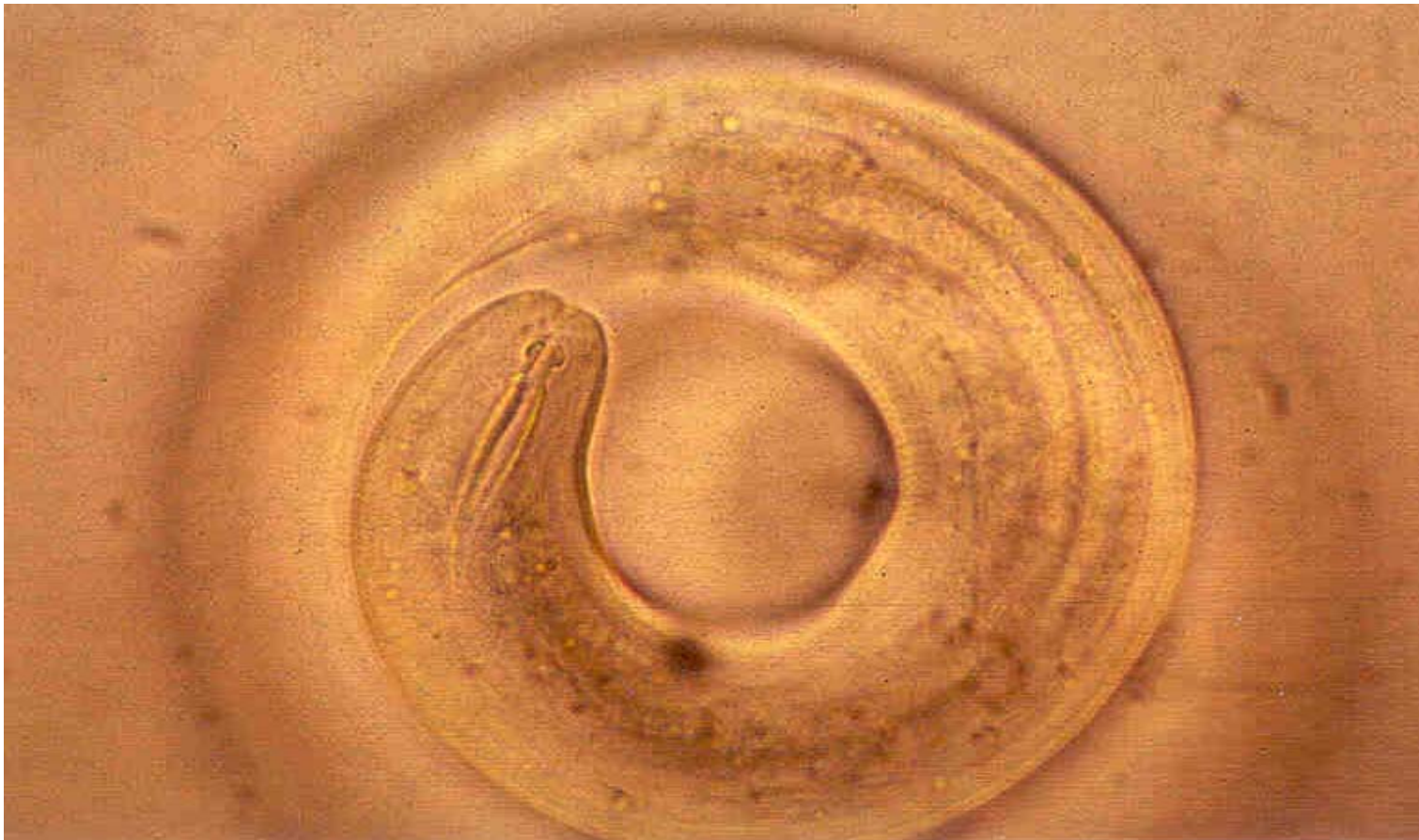


Morfología, larva infectante

- Tamaño 470 μ m de largo, infectantes 16-19 días después de ingerir heces de roedor infectado.
- Dos rabdiones en la parte anterior.
- Muesca característica en extremo posterior.



Larva infectante, anterior





Larva infectante, posterior





C.- Mantener ciclo de
Angiostrongylus costaricensis en
el laboratorio.

Utilizar larvas recobradas de babosas
para infectar *Sygmodon hispidus* u otros
roedores.



Desarrollar criadero de *Sigmodon hispidus* en el laboratorio.

Se puede infectar ratón blanco de laboratorio, pero no soportan dosis alta de larvas.



Contar y aspirar larvas recobradas de babosas.



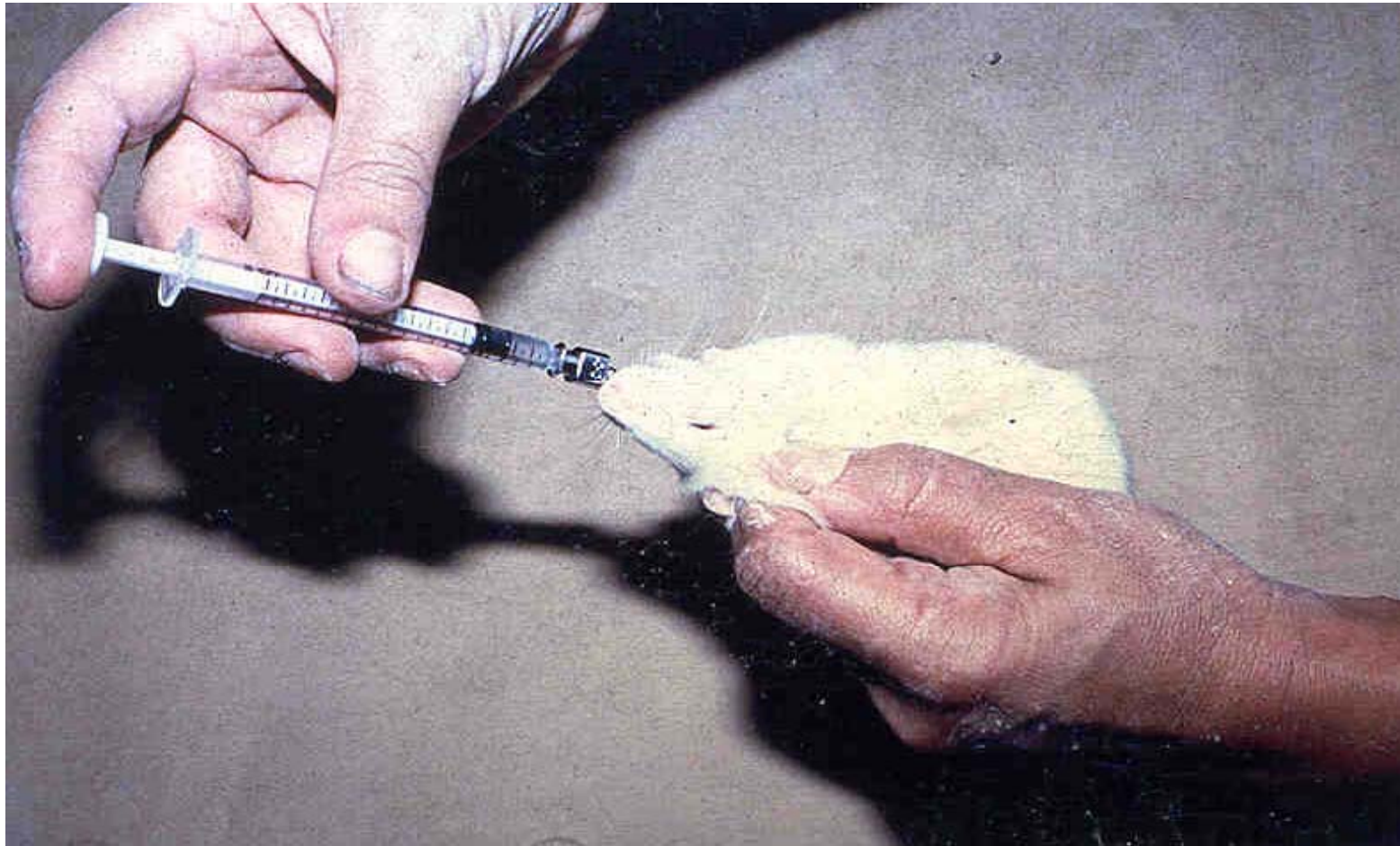


Se utiliza una cánula especial de punta roma. Las larvas se introducen directamente al estómago.

Para ratones, inóculo de 10 o más larvas puede ser fatal.

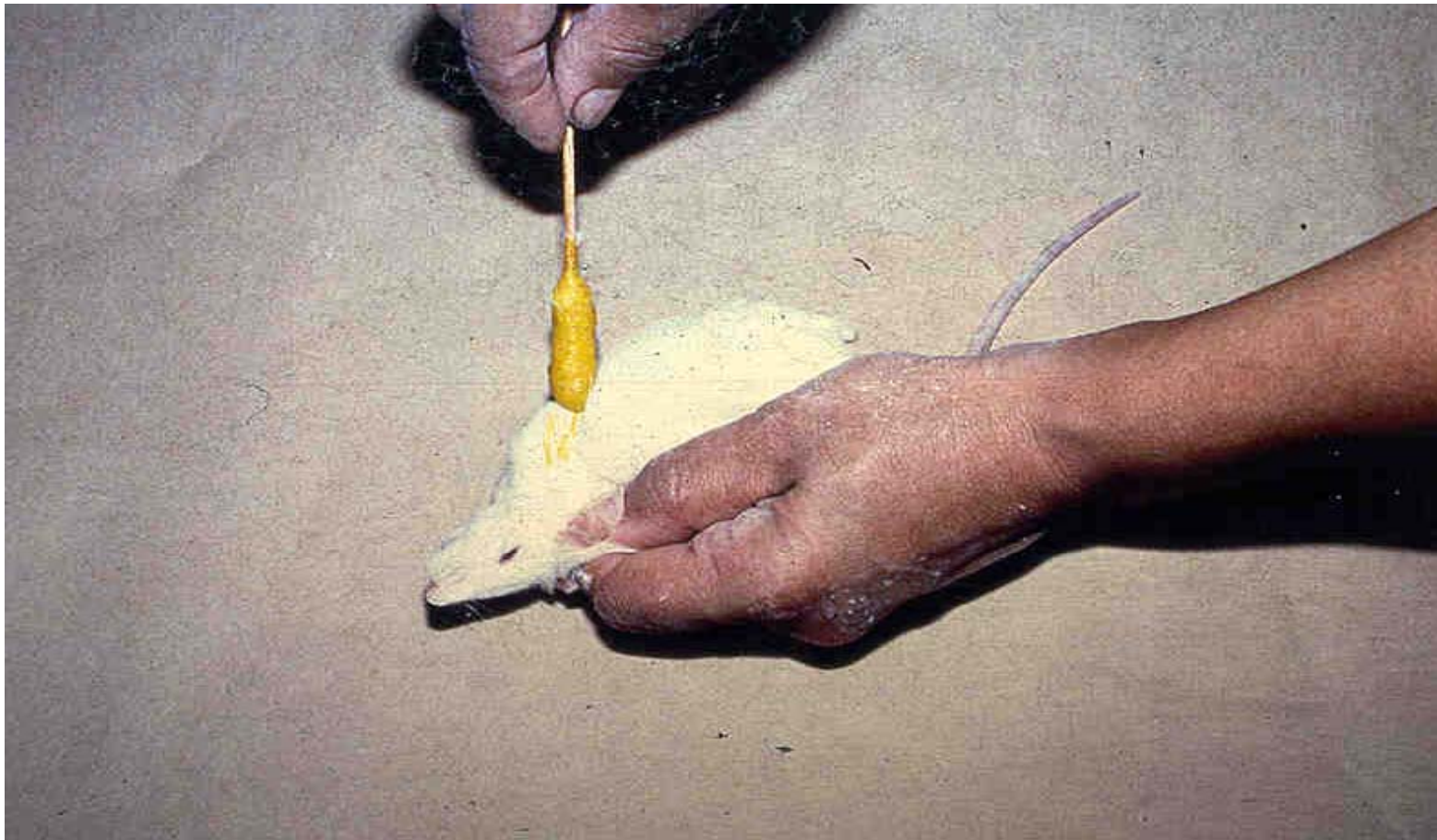


Inoculación oral de ratones





Marcando con sol. indeleble





Mantener roedor con comida y agua *ad libitum*





Verificar patencia en ratones infectados antes de 28 días. Examinar heces a intervalos diarios buscando larvas L1.

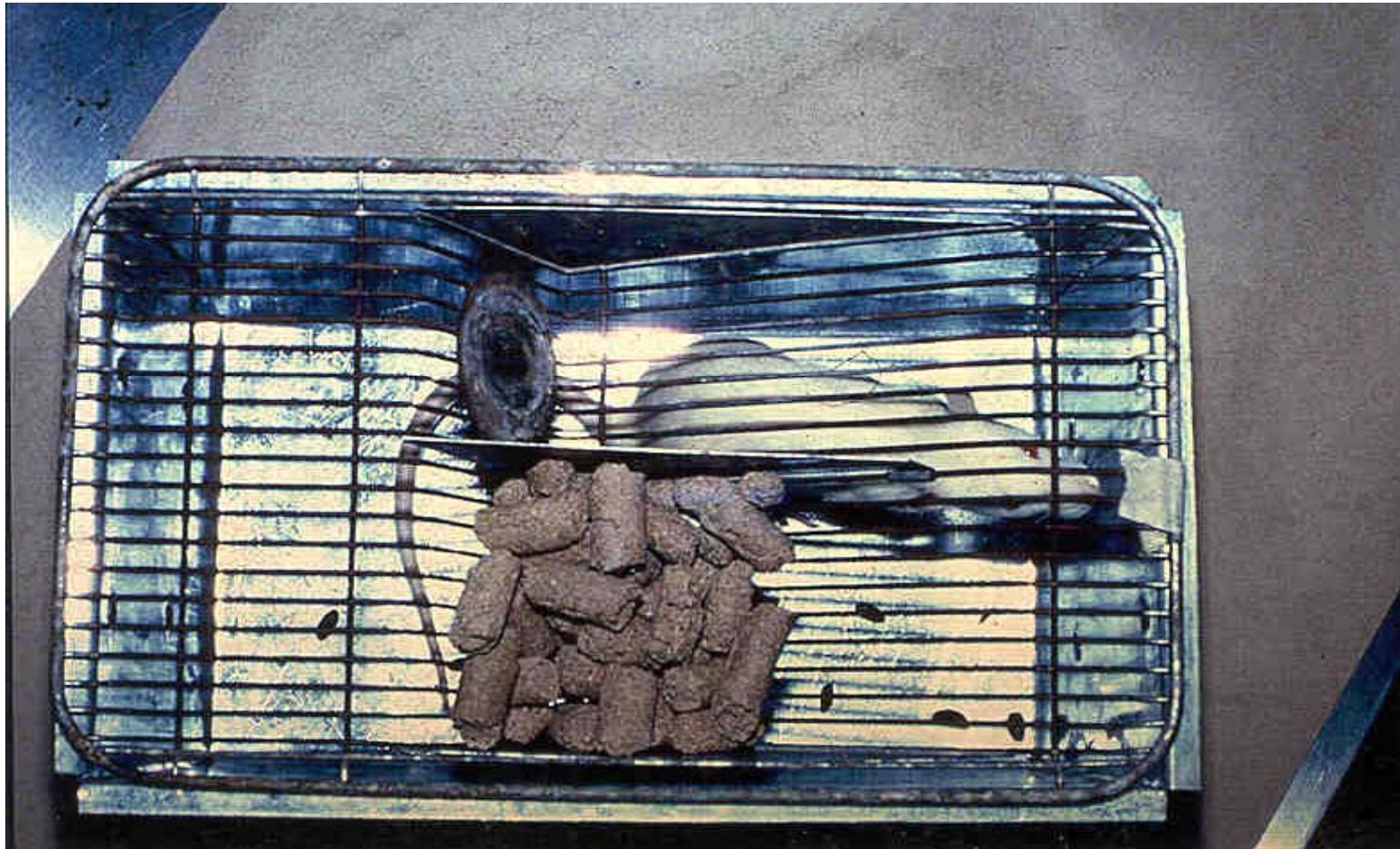


Período prepatente 28-30 días



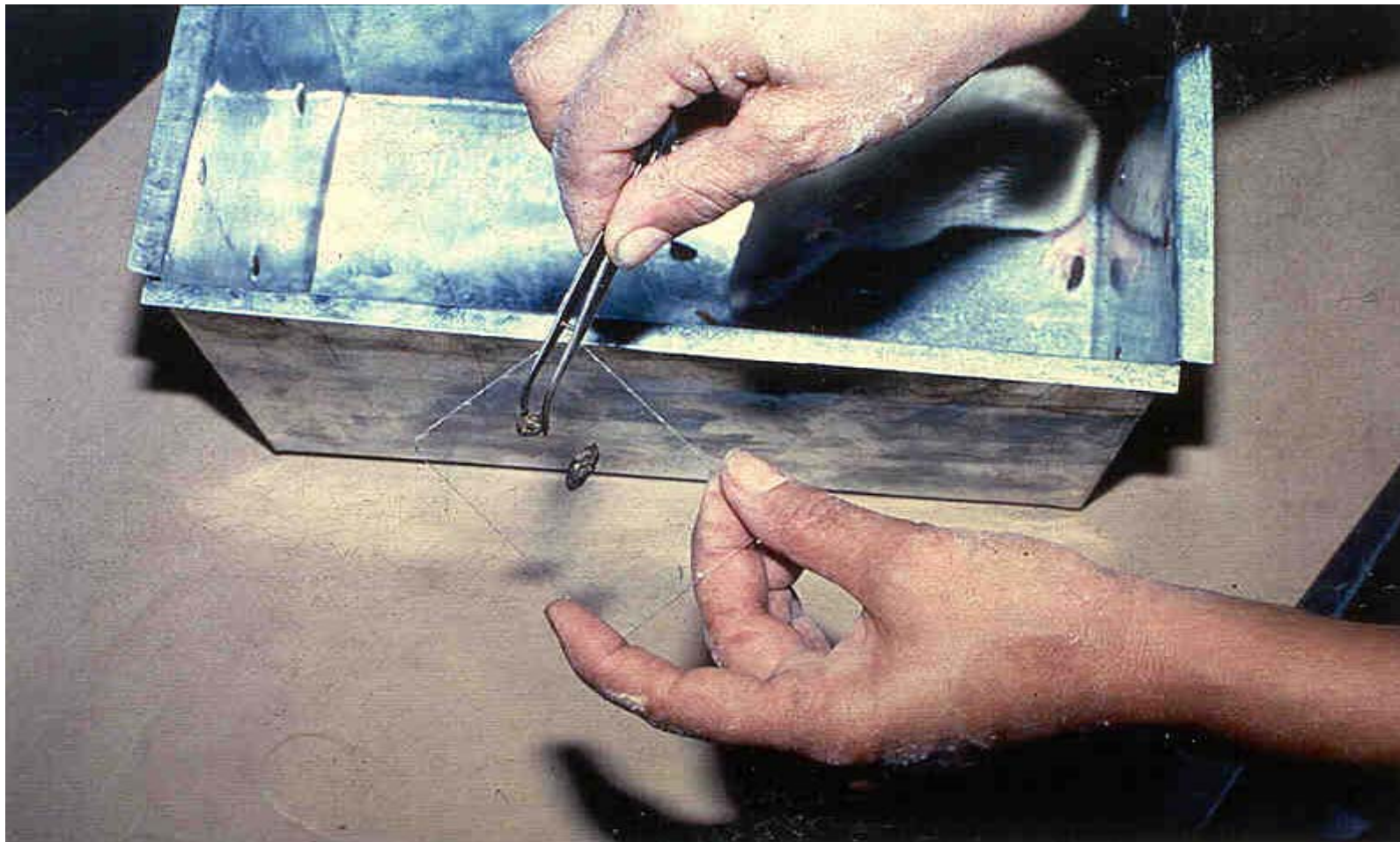


Buscar larvas de *A. costaricensis* en heces de ratón infectado



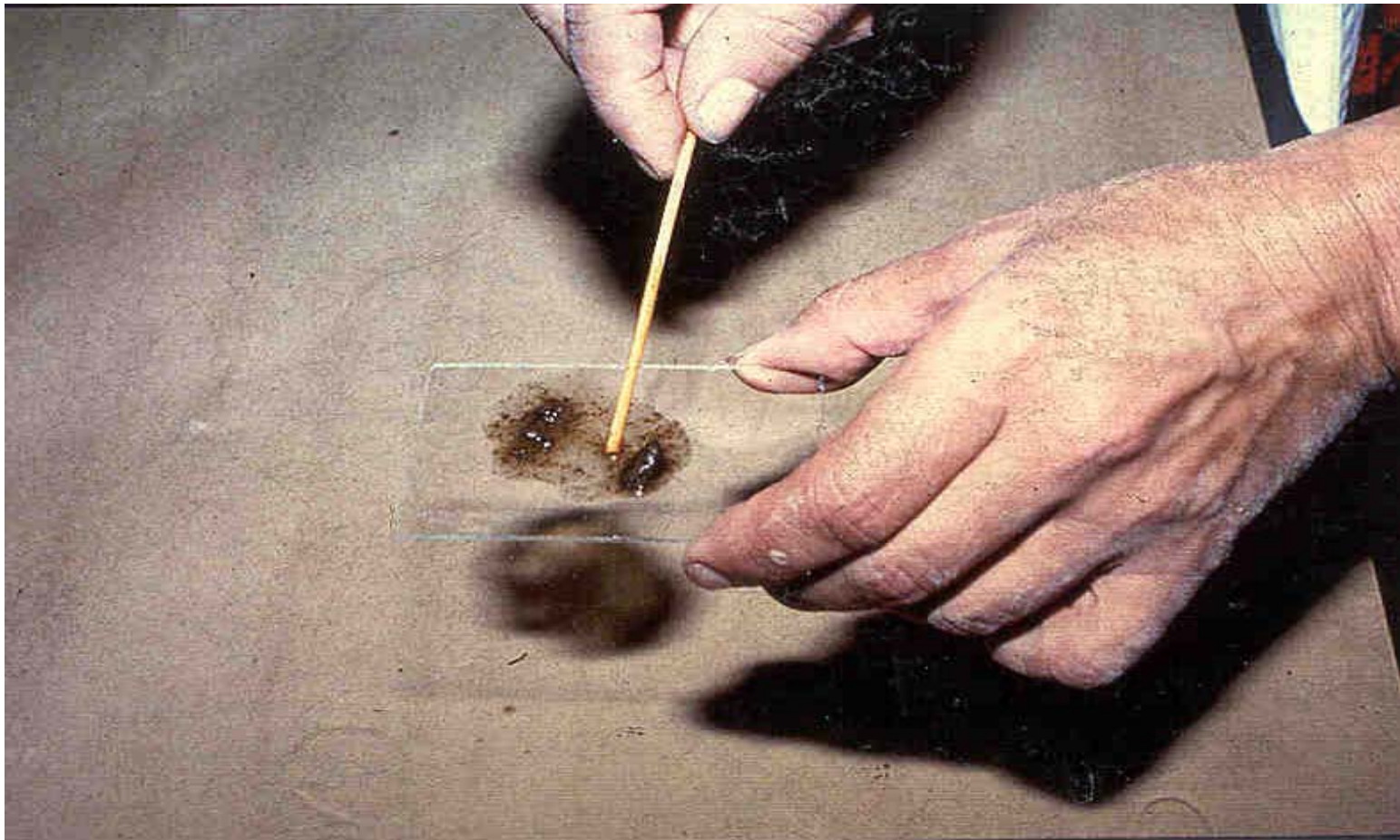


Heces de ratón sobre portaobjetos





Solución salina 0.85%



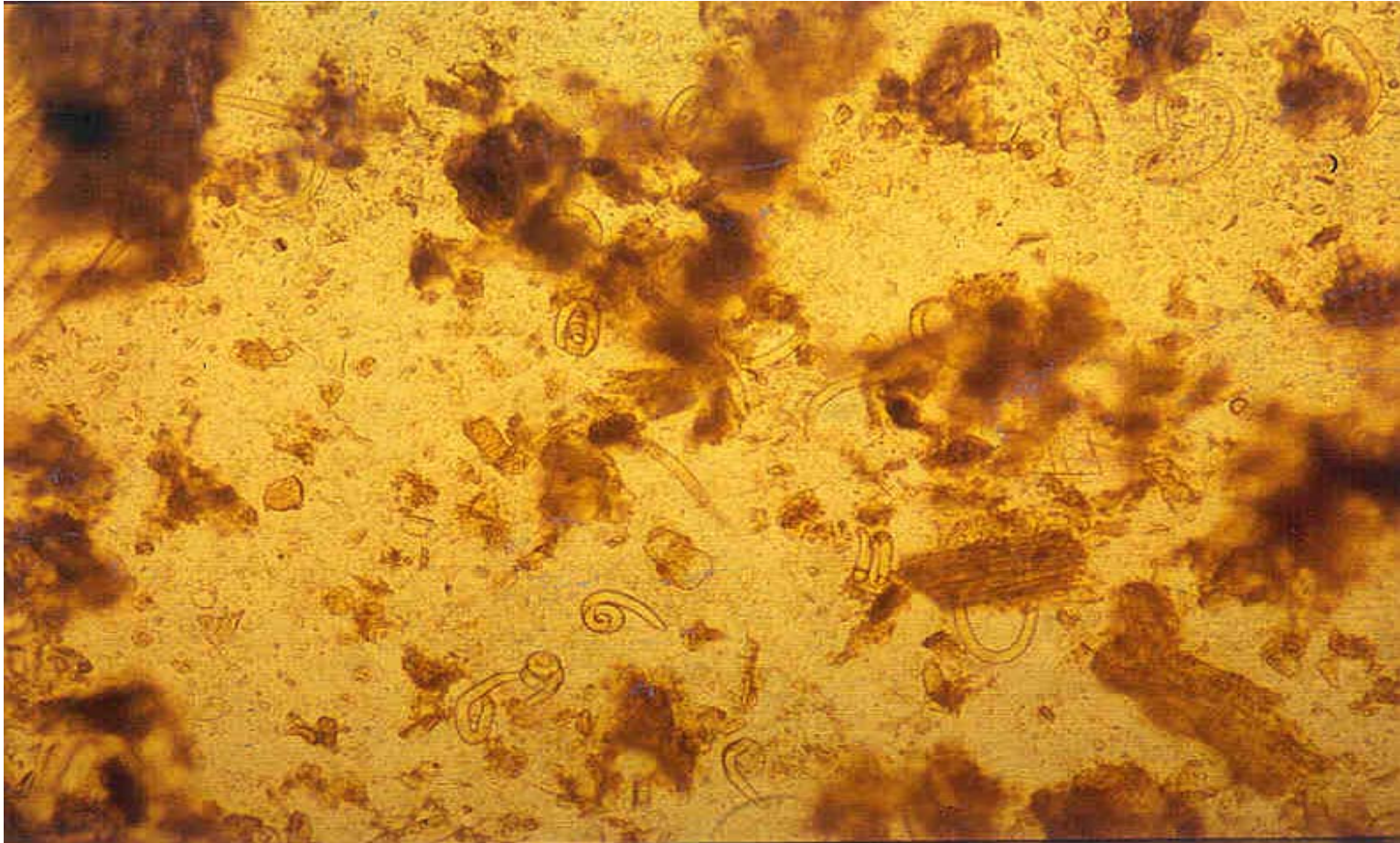


O hacer Baermann.





Larvas L1, *A. costaricensis*



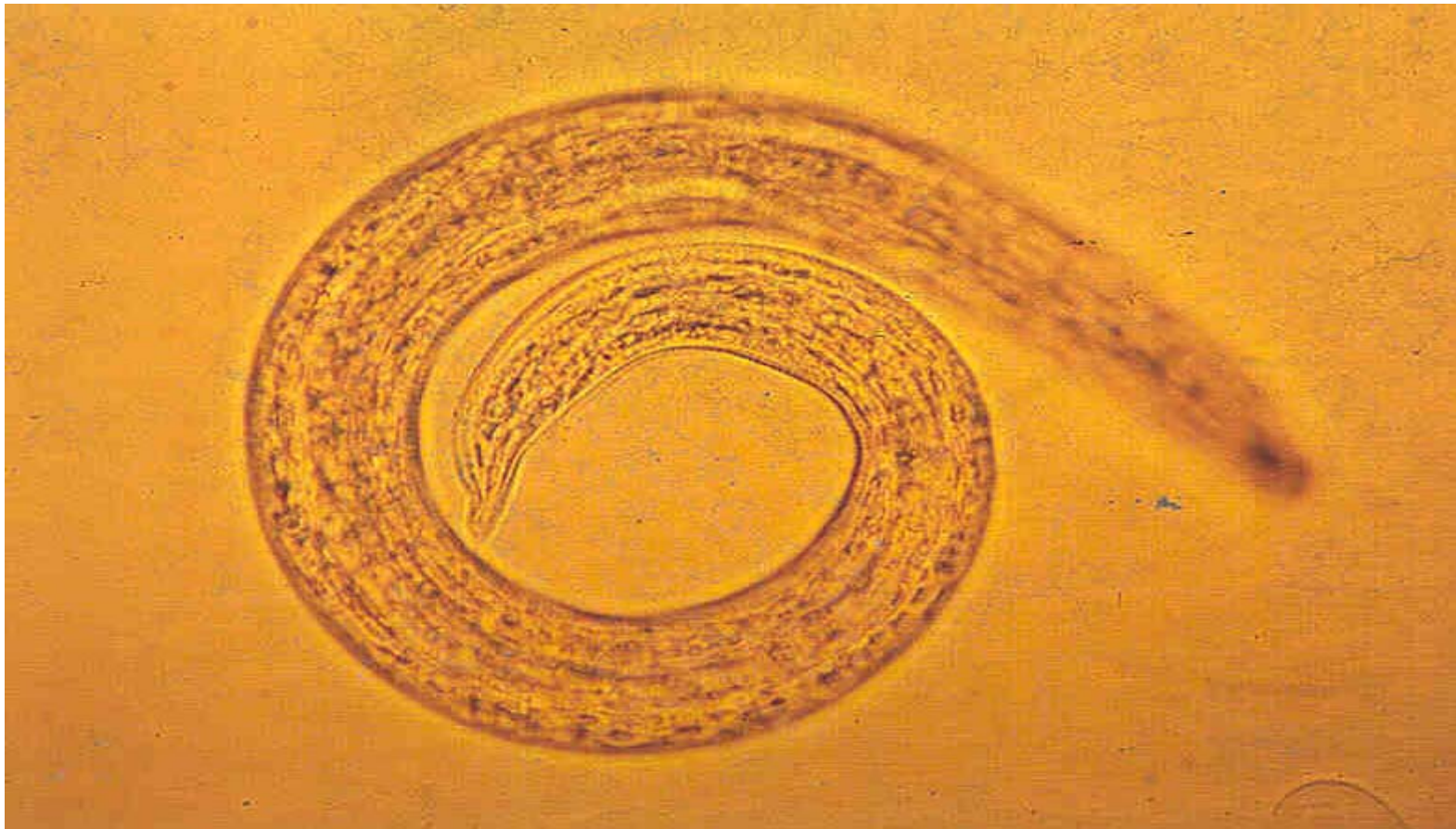


Morfología larvas

- L1 estadio larval en heces de roedor: 270 μ m de largo por 15 μ m de ancho.
- Muesca característica de metastrongilideo en extremo posterior.
- Debe ser ingerida por babosa.



Muesca en cola, larvas L1 en heces de roedor





Infección de babosas, heces de *Sigmodon* infectado sobre hojas





D.- Estudiar patología en babosas o en roedores infectados, tanto silvestres como de laboratorio.

Fijar ejemplares en formalina al 10% u otro fijador adecuado.

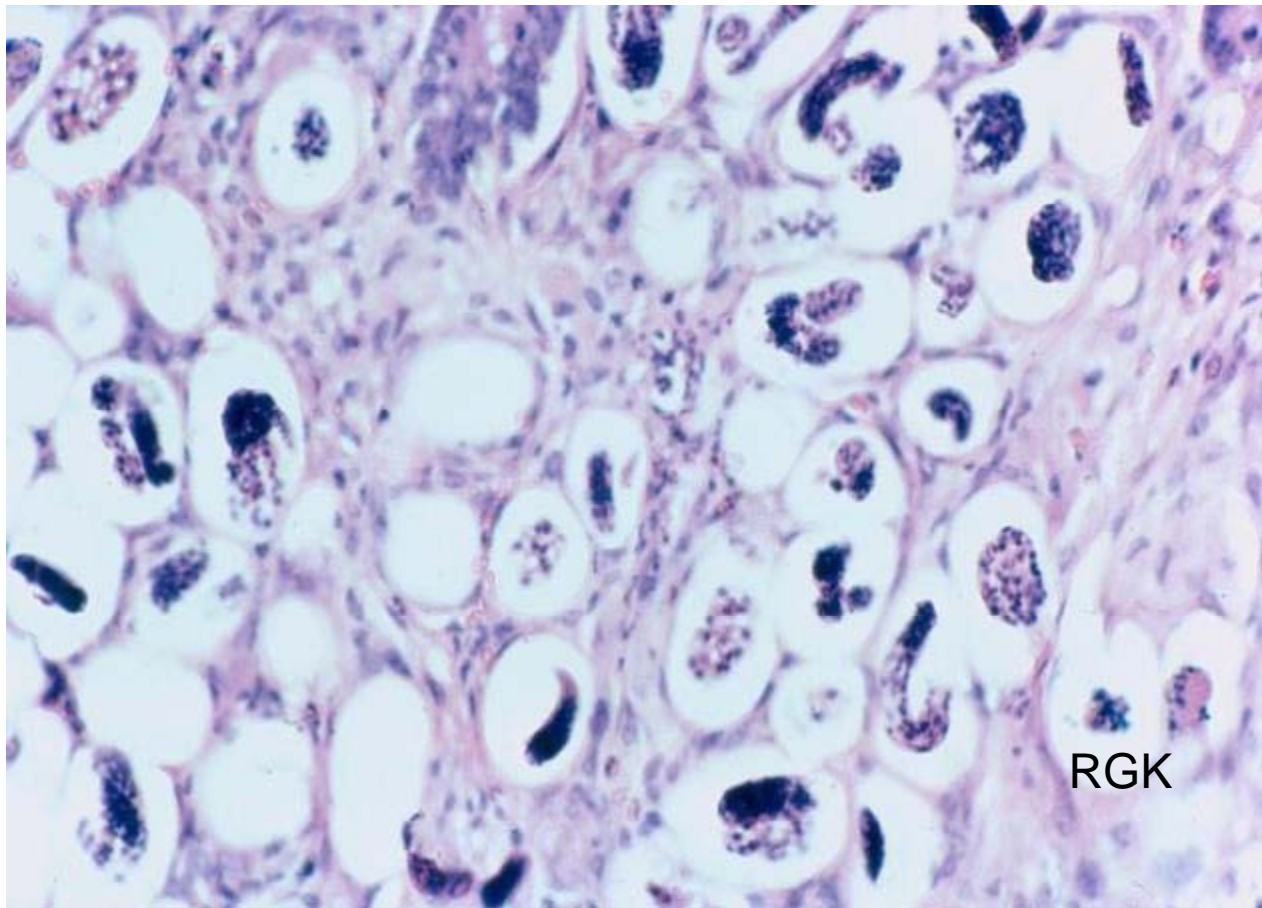


Recobrar mesenterios y fijar para estudio patológico





Huevos de *A. costaricensis* en tejido intestinal de rata.





Desinfectar. Lavado de manos.





Referencias

- Kaminsky RG. Rev Méd Hondur 1996; 64:139-147.
- Kaminsky RG & Caballero R. Parasitol al Día 1995; 19:81-89.
- Mota & Lenzi. Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 1995; 90:707-709.
- Morera P. Am J Trop Med Hyg 1973; 22:613-621.