



PERFIL LEUCOCITARIO ANTE INFECCION POR TRICHINELLA SPIRALIS EN ROEDORES EXPUESTOS A DESAFÍOS AMBIENTALES

Pontarelli, Fiorela¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias FCV-UNL

Director/a: Ruiz, Marcelo Fabián
Codirector/a: Racca, Andrea Laura

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Perfil hematológico, roedores, *T. spiralis*

INTRODUCCIÓN

Los roedores cumplen un rol relevante en la transmisión de un sinnúmero de enfermedades de importancia económica y sanitaria, por lo que comprender los determinantes que modulan su capacidad como reservorios y transmisores de patógenos es esencial, y de particular importancia, en veterinaria y salud pública (Meerburg et al., 2009). En el presente trabajo se seleccionó la infección por *Trichinella spiralis* en ratas de laboratorio expuestas a desafíos ambientales como modelo de estudio de la relación hospedador-parásito. Esto se debe a que *T. spiralis* es agente etiológico de triquinosis, una enfermedad zoonótica de relevancia en el país, pudiendo los roedores participar de su mantenimiento y transmisión (Sequeira et al., 2016).

Los factores que pueden influir sobre la transmisión de un patógeno son innumerables. Si bien existe una gran influencia de los atributos del parásito, la variabilidad de los resultados de esta interacción depende en gran medida de la estrategia de defensa del hospedador para enfrentar la infección (Raberg, 2009). Al mismo tiempo, los animales suelen enfrentar desafíos ambientales en la naturaleza que podrían estar influenciando la interacción hospedador-parásito. En este sentido, la evaluación del perfil leucocitario presenta características que pueden considerarse como indicadores de la condición de salud y de la inversión en inmunidad celular. Este estudio permitiría un primer acercamiento a las estrategias de defensa puestas en juego por el hospedador ante diferentes escenarios de desafíos ambientales.

Título del proyecto: "Influencia de estresores crónicos sobre la relación hospedador-parásito: ¿resistir o tolerar?"

Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: ANPCyT

Director/a: Dr. Pablo M. Beldomenico

OBJETIVOS

- Evaluar el impacto de la infección de *T. spiralis* sobre el conteo de leucocitos como indicadores de condición fisiológica en roedores expuestos a diferentes escenarios de desafíos ambientales.
- Determinar el perfil leucocitario de roedores infectados por *T. spiralis* expuestos a diferentes escenarios de desafíos ambientales, como indicador de inmunidad celular.

METODOLOGÍA

Condiciones experimentales y tratamientos

Los experimentos se realizaron en el bioterio del Centro de Medicina Comparada (ICIVET Litoral, UNL-CONICET). Se utilizaron un total de 40 ratas adultas macho (*Rattus norvegicus*, WISTAR) de diez semanas de edad. El experimento tuvo una duración de 12 semanas, e involucró 32 ratas en estudio más 8 'intrusos'. Se consideraron restricción alimentaria (RA+) y hacinamiento (H+) como variables independientes. Luego de una aclimatación de dos semanas, los individuos fueron asignados, al azar, a uno de cuatro grupos de tratamientos (con 2 réplicas cada uno): i) Control (C) (n=8, 4 por réplica); ii) Restricción alimentaria (RA) (n=8, 4 por réplica); iii) Hacinamiento (H) (n=8, 4 por réplica); y iv) Restricción alimentaria + hacinamiento (H) (n=8, 4 por réplica). Transcurridas 4 semanas de exposición a los tratamientos (Semana 6), todos los individuos fueron inoculados con 100 larvas infectivas de *T. spiralis* suspendidas en solución fisiológica estéril a través de sonda gástrica. Las mismas, se obtuvieron de tejido muscular de ratón por la técnica de digestión artificial.

Cada semana, los individuos fueron pesados y medidos, y se extrajo una muestra de sangre (máximo de 350 µl aprox.) por punción de la vena coccígea (en viales con EDTA). Luego de transcurridas 10 semanas desde el comienzo de los tratamientos, los animales fueron eutanasiados según protocolo del bioterio del Centro de Medicina Comparada. Posteriormente, diversos órganos fueron pesados y preservados por duplicado, en formol 10% o en ultrafreezer a -80°C para la realización de otros estudios.

Perfil hematológico

El conteo total de eritrocitos y leucocitos se realizó en el Laboratorio de análisis clínicos del Hospital de Salud Animal (FCV-UNL). Los mismos se realizaron semanalmente a través de un analizador hematológico de uso veterinario (BC 2800 Vet, Mindray®), dentro de las 2-4 h de efectuada la extracción de sangre. A continuación, se prepararon extendidos sanguíneos, los cuáles fueron teñidos mediante la técnica de May-Grünwald-Giemsa. Para el conteo diferencial de los leucocitos se consideró un mínimo de 100 células, las cuales fueron clasificadas según sus características morfológicas. El conteo absoluto de cada población leucocitaria se obtuvo a partir de multiplicar el conteo diferencial por el conteo total de leucocitos. Se analizó la totalidad de los recuentos totales y diferenciales (n=352).

Resultados

Los recuentos absolutos de leucocitos totales se muestran en la figura n°1 y los resultados de los recuentos absolutos diferenciales se encuentran graficados en la figura n°2 A a 2D.

No se encontraron diferencias significativas en el recuento total de leucocitos entre los grupos infectados y expuestos a desafíos ambientales y los individuos control (sólo con infección). Respecto del recuento diferencial, los eosinófilos parecen aumentar entre la semana 5 y 6, lo que corresponde con los días 7 a 14 post infección, siendo este aumento más marcado en aquellos individuos expuestos a restricción alimentaria. Luego los valores disminuyen en las dos semanas posteriores aunque no hasta los valores de las semanas previas a la infección. Los recuentos totales de linfocitos y de monocitos disminuyeron entre la semana 5 y 6 del experimento en todos los grupos. Los valores del recuento de neutrófilos aumentaron levemente entre la semana 5 y 6 para R y RH.

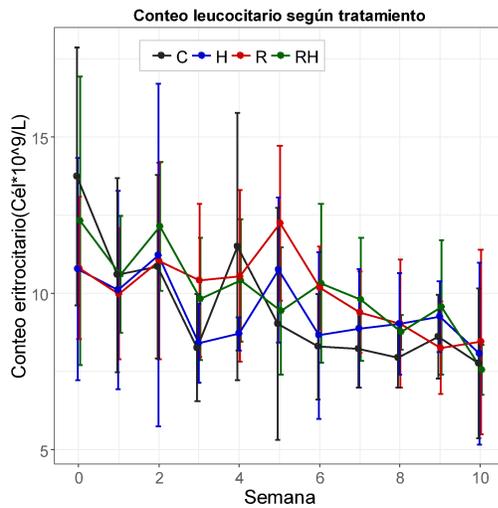
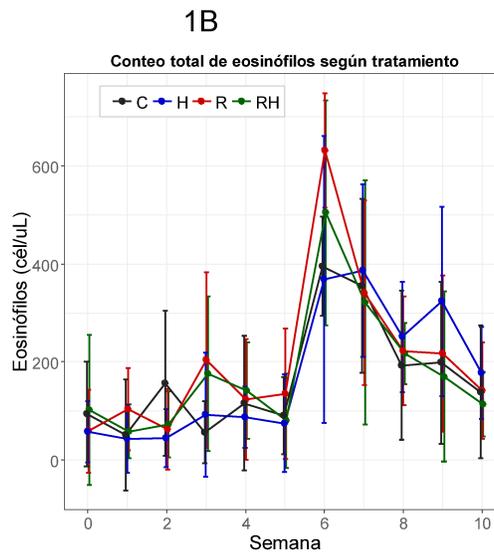
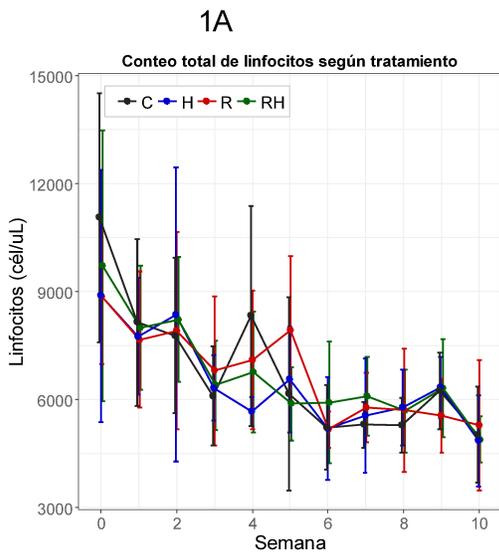


Figura 1. Influencia de restricción alimentaria (R), hacinamiento (H) y restricción alimentaria con hacinamiento (RH) sobre el recuento leucocitario total a lo largo de las 10 semanas del experimento. La inoculación con *T. spiralis* se realizó en la semana N°4.



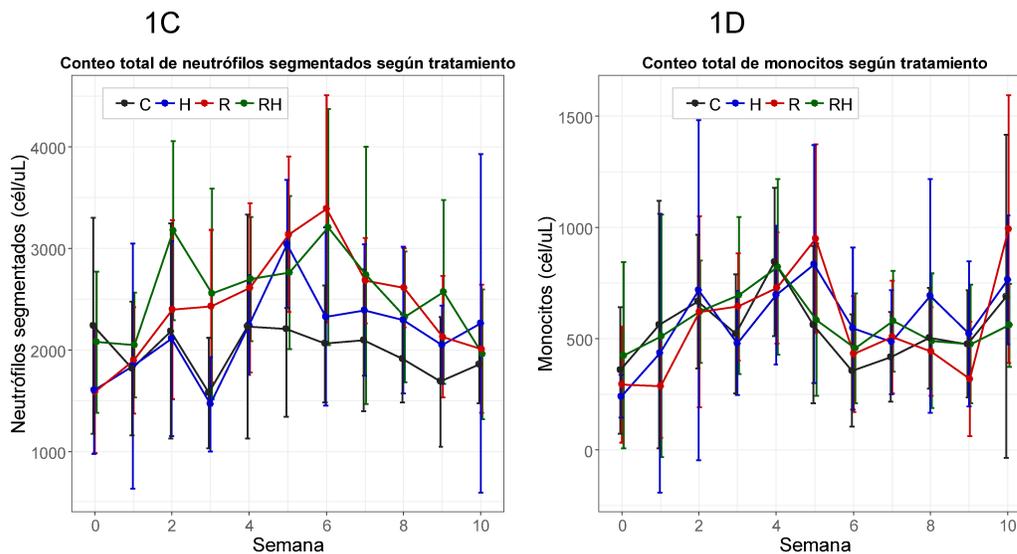


Figura 2. Influencia de restricción alimentaria (R), hacinamiento (H) y restricción alimentaria con hacinamiento (RH) sobre el recuento diferencial total a lo largo de las 10 semanas del experimento. La inoculación con *T. spiralis* se realizó en la semana N°4. 2A- Recuento total de linfocitos. 2B- Recuento total de eosinófilos. 2C- Recuento total de neutrófilos segmentados. 2D- Recuento total de monocitos.

CONCLUSIONES

- El número total de leucocitos no se modificó de forma considerable luego de la inoculación con el patógeno con respecto a las semanas previas. Por lo tanto no podría ser utilizado como parámetro de condición fisiológica en este modelo hospedador parásito. Esto puede deberse a la dosis infectiva utilizada.
- La eosinofilia leve observada entre la semana n° 5 y n° 6 podría sugerir una respuesta frente a la migración de las larvas. Este aumento fue mayor para aquellos animales expuestos a restricción alimentaria, lo que podría indicar que invierten más recursos en este tipo de respuesta leucocitaria. Esto se condice con lo hallado en un estudio realizado en carpinchos por nuestro grupo de trabajo (Eberhardt et al., 2013). Un patrón similar – aunque no tan marcado- se evidenció en el recuento total de neutrófilos.
- Respecto a los recuentos de linfocitos y monocitos, la tendencia a una disminución observada podría estar asociada a la migración de estas poblaciones celulares a los tejidos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Beldomenico, P. M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., Begon, M., 2008. The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology*, 77(5), 984-997.

Bruschi, F., Korenaga, M., Watanabe, N., 2008. Eosinophils and Trichinella infection: toxic for the parasite and the host?. *Trends in Parasitology*, 24(10), 462-467.

Eberhardt, A. T., Costa, S. A., Marini, M. R., Racca, A., Baldi, C. J., Robles, M. R., Moreno P. G., Beldomenico, P. M., 2013. Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. *PLoS One*, 8(7), e70382.

Meerburg, B. G., Singleton, G. R., Kijlstra, A., 2009. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Critical reviews in microbiology*, 35(3), 221-270.

Ortiz Rivera C. J., 2013. *Revista Gastrocnup*. 15 (1), 41-48.

Råberg, L., Graham, A. L., Read, A. F., 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1513), 37-49.

Ribicich, M., Gamble, H.R., Rosa, A., Sommerfelt, I., Marquez, A., Mira, G., Cardillo, N., Cattaneo, M.L., Falzoni, E., Franco, A., 2007. Clinical, haematological, biochemical and economic impacts of *Trichinella spiralis* infection in pigs. *Veterinary parasitology*, 147(3-4), 265-270.

Sequeira, G. J., Zbrun, M. V., Soto, L. P., Astesana, D. M., Blajman, J. E., Rosmini, M. R., ... Signorini, M. L., 2016. Quantitative Risk Assessment of Human Trichinellosis Caused by Consumption of Pork Meat Sausages in Argentina. *Zoonoses and public health*, 63(2), 167-176.

Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (Eds.). 2011. *Schalm's veterinary hematology*. USA: John Wiley & Sons.