

ARTÍCULO ORIGINAL**Infección experimental de larvas libres y enquistadas de Anisakis tipo I en ratas Wistar****Experimental infection of encapsulated and free larvae of Anisakis larvae type I in Wistar rats****Romero C, Valero A.**

Departamento de Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada
avalero@ugr.es

RESUMEN

En este trabajo se realiza un estudio sobre el papel patógeno de las larvas de *Anisakis* encapsuladas en las vísceras del pez y las que se encuentran libres en la cavidad corporal del mismo, mediante la estimación de las lesiones causadas en el tracto digestivo de ratas Wistar. Los resultados muestran que el porcentaje de lesiones fue mayor (92,9%) en las ratas infectadas con larvas libres que en aquellas a las cuales se les administraron las larvas encapsuladas (35,7%), además, ninguna de ellas se encontró en la cavidad corporal del animal.

PALABRAS CLAVE: *Anisakis*, ensayos *in vivo*, larvas encapsuladas, larvas libres, lesiones gastrointestinales.

ABSTRACT

In this study we performed a research on the pathogenic role of encapsulated *Anisakis* larvae in the viscera of the fish and free larvae in the body cavity of the fish, through the evaluation of the lesions induced in the digestive tract of Wistar rats. The results show that the percentage of lesions was higher (92.9%) in rats infected with free larvae than in those receiving encapsulated larvae (35.7%), besides, none of the larvae was found in the body cavity of the animals.

KEYWORDS: *Anisakis*, *in vivo* assay, encapsulated larvae, free larvae, digestive tract lesion

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Anisakis* realizan su ciclo biológico en el medio marino, infectando a mamíferos, crustáceos, cefalópodos y peces. Estos últimos albergan el tercer estado larvario (L3) que llega a ellos al alimentarse de crustáceos o por depredación de otros peces y cefalópodos, de menor tamaño, parasitados con la L3. A las pocas horas, las larvas se encuentran en la cavidad corporal y comienza su encapsulación aunque en algunas especies puede producirse incluso después de los 24 días¹. En los calamares, las larvas se asientan normalmente en la pared externa del estómago, mientras que en los peces estas suelen distribuirse principalmente en el hígado y mesenterio, e incluso en cualquier órgano de la cavidad corporal. También pueden encontrarse larvas en la musculatura, principalmente en los músculos hipoaxiales por ser los primeros con los que se pone en contacto los nematodos en el proceso de migración. Las larvas se enrollan en forma de espiral y van formando la capsula a partir del tejido conectivo del hospedador. La capa interna de la cápsula es fina y rodea cada vuelta de espira del nematodo. En algunas especies de pescado, como la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), muchas larvas se hallan libres en la cavidad corporal. Según algunos autores^{2,3}, cuando se captura el pescado y muere, parece que existe un proceso de desencapsulamiento de las larvas como consecuencia de los cambios *post mortem* que sufre el pescado, ello puede estar influenciado por la localización de las larvas, especies del pez, temperatura de mantenimiento, entre otros factores^{2,3,4,5,6}.

La razón por la que algunas especies de peces presentan abundantes larvas libres en la cavidad corporal no parece estar netamente definida y es objeto de controversia por parte de los investigadores. Desde el punto de vista sanitario es importante conocer los distintos aspectos de las larvas de *Anisakis* relacionados con su poder infectivo. Por ello, en este trabajo se ha planteado como objetivo determinar mediante experimentos *in vivo* si las larvas (L3) encapsuladas y aquellas que se encuentran libres en la cavidad corporal del pescado son igualmente patógenas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.-Obtención de las larvas de *Anisakis*. Las larvas se aislaron de bacaladillas (*Micromesistius poutassou*) de procedencia atlántica (península Ibérica), adquiridas en diferentes centros comerciales de Granada. Tras su disección se extrajeron las larvas libres que se encontraban presentes en la cavidad corporal y a continuación las encapsuladas en el paquete visceral que se depositaron en placas de Petri que contenían solución de ClNa al 0,9%.

2.-Estudio *in vivo*. El ensayo se ha realizado en dos grupos de 15 ratas Wistar hembras de 120-130 g de peso. A cada animal se le infectó con seis larvas, las cuales se depositaron directamente en el estómago mediante sonda gástrica, junto con 0,5 ml de

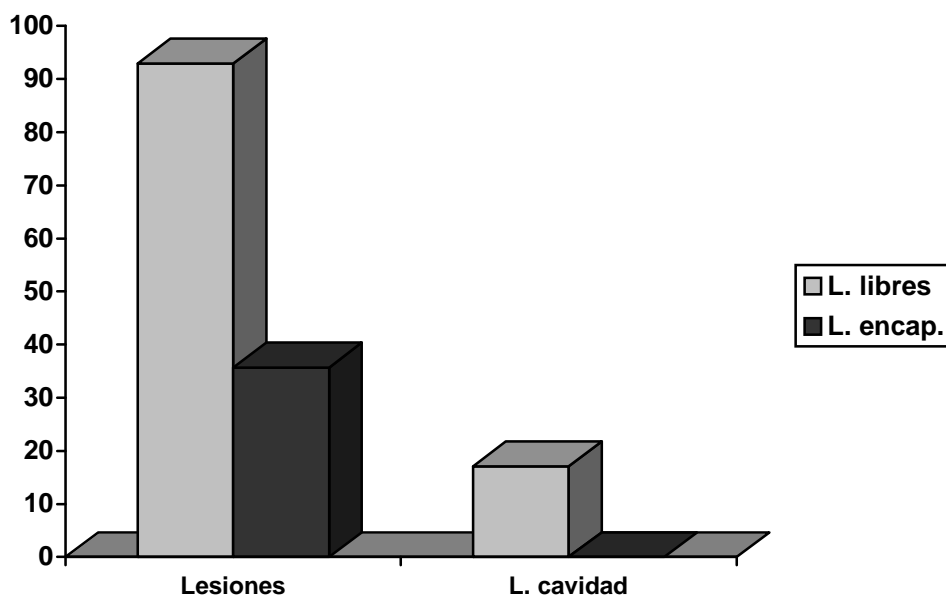
solución de CINa al 0,9%.^{7,8} Los parásitos se administraron al animal conservando intacta su estructura capsular. Las ratas se mantuvieron en ayunas (con agua), en jaulas individuales. A las cuatro horas del inicio de la experiencia se sacrificó el animal y se inició la necropsia reglada⁹, comprobando las lesiones producidas en el tracto digestivo, así como la localización de cada una de ellas.

3.-Identificación de los parásitos. La identificación morfológica de las larvas libres se llevó a cabo al microscopio estereoscópico, después de aislarlas del pescado, previa eliminación de los restos del hospedador y lavados con solución de CINa al 0,9%. En el caso de las larvas encapsuladas, el estudio de sus caracteres tuvo lugar después del ensayo *in vivo*, una vez extraídas de las ratas. Teniendo en cuenta los criterios aportados por Berland^{10,11}, todas las larvas se identificaron como *Anisakis* tipo I.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos *in vivo* realizados con larvas L3 de *Anisakis* tipo I han mostrado resultados diferentes, así, las ratas infectadas con las larvas que se encontraban libres en el pescado presentaron un porcentaje de lesiones de 92,9%, localizándose un 17,1% de larvas en la cavidad corporal; mientras el grupo de ratas infectadas con las larvas encapsuladas los valores de lesiones obtenidos fue de 35,7% y ningún *Anisakis* se encontró en la cavidad corporal (Gráfica 1).

Gráfica 1. Estudio *in vivo* de larvas de *Anisakis* spp. libres y encapsuladas.



A pesar de las implicaciones sanitarias que conlleva, se conocen pocos trabajos sobre este tema. No obstante, los datos obtenidos en este trabajo parecen poner de manifiesto un mayor poder patógeno de las larvas libres que aquellas que se hallan encapsuladas. Teniendo en cuenta que unas y otras tienen la misma morfología, cabe pensar que el grosor de la capsula que rodea a los parásitos le impida, en algunos casos, salir de ella y por tanto queden atrapados. Este hecho, se traduce en una falta de contacto parásito-pared gastrointestinal y en consecuencia en la ausencia de lesiones. Otro aspecto importante es que ninguna de las larvas encapsuladas que produjeron lesiones en las ratas, fueron capaces de atravesar la pared del tracto digestivo, sólo se encontraron fijadas en la pared gástrica y nunca en cavidad. Según Mikhailova et al.¹² y Prusevich¹³, las cápsulas más viejas pueden albergar la larva muerta y con el tiempo llegar a calcificar. Estos mismos autores indican que estas cápsulas son de menor tamaño, sin embargo, las utilizadas en nuestras experiencias no mostraban diferencias ni en el tamaño ni en el color e igualmente, todas las larvas presentaban un alto grado de movilidad.

Trabajo financiado por el proyecto: P07-CVI-03249.

BIBLIOGRAFIA

1. Wootten R, Smith JW. (1975). Observational and experimental studies on the acquisition of *Anisakis* sp. Larvae (Nematozoa: Ascaridida) by trout in fresh water. *Int. J. Parasitol.*, 5: 373-378.
 2. Hauck AK. (1977). Occurrence and survival of the larval nematode *Anisakis* sp. In the flesh of flesh, frozen, brined, and smoked Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*. *J. Parasitol.*, 63: 515-519.
 3. Smith JW, Wootten R. (1978). *Anisakis* and anisakiasis. *Adv. Parasitol.*, 16:93-163.
 4. Smith JW. (1984). The abundance of *Anisakis simplex* L3 in the body-cavity and flesh of marine teleosts. *Int. J. Parasitol.*, 14: 491-495.
 5. Huss HH. (1988). Nematodes in herring and herring products. 18th Annual meeting of the Western European fish Technologists Association. Tromsø.
 6. Roepstorff A, Karl H, Bloemsma B, Huss H. (1993). Catch handling and possible migration of *Anisakis* larvae in herring (*Clupea harengus*). *J. Food Protect.*, 56: 783-787.
 7. Hierro I, Valero A, Navarro MC. (2006). In vivo larvicidal activity of monoterpene derivatives from aromatic plants against L3 larvae of *Anisakis simplex* s.l. *Phytomed.* 13: 527-531
 8. Valero A, Hierro I, González P, Montilla P, Navarro MC. (2006). Activity of various essential oils and their main components against L3 larvae of *Anisakis simplex* s.l. In: J.N. Govil, V.K. Singh, P. Arunachalam, Editors, *Recent Progress in Medicinal Plants, Drug Development from Molecules* vol. 11, Studium Press, LLC, Houston, pp. 247-265.
 9. Feldman DB, Seely JC. (1988). *Necropsy guide: Rodents and the Rabbit*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
 10. Berland B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarcia*, 2:1-50.
 11. Petter AJ, Maillard C. (1988). Larves d'ascarides parasites de poissons en Méditerranée occidentale. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat., Paris, 4e Sér. 10 (sect. A)*: 347-369.
 12. Mikhailova IG, Prazdnikov EV, Prusevich TO. (1964). Morphological changes in the fish tissue around the larvae of some parasitic worms. *Tru. Murman Biol. Inst.*, 2: 251-264.
 13. Prusevich TO. (1964). On the formation of capsules around larvae of *Anisakis* sp. In the tissues of the shorthorn sculpin *Myoxocephalus scorpius*. *Tru. Murman Biol. Inst.*, 5: 265-273.
-