

ESTUDIO SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD DE UNA CEPA DE BIOMPHALARIA GLABRATA DE VENEZUELA A LA INFECCIÓN CON DOS DIFERENTES CEPAS DE SCHISTOSOMA MANSONI

Jesús ROMERO-MORRELL (1) y Carlo B. MARTA G. (2)

R E S U M E N

Los Autores estudian el comportamiento de la *Biomphalaria glabrata* del area geográfica de Caripe (Estado Monagas, Venezuela), ante los miracidia de *Schistosoma mansoni* de zonas endémicas de bilharziasis del país e investigan su capacidad de infectarse con miracidia de una cepa de *S. mansoni* procedente de Puerto Rico. Trabajando en condiciones de laboratorio, *Biomphalaria glabrata* de Caripe puestas en contacto con 10 miracidia (individualmente) de *S. mansoni* de la región endémica venezolana, cepa de origen humano mantenida en ratones, se infectaron en un 1,86%, mientras que caracoles de la misma cepa, bajo las mismas condiciones de laboratorio, puestos en contacto individualmente con 10 miracidia de *S. mansoni* de Puerto Rico, también cepa de origen humano mantenida en ratones, se infectaron en un 42,46% (corregido de 33,33%). El tiempo de prepatencia en la infección con *S. mansoni* de Puerto Rico varió entre 42 y 116 días. Autopsias tempestivas de algunos moluscos que permanecían negativos a la exposición a la luz solar, evidenciaron en el hepatopáncreas esporoquistes llenos de cercarias, pero con movimientos espasmódicos desordenados, dando la impresión que no llegarían a salir del esporoquiste. Por otro lado el período de patencia de la infección de la cepa Caripe con *S. mansoni* de Puerto Rico, en ocasiones, duró más de un año sin interrumpir la eliminación de cercarias.

I N T R O D U C C I O N

Finalidad de este trabajo ha sido estudiar, en condiciones de laboratorio, la insusceptibilidad de la *Biomphalaria glabrata* del area geográfica del río Caripe (Estado Monagas, Venezuela), zona en la cual no existe la endemia bilharziana a pesar de existir la especie vectora y de ser presumiblemente abundante la fuente de infección, a los miracidia de *Schistosoma mansoni* del area endémica de bilharziasis en Venezuela, así como también investigar su comportamiento ante cepas de *S. mansoni*

de otras procedencias geográficas. La duda de que fuese una especie diferente (o una subespecie) fué firmemente desechada, después de múltiples consultas que confirmaron la especie *glabrata*^{5,6,17,11}. Por otro lado ya son numerosas las señalizaciones de particulares cepas de *B. glabrata* y de otros hospedadores intermediarios habituales de *S. mansoni* que en ciertos biotopos resultan resistentes (o menos susceptibles) a cepas de *S. mansoni* de regiones endémicas vecinas o lejanas^{9,15,20,13,23,25,7,2,18,19}.

Trabajo realizado en el Laboratorio de Bilharziasis Experimental del Instituto de Medicina Tropical, con el aporte financiero del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela.

- (1) Profesor Titular, Jefe de Cátedra
(2) Profesor Asociado

Dirección: Cátedra de Parasitología, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Apartado 8250, CARACAS (Venezuela).

Más raras son las señalizaciones de hallazgos o hipótesis sobre los factores determinantes, más o menos relacionados con las características físicas ambientales del biotopo^{10,26} o con características bioquímicas o genéticas de susceptibilidad al *S. mansoni*, propias de ciertas cepas de *B. glabrata* o de otras especies de planorbídeos^{21,16,22,8}. También es escasa la información de trabajos científicos dirigidos a indagar la susceptibilidad de estas cepas, relativamente resistentes a *S. mansoni* de la región endémica vecina, frente a miracidia de *S. mansoni* procedentes de zonas endémicas de otros países, o de otras regiones del mismo país, pero alejadas^{4,14,25}.

MATERIALES Y METODOS

Acuarios

Los acuarios utilizados fueron de base rectangular de 35 cm. x 20 cm. y con 25 cm. de alto, con el fondo recubierto de granito blanco bien lavado, con o sin matas acuáticas (berro, hierbabuena y otras) recogidas en los mismos ríos de Caripe; cada uno de ellos se destinó para alrededor de 10 a 20 individuos. Se utilizaron aereadores, sin notar particular ventaja respecto a los envases sin aereación forzada. Se ensayaron como alimento el mismo berro, la lechuga fresca y la lechuga desecada y pulverizada. Los moluscos dieron su preferencia a la lechuga fresca.

Captura de las *Biomphalaria glabrata*

Se hicieron varios viajes a la región de Caripe con este fin. Una vez allí se recorrió el cauce del río Caripe, desde sus cabeceras hasta su desembocadura en el río Colorado; así mismo recorrimos el lecho de los pequeños afluentes, buscando los mencionados moluscos. La recolección se realizaba utilizando coladores de cocina, tamizando el limo blando de las orillas o de los remansos, donde había poca o mayor corriente, o buscando entre las raíces de la vegetación acuática. Los ejemplares se reunían en anchos envases, de boca también ancha, llenados de un tercio hasta la mitad con agua del lugar, algo del limo dentro del cual se encontraron los caracoles, y una que otra mata acuática. Los envases se colocaban en cajas de cartón bien acomodadas en la camioneta para el viaje de regreso a Caracas, de tal manera que fuese garantizada la oxige-

nación del agua. Una vez llegados a nuestro laboratorio, se iban pasando los caracoles a los acuarios, mezclando gradualmente y sucesivamente otra agua, naturalmente privada de cloro. La mortandad inicial (en el viaje y en los primeros días en Caracas) fué ocasionalmente alta, desde un 20 hasta un 60%, en parte atribuible al hacinamiento y el calor durante el viaje. Los sobrevivientes, después de unos días, en general se aclimataban y tuvieron una vida de apariencia normal.

Se capturaron también, en diferentes sitios, otros moluscos, principalmente *Lymnaea cubensis* y *Marisa cornuarietis*; la *L. cubensis* apareció frecuentemente asociada a la *B. glabrata*. Los lugares donde más abundantes aparecieron las *B. glabrata* fueron: 1) cerca del puente Pérez Serrano, dentro del casco urbano, 2) en los alrededores del puente frente al Hotel "El Guácharo", 3) en el caserío La Peña, 4) en las cercanías del caserío Teresén y 5) en la hacienda "La Elvira", sobre el mismo río Guácharo, afluente del río Caripe. El primer sitio mencionado fué el que resultó el más rico en moluscos.

Cepas de *Schistosoma mansoni* utilizadas

Para infectar las *B. glabrata* de Caripe se utilizaron dos cepas de *S. mansoni*: 1) la primera venezolana, de origen humano, mantenida rutinariamente en ratones blancos y en cuyo ciclo biológico anterior se había naturalmente empleado la *B. glabrata* de la región endémica y 2) la segunda, también de procedencia humana, puertorriqueña, criada en el laboratorio de Parasitología de la Universidad de Puerto Rico, gentilmente cedida a nosotros por el prof. José Oliver González y transportada a Caracas en un ratón blanco infectado experimentalmente en dicho laboratorio.

Los caracoles eran individualmente introducidos en sendos tubos de ensayo con agua de los acuarios; se les añadían 10 miracidia recién recolectados de las heces de los ratones, dejándolos en contacto durante 30' a 40'. A los 33-35 días se iniciaba la exposición a la luz solar intensa en envases individuales (beckers), para detectar la eventual salida de cercarias. La exposición a la luz solar se repetía cada 8 días hasta los 60 días de la infección y luego tres veces por semana hasta la muerte del caracol.

RESULTADOS

1) De 321 ejemplares de *B. glabrata*, cepa Caripe, divididos en varios lotes, puestos en contacto con 10 miracidia cada uno de *S. mansoni* de la región Centro Norte de Venezuela (zona endémica de bilharziasis), se infectaron seis ejemplares, es decir el 1,86%. En este grupo la prepatencia mínima fué de 107 días: un primer molusco resultó positivo y estuvo eliminando cercarias por unos pocos días y en seguida murió; tres más fueron positivos únicamente al sacrificarlos y disecarlos; y quinto estuvo positivo eliminando cercarias un solo día y murió poco después sin autopsia; el sexto se mantuvo eliminando abundantísimas cercarias durante 154 días.

2) De 93 ejemplares de *B. glabrata*, cepa Caripe, divididos también en varios lotes, puestos en contacto con 10 miracidia cada uno de *S. mansoni*, cepa de Puerto Rico, se infectaron 31 ejemplares, es decir el 33,33%. Sin embargo este porcentaje no toma en cuenta la mortandad acaecida antes de la primera positividad; si eliminamos los 20 moluscos que murieron antes de aparecer la primera eliminación de cercarias en cada lote, obtenemos una positividad real de 42,46%. En un lote de este grupo, integrado por 7 moluscos, de los cuales solo 4 llegaron vivos a la primera positividad, la eliminación de cercarias bajo la acción de la luz solar duró tan solo 48 horas; fué el lote en que la prepatencia tuvo una duración excepcionalmente breve (42 días). Un ejemplar murió seis días después y resultó todavía positivo a la autopsia, aunque las cercarias en el hepato-páncreas ya no tenían movimientos. Los tres ejemplares restantes sobrevivieron un mes más y al sacrificarlos no presentaron evidencias de cercarias en su interior.

DISCUSION

Nuestra experiencia confirma las numerosas observaciones sobre la distinta susceptibilidad de *B. glabrata* a la acción de diferentes cepas de *S. mansoni*, observaciones bastantes numerosas en nuestro continente^{1,2,4,7,9,13,14,18,19,24,25}.

El porcentaje de 42,46% nos parece bastante significativo de una selectiva susceptibilidad de la *B. glabrata* de Caripe para el *S.*

mansoni de Puerto Rico, si lo comparamos con el porcentaje de susceptibilidad para el *S. mansoni* venezolano, según el resultado obtenido por nosotros en este trabajo (1,86%) y por otros investigadores del país⁵. Habíamos juzgado correcto, en un primer análisis, tomar como número total de los caracoles sometidos al ensayo de susceptibilidad el que correspondía a los caracoles inicialmente sometidos al contacto con los miracidia; sin embargo, sucesivamente, nos pareció más justo eliminar de la cuenta los moluscos que habían muerto, sin control autóptico, antes de aparecer la primera eliminación de cercarias en cada lote. Esto a fin de eliminar la duda de que entre los muertos pudiera estar alguno ya infectado. De todas maneras estimamos prudente presentar los dos porcentajes.

Con respecto a la negativización de los tres ejemplares mencionada en "Resultados", ya COELHO⁷, trabajando con *Biomphalaria tenagophila* brasileña, ha llamado la atención sobre este fenómeno, atribuyendo el bajo porcentaje de positividad en ciertos casos, más que a la falta de penetración por parte del miracidium, más bien a la subsiguiente destrucción y reabsorción del esporoquiste por acción de los tejidos del molusco; evento que nos parece haberse realizado en estos casos.

Como resulta evidente por los datos estadísticos publicados por la División de Epidemiología y Estadística Vital del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social venezolano y por los resultados obtenidos por varios investigadores y por nosotros mismos, es muy remota la posibilidad que la infección de los moluscos y por ende de los humanos en la región de Caripe pueda ocurrir en condiciones naturales, aún pensando que portadores de *S. mansoni* puertorriqueño lleguen de turistas a ese sitio, dispersando eventualmente heces infectadas en las aguas que convergen al río Caripe, tan solo tomándola en cuenta como posibilidad muy excepcional. En efecto, a pesar de largos años de estadísticas epidemiológicas negativas, ha sido comprobado, hasta ahora, un solo caso autóctono de Caripe (niña de siete años que nunca se alejó de la zona) portador de huevos de *S. mansoni* en las heces³.

Al contrario, y coincidiendo con el criterio de HUBENDICK¹², consideramos de interés

epidemiológico nuestras observaciones, al hipotetizar la posibilidad de utilizar la cepa Caripe, resistente al *S. mansoni* criollo (gen dominante?) para la hibridación de la cepa susceptible en su propio biotopo, como instrumento de lucha biológica.

S U M M A R Y

Study on the susceptibility of a Venezuelan *Biomphalaria glabrata* strain to infection with various strains of *Schistosoma mansoni*

The Authors studied the behavior of *Biomphalaria glabrata* from the geographic area of Caripe, Monagas States, Venezuela, in the presence of miracidia of *Schistosoma mansoni* from bilharziasis endemic zones of the country. They also studied the infection capacity with miracidia from a strain of *Schistosoma mansoni* from Puerto Rico. Under experimental conditions, *B. glabrata* from Caripe were individually put in contact with 10 miracidia of *S. mansoni* of the endemic region. This strain is from a human case, kept in mice. *B. glabrata* were infected in a 1.86%, whereas snails of the same strain, under the same conditions, in contact with 10 miracidia of *S. mansoni* from Puerto Rico (also this strain from human origin kept in mice), were infected in a 42.46%. The prepatency period of the infection by *S. mansoni* from Puerto Rico varied between 42 and 116 days, taking into consideration only the first positivity in the group. On the other hand some snails individually started to eliminate cercarias much later. Some molluscs were examined after dissection because they remained negative when exposed to sun light. Under these conditions they showed sporocysts full of cercarias apparently mature, in the hepatic glands. The cercarias showed random spasmodic movements, giving the impression that they would not get out spontaneously from the hepatic gland. The patency period of the snails from Caripe infected with *S. mansoni* from Puerto Rico, in occasions, lasted more than one year without interrupting the cercarias elimination.

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestras gracias al prof. José Oliver González de Puerto Rico por la amabi-

lidad que tuvo de enviarnos la cepa de *S. mansoni* de aquella región.

REFERENCIAS

1. BARBOSA, F. S. & BARBOSA, I. — *Tropicorbis chilensis* from Santiago, Chile, a potential intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Bol. Chileno Parasit.* 13: 7-9, 1958.
2. BARBOSA, F. S. & BARRETO, A. C. — Differences in susceptibility of Brazilian strains of *Australorbis glabratus* to *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasit.* 9: 137-140, 1960.
3. BRICEÑO IRAGORRY, L. — Nuevo foco de bilharziosis en el oriente de la República. *Bol. Labor. Ci. Luis Bazetti* n° 23/24, 1947.
4. BROOKS, C. P. — A comparative study of *Schistosoma mansoni* in *Tropicorbis havanensis* and *Australorbis glabratus*. *J. Parasit.* 39: 159-163, 1953.
5. CHROSCECHOWSKI, P. — Comunicaciones personales (1972-1977).
6. CHROSCECHOWSKI, P. — Planorbídeos (Gastropoda — Pulmonata) venezolanos identificados en el Laboratorio Malacológico de la División de Anquilostomiasis y Otras Helminthiasis del M.S.A.S. Trabajo presentado a la II Reunión del Caribe pro-Investigación de la Bilharziasis, Maracay (Venezuela), 1969.
7. COELHO, M. V. — Susceptibilidade de *Australorbis tenagophilus* a infecção por *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4: 289-295, 1962.
8. FILES, U. S. — A study of vector-parasite relationships in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 41: 264-269, 1951.
9. FILES, U. S. & CRAM, E. B. — A study of the comparative susceptibility of snails vectors of strains of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 55: 555-560, 1949.
10. HAAS, W. — The attachment response of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. Influence of natural substrates and temperature. *Z. Parasitenk.* 49: 63-72, 1976.
11. HUBENDICK, B. — Studies on Venezuelan Planorbidae. Göteborg Kungl. Vetenskaps-och Vitterhets-Samhälles Handlingar. Sjtätte Följdan. Ser. B Band 8, n° 9, 1961.
12. HUBENDICK, B. — A possible method of Schistosoma-vector control by competition between resistant and susceptible strains. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 18: 1113-1116, 1958.
13. KAGAN, I. G. & GEIGER, S. J. — The susceptibility of three strains of *Australorbis glabratus* to

ROMERO-MORRELL, J. & MARTA G., C. B. — Estudio sobre la susceptibilidad de una cepa de *Biomphalaria glabrata* de Venezuela a la infección con dos diferentes cepas de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 20:313-322, 1978.

- Schistosoma mansoni* from Brazil and Puerto Rico. *J. Parasit.* 51: 622-627, 1965.
14. MC QUAY, R. M. — Susceptibility of a Louisiana species of *Tropicorbis* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasit.* 1: 184-188, 1952.
15. NEWTON, W. L. — The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 38: 362-366, 1952.
16. NEWTON, W. L. — The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Exp. Parasit.* 2: 242-257, 1953.
17. PARAENSE, W. L. — Comunicación personal (1976).
18. PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. — Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5: 15-27, 1963a.
19. PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. — Susceptibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5: 23-29, 1963b.
20. RAMOS, A. DA SILVA & col. — Observações sobre *Australorbis tenagophilus*, transmissor da Esquistossomose mansônica. *Arq. Hig. Saúde Pública (São Paulo)* 26: 121-124, 1961.
21. RICHARDS, C. S. — Inheritance of susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 56: 281-282, 1970 (Secc. II, Parte 1).
22. RICHARDS, C. S. — Genetic studies on variation in infectivity of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 61: 233-236, 1975.
23. RICHARDS, C. S. — Genetic factors in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for different strains of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 70 (II part): 231-241, 1971.
24. ROMERO, J. & MARTA, C. B. — Observaciones sobre el comportamiento de *Schistosoma mansoni*, cepa Puerto Rico, en *Biomphalaria glabrata*, cepa Caripe. Comunicación hecha en la VII Reunión del Caribe pro-Investigación de la Bilharziasis. Maracay (Venezuela), 1976.
25. SAMPAIO-XAVIER, M. L. & FRAGA DE AZEVEDO, J. — Infecção experimental de *Biomphalaria glabrata* de Brazil com a stirpe angolana de *Schistosoma mansoni*. *García da Orta, Ser. Zool. Lisboa* 2: 25, 1973.
26. UPATHAM, E. S. — The effect of water temperature on the penetration and development of *St. Lucian Schistosoma mansoni* miracidia in local *Biomphalaria glabrata*. *S. E. Asian J. Trop. Pub. Hlth.* 4: 367-370, 1973 (en *Roy. Trop. Dis. Bull.* 71: nº 2027, 928, 1974).

Recebido para publicação em 20/7/1977.