

EL CICLO EVOLUTIVO EXPERIMENTAL DE *Diphyllobothrium erinaceieuropei* EN *Paracyclops fimbriatus*, LARVAS DE *Bufo arenarum* Y CANINOS

Lucila VENTURINI (1)

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue lograr la reproducción experimental del ciclo evolutivo de *Diphyllobothrium erinaceieuropei* Rudolphi 1819 (Cestoda, Pseudophyllidea) con la intervención de *Paracyclops fimbriatus* y larvas de *Bufo arenarum* como hospedadores intermediarios y caninos como hospedadores definitivos.

Los huevos del parásito se obtuvieron de heces de caninos infectados naturalmente y se conservaron refrigerados en agua. Se incubaron 7 días a 25°C para que desarrollaran los coracidios y se pusieron en recipientes que contenían a los copépodos mencionados. Al cabo de 12 días a 22,6°C (promedio) se hallaron procercoides maduros en ellos y se agregaron 10 renacuajos de *Bufo arenarum*. Estos se examinaron por disección 22, 23, 61 y 107 días después, hallándose en todos 1 o más plerocercoides (Temperatura promedio: 24,9°C).

El día 23, de 6 renacuajos se obtuvieron 49 plerocercoides, de los cuales se administraron 28, por vía oral, a una perra. El día 107, 3 de 11 plerocercoides obtenidos de un renacuajo se le dieron a otra perra por la misma vía.

Se hallaron huevos del cestode en las heces del primer canino a partir del día 22 posterior a la infección (p.i.) y a los 30 días p.i., segmentos de estróbila. En el segundo canino se hallaron huevos a los 30 días p.i.

UNITERMOS: *Diphyllobothrium erinaceieuropei*, ciclo evolutivo, Cestodes, evolución experimental.

INTRODUCCIÓN

Diphyllobothrium erinaceieuropei Rudolphi 1819 (Cestoda, Pseudophyllidea), en estado adulto parasita el intestino de cánidos, félidos y seres humanos^{2, 3, 6 a 8, 12, 15}. Este parásito ha sido hallado en Sudamérica^{13, 15} pero no se logró reproducir el ciclo evolutivo completo. Sólo se han obtenido cestodes adultos en caninos a los que se le administraron plerocercoides extraídos de animales infectados naturalmente¹⁵.

Durante dicho ciclo evolutivo, los huevos son expulsados al exterior con las heces. Si van al agua, desarrolla en su interior un coracidio, el cual, al ser ingerido por un crustáceo copépodo, continúa su evolución hasta el estado de procercoide^{1 a 3, 7 a 9}. Para llegar al estado de plerococoides debe ser comido por batracios, reptiles, aves o mamíferos^{1 a 9, 14, 15}. Este estado, también llamado espargano, produce un factor de creci-

(1) Profesora Titular de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

miento en sus hospedadores intermediarios¹¹. Si es ingerido por cánidos o félidos se desarrolla el estado adulto en el intestino. En seres humanos se pueden hallar plerocercoides o adultos¹².

Según algunos autores^{1, 3, 9}, las larvas de batracios serían los hospedadores más adecuados para que se produzca la evolución de procercoide a plerocercoides. Los batracios adultos y los animales de los otros grupos zoológicos antes mencionados actuarían como hospedadores de transporte, adquiriendo la infección por la ingesta de renacuajos.

El objetivo de este trabajo fue lograr la reproducción experimental del ciclo evolutivo de *Diphyllbothrium erinaceieuropei* con la intervención de *Paracyclops fimbriatus* y larvas de *Bufo arenarum* como hospedadores intermediarios y caninos como hospedadores definitivos.

MATERIALES Y METODOS

Se lavó la materia fecal de caninos naturalmente infectados por *Diphyllbothrium erinaceieuropei*, a través de tamices de distinta medida, reteniendo los huevos con uno de 400 meshes. Se conservaron en refrigerador a 5°C en agua destilada. Para obtener coracidios, los huevos se pusieron en estufa a 25°C, durante 7 días.

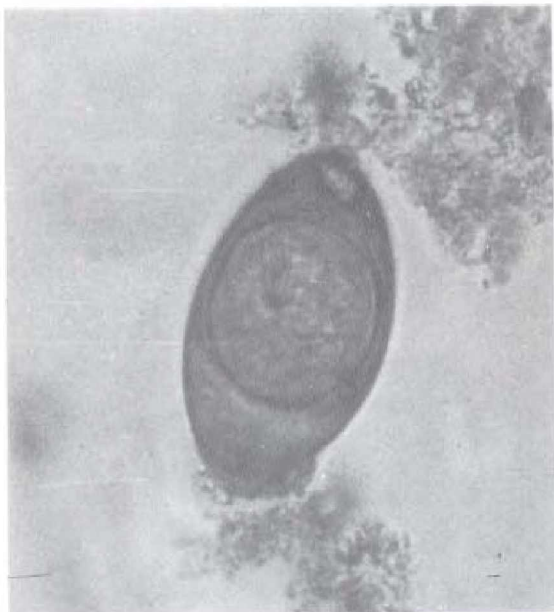


Fig. 1 — Huevo con cornucopia.

Se tomaron muestras de agua que contenían copépodos, de una charca permanente; pertenecían a la especie *Paracyclops fimbriatus*. Se mantuvieron en el laboratorio en recipientes de vidrio, con iluminación natural.

Se examinaron microscópicamente, en fresco, 100 individuos, determinándose que no estaban infectados.

Se colectaron renacuajos de *Bufo arenarum* y se mantuvieron en recipientes con agua corriente, agregando a los mismos, periódicamente, hojas de lechuga como alimento.

Para lograr el desarrollo del cestode adulto se mantuvieron en cautiverio 2 perras, una de 3 años de edad (N° 1) y la otra de 3 meses (N° 2), libres de infección previa por *Diphyllbothrium erinaceieuropei*.

Los perros de los cuales se obtuvieron los huevos del parásito, así como los renacuajos y los copépodos eran de la ciudad de La Plata (Argentina).

Se pusieron coracidios en los recipientes que contenían a los copépodos. Se extrajeron 3 a 5 ejemplares diariamente, se observaron microscópicamente, en fresco, a fin de apreciar la evolución de la infección y se midieron las formas parásitas halladas.

Se pusieron 10 renacuajos en un recipiente que contenía copépodos con procercoides maduros. Veintidós, 23, 61 y 107 días después, se examinaron 1, 6, 2 y 1 renacuajo, respectivamente, mediante disección bajo lupa estereoscópica. Los primeros 7 renacuajos se mataron para inspeccionarlos, los 3 últimos murieron espontáneamente.

Se mantuvieron 40 renacuajos como testigos en recipientes sin copépodos. 20 se examinaron al comienzo del experimento y 20 más entre los días 23° y 61°. Se midieron en vivo los plerocercoides obtenidos los días 23, 61 y 107. Se registró la temperatura del laboratorio.

Se administraron a la perra N° 1, por vía oral, 28 plerocercoides obtenidos durante la disección de renacuajos del día 23 y a la perra N° 2; 3 plerocercoides del día 107.

Se realizaron exámenes de materia fecal de los caninos por la técnica de Benbrooke modificada (flotación de huevos de helmintos en solución de azúcar de 1300 de densidad, por centrifugación), a partir de los días 10^o y 30^o posteriores a la administración de plerocercoides (perra N^o 1 y N^o 2, respectivamente).

Se fotografiaron los estados del cestode. los plerocercoides y los segmentos de la estróbila se tiñeron con carmin clorhídrico y se diafaniaron con creosota.

RESULTADOS

Las formas de desarrollo del parásito halladas en los copépodos que estuvieron con coracidios, fueron las siguientes:

- a) esféricas, de 39 a 45 micrómetros de diámetro, con tres pares de ganchos;
- b) elipsoidales, de 66 a 117 micrómetros de largo por 27 a 45 de diámetro, con los ganchos en un extremo;
- c) elipsoidales, con cercómero, de hasta 193 micrómetros de largo por 66 de diámetro;
- d) elipsoidales, sin cercómero, de 132 micrómetros de largo por 57 de diámetro, con espinas bien desarrolladas en la extremidad anterior y corpúsculos calcáreos. Esta última forma se consideró procercoide infectante.

El tiempo mínimo transcurrido, desde que se pusieron los coracidios hasta que se hallaron los procercoides completamente desarrollados, fue de 12 días, a 22,6°C de temperatura promedio (20° a 25°C).

En la Figura n^o 4 se hallan los resultados de la infección de los renacuajos.

El plerocercóide del día 22^o midió 2,7 mm. Los de los días 61 y 107 alcanzaron los 5 mm. Algunos plerocercóides abandonaron los renacuajos muertos. La temperatura promedio para los 107 días fue de 24,9°C (21° a 31°C).

No se hallaron plerocercóides en los renacuajos testigos.

En las heces de la perra N^o 1, se hallaron huevos del parásito desde el día 22 posterior a la administración de plerocercóides hasta el día 44; y a partir del día 134^o. En el lapso comprendido entre los días 50^o y 130^o, no se observaron

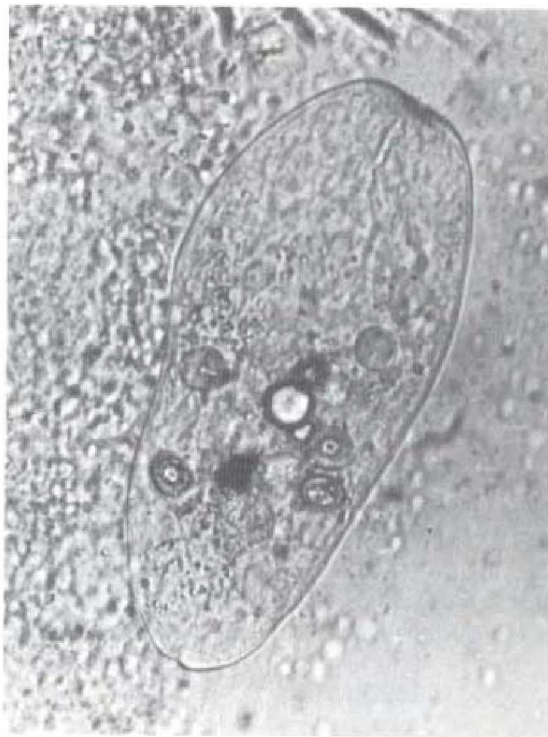


Fig. 2 — Procercoide.

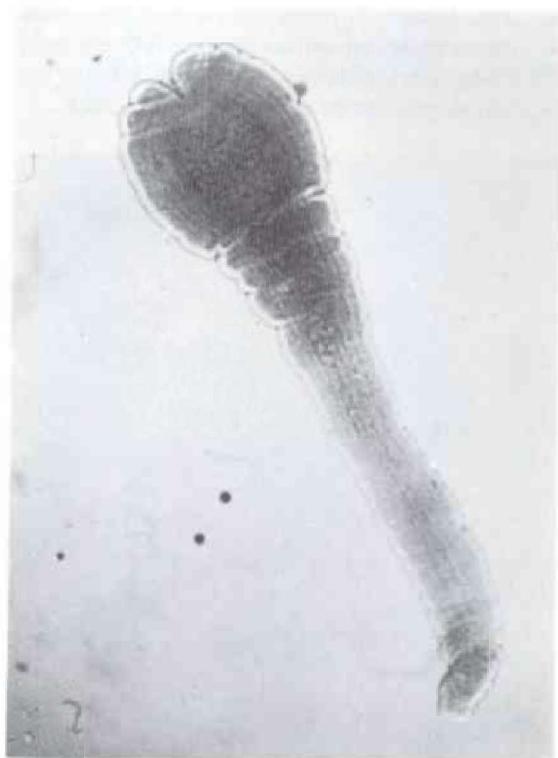


Fig. 3 — Plerocercóide.

Día*	cantidad de renacuajos	cantidad de plerocercoides por renacuajo
22.	1	1
23.	6	2, 4, 7, 9, 13, 14
61.	2	5, 2
107.	1	11

* Día: corresponde al día en que fueron examinados los renacuajos después de haberlos puesto con los copépodos infectados.

Fig. 4 — Plerocercoides obtenidos de larvas de *Bufo arenarum*.

huevos del parásito. En las heces de la perra N° 2 se hallaron huevos a partir del día 30°.

Treinta días después de la infección de la perra N° 1, se hallaron segmentos de estróbila en su materia fecal. Las características morfológicas correspondieron con las de *Diphyllbothrium erinaceieuropei*^{2, 6, 10}.

DISCUSIÓN

Se logró la reproducción experimental del ciclo evolutivo de *Diphyllbothrium erinaceieuropei* con la intervención de *Paracyclops fimbriatus* y larvas de *Bufo arenarum* como hospedadores intermediarios y caninos como hospedadores definitivos.

Varios autores comprobaron que el desarrollo de los procercoides se realiza en copépodos de la familia Cyclopidae^{1, 2, 3, 7, 8}. Aunque existen diferencias de susceptibilidad a la infección^{1, 3, 8}, no se ha hallado ninguna especie que sea absolutamente refractaria, por lo que es probable que otras especies de la misma familia, además de *Paracyclops fimbriatus*, actúen como primer hospedador intermediario en Sudamérica.

Según algunos de los autores antes citados, la evolución hasta el estado de plerocercoides se produce en renacuajos de ranas, como *Hyla latopalmata*⁹, *Rana tigrina*, *Rana limnocharis* y *Rana ghentieri*³, y de *Crinia* sp¹.

En este experimento el estado de plerocercoides fue alcanzado en renacuajos del sapo *Bufo arenarum*.

Los plerocercoides obtenidos de renacuajos vivos y muertos fueron infectantes para las per-

ras, algunos abandonaron espontáneamente los renacuajos muertos, hecho que ya fuera observado anteriormente³.

La susceptibilidad a la infección evidenciada por los renacuajos de *Bufo arenarum* justifica la suposición de que actúen como segundo hospedador intermediario en el ciclo natural del parásito.

Los hospedadores definitivos y los de transporte podrían infectarse por predación de los mismos, pero también al abreviar en charcas, por la ingesta de renacuajos vivos o muertos, o de plerocercoides libres. La infección accidental podría ser de importancia en la transmisión de la parasitosis, no quedando esta restringida a las relaciones predator-presa.

Es posible que *Bufo arenarum* por su adaptabilidad a distintos ambientes y por su amplia distribución intervenga en ciclos domésticos y silvestres.

Es probable que larvas de otras especies de batracios intervengan en el ciclo evolutivo de *Diphyllbothrium erinaceieuropei* en Sudamérica.

El desarrollo del ciclo evolutivo completo de este cestode, con la participación de hospedadores intermediarios que habitan esta región, abre un nuevo panorama para el estudio de aspectos epidemiológicos y experimentales de esta parasitosis.

SUMMARY

EXPERIMENTAL LIFE CYCLE OF *Diphyllbothrium erinaceieuropei* **IN** *Paracyclops fimbriatus*. **TADPOLES OF** *Bufo arenarum* **AND DOGS.**

Experiments were performed in order to develop the life cycle of *Diphyllbothrium erinaceieuropei* Rudolphi 1819 (Cestoda, Pseudophyllidea) in *Paracyclops fimbriatus* and *Bufo arenarum* as intermediate hosts and dogs as definitive hosts.

The eggs of *Diphyllbothrium erinaceieuropei* from faeces of naturally infected dogs were kept refrigerated, in water. In order to obtain coracidiums they were incubated at 25°C, and then

were placed in a flask which contained *Paracyclops fimbriatus*. The copepods were observed to be infected with proceroids 12 days after, (mean temperature 22.6°C) and then, ten tadpoles of *Bufo arenarum* were put into the same flask.

The tadpoles were examined 22, 23, 61 and 107 days later, finding plerocercoids in all them (mean temperature 24.9°C).

On the 23th day, 49 plerocercoids were removed from 6 tadpoles and 28 of them were fed to a bitch. On the 107th day, 11 plerocercoids were recovered from a dead tadpole and 3 of them were fed to another bitch.

In the faeces of the first bitch there were observed the eggs of *Diphylobothrium erinacei* 22 days post infection (d.p.i.) and part of the strobila 30 d.p.i.. In the faeces of the second bitch the eggs were found 30 d.p.i..

AGRADECIMIENTOS

A la Dra M. L. Vigneu por su colaboración durante la elaboración del manuscrito. A la Dra P. Battistone y al Dr A. Ker, del Instituto de Limnología (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, U.N.L.P.), que clasificaron los copépodos y las larvas de batracio, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEARUP, A. J. — Life history of a spirometrid tapeworm causing sparganosis in feral pigs. *Aust. Vet. J.*, 29: 217-224, 1953.
2. FAUST, E. C.; CAMPBELL, H. E. & KELLOG, C. R. — Morphological and biological studies on the species of *Diphylobothrium* in China. *Amer. J. Hyg.*, 9: 561-583, 1929.

3. GALLIARD, H. & NGU, D. V. — Particularités du cycle évolutif des *D. mansoni* au Tonkin. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 21: 246-253, 1946.
4. GALLIARD, H. — Infestation naturelle des batraciens et reptiles par les larves plerocercoides de *D. mansoni* au Tonkin. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 23: 23-26, 1948.
5. GALLIARD, H. — Infestation expérimentale par les larves plerocercoides de *D. mansoni* au Tonkin. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 23: 203-213, 1948.
6. IWATA, S. — Some experimental and morphological studies on the post embrional development of Manson's tapeworm *Diphylobothrium erinacei* (Rudolphi). *Jap. J. Zool.*, 5: 209-247, 1933.
7. JOYEUX, C.; HOUEMER, E. & BAER, J. — Recherches sur la biologie des sparganum et l'étiologie de la sparganose oculaire. *Bull. Soc. Path. exot.*, 27: 70-78, 1934.
8. LI, H. C. — The life histories of *Diphylobothrium decipiens* and *D. erinacei*. *Amer. J. Hyg.*, 10: 527-550, 1929.
9. SANDARS, D. F. — A study of Diphylobothridae (Cestoda) from Australian hosts. *Proc. roy. Soc. Queensland*, 63: 65-70, 1953.
10. SCHMIDT, G. — *CRC handbook of tapeworm identification*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1986.
11. SHIWAKU, K. & HIRAI, K. — Growth-promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi 1819) plerocercoids in young mice. *Jap. J. Parasit.*, 31: 185-195, 1982.
12. SUZUKI, N. & KUMAZAWA, H. — A case of human infection with the adult of *Spirometra erinacei* (Rudolphi 1819). *Jap. J. Parasit.*, 31: 23-26, 1982.
13. VENTURINI, L. — *Spirometra erinacei* en perro. *Rev. Med. vet. (B. Aires)*, 61: 330-334, 1980.
14. VOGELSANG, E. G. — Presencia de un Sparganum en las ranas (*Leptodactylus ocellatus*) del Uruguay. *Rev. Med. vet. (Montevideo)*, 8: 301, 1925.
15. WOLFHUGEL, K. & VOGELSANG, E. G. — *Dibothricephalus decipiens* (Diesing) y su larva Sparganum reptans en el Uruguay. *Rev. Med. vet. (Montevideo)*, 9: 433-434, 1926.

Recebido para publicação em 28/3/1989.