



Susceptibilidad de *Biomphalaria glabrata* a *Schistosoma mansoni* procedentes de Venezuela y Brasil

MARIO JOSÉ MORENO ALVAREZ^{1*} Y VÍCTOR DELGADO²

Universidad Simón Rodríguez, Laboratorio de Biomoléculas, Canoabo, Estado Carabobo, Venezuela¹
y Laboratorio BioMolP, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.²

* Autor para la correspondencia: Tel.-Fax. 00-58-49-92719. E- mail morenoalvarez@latinmail.com

ABSTRACT. *Schistosoma mansoni* partially develops its life cycle into snails of the Family Planorbidae. *Biomphalaria glabrata* represents an important host-intermediate. This paper reports experimental infection with miracidia vs. snail in sympatric and parapatric combination. The infection assay to sympatric combination were: BH snail (Belo Horizonte, Brasil) vs. a common geographic origin parasite, and Barbula, Carabobo State, Venezuela vs. SM Venezuela parasitic. The parapatric combination were: BH snail vs. SM; Barbula vs. BH; Caripe Monagas State, Venezuela vs. SM and Caripe vs. SM. During the study period was observed not miracid penetration. The infection percentage ranged from 88.89% in Barbula vs. SM combination to 0.00% in the Caripe vs. BH and BH vs. SM combination. We concluded which different existence of susceptibility from evaluated combination.

Key Words: *Schistosoma mansoni*, *Biomphalaria glabrata*.

RESUMEN. *Schistosoma mansoni* desarrolla parte de su ciclo biológico en caracoles de la Familia de los Planorbideos. *Biomphalaria glabrata* es una de las especies más importantes como huésped intermediario. En este trabajo se estudió la influencia que ejercen las distintas combinaciones simpátricas y parapátricas de aislados y moluscos al ser sometidos a infección experimental en condiciones de laboratorio. Los protocolos de infección simpátricos fueron: moluscos BH (Belo Horizonte, Brasil) frente aislado de igual procedencia y Bárbula, Estado Carabobo; Venezuela contra aislado Venezolano SM. Se efectuaron combinaciones parapátricas: Caracol BH frente SM; Bárbula contra BH; Caripe (Estado Monagas, Venezuela) frente SM y Caripe contra SM. No se hicieron observaciones sobre los miracidios no penetrantes en ninguno de los experimentos efectuados. Los porcentajes de infectividad variaron desde 88.89% en la combinación Bárbula contra SM hasta el 0.00% de infectividad en las combinaciones Caripe vs. BH y BH vs. SM. Se concluye que existen patrones diferentes de susceptibilidad en las combinaciones estudiadas

Palabras Clave: *Schistosoma mansoni*, *Biomphalaria glabrata*.

INTRODUCCIÓN

Schistosoma mansoni cumple parte de su ciclo biológico en caracoles Planorbideos del género *Biomphalaria* spp., pero dicha asociación está restringida por filtros ecológicos, bioquímicos, geográficos y poblacionales que condicionan la transmisión del parásito.^{1,2,3,4,5,6,9,10,13,15}

Algunas poblaciones naturales o sus descendientes en el laboratorio resultan refractarios a aislados de *S. mansoni*.^{7,8,9,11,12,13,14} Existen evidencias experimentales que sugieren la existencia, dentro de una población natural y/o sus descendientes, de caracoles tanto susceptibles como no susceptibles y la baja infección experimental es el reflejo de esa variabilidad poblacional.^{7,8,11} La mala o buena asociación parásito-molusco resulta compleja; sin embargo; podría ser utilizada como un criterio adicional para evaluar la heterogeneidad genética de los aislados parasitarios.^{3,11}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se infectaron lotes de *Biomphalaria glabrata* de 5-10 mm de diámetro con cinco miracidios de *Schistosoma mansoni*, obtenidos a partir de los huevos presentes, en las heces de ratones NMRI infectados experimentalmente. El material fecal se procesó en solución salina isotónica y mediante lavados sucesivos se clarificó, para facilitar la captura de los miracidios bajo la lupa estereoscópica. La eclosión de los huevos se estimuló durante 30 min exponiéndolos a una fuente lumínica artificial. La infección del miracidio al molusco se efectuaron en recipientes contentivos de 1 ml de agua desclorificada. Se dispuso de una fuente lumínica artificial durante las 24 h de contacto entre el caracol y los miracidios. La temperatura del agua fue de 24°C. Para determinar miracidios no penetrantes se evaluaron los recipientes de infección con ayuda de una lupa estereoscópica.



TABLA 1. Efecto de la procedencia geográfica del aislado y el molusco en asociaciones simpátricas y parapátricas en cuanto a la infectividad

Asociación	Procedencia del molusco	Aislado	% de Infectividad
Simpátricas	BH	BH	70.84
Simpátricas	Bárbula	SM	88.89
Parapátrica	BH	SM	0.00
Parapátricas	Bárbula	BH	50.60
Parapátricas	Caripe	SM	22.50
Parapátricas	Caripe	BH	0.00

Comparación de los porcentajes de infectividad ($p < 0.05$)

Bar vs. SM > BH vs SM, BH vs. SM, Bar. vs. BH, Caripe vs. SM, Caripe vs. BH.

BH vs. BH > BH vs. SM, Bar vs. BH, Caripe vs. SM, Caripe vs. BH

BH vs. SM : Caripe BH

Bar vs. BH > BH vs. SM, Caripe vs. SM, Caripe vs. BH

BH vs. SM: Caripe BH

Bar vs. BH > BH vs. SM, Caripe vs. SM, Caripe vs. BH

Caripe vs. SM > BH vs. SM, Caripe vs. BH.

Los aislados se mantuvieron en el laboratorio por continuos pases caracol-ratones-caracol. Después de la infección se colocaron en la oscuridad y se alimentaron con lechuga fresca *ad libitum*. Para el mantenimiento de los caracoles, se dispuso de acuarios de 2.5 litros con aireación forzada. La temperatura del agua osciló entre 25 y 27°C. Se marcaron con códigos de color del 1 al 5, utilizando pintura de uñas de diferentes colores. Al transcurrir 25 días después de la infección los moluscos se colocaron individualmente en recipientes que contenían de 1 ml de agua desclorificada y se expusieron a una fuente lumínica durante 30 min, con la finalidad de estimular la liberación de cercarias. Este procedimiento se repitió al cumplir 30 días post-infección y posteriormente cada semana hasta la muerte del molusco. Las cercarias se inmovilizaron con lugol y se verificaron los recipientes positivos. Todos los experimentos se efectuaron con 20 moluscos por lote y en duplicado. Los caracoles estudiados se criaron en el laboratorio por más de tres generaciones.

En esta investigación se presentan resultados sobre los diferentes grados de asociación entre *B. glabrata* y miracidios de *S. mansoni* al ser enfrentados en combinaciones simpátricas y parapátricas. Las combinaciones simpátricas estudiadas fueron: caracoles provenientes de Belo-Horizonte Brasil (BH) frente aislados del mismo origen geográfico (BH) y caracoles de Bárbula, Carabobo Venezuela frente aislado SM de Guacara, Estado Carabobo. Se evaluaron experimentalmente las asociaciones parapátricas: molusco BH frente al aislado SM y caracol de Bárbula frente al aislado BH. Se enfrentaron caracoles de Caripe

procedentes de una zona no endémica (Monagas, Venezuela) con los heterólogos SM y BH.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los porcentajes de infectividad para las asociaciones simpátricas y parapátricas. Los valores fueron los siguientes: BH vs. BH 78.84%; Bar. vs. SM 88.89%; BH vs. SM 0.00%; Bar vs. BH 50.60%; Caripe vs. SM 22.50% y Caripe vs. BH 0.00%. El análisis de varianza, previa transformación de los porcentajes en arco-seno, arrojó diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). La comparación de medias mediante la prueba de mínimas diferencias significativas ($p < 0.05$) confirman que las asociaciones simpátricas presentan los valores mayores de infectividad.

DISCUSIÓN

Las asociaciones simpátricas BH vs. BH y Bárbula vs. SM presentan los valores más altos de infectividad, lo cual evidencia una estrecha relación entre poblaciones de miracidios de *S. mansoni* y *B. glabrata* provenientes de un área geográfica endémica común.

En las asociaciones parapátricas BH contra SM y Caripe contra BH, se observa que los moluscos no eliminaron cercarias. Si se toma en cuenta que en condiciones naturales estas asociaciones son poco probables, es fácil suponer



que parásitos y caracoles que no han coevolucionado en el tiempo, los reconocimientos enzimáticos que permitirían una buena asociación no se encuentren expresados y/o las presiones de selección a favor de la homocigosidad en poblaciones aisladas sin flujo de genes podrían influir en estos resultados. Un resultado no esperado fue la alta positividad del aislado BH cuando se enfrentó a los caracoles *Bárbul*. Sin embargo, en experimentos efectuados en el laboratorio, siempre el aislado BH se comportó con más agresividad que los aislados Venezolanos; incluso en el mantenimiento del ciclo, los ratones infectados tuvieron períodos de vida más cortos.⁷ Las combinaciones parapátricas BH contra SM y Caripe frente BH no lograron prosperar con infecciones experimentales de cinco miracidios, lo cual evidencia patrones diferenciales de susceptibilidad en los caracoles de poblaciones distantes. Este resultado de la alta refractaridad de los caracoles procedentes de Caripe, Estado Monagas fue descrito anteriormente por Romero-Morrel *et. al* en 1978.¹² En esa investigación pionera, se enfrentaron caracoles procedentes de Caripe a dos aislados, uno oriundo de Puerto Rico y el otro de Venezuela. Sin embargo, estos autores señalaron valores de supervivencia bajos después de la infección. Resultado que seguramente fue influenciado por el transporte de los moluscos del campo al laboratorio, ya que estas infecciones experimentales se efectuaron con caracoles nativos y no criados durante varias generaciones en condiciones de laboratorio (aclimatados). Los resultados presentados en este estudio confirman que los caracoles procedentes de Caripe, zona Venezolana considerada tradicionalmente como no endémica a *S. mansoni*, son más refractarios que los moluscos de zonas endémicas.

En los moluscos donde la liberación no prosperó como fueron los pares BH frente SM y Caripe contra BH ocurrió también la muerte del molusco. Esto se explica asumiendo que al caracol infectado le suceden cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos importantes que son los responsables de su muerte.^{1,8,16} Los dos aislados estudiados presentaron períodos de patencia de 9-10 semanas para el SM y 7-8 semanas para el BH, independiente del hospedero intermediario involucrado, lo cual sugiere que en las adecuadas asociaciones, el aislado determina la dinámica de la evolución de cercarias en el tiempo. De lo anteriormente señalado se desprende que existen variaciones en la respuesta del molusco a las infecciones experimentales de los aislados. Sugiriendo la existencia de diferentes grados asociativos entre moluscos y parásitos.

REFERENCIAS

1. Bayne, C. y E. Loker, 1987. Survival within the snail host, pp 321-346. En: D. Rollinson y A. Simpson (ed). *The Biology of Schistosomes from genes to letrines*, Academic Press, London.
2. Dias, G., J. Bruce y G. Coles. 1988. Strain variation in the infectivity of *Schistosoma mansoni* from *Biomphalaria glabrata*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Pablo*. 30:86-90.
3. Jones, J., C. N. Helm. y J. R. Kusel. 1988. Variation in susceptibility of *Schistosoma mansoni* to damage by polycations. *Mol. Bioch. Parasitol.* 30:35-44.
4. Jourdane, J. y A. Theron, 1987. Larval development, eggs to cercariae, p. 83-113 In: D. Rollinson y A. Simpson (ed). *The Biology of Schistosomes from genes to letrines*, Academic Press, London.
5. Lie, K. J., K. Jeong y D. Heyneman. 1980. Tissue reactions induced by *Schistosoma mansoni* in *B. glabrata*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 74:157-166.
6. Moné, H., A. Théron y C. Combes. 1986 Interaction between the *Biomphalaria glabrata*-*Schistosoma mansoni* host-parasite system and the non-target mollusks: influence on cercarial production. *J. Parasitol.* 72:410-416.
7. Moreno-Alvarez, M. J. y V. Delgado. 1993. Susceptibilidad de *B. glabrata* de Venezuela a aislados de *S. mansoni*. IV Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. Guayaquil, Ecuador, Resúmenes pág. 126.
8. Niemann, G. y F. Lewis. 1990 *Schistosoma mansoni*: Influence of *Biomphalaria glabrata* swize on susceptibility to infection and resultant cercarial production. *Exp. Parasitol.* 70:286-292.
9. Richards, C. S. y D. J. Minchella. 1987. Transient non-susceptibility to *Schistosoma mansoni* associated with atrial amoebocytic acculations in the snails host *Biomphalaria glabrata*. *Parasitol.* 95:499-505.
10. Richards, C. S. y P. C. Shade. 1987. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.* 73:1146-1151.
11. Richards, C. S., M. T. Knight y F. A. Lewis. 1992 Genetics of *Biomphalaria glabrata* on the outcome of *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitol. Today* 8:171-174.
12. Romero-Morrel. C. S. y G. Marta. 1978. Estudio sobre la susceptibilidad de *Biomphalaria glabrata* a la infección con dos cepas de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Pablo*. 20:318-322.
13. Santos, M., J. Freitas, M. Correia y P. Coelho. 1979. Susceptibilidad de *Schistosoma mansoni* de híbridos de *Biomphalaria glabrata*. *Inst. Med. Trop. Sao Pablo*. 21:281-286.
14. Spray, F. y W. Granath. 1990. Differential binding of hemolymph proteins from Schistosome-resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.* 7:225-229.
15. Scorza, J. V., J. Silva, L. Gonzales y R. Machado. 1961. Stream velocity as a gradient *Australorbis glabratus* (Say, 1818). *Z. Trop. Parasitol.* 12:191-196.