

OBSERVACIONES SOBRE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE *DIDELPHIS AZARAE AZARAE* CON *SCHISTOSOMA MANSONI*

C. EDGARDO BORDA ⁽¹⁾ y J. PELLEGRINO ⁽²⁾

RESUMEN

El marsupial *Didelphis azarae azarae* se infecta con *Schistosoma mansoni* tanto por vía transcutánea como por la ingestión de caracoles infectados.

La recuperación de los esquistosomas es apreciable. Más del 60% de los vermes se localizan en los vasos mesentéricos y la oviposición de las hembras se procesa normalmente al nivel del intestino, en donde un porcentaje superior al 65% de los elementos esquistosómicos corresponden a huevos viables y de estos más del 16% son maduros.

No obstante, la eliminación de huevos en las heces es escasa y además no se observan viables. Por estas razones, no se debe considerar al citado animal como un buen hospedero experimental ni silvestre tampoco para el *S. mansoni*.

INTRODUCCIÓN

Para que un animal pueda ser calificado de hospedero susceptible y además un eslabón importante en el ciclo biológico del *Schistosoma mansoni*, se deben cumplir ciertos requisitos básicos ligados tanto con el desarrollo del trematode y la relación hospedero-parásito, como con las costumbres del animal ^{12, 4, 5}.

Didelphis azarae azarae Temminck, 1827 (= *Didelphis paraguayensis* Oken, 1816), un marsupial omnívoro, arborícola y de hábitos nocturnos, numerosos en zonas endémicas de esquistosomiasis, donde la incidencia humana de la parasitosis es elevada, fueron encontrados naturalmente infectados con *S. mansoni*, hallándose huevos del trematode en las heces de algunos de los animales capturados, abriéndose un interrogante sobre su real importancia en la epidemiología de la endemia ^{1, 2, 11, 8}.

La infección experimental de especies del género *Didelphis* por *S. mansoni*, con el fin de estudiar su grado de susceptibilidad, la morfología del trematode y las reacciones histopatológicas ocasionadas en los didélfidos, ya fueron realizadas por varios investigadores ^{17, 15, 8, 16, 7, 10}.

En el presente trabajo se utilizaron ejemplares de *Didelphis a. azarae*, a los que se infectaron experimentalmente con *S. mansoni*, con la finalidad de determinar la distribución de los gusanos en el hígado y venas mesentéricas y la frecuencia de los diversos elementos esquistosómicos (ovograma) encontrados al nivel del intestino. Además se investigó la viabilidad e infectividad de los huevos del trematode evacuados con las heces.

Este trabajo fue realizado, en parte, con la ayuda económica de U.S. Army (DAHC-19-70-G-0028) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina. Contribución número 17 del "Grupo Inter-Departamental de Estudios sobre Esquistosomose, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais"

- (1) Becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.
- (2) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Caixa Postal 1404, Belo Horizonte, Brasil

MATERIAL Y MÉTODOS

Infección de los animales

Se seleccionaron para esta experiencia cuatro ejemplares de *Didelphis a. azarae*, capturados en una área endémica de esquistosomiasis, en Baldim, localidad distante 100 km de Belo Horizonte, capital de Minas Gerais.

Una vez comprobada la ausencia de infección natural, por exámenes repetidos de heces efectuados hasta dos meses después de la captura, se procedió a infectarlos.

Se usaron dos vías de infección, la transcutánea y la oral, siendo en ambas utilizada la cepa L. E. de *S. mansoni*. Para el primer caso se escogieron un didélfido joven y otro adulto, los que anestesiados con una dosis de 1 ml de pentobarbital sódico por kg de peso y afetados en la zona abdominal fueron colocados, durante 45 minutos, sobre placas de Petri conteniendo un volumen adecuado de agua con 1000 y 5000 cercarias respectivamente, obtenidas de 50 *Biomphalaria glabrata* infectadas en el laboratorio. Como controles se inocularon con 60 cercarias ratones albinos.

En el segundo caso, se emplearon dos ejemplares jóvenes, los que privados de alimentos durante una noche, a la mañana siguiente disponían como única comida de 10 *B. glabrata* infectadas que contenidas en placas de Petri fueron introducidas en cada jaula. Los caracoles habían sido previamente secados primero con papel de filtro y luego exponiendo ambos lados del molusco, al calor de una lámpara eléctrica durante 5 minutos.

Examen de los animales

A partir de la quinta semana de exposición, para determinar el período prepatente, se realizaron diariamente exámenes de heces, según la técnica descrita por nosotros⁶.

La viabilidad e infectividad de los huevos de *S. mansoni* eliminados en las deposiciones, fue investigada observando al microscopio la presencia o ausencia de movimiento en las células flamíferas de los miracidios encerrados en esos huevos y sometiendo a las heces a las condiciones que favorecen la eclosión de los mismos.

Los marsupiales inoculados por vía transcutánea murieron espontáneamente a los 136 y 115 días posteriores a la infección. Los expuestos por vía oral, también mueren de manera espontánea, a los 10 y a los 90 días siguientes de la ingestión de los caracoles.

El hígado y los vasos mesentéricos de estos animales, se perfundieron con una solución de cloruro de sodio al 0,85%¹⁴.

El conteo de los esquistosomas fue hecho para cada animal, anotándose separadamente, los vermes localizados en el hígado y en el mesenterio.

El ovograma se efectuó sobre porciones del intestino delgado, ciego y recto, extrayéndose fragmentos de aproximadamente 1 cm², que después de lavados en agua, secados en papel de filtro, comprimidos entre porta y cubreobjetos, eran examinados al microscopio. Se identificaban y contaban hasta un total de 500 elementos esquistosómicos por fragmento¹⁵.

CUADRO I

Resultados de la perfusión del hígado y vasos mesentéricos de dos ejemplares de *Didelphis a. azarae* experimentalmente infectados con *S. mansoni*

Animal	N.º de cercarias	Sobrevida, post-infección en días	Distribución de los esquistosomas		Total de esquistosomas por animal	Porcentaje de cercarias recuperadas como esquistosomas
			Hígado	Mesenterio		
1	5000	136	62 (30,7%)	140 (69,3%)	202	4,0
2	1000	115	32 (16,8%)	157 (83,2%)	189	18,9

RESULTADOS

Tanto los didélfidos inoculados transcutáneamente, como el ejemplar que sobrevivió tres meses a la ingestión de los moluscos, se infectaron, eliminando huevos de *S. mansoni* entre los 58 a 64 días. La presencia de huevos fue escasa y solamente se observaron muertos (maduros y cáscaras) aún en las deyecciones recién emitidas.

En el Cuadro I, se citan los resultados de la distribución de los gusanos, recogidos por perfusión del hígado y del mesenterio de los únicos animales en que se pudo realizar esta experiencia.

El porcentaje de cercarias recuperadas como esquistosomas y la localización de estos en los órganos del marsupial adulto y joven fue diferente. En el más viejo la recuperación era de 4,0%, la localización de los gusanos en el hígado de 30,7% y en los vasos mesentéricos de 69,3%, en tanto que en el

más joven la recuperación fue de 18,9% y se encontraron en el hígado 16,8% y en el mesenterio 83,2%.

Los resultados de la clasificación y conteo de los elementos esquistosómicos (ovograma), realizados sobre porciones del intestino delgado, ciego y recto de ambos animales, se pueden observar en el Cuadro II. Llama la atención que el 65 y 78,8% de los huevos hallados al nivel del intestino era viables y de éstos 44,1 y 17,4% correspondían a huevos maduros (Fig. 1), y que solamente el 35 y 21,1% fueron identificados como muertos.

Notase también, que la oviposición se haría más o menos con la misma intensidad, en las diferentes porciones del intestino que fueron analizadas.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, en los *Didelphis a. azarae* experimentalmente

CUADRO II

Ovograma realizado sobre fragmentos de intestino de los *Didelphis azarae azarae* experimentalmente infectados con *S. mansoni*

Animales n.º	1					2				
	Intestino delgado	Ciego	Recto	Total		Intestino delgado	Ciego	Recto	Total	
				N.º	%				N.º	%
Elementos viables	398	319	260	977	65,0	325	428	430	1183	78,8
Huevos inmaduros	145	119	50	314	20,9	253	318	350	921	61,4
1er estadio	15	8	3	26	1,7	19	41	18	78	5,2
2do estadio	14	30	2	46	3,0	45	12	34	91	6,0
3ero estadio	47	26	4	77	5,2	137	179	98	414	27,6
4to estadio	69	55	41	165	11,0	52	86	200	338	22,5
Huevos maduros	253	200	210	663	44,1	72	110	80	262	17,4
Elementos no viables	102	181	240	523	35,0	175	72	70	317	21,1
Huevos muertos (inmaduros-maduros-cáscaras)										
Total	500	500	500	1500	100	500	500	500	1500	100

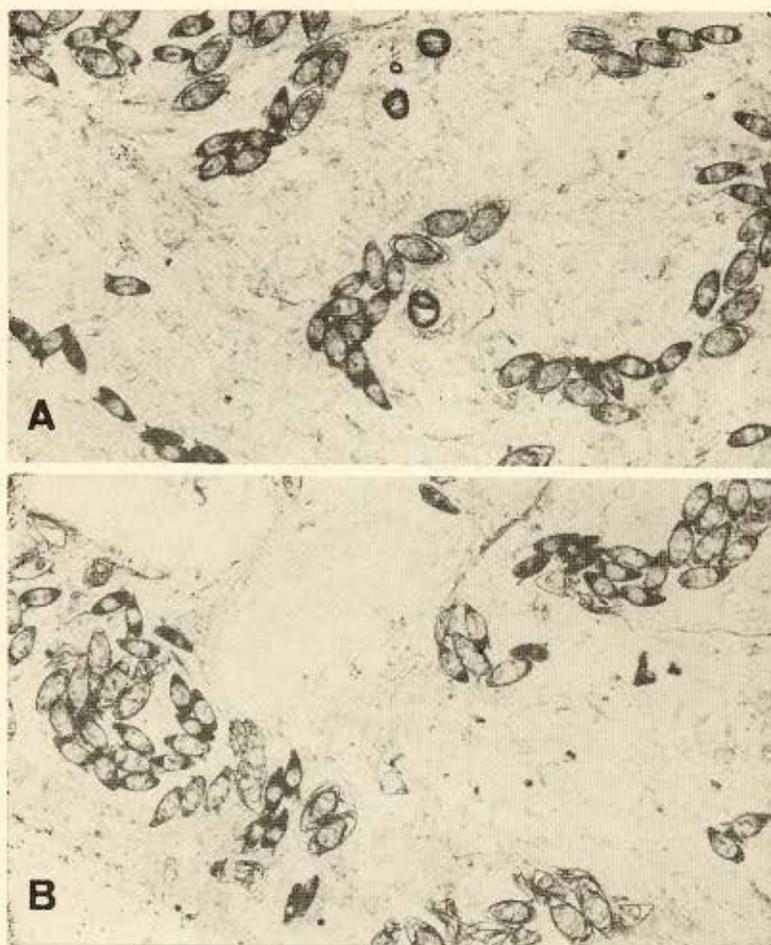


Fig. 1 — Microfotografías de preparaciones obtenidas por compresión entre porta y cubreobjetos, de fragmentos de intestino extraídos de *Didelphis a. azarae* experimentalmente infectados con *S. mansoni*. Observar en A y B el predominio de huevos inmaduros en evolución y maduros sobre los huevos muertos.

infectados con *S. mansoni*, este trematode puede alcanzar la madurez sexual y migrar en parejas a las venas mesentéricas, en donde las hembras ponen huevos morfológicamente normales en la pared intestinal. Más del 60% de los vermes se localizaban en el mesenterio; hecho similar fue también observado en otro orden de mamíferos, así en *Cavia cobaya* inoculadas experimentalmente y en *Cavia aperea aperea* naturalmente infectadas, más del 70% de los gusanos se alojaban en esa región^{9, 3}.

Sin embargo, la eliminación de huevos en las heces de los marsupiales era poca, particularidad ya mencionada en la literatura^{16, 1, 11}. Esta manera de comportarse contrasta con el total de elementos esquistosómicos encontrados en el espesor intestinal, en donde más del 65% de los huevos eran viables, correspondiendo un porcentaje de 44,1 y 17,4 a los maduros respectivamente, semejándose en este aspecto a los ratones albinos usados como controles.

La dificultad de los huevos en ganar acceso a luz intestinal ya fue referida por

otros Autores que trabajaron con la misma especie y con *Didelphis marsupialis*, en los que la submucosa actuaba bloqueando la llegada de los huevos al exterior^{8, 16, 10}. Esta singularidad, estaría relacionada con la ausencia de huevos viables observada en las deposiciones.

La falta de huevos vivos, fue además verificada por los resultados negativos obtenidos cuando se sometía a los excrementos al proceso que favorece la eclosión de los miracidios.

El escaso tiempo de sobrevida observado en estos animales, debe haber sido influenciado además de la infección por el cautiverio y la falta de una alimentación convenientemente balanceada, pues aunque son omnívoros carecían de presas vivas.

Dados los resultados logrados en el presente trabajo, a pesar de los pocos animales utilizados, nos parece que *Didelphis a. azarae* no reúne las condiciones básicas para considerarlo buen hospedero experimental ni silvestre tampoco del *S. mansoni*.

SUMMARY

Experimental infection of Didelphis azarae azarae with Schistosoma mansoni

The opossum *Didelphis azarae azarae* can be easily infected with *S. mansoni* by transcutaneous route as well as by ingestion of infected snails.

It was found that over 60% of the schistosomes can be collected from the mesenteric vessels. At the intestinal level the oogram showed that over 65% of the schistosome elements are viable eggs. Nevertheless, only a few eggs are eliminated with the feces and are not viable. For this reason the opossum *D. azarae azarae* was not considered as a good host for *S. mansoni*, and probably does not play an important role in the maintenance of the life cycle of this trematode under field conditions.

AGRADECIMIENTOS

Lo expresamos al Dr. Fernando Dias de Ávila Pires, Director del Museo de Historia

Natural da Universidade Federal de Minas Gerais, por su ayuda en identificación de los animales y a Lourenço Chiari por su asistencia técnica en la obtención de las microfotografías.

REFERENCIAS

1. BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. — Infestação natural de *Didelphis paraguayensis paraguayensis* (Marsupialia, Didelphi dae) por *Schistosoma mansoni* em Pernambuco. *Publ. Avul. Inst. Aggeu Magalhães* 3:1-4, 1954.
2. BARBOSA, F. S.; COELHO, M. V. & COUTINHO ABATH — Infecção natural e experimental de alguns mamíferos de Pernambuco por *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 10:137-144, 1958.
3. BARRETO, A. C.; SANTOS, I. & OLIVEIRA, V. S. — Epidemiologia da esquistosomose mansônica e infecção natural de *Cavia aperea aperea*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:233-236, 1964.
4. BARRETO, A. C. — Importância de animais como reservatórios de esquistossomos humanos. *Arq. Hig. Saúde Púb.* 29:95-102, 1964.
5. BARRETO, M. P. — Aspectos ecológicos da epidemiologia das doenças transmissíveis com especial referência à zoonoses. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 19:633-654, 1967.
6. BORDA, C. E. & PELLEGRINO, J. — An improved stool thick-smear technique for quantitative diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection (en prensa).
7. BRUCE, J. I.; LLEWELLYN, L. M. & SADUN, E. H. — Susceptibility of wild mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 47:752-756, 1961.
8. COELHO, R. B. & COUTINHO, E. — Histopatologia da infestação natural e experimental de timbu o gambá (*Didelphis paraguayensis paraguayensis*), por *Schistosoma mansoni*. *Publ. Avulsas Inst. Aggeu Magalhães* 4:1-38, 1955.
9. CUNHA, A. S.; PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C. A. & ALVARENGA, R. J. — Observações sobre o oograma em cobaias e coelhos experimentalmente infectados com *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:242-248, 1962.
10. LICHTENBERG, F.; SADUN, E. H. & BRUCE, J. I. — Tissue responses and mechanisms of resistance in schistosomiasis mansoni in abnormal hosts. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 11:347-356, 1962.

11. MARTINS, A. V.; MARTINS, G. & SIEBRA DE BRITO, R. — Os marsupiais como reservatórios de esquistossomose mansônica. *Rev. Brasil. Malariol. & Doenças Trop.* 8:589-597, 1956.
12. MARTINS, A. V. — Non-human vertebrate hosts of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 18:931-944, 1958.
13. PRATA, A. — *Biopsia retal na esquistossomose. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento.* Tese. Fac. de Medicina, Universidade da Bahia, 1957.
14. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. — Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. *Rev. Brasil. Malariol. & Doenças Trop.* 8:589-597, 1956.
15. RUIZ, J. M. — Esquistossomose experimental 4. *Nasua narica* e *Didelphis paraguayensis*, animais sensíveis à infestação experimental pelo *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Butantan* 25:23-27, 1953.
16. TORREALBA, J. F.; SCORZA, J. V. & DAGERT, C. — The experimental infection of some wild mammals from Venezuela with *Schistosoma mansoni*. 1 — Studies on the susceptibility of wild mammals from an epidemiological point of view. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52:565-569, 1958.
17. TRAVASSOS, L. — Algumas observações sobre a bionomia de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 feitas na cidade de Salvador, Bahia. *Ann. Acad. Brasil. Ciências* 25:157-165, 1953.

Recebido para publicação em 5/4/1971.