

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

RESISTENCIA DE LAS LARVAS DE TRICHINELLA SPIRALIS
A LA ACCION DIGESTIVA DE LAS LARVAS CARNIVORAS DE
CALLIPHORA VICINA Y LUCILIA SERICATA

por

M.^a CARMEN MASCARÓ LAZCANO* y DIEGO GUEVARA POZO**

INTRODUCCION

Trichinella spiralis es uno de los nematodos parásitos en que todos los estadios de su ciclo co hospedador. En la naturaleza el ciclo se repite en otro huesped cuando .
viables enquistadas o desenquistadas o gusanos adultos contenidos o procedentes

Hay ocasiones en que animales no susceptibles a la infección, pueden jugar un papel en la difusión del parasitismo, al alimentarse de la carne triquinosa. Así, tenemos el caso de las aves dos que se relacionan de un modo u otro c animales infectados con

Varios autores, (LEUKART, 1860, SCHMIDT 1956a, b, MERKUSHEV, 1960, MATOFF, 1942, SMIRNOV 1963, TROMMER 1970), prestan atención al papel jugado por las aves carnívoras

Estas efectúan

sus excrementos quistes o larvas de triquina, constituy vehículo de dispersión para mamíferos cadáveres de las aves o sus excrementos.

De igual modo se ha estudiado el posible papel de los invertebrados en la difusión triquinelosa. MERKUSHEV, (1955), observa que las larvas de triquina ingeridas por escarabajos, mantienen su viabi-

* Profesor Ayudante

** Catedrático

lidad en el intestino de estos durante 5-8 días, y considera que los insectos son un vector importantes

infectar animales insectívoros tales como topos y erizos. NEGROBOV, (1960), encuentra que insectos necrófagos como *reus*, *G. vernalis* y *Sriba vernalis*, a menudo alojaban larvas de *T. spiralis*.

gunos crustáceos marinos, (*Anonux nugax*, *Gammarus locusta*, *G. marinus*) señalándolos

mamíferos marinos. UVALIEVA, (1971), observa que los moluscos terrestres *Succinea granulosa*, *Macrochlamys schmidti* y *Lehmannia turkestanica* ingerían larvas de *T. spiralis* cuando se alimentaban de carne triquinosa, y emitían con sus heces larvas infectivas. KOZLOV, (1971), considera también la importancia de los crustáceos en la transmisión de la triquinosis a mamíferos marinos. KULMANN y NAWABI, (1971), trabajando con dos especies de escarabajos, (*Necrophorus vespillo*, *Pterostichus nodidus*), determinan que una de ellas (*P. nodidus*), ingiere las larvas de triquina a partir de carne y arroja en sus heces larvas infectivas para animales receptivos.

Algunos investigadores, han dirigido también su atención al papel jugado por las larvas de moscas carnívoras en este sentido.

MERKUSHEV, (1955), y BELYAEVA, (1960), afirman que las larvas de las moscas de la carne que se alimentan con carne triquinosa, ingieren con ella las larvas de triquina; MERKUSHEV señala que la estancia de las larvas de *T. spiralis* en el intestino de las larvas de mosca alcanza hasta 8 días, mientras que BELYAEVA indica una permanencia máxima de un día. BRITOV, (1961), infecta accidentalmente gatos con peces que habían ingerido larvas de moscas carnívoras alimentadas con carne parasitada

realiza un estudio sobre la permanencia de las triquinellas en el intestino de las larvas carnívoras

de la pared del quiste, y una estancia máxima de las triquinas de 24-26 horas. Por todo ello, consideramos

papel que pudieran jugar las larvas de moscas
difusión triquinelosa, incluyendo la realización de infecciones experimentales en diferentes períodos de tiempo. La biología de estos dípteros, y el hecho de que aún tras 94 días de putrefacción, *T. spiralis* sigue siendo infectiva en los músculos de carnívoros, (DYKOVA 1967), invita a pensar qué sucederá con las larvas de triquina que se encuentran en la carne infectada de la que se alimentan las larvas de mosca.

MATERIAL Y METODOS

I-Elegimos dos especies de moscas: *Lucilia sericata*, (Meigen) y *Calliphora vicina* Rob-Desvoidy, tras latitudes y por sus costumbres ecológicas. Las puestas se recogían mediante cepos cárnicos en lugares adecuados, se trasladaban a cajas de Petri con carne fresca, y en ellas vivían las larvas hasta alcanzar el tercer estadio. Tras ello, cuando se observaba un rechazo hacia la comida, se colocaban en frascos vertían en pupas. Al final de la pupación, los adultos se trasladaban a una cámara amplia con temperatura y luminosidad adecuada, donde podían volar y encontrar modo, conseguimos especies de moscas, evitando la diapausa za y que les hace larvario mación en pupas. La temperatura de mantenimiento oscilaba entre 20 y 25°. El factor alimenticio más importante concierne a las proteínas; las fértiles si no se les suministran proteínas.

Para la identificación sistemática, las larvas mero con agua caliente después se ra observar tos del esqueleto cefalofaríngeo, espiráculos anteriores palpos labiales, palpos maxilares y peritremas posterior utilizamos un medio conservador hidrosoluble, el fluido Berlese.

II-La cepa de *Trichinella spiralis* empleada ha sido la cepa LASO-59-LH, que se mantiene en el Instituto López-Ney pases sucesivos en ratones albinos. Las infecciones experimentales se realizaron en ratones albinos, (cepa del Instituto López-Neyra).

III-Técnica de infección. Hemos probado por una parte el papel infectivo de las larvas tras haberles suministrado carne triquinosa, y por otra caso, los ratones se mantenían se les suministraban larvas de mosca vivas, a las que se cortaban los dos primeros segmentos para dejarlas desprovistas de l labiales y así facilitar su deglución. Pa quinosas de las larvas de mosca, se utilizaba una sonda buco gástrica y una jeringa calibrada.

IV-Recuento del número de larvas musculares. A los 30 días de la infectación, se sacrificaban los ratones de cada experiencia teniendo la carne a digestión artificial, (pepsina 1/3.000). Se hacía la digestión durante 6 horas a 37°C., y con agitación continua por medio de un agitador circular, (15 r.p.m.), al que se acoplaban los matraces. El producto resultante se concentraba por centrifugación, (1.800 r. p. m., 4 minutos), se separaba el sobrenante y se pasaba el resto a una probeta completando con agua destilada. Por medio de un agitador manual, se tomaban 12 muestras a diferente altura y se realizaba el recuento del número de larvas en cada una de ellas, mediante cálculo se refería al total, (100 ml.), hallando después el número de larvas por gramo de peso, (del cadáver desvic

RESULTADOS

En las primeras experiencias tratamos de observar:

I-Si las larvas de las dos especies de moscas empleadas, eran capaces de ingerir los quistes de triquina a partir de la carne infectada, y durante cualquiera de sus tres primeros estadios larvarios.

2-Si las larvas de triquina permanecían vivas dentro de las larvas de mosca y en sus heces.

3-Si las larvas de triquina permanecían en el aparato digestivo de las larvas de mosca hasta la pupación de éstas.

Colocamos para ello las fases larvarias de las moscas en cajas Petri con carne triquinosa, (de ratones infectados dos meses atrás), señalando en cada una de ellas la posición que ocupaban. A intervalos regulares se examinaban. La triquina de la mosca, separando las distintas partes del digestivo, (buche, proventrículo, ciegos digestivos, intestino medio posterior y recto), de la materia grasa se examinaban copio detalladamente comprimidas entre dos láminas de vidrio.

Los resultados obtenidos no difieren entre las dos especies. Los tres estadios larvarios de *L. sericata* y *C. vicina*, son capaces de ingerir los quistes de *T. spiralis* y albergar las triquinas vivas en su aparato digestivo. En el buche, se observan escasas triquinas, desprovistas de pared quística o rodeadas de una pared muy débil. En la parte sin pared del quiste. En el intestino posterior, las triquinas, aunque

algunas presentan movimiento, tienen ya forma de coma o aparecen rectas. En algunas ocasiones, sobre todo en los terceros estadios larvarios de las moscas, el número de triquinas era tan elevado que obstruían la luz intestinal. Los estadios la

alo *Calliphora* en su tercer estadio, (19 mm.), contenían mayor número que las de *Lucilia*. (15 mm.), lo que probablemente es debido al menor tamaño de éstas.

Una vez observadas las triquinas dentro de cada uno de los tres estadios larvarios de ambas especies de moscas, tratamos de localizarlas en sus heces. Para ello, se colocaban las larvas que habían ingerido carne triquinosa en pocillos de histología con solución salina 0'9%. A los 15 minutos, podían observarse en las heces larvas quina móviles, liberadas del quiste.

Las terceras fases servaban regularmente si las larvas de triquina permanecían hasta el momento de la pupación. Hicimos a este efecto una experiencia en la que alimentamos 300 larvas de *Lucilia sericata* mente infectada de triquina. A los 4 días, las larvas en tercer estadio alojaban una media de 74 ± 12 larvas de *Trichinella* cada una, si bien algunas de ellas mostraban ya signos evidentes de lisis. Este número de larvas, en distinto estado de digestión, indica que las triquinas quedan retenidas en el intestino de las larvas después de mantener durante tres días estas fases larvarias de *Lucilia* sin alimento, no fue posible descubrir en ellas ninguna triquina. Igualmente observamos las pupas durante todo el proceso hasta formación del adulto con resultado negativo, sin que pudiéramos determinar si las triquinas son arrojadas junto con el contenido intestinal en la pupación, o si se ven afectadas por la profunda histolisis que tiene lugar.

Una vez hechas estas observaciones pasamos a estudiar:

1-Si *T. spiralis* es infectiva dentro de cada uno de los estadios larvarios de *Lucilia sericata* y *Calliphora vicina*.

2-Si *T. spiralis* es infectiva al ser arrojada con las heces de las larvas.

3-Hasta que momento las larvas de moscas que se han alimentado con carne infectivas.

4-Hasta que momento las larvas de *T. spiralis* arrojadas con las heces de las larvas de moscas siguen siendo infectivas.

Para comprobar estos puntos *C. vicina* que tras haber ingerido carne triquinosa, se administraban a ratones albinos. Primero constatamos que la infección podía realizarse con larvas en primero, segundo y tercer estadio de ambas especies de moscas. Una vez establecido esto, preferimos realizar experiencias posteriores con terceras larvas, pues al ser mayores se necesitan menor número de ellas para realizar a la vez que son más fáciles de manejar.

A) Experiencias con larvas de *L. sericata*

I-Pruebas de infección con larvas que han comido carne triquinosa

Tiempo de permanencia con carne triquinosa (horas)	LARVAS DE MOSCAS		INFECTACION EN RATONES ALBINOS	
	Núm. larvas (3.º estadio)	Núm. medio de triquinas en cada una	Resultado	Grado de infección (larvas/gramo)
1	50	2'4	—	—
2	10	9'2	+	189
2	10	8'7	+	152'5
8	10	10	+	1406'2
8	10	9'4	+	934'1

II-Pruebas de infección con heces de larvas que han comido carne triquinosa (0'5 ml., conteniendo heces de 10 la mosca).

Tiempo de permanencia de las larvas en carne triquinosa (horas)	INFECTACION EN RATONES ALBINOS	
	Resultado	Grado de infección (larvas/gramo)
5	—	—
7	+	48'6
8	+	123'2
15	+	49
28	+	180'9

B)-Experiencias con larvas de *C. vicina*

I-Pruebas de infectación con larvas que han comido carne triquinosa

Tiempo de permanencia con carne triquinosa (horas)	LARVAS DE MOSCAS		INFECTACION EN RATONES ALBINOS	
	Núm. larvas (3.º estadio)	Núm. medio de triquinas en cada una	Resultado	Grado de infectación (larvas/gramo)
5	15	6'7	+	969'2
5	16	6'3	+	412'5
6	20	4'9	—	—
6	20	5	—	—
10	20	5	+	175
24	31	3'3	+	270'3

II-Pruebas de infectación con heces de larvas que han comido carne triquinosa (0'5 ml., conteniendo heces de 10 larvas de mosca)

Tiempo de permanencia de las larvas en carne triquinosa (horas)	INFECTACION EN RATONES ALBINOS	
	Resultado	Grado de infectación (larvas/gramo)
7	—	—
10	+	184
12	+	321
12	+	93
24	+	156

Una vez establecido que *T. spiralis* es infectiva al ser trada a un animal de experimentación, tanto dentro de las larvas de mosca que la han ingerido como en las heces de las mismas y a diferentes intervalos de tiempo, tratamos de determinar los puntos 3 y 4 de nuestro segundo planteamiento.

Hallamos, que las la
 las fases larvarias de *L. sericata*
 ras tras haberlas ingerido. El número de triquinas en este momento
 es ya muy pequeño y la mayoría muestran signos de lisis. Alimen-
 tando larvas de *C. vicina*
 altamente infectada, y dejándolas tres días sin alimento, (72 horas),
 encontramos un número medio de 73'6 larvas de triquina, en recuen-
 to realizado en 100 larvas, contá
 ellas en los diversos tramos del intestino. Un 85% de estas triqui-
 nas tenían forma de coma y carencia más o menos extensa de dife-
 renciación interna, tan solo un 9% aparecían enrolladas aún, el res-
 to estaba formado por l
 estas la

Ratón número	N.º de larvas de mosca, (3.º estadio)	Resultado	Grado de infectación en el ratón albino (larvas/gramo)
1	10	+	3.450
2	10	+	2.935

El grado de infectación alcanzado por estos ratones fue muy elevado, lo que sorprende por tratarse de larvas de triquina que llevaban tres días de permanencia en el aparato digestivo de las larvas de mosca.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como resultado de estas experiencias se deduce:

Las larvas carnívoras
 sus tres fases larvarias, de ingerir larva
 a partir de carne infectada. Estas triquinas, van perdiendo
 del quiste
 v
 fuentes enzimas digestivas con que son atacadas y siendo arroj
 en su mayoría vivas, con las heces.

Los tres stadíos larvarios de *L. sericata* ser alimentadas con carne triquinosa, pueden infectar de triquinosis a un animal susceptible, e igualmente las heces de estas larvas por contener larvas de *T. spiralis*

Las larvas de triquina pueden permanecer en el digestivo de las larvas

vando su capacidad infectante.

las heces, las triquinas siguen siendo infectivas si son mantenidas en el mismo ambiente húmedo donde viven las larvas de mosca.

El estudio

digestivo de la larva de mosca es importante para el esclarecimiento de su posible papel en la difusión triquinosa, dado, además, que las larvas se alejan de la carne de la que se

disponen a pupar, y podrían ser ros que de este modo contraerían tenidos por nosotros,

otros autores

dentro de las larvas de mosca. Así, para MERHUSHEV, (1955), permanecen hasta 8 días, mientras que BELYAEVA (1960), encuentra un período de tan solo 24 horas, lo que también afirma KULIKOVA, (1966).

Esta va

tor

diferente habitat, diferente grado de infección en la carne triquinosa que se emplea, etc.). Un posible factor de influencia es, sin duda, la temperatura pues en estrecha relación con ella, la actividad de las larvas de mosca aumenta o disminuye. a la vez que se acelera o retrasa su transformación en pupas.

El hecho

arrojadas con las heces de las larvas de mosca corrobora la gran resistencia de este parásito a las enzimas digestivas. La digestión cárnica que las larvas de mosca realizan es extraordinariamente pida, por lo que la carne ingerida aparece totalmente digerida en el buche de la larva en un corto espacio de tiempo, y las larvas de triquina desprovistas de la pared del quiste.

A pesar de las numerosas pruebas que al objeto realizamos, no fue posible determinar la existencia de larvas de triquina en la fase de pupa de las dos especies de moscas

de interés dado que elimina una posible vía de difusión del parasitismo, pero el hecho de que las fases larvarias es quizás, desde el punto de vista epidemiológico, más interesante,

dado que ellas son objeto de predación por parte de aves y de mamíferos insectívoros.

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro agradecimiento
Rodríguez Gallego, Bibliotecari
sus traducciones de los trabajos en ruso.

BIBLIOGRAFIA

- BECK, J. W. (1970).—Trichinosis in domesticated and experimental animals. En: "Trichinosis in mans and animals". Capitulo III. Charles C. Thomas Publisher. Springfield. Illinois. USA.
- BELYAEVA, M. Ya. (1960).—El papel de algunos insectos en la epizootia triquinelosa. Trudi Krasnayarstovo celskojzotvennovo. Instituta Kroisnoyarsk 1960/61. T. 6: 90-101. (Citado por Kulikova, 1966).
- BRITOV, V. A. (1961).—Note on the transmitting of trichinellae to marine mammals. Tesis Doctoral. Petrozavodsk: 40-41. De Wiadom. Parazytol. 8: 674-675.
- BRITOV, V. A. (1962).—The role of fish and crustacean in the transmission on trichinelliasis to marine mammals. (Ru). Zoologicheskii Zhurnal. 41: 776-777.
- DYKOVA, I. (1967).—The infection ability of thichinellae from putrifying muscles of *Felis silvestris* and experimental nfected *Felis domestica*. Acta Univ. Agric. Fac. Veter. 36: 255-258.
- KOZLOV, D. P. (1971).—The ways in which pinnipeds become infected with *Trichinella*. Voprosy Biologii Fziologii i Biokhmii Gelmintov Zhivotnykh i Rastenii 21: 36-40 (Ru). De Helminth. Abastr. 1973, 42: 406.
- KULIKOVA, N. A. (1966).—The role of blowflies in spreading *Trichinilliasis*. Mater nauch Konf uses Obshch. Gelmint. Part I: 144-149. (Ru).
- KULMANN, E. y NAWABI, St. (1971).—Versuche zur Trägerfunktion aasfres-sender Käfer (Silphidae, Carabidae), bei der *Trichinellosis*. Z. Parasitenk 35: 234-240.
- LEUKART, R. (1860).—Untersuchungen über *Trichinella spiralis*. C. F. Wintersche Verlagshandlung Leipzig and Heidelberg, 1960: 57 pp. (Citado por Beck, 1970).
- MATOFF, K. (1942).—Sulla trichinellosis dei volatili. Riv. Parasit. 6: 49-54.
- MERKUSHEV, A. W. (1955).—Concerning the rotation of *Trichinella* invasions in nature and their natural foci. Med. Paravit. 2: 125-130. (Ru). Citado por Beck, 1970.
- MERKUSHEV, A. W. (1960).—The role of birds in the spread of *Trichinella spiralis* in nature. (Ru). Zoologicheskii Zhurnal. 39: 161-164.

- NEGROBOV, W. P. (1960).—On the role of nechophagous insects in formation of trichinellosis nidi. (Ru). Trudi III Konf. Parazitol. Ukr. SSR. Kiev. 180-181.
- SCHMIDT, H. W. (1956a).—Die übertragung von trichinen in natur und Kulturhaushalt. Praktische Tierarzt. 8: 222-224. De Helminth. Abstr., 1956, 25: 276.
- SCHMIDT, H. W. (1956b).—Vögel als Konduktoren von Trichinen. Praktische Tierarzt. 10: 292-293. De Helminth. Abstr., 1956, 25: 492.
- SMIRNOV, G. G. (1963).—Natural nidality of trichinellosis in the Artic. Terap. Arkh. 42: 338-344. Citado por Beck, 1970.
- TROMMER, G. (1970).—Carnivorous birds as vectors of Trichinella. Praktische Tierarzt. 51: 46-57.
- UVALIEVA, K. K. (1971).—Terrestrial moluscs as possible transport host of Trichinella. (Ru). Voprosy Prirodnoi Ochagovosti Bolezneiv Alma Ata: Izdatelstvo "Nauka" Kazahhoskoi, SSR 4: 131-141.