Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
Centro de Edafologia y Biologia Aplicada
Laboratorio de Parasitologia Animal
Salamanca. España

OBSERVACIONES ACERCA DE LA RECEPTIVIDAD DE DIVERSAS POBLACIONES DE *PLANORBARIUS METIDJENSIS*, *BULINUS (B.) TRUNCATUS* Y *BIOMPHALARIA GLABRATA* A *SCHISTOSOMA BOVIS* DE ESPAÑA

por

RAMAJO-MARTIN, V.*

SUMMARY

The receptivity to *Schistosoma bovis* from Salamanca (Spain) of *Planorbarius metidjensis* from Spain (Villar de la Yegua and Valdespino) and Portugal (Sabugal and Estoi); *Bulinus (B.) truncatus* from Portugal (Coimbra and Algarbe), Egypt, Chad and Libya; and *Biomphalaria glabrata* from Brasil (Recife and Amarilina) is studied.

The criteria of appreciation are based in the proportion of snails cercaria positive, average probability of success per miracidium and number of miracidia which insure the positivity statistically. These indexes are compared and discussed.

The systematic of the Family Planorbidae (Subfamilies Helisomatinae, Bulininae and Planorbinae) is discussed according to its susceptibility to *Schistosoma bovis* from Spain. Some data are adduced for biological characterization of the spanish strain of this schistosome.

INTRODUCCION

La receptividad de algunas especies de moluscos de la Familia Planorbidae a *Schistosoma bovis* se ha estudiado por diversos autores (RAMAJO (12), SIMON y cols. (14), SAMPAIO y cols. (13), SOUTHGATE y col. (15)) teniendo en cuenta aspectos como

---

* Colaborar Cientifico del C.S.I.C.

(Recibido el 16-I-1978)

la proporción de positivos, producción de cercarias, periodo prepatente y supervivencia de moluscos infestados.

La capacidad de recepción de los moluscos, no queda en muchas ocasiones bien reflejada por la simple apreciación de unos porcentajes de positividad expresados aisladamente. Es preciso relacionar de alguna manera aquellas circunstancias que pueden incidir más o menos decisivamente y que pueden variar el sentido de los resultados obtenidos en las pruebas experimentales.

El presente trabajo trata de estimar y comparar el grado de receptividad a *Schistosoma bovis* de Salamanca (España) de algunos Helisomatinae *(Planorbarius metidjensis),* Bulininae *(Bulinus (B) truncatus)* y Planorbinae (*Biomphalaria glabrata*) de diversas poblaciones geográficas, siguiendo el criterio tradicional sobre apreciación porcentual de la positividad, el de la probabilidad de éxito por miracidio, y estableciendo a su vez un nuevo índice indicador de la respuesta de los moluscos al esquistosoma basado en las dosis mínimas de miracidios que han garantizado estadísticamente la positividad.

SOUTHGATE y col. (15) han puesto de manifiesto la heterogeneidad existente entre varias cepas mediterráneas de este parásito. *Schistosoma bovis* de España viene igualmente mostrando unas características muy particulares en lo que se refiere a sus hospedadores intermediarios en el ambiente natural autóctono. Entendemos que cualquier aportación que contribuya a clarificar el *status* biológico de nuestro esquistosoma puede ofrecer un indudable interés.

MATERIAL Y METODOS

Se ha trabajado con una cepa de *Schistosoma bovis* aislada de un bovino naturalmente infestado en Salamanca (España) en el año 1970 y mantenida con posterioridad en el laboratorio utilizando como hospedador intermediario *Planorbairus metidjensis* de Salamanca (España), molusco en el que evoluciona en el medio natural de esta zona, y como hospedadores definitivos corderos jóvenes.

En el cuadro n.° 1 mostramos las especies y poblaciones de moluscos que hemos manejado y el número de individuos que se han infestado experimentalmente.

CUADRO N.° 1

ESPECIES, PROCEDENCIA Y NUMERO DE MOLUSCOS EXPUESTOS A LA INFESTACION

* Grupos de 15-20.
** Dosis de 5, 10 y 20 miracidios

Planorbarius metidjensis		*Bulinus (B.) truncatus*		*Biomphalaria glabrata*	
Procedencia	N.°	Procedencia	N.°	Procedencia	N.°
Villar de la Yegua (ESPAÑA)	258	Coimbra (PORTUGAL)	168	Recife (BRASIL)	82
Valdespino (ESPAÑA)	109	Algarve (PORTUGAL)	90	Amarilina (BRASIL)	70
Sabugal (PORTUGAL)	35	EGIPTO	150		
Estoi (PORTUGAL)	70	CHAD	130		
		LIBIA	33		
	472		571		152

Las infestaciones se hicieron individualmente en pocillos de placas de aglutinación, agrupando en lotes aquellos que recibieron igual dosis. Las dosis ensayadas fueron de 5, 10 y 20 miracidios por molusco según los diferentes lotes. Algunos grupos de *Biomphalaria glabrata* recibieron dosis choque de hasta 300 miracidios por individuo.

Los grupos de moluscos infestados fueron mantenidos en estufa a 25°C hasta la emisión de cercarias.

Los moluscos muertos durante el período prepatente se consideraron desechados a todos los efectos.

La receptividad ha sido estimada atendiendo a los tres parámetros que exponemos a continuación:

1) *Proporción de moluscos cercaria-positivos (X)*

Se halla dividiendo el número de cercaria-positivos por el número de expuestos a la infestación.

2) *Probabilidad promedio de éxito por miracidio (P)*

Se trata de un cálculo de probabilidad compuesta, que viene dado por la fórmula siguiente:

$$P = \sqrt[n]{P}$$

En dicha fórmula, *n* representa la dosis (número de miracidios) y *p* la proporción de moluscos cercaria-positivos.

Como en nuestro caso las dosis por molusco ensayadas han variado según los grupos, y éstos han dado proporciones de cercaria-positivos variadas también, hemos operado con las correspondientes medias proporcionales para obtener datos estadísticamente significativos.

3) *Indice de receptividad (Ir)*

Se refiere a la dosis mínima por molusco que garantiza estadísticamente la positividad. Este índice viene determinado por el resultado de dividir el número de miracidios o dosis total (*d*) empleado en la infestación de un grupo determinado de

moluscos, por el número de ellos que resultan cercaria-positivos (*N*). Responde a la fórmula siguiente:

$$Ir = \frac{d}{N}$$

En todos los casos los datos finales son el resultado de las medias aritméticas de los parámetros parciales obtenidos en los diferentes grupos de cada población.

RESULTADOS

Las proporciones-promedio de moluscos cercaria-positivos expresadas en tanto por uno las ofrecemos en el Cuadro n.° 2.

La media referida a especies es de 0,6376 para *Planorbarius metidjensis*, 0,5014 para *Bulinus (B.) truncatus* y 0,0000 para *Biomphalaria glabrata* (especie refractaria). Un hecho a tener en cuenta es el de las notables diferencias que se observan en cuanto al comportamiento de las distintas poblaciones geográficas dentro de una misma especie de moluscos.

La probabilidad-promedio de éxito por miracidio (Cuadro n.° 3), se inclinó también ligeramente a favor de la compatibilidad con *Planorbarius metidjensis* (P = 0,95522, resultando ser P = 0,93321 en el caso de *Bulinus (B.) truncatus* y P = 0,00000 en *Biomphalaria glabrata*. Con este criterio de apreciación de la receptividad se observa una mayor uniformidad en el comportamiento de las poblaciones de *Planorbarius metidjensis* que en las de *Bulinus (B.) truncatus*, donde hay una población (la de Coimbra-Portugal) que ha resultado notablemente menos receptiva que sus análogas y por consiguiente mucho menos aún que las de Planorbarius.

En cuanto al índice que nosotros proponemos (Cuadro n.° 4), se aprecian unos valores de Ir = 17,21 para *Planorbarius metidjensis*, Ir = 71,13 para *Bulinus (B.) truncatus* e Ir = ∞ (infinito) para *Biomphalaria glabrata*. Estas cifras indican una mayor receptividad de Planorbarius con respecto a Bulinus y una incompatibilidad bien manifiesta en el caso de Biomphalaria. También con este criterio se observa una mayor uniformidad en la conducta de las poblaciones de *Planorbarius metidjensis* que en las de *Bulinus (B.) truncatus*.

CUADRO N.º 2

PROPORCIONES-PROMEDIO DE MOLUSCOS CERCARIA-POSITIVOS (X)

Planorbarius metidjensis		*Bulinus (B.) truncatus*		*Biomphalaria glabrata*	
Procedencia	X	Procedencia	X	Procedencia	X
Villar de la Yegua (ESPAÑA)	0,6940	Coimbra (PORTUGAL)	0,673	Recife (Brasil)	0
Valdespino (ESPAÑA)	0,4423	Algarve (PORTUGAL)	0,7435	Amarilina (BRASIL)	0
Sabugal (PORTUGAL)	0,6285	EGIPTO	0,5514		
Estoi (PORTUGAL)	0,7857	CHAD	0,6451		
		LIBIA	0,5000		
	0,6376		0,5014		0
	$\sigma = 0,1453$		$\sigma = 0,2599$		

CUADRO N.º 3

PROBABILIDAD-PROMEDIO DE EXITO POR MIRACIDIO (P)

Planorbarius metidjensis		*Bulinus (B.) truncatus*		*Biomphalaria glabrata*	
Procedencia	P	Procedencia	P	Procedencia	P
Villar de la Yegua Yegua (España)	0,96688	Coimbra (PORTUGAL)	0,82268	Recife (BRASIL)	0,00000
Valdespino (ESPAÑA)	0,92093	EGIPTO	0,95108	Amarilina (BRASIL)	0,00000
Sabugal (PORTUGAL)	0,95463	CHAD	0,97371		
Estoi (PORTUGAL)	0,97845	LIBIA	0,94837		
	0,95522		0,93321		0,00000
	$\sigma = 0,0248$				

CUADRO N.º 4

DOSIS MINIMA POR MOLUSCO QUE GARANTIZA ESTADISTICAMENTE LA POSITIVIDAD (Ir)

Planorbarius metidjensis		*Bulinus (B.) truncatus*		*Biomphalaria glabrata*	
Procedencia	Ir	Procedencia	Ir	Procedencia	Ir
Villar de la Yegua (ESPAÑA)	15,59	Coimbra (PORTUGAL)	271,42	Recife (BRASIL)	∞
Valdespino (ESPAÑA)	23,26	Algarve (Portugal)	13,18	Amarilina (BRASIL)	∞
Sabugal (PORTUGAL)	15,90	EGIPTO	20,84		
Estoi (PORTUGAL)	14,09	CHAD	25,00		
		LIBIA	26,15		
	17,21		71,13		∞
	$\sigma = 4,1100$		$\sigma = 111,9$		

Las correlaciones múltiples entre la tabulación parcial de estos tres parámetros nos da los siguientes *coeficientes de correlación*:

$$R_1 \text{ (Ir - P)} = 0{,}891$$
$$R_2 \text{ (P - X)} = 0{,}980$$
$$R_3 \text{ (Ir - X)} = 0{,}978$$

Las tablas asignan para estos coeficientes de correlación un *grado de significación muy alto.*

DISCUSION

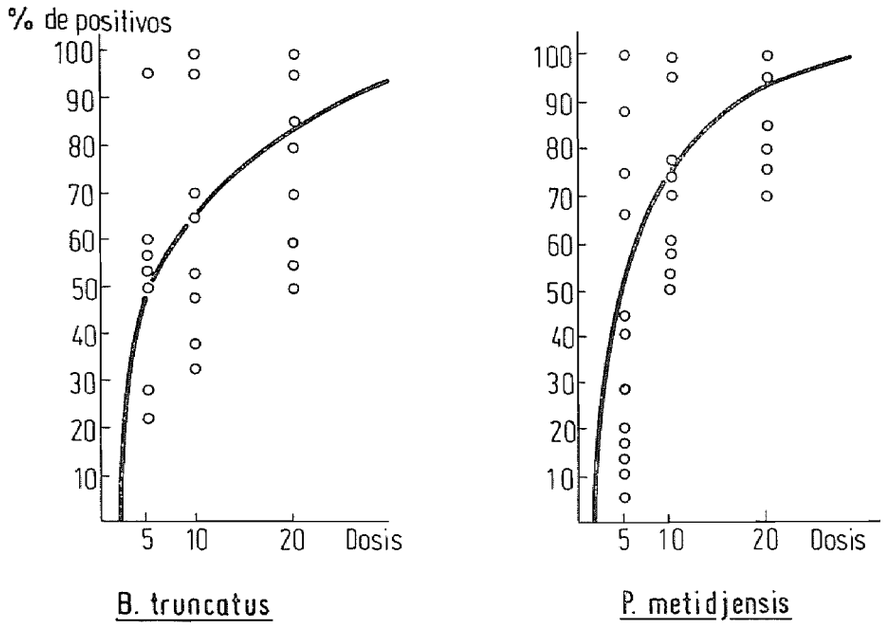
El criterio de la proporción de moluscos cercaria-positivos ha sido, tal vez, el más comúnmente utilizado para expresar la capacidad de recepción de los moluscos a los esquistosomas.

Algunos autores, como FRAGA DE AZEVEDO y col. (3), han empleado calificativos como "buen vector", "muy buen vector", etc., cuando las tasas apreciables de infestación artificial adquieren determinados valores en expresión.

En la gráfica n.º 1 representamos la receptividad mostrada por *Bulinus (B.) truncatus* y *Planorbarius metidjensis* en términos globales, de acuerdo con las proporciones de cercaria-positivos. Se puede apreciar en las curvas la gran dispersión de valores, consecuencia de lo elevadas que resultan las correspondientes desviaciones típicas entre los grupos que se infestaron con dosis iguales. Estas oscilaciones exageradas entre los datos parciales hacen que aceptemos, con las lógicas reservas, la validez y representatividad de cualquier porcentaje expresado aisladamente sin la correspondiente interpretación estadística, y que consideremos por tanto la conveniencia de buscar otros índices más fieles.

HAIRSTON (7), sobre datos obtenidos principalmente por PITCHFORD y VISSER (10) y por CHU y cols. (1), ha tratado de expresar el grado de receptividad determinando la probabilidad-promedio de éxito por miracidio. Nosotros hemos aplicado su metodología a nuestros datos y obtenemos unos resultados que estimamos como bastante válidos por cuanto en la fórmula se relacionan la proporción de positivos y la dosis empleada.

CURVAS DE RECEPTIVIDAD A S. bovis



Gráfica nº 1

El índice que nosotros proponemos aborda el problema desde un punto de vista estadístico; relaciona la positividad con la dosis y resulta sumamente sencillo de calcular. A partir de él podría establecerse una "escala de valores" para unas condiciones dadas de experimentación, similar a la que preconizan FRAGA DE AZEVEDO y SAMPAIO (4) para calificar la susceptibilidad de Australorbis y Bulinus a *Schistosoma mansoni* y *Schistosoma haematobium* respectivamente. Estos autores estiman las especies de moluscos con relación a los esquistosomas como "susceptibles", "parcialmente susceptibles" y "no susceptibles", de acuerdo con el número de miracidios que hacen patentes positividades en alguna medida. Nuestro índice indica además el alcance de estas positividades, al estar referido al número mínimo de miracidios por molusco con el que se lograría estadísticamente garantizar la positividad teórica de todo un grupo. Su

significación dependerá en gran parte, como es lógico, de la extensión numérica del grupo considerado.

Frente a la susceptibilidad mostrada por los Helisomatinae *(Planorbarius metidjensis)* y por los Bulininae (*Bulinus (B.) truncatus),* destaca la incompatibilidad a todos los niveles de los miembros de la Subfamilia Planorbinae *(Biomphalaria glabrata)* con respecto a nuestro *Schistosoma bovis.*

Este puede ser un dato que justifique la clasificación sistemática de MALEK y CHENG (8) referente a la Familia Planorbidae. En dicha clasificación se considera al Género Planorbarius como perteneciente a la Subfamilia Helisomatinae apartándole de su pretendida afinidad con la Subfamilia Planorbinae. La semejanza morfológica existente entre los Géneros Planorbarius y Biomphalaria, hizo que se estimaran ambos por numerosos autores, entre ellos FRAGA DE AZEVEDO y col. (5) y nosotros (12) como miembros de la Subfamilia Planorbinae, e incluso llevó a FAUST y col. (2) a dar como válida la sinonimia entre *Planorbarius metidjensis* y *Biomphalaria dufourii.* El comportamiento mostrado frente a *Schistosoma bovis* por Planorbarius y por Biomphalaria, denota otra diferencia más a añadir a las ya existentes y avala la racionalidad de la sistemática adoptada por MALEK y CHENG (8), la cual considera tales Géneros como pertenecientes a Subfamilias distintas.

Las variaciones habidas en cuanto al grado de susceptibilidad entre las distintas poblaciones probadas de *Planorbarius metidjensis* y *Bulinus (B.) truncatus,* cabe atribuirlas a las diferencias intraespecíficas existentes entre poblaciones distintas de una misma especie de molusco. Estas diferencias han sido puestas de manifiesto principalmente por WRIGHT y ROSS (17) en los Planorbidos, estudiando mediante electroforesis las proteínas del huevo. Por su parte RICHARDS (11) afirma también que las variaciones de la susceptibilidad a un esquistosoma determinado entre moluscos de igual especie, están en concordancia con la configuración genética de cada población.

A cualquiera de los niveles de apreciación utilizados es de destacar como norma general, un mayor grado de receptividad y uniformidad de comportamiento en las poblaciones estudiadas de *Planorbarius meitdjensis* que en las de *Bulinus (B.) truncatus* con relación a la raza española de *Schistosoma bovis.*

Ateniéndonos al concepto de susceptibilidad emitido por WRIGHT (18), hemos de concluir que en términos generales *Planorbarius metidjensis* ofrece a *Schistosoma bovis* de España unas condiciones de desarrollo más favorables que la mayoría de las poblaciones ensayadas de *Bulinus (B.) truncatus.* Esta conclusión parecía hasta cierto punto previsible, si tenemos en cuenta que la raza de *Schistosoma bovis* con lo que hemos trabajado evoluciona en el medio natural en *Planorbarius metidjensis.*

El hecho señalado por SOUTHAGE y KNOWLES (15) de que *Planorbarius metidjensis* de Portugal (Carcavoi) haya resultado refractario a cepas de *Schistosoma bovis* de Marruecos, Sicilia e Irán, y el alto grado de receptividad que por el contrario muestran los Planorbarius ibéricos probados por nosotros a la cepa española de *Schistosoma bovis* nos inducen a pensar que nos encontramos ante una raza geográfica muy bien definida.

Apreciaciones similares en *Schistosoma haematobium* de Portugal llevaron a FRAGA DE AZEVEDO (6) a denominar a aquél como *Schistosoma haematobium europeense.* Es posible que en ambos casos nos hallemos ante estados de subespeciación muy avanzados, en los que el aislamiento geográfico que representa la Península Ibérica ha jugado probablemente un importante papel.

Las variaciones intraespecíficas entre esquistosomas, especialmente en *Schistosoma haematobium,* han sido puestas de manifiesto por WEBBE y JAMES (16).

Según criterio de MAYR (9), el abandono del término "variedad" para las razas geográficas es ya casi completo en zoología. El nuevo concepto de "raza geográfica" ha exigido reinterpretarla como una respuesta genético-fisiológica a un medio local.

El considerar hechos como el que nos ocupa como justificación suficiente para describir una nueva subespecie ha permitido, en opinión de MAYR (9), una copiosísima cosecha de nuevas subespecies que amenazan seriamente la utilidad de tal categoría.

RESUMEN

Se hace un estudio acerca de la receptividad a *Schistosoma bovis* de Salamanca (España) de *Planorbarius metidjensis* de España (Villar de

la Yegua y Valdespino) y Portugal (Sabugal y Estoi); *Bulinus (B.) truncatus* de Portugal (Coimbra y Algarve), Egipto, Chad y Libia; y *Biomphalaria glabrata* de Brasil (Recife y Amarilina).

Los criterios de apreciación se basan en la proporción de moluscos cercaria-positivos, en la probabilidad-promedio de éxito por miracidio y en el número de miracidios por molusco que garantza estadisticamente la positividad. Estos índices son comparados y discutidos.

Se discute asimismo la sistemática de la Familia Planorbidae (Subfamilias Helisomatinae, Bulininae y Planorbinae) de acuerdo con su susceptibilidad a *Schistosoma bovis* de España, y se aportan datos para la caracterización biológica de este esquistosoma.

REFERENCIAS

1. Chu, K. Y., Sabbaghian, H. and Massoud, J. (1966). Host-parasite relationship of *Bulinus truncatus* and *Schistosoma hematobium* in Iran. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 34: 121-130.
2. Faust, C. E., Russell, F. P. y Lincicome, R. D. (1961). Parasitología Clínica de Craig y Faust. UTHA. México.
3. Fraga de Azevedo, J. y Sampaio, X. L. (1966). Un novo vector potencial do *Schistosoma haematobium* em Portugal. *Mem. Acad. Cienc. Liscboa*, 10: 25-53.
4. Fraga de Azevedo, J. y Sampaio, X. L. (1969). O complexo molusco-schistosoma. *Junta de Investigações do Ultramar*. Lisboa.
5. Fraga de Azevedo, J., Sampaio, X. L., Pequito, M. M. and Simoes, M. (1969). Contribution to morphological and biochemical identification of some strains of the *Bulinus truncatus* group. *Malacologia*. 9 (1): 25-34.
6. Fraga de Azevedo, J. (1969). Relations biologiques parmi les differentes souches geographiques du complexe *Schistosoma haematobium*. *Bull. Soc. Pat. Exot.* 62 (2): 348-375.
7. Hairston, N. G. (1973). Epidemiology and control of schistosomiasis (bilharziasis). 4. The dynamics of transmission. Ed. Ansari, N. *Wld Hlth Org.* Geneva.
8. Malek, A. E. and Cheng, C. T. (1974). Medical and economic malacology. Academic Press. London.
9. Mayr, E. (1968). Especies animales y evolución. Ed. Ariel, S. A. aBrcelona.
10. Pitchford, R. J. and Visser, P. S. (1965). Some further observations on schistosome transmission in the Eastern Transvaal. *Bull. Wld Hlth Org.* 32: 83-104.
11. Richard, C. S. (1970). Genetics of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature*, 227: 806--810.
12. Ramajo, M. V. (1972). Contribución al estudio epizootiológico de la esquistosomiasis bovina *(Schistosoma bovis)* en la provincia de Salamanca. *An. Fac. Vet. León*, 18 (1): 151-214.

13. Sampaio, X. L., Simon, V. F., Avelino, C. I. and Ramajo, M. V. (1977). Susceptibility of *Planorbarius metidjensis* from Portugal and Spain to *Schistosoma Bovis* from Salamanca, Spain. *Malacologia*, 16 (1): 251-254.
14. Simon, V. F., Sampaio, X. L., Ramajo, M. V. and Avelino. C. I. (1975). Susceptibility of *Bulinus truncatus* from Portugal and other origins to a strain of *Schistosoma bovis* of Salamanca (Spain) *Rev. Iber. Parasitol.*, 35 (1/2): 95-103.
15. Southgate, V. R. and Knowles, R. J. (1975). Observations on *Schistosoma bovis* Sonsino, 1876. *J. Nat. Hist.*, 9: 273-314.
16. Webbe, G. and James, C. (1971). Infra-specific variations of *Schistosoma haematobium*. *J. Helminth.*, 45: 403-413.
17. Wrigth, C. A. and Ross, G. C. (1966). Electrophoretic studies on planorbid egg proteins. The *Bulinus africanus* and *B. forskali* species groups. *Bull. Wld Hlth Or.* 35: 727-731.
18. Wrigth, C. A. (1974). Snail susceptibility or trematode infectivity? *J. Nat. Hist.*, 8: 545-548.