

NOTA CIENTÍFICA

Hymenolepis microstoma* (Cestoda: Hymenolepididae) en ratones caseros (*Mus musculus*) de Lima, Perú**Hymenolepis microstoma* (Cestoda: Hymenolepididae) in house mice (*Mus musculus*) from Lima, Peru**

Luis A. Gomez-Puerta*, Cesar A. Valdivia-Carrera

Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria. Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria. Av. Circunvalación 2800, San Borja. Lima, Perú.

*Autor para correspondencia:

E-mail: Luis A. Gomez-Puerta: lgomezp@unmsm.edu.pe; lucho92@yahoo.com

ORCID Luis A. Gomez-Puerta: <http://orcid.org/0000-0002-7909-979X>

E-mail: Cesar A. Valdivia-Carrera: cesararturovc@gmail.com

ORCID Cesar A. Valdivia-Carrera: <http://orcid.org/0000-0002-8597-0676>

Resumen

Un total de 12 cestodos adultos se colectaron de los conductos biliares de ratones domésticos (*Mus musculus*) provenientes de Lima, Perú. Diversas características del escólex y proglotis maduros del cestodo fueron observadas para la identificación morfológica. Así mismo, se realizó un diagnóstico molecular mediante un PCR y secuenciación parcial del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad 1 (cox1). Todos los cestodos fueron identificados como *Hymenolepis microstoma* por morfología y métodos moleculares. El aislado de *H. microstoma* de Perú mostró una similitud de secuencia significativa (> 99%) con los aislados de *H. microstoma* previamente reportados. Nuestro informe confirma la presencia del parásito en ratones de Lima.

Palabras claves: Hymenolepididae; cestodo; *Hymenolepis*; ratón domésticos; *Mus musculus*; citocromo c oxidasa subunidad I; cox1.

Abstract

A total of 12 adult cestodes were collected from the bile ducts of domestic mice (*Mus musculus*) from Lima, Peru. Various features of the scolex and mature proglottids of the tapeworms were observed for morphological identification. A molecular diagnosis was performed by PCR-based partial sequencing of mitochondrial gene of cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1). All cestodes were identified as *Hymenolepis microstoma* by morphology and molecular methods. The *H. microstoma* isolate from Peru showed significant sequence similarity with previously reported isolates of *H. microstoma* (>99%). Our report confirms the presence of the parasite in mice from Lima.

Keywords: Hymenolepididae; cestode; *Hymenolepis*; domestic mouse; *Mus musculus*; cytochrome c oxidase subunit I; cox1.

Citación:

Gomez-Puerta L.A. & C.A. Valdivia-Carrera. 2018. *Hymenolepis microstoma* (Cestoda: Hymenolepididae) en ratones caseros (*Mus musculus*) de Lima, Perú. *Revista peruana de biología* 25(3): 311 - 314 (Agosto 2018). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v25i3.15213>

Presentado: 01/12/2017

Aceptado: 02/09/2018

Publicado online: 25/09/2018

Información sobre los autores:

LAGP y CAVC: realizaron los muestreos; analizaron los datos; redactaron, revisaron y aprobaron el manuscrito.

Los autores no incurren en conflicto de intereses.

Journal home page: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/index>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Peruana de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citadas. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con editor.revperubiol@gmail.com.

Introducción

Los cestodos de la familia Hymenolepididae (Cyclophyllidea) son parásitos de diversas especies de aves y pequeños mamíferos, principalmente roedores, insectívoros y quirópteros (Czaplinski & Vaucher 1994). Algunas especies de esta familia tienen importancia para la salud pública y pueden causar enfermedades graves en personas inmunocomprometidas, principalmente las especies que parasitan a roedores (Macnish et al. 2003, Marangi et al. 2003, Olson et al. 2003).

Los principales reservorios de estos cestodos zoonóticos son los roedores comensales *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus* (Foronda et al. 2011). Estos roedores actúan como hospederos definitivos para *Hymenolepis diminuta*, *Hymenolepis nana* (= *Rodentolepis nana*) e *Hymenolepis microstoma* (Nkouawa et al. 2016, Foronda et al. 2011, Macnish et al. 2003). Estos cestodos tienen una distribución cosmopolita y son capaces de infectar a humanos (Nkouawa et al. 2016). El presente estudio utiliza el diagnóstico morfológico y molecular, analizando parcialmente el gen mitocondrial citocromo c oxidasa 1 (cox1), para demostrar la presencia *H. microstoma* en el ratón casero (*M. musculus*), provenientes de Lima, Perú, agregando así un nuevo registro geográfico para el parásito.

Material y métodos

En Julio del 2017, haciendo un monitoreo parasitológico en roedores plaga, 12 cestodos fueron colectados del conducto biliar del ratón (*M. musculus*) provenientes del distrito de Santiago de Surco en Lima, Perú. Los cestodos fueron fijados en formol al 4% caliente y luego preservados en etanol al 70%. Algunos proglotis grávidos fueron preservados en etanol absoluto para estudios moleculares.

Estudio morfológico.- Los proglotidos fueron teñidos con tricrómico de Gomori, deshidratados en series sucesivas de etanol hasta etanol absoluto, clarificados en eugenol y montados en bálsamo de Canadá. Los escólex fueron montados temporalmente en medio Berlese para facilitar la observación y medición de los ganchos rostellares. Las microfotografías se hicieron usando un microscopio Carl Zeiss (Axioskop 40) y las medidas se obtuvieron con el programa de análisis de imágenes Leica IM50 (Version, 4.0 R117). Las medidas se expresan en milímetros (mm) y micrómetros (μm). Las características métricas se mencionan en rango con el promedio y el error estándar (ES) en paréntesis.

Diagnóstico molecular.- El ADN fue extraído de proglotis grávidos de algunos especímenes utilizando la metodología descrita por Gomez-Puerta et al. (2016). Para ellos, algunos segmentos de proglotis grávidos fueron colocados y deshidratados en viales de plástico de 0,2 ml. Luego se añadieron a los viales 100 μL de solución de Chelex al 5% y 10 μL de proteínaasa K (20 mg/mL). Los viales se incubaron en un termociclador utilizando el siguiente programa: 1 hora a 57 °C, 10 minutos a 95 °C, 1 minuto a 37 °C, 10 minutos a 95 °C y finalmente 15 minutos a 15 °C. Las muestras de ADN se almacenaron a -70 °C hasta su uso. Se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar un fragmento de aproximadamente 400 pares de bases (pb) del gen mitocondrial citocromo c oxidasa 1 (cox1) utilizando los protocolos y cebadores JB3 y JB4.5 descritos por Bowles y McManus, 1994. Los productos de PCR se secuenciaron usando un secuenciador automatizado ABI 3100 (*Applied Biosystems*). Las secuencias se ensamblaron utilizando

el programa ChromasPro 1.7.6 (<http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>). Todas las secuencias se compararon con secuencias de referencia obtenida del GenBank mediante el BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Las secuencias se alinearon utilizando el programa BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>). El Programa MEGA7 (<http://www.megasoftware.net/>) fue utilizado para generar un árbol filogenético a través del método "neighbor-joining" con la distancia de 2-parámetros de Kimura, este método es útil para comparar grandes juegos de datos de secuencias con bajos niveles de divergencia (Tamura et al. 2004). La secuencia obtenida en este estudio se depositó en el GenBank con acceso N° MG570384. Los especímenes estudiados fueron depositados en la Colección de Parásitos del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM (FMV-599), Lima, Perú.

Resultados

Cestodos delgados y largos con una longitud total del estróbilo de 4.2 a 8.5 (5.5; ES= 2) cm y un ancho máximo de 832 – 1,384 (986; ES=12) μm . El escólex tiene 212 – 260 (228; ES=2) μm de ancho, con 4 ventosas de 80 – 111 (99; ES=4) μm de diámetro.

El róstelo mide 55 – 72 (66; ES=3) μm de largo y 32 – 50 (40; ES=3) μm de ancho, es armado con 24 – 26 ganchos de forma cricetoide. La longitud de los ganchos fue 14 – 16 (15; ES=0.1) μm de largo. El saco rostellar tiene 73 – 89 (79; ES=3) μm de profundidad y 48 – 66 (56; ES=3) μm de ancho máximo.

La disposición de los proglotis son de forma craspedote. Los proglotis inmaduros miden 92 – 164 (124; ES=4) μm de largo y 371 – 445 (409; ES=3) μm de ancho. Los proglotis maduros miden 180 – 271 (221; ES=3) μm de largo y 595 – 896 (752; ES=17) μm de ancho. Los proglotis grávidos tienen una longitud de 230 – 372 (297; ES=8) μm y un ancho de 1001 – 1384 (1159; ES=32) μm .

El sistema masculino está formado por tres testículos, uno poral y dos aporal, de forma oval o esféricos de 120 – 181 (145; ES=2) μm de largo y 115 – 166 (143; ES=2) μm de ancho. Presenta una vesícula seminal externa de 109 – 225 (162; ES=9) μm de longitud y 69 – 119 (91; ES=3) μm de ancho. El saco del cirro mide 143 – 207 (172; ES=3) μm de longitud y 37 – 57 (45; ES=2) μm de ancho máximo. La vesícula seminal interna tiene una longitud de 68 – 197 (101; ES=3) μm y un ancho máximo de 40 – 89 (55; ES=2) μm .

El sistema femenino consiste en un ovario lobulado, situado en la zona medial del proglotis, con una longitud de 77 – 121 (103; ES=6) μm y un ancho de 153 – 388 (261; ES=31) μm . La vagina es delgada y se localiza debajo del saco del cirro. El poro genital es unilateral y dextral, se abre en el tercio superior del lado del proglotis. Los proglotis grávidos contienen numerosos huevos, los cuales miden 83 – 94 (88; ES = 1) μm de largo y 69 – 87 (80; ES = 2) μm de ancho. Los huevos presentan 3 – 5 (4; ES = 0.2) filamentos polares. Las oncósferas tienen un diámetro de 38 – 44 (42, ES = 0.5) μm y los ganchos de las oncósferas miden 16 – 19 (17; ES = 0.2) μm de largo.

La identidad genética de *H. microstoma* se determinó por la alineación de la secuencia parcial del gen cox1. La secuencia obtenida en este estudio tuvo 418pb y fue alienada con secuencias de *H. microstoma* obtenidas del GenBank (JN258051,

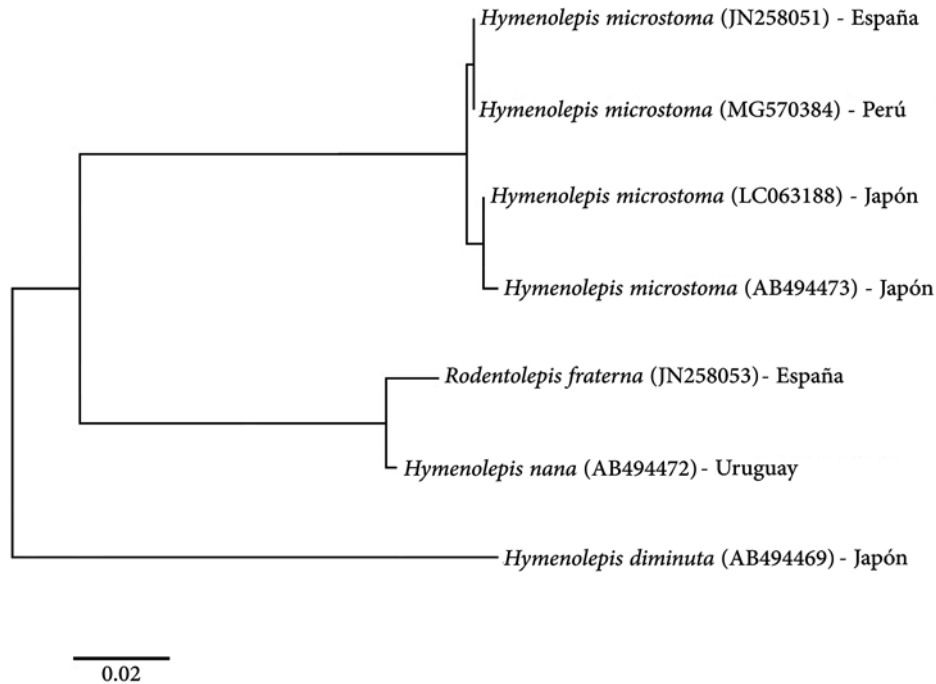


Figura 1. Relación filogenética del gen *cox1* de *Hymenolepis microstoma* y otras especies de himenolepídeos. Se utilizaron secuencias del GenBank (AB494473, LC063188 y JN258051) como controles. El número en paréntesis “()” representa el código de acceso en el GenBank para el espécimen correspondiente, seguido del país de procedencia.

LC063188 y AB494473) (Nkouawa et al. 2016, Foronda et al. 2011, Okamoto et al. 1997). Las secuencias de *H. microstoma* obtenidas del GenBank fueron colectados de ratones (*M. musculus*) de España y Japón. Nuestro resultado muestra que las secuencias del presente estudio y las del GenBank tenían más del 99% de identidad entre ellas, con 2 y 3 nucleótidos de diferencia con las muestras de España y Japón, respectivamente. El análisis filogenético (Fig. 1) muestra dos ramas (clusters) para *H. microstoma*, una para los especímenes de Perú y España, y otra para los especímenes de Japón. Debido a esta baja variabilidad genética, esto podría indicar que *H. microstoma* se introdujo en Perú desde un país Europeo.

Discusión

Los parámetros morfológicos y la secuencia parcial del gen *cox1* coincidieron con estudios previos de *H. microstoma* (Nkouawa et al. 2016, Cunningham & Olso 2010, Okamoto et al. 1997).

Esta especie de cestodo ha tenido mucha discrepancia respecto a su nomenclatura. *Hymenolepis microstoma* fue descrita por primera vez como *Taenia microstoma*, posteriormente fue incluida dentro del género *Hymenolepis* (Blanchard, 1891). Sin embargo, Spasskii (1954), realizó una revisión de la familia Hymenolepididae de mamíferos y trasladó a *H. microstoma* dentro del género *Rodentolepis*. Schmidt (1986) realizó una revisión de las especies de cestodos y consideró a *Rodentolepis* sinónimo del género *Vampirolepis*, quedando así el nombre de *Vampirolepis microstoma*. En la última revisión taxonómica de la familia Hymenolepididae, Czaplinski y Vaucher (1994) consideran válido al género *Rodentolepis*. Sin embargo, estudios actuales siguen considerando la nomenclatura del parásito como *H. microstoma* (Nkouawa et al. 2016).

Hymenolepis microstoma se caracteriza por parasitar el conducto biliar del hospedero mamífero. Los huevos que contienen oncósferas son expulsados con las heces al medio ambiente y pueden ser ingeridos por la etapa adulta o larval de un escarabajo apropiado (*Tribolium confusum*, *T. castaneum*, *Tenebrio molitor* y *Oryzaephilus surinamensis*), el cual actúa como hospedero intermediario (Dvorak et al. 1961). Los hospederos definitivos naturales para *H. microstoma* incluyen una amplia lista de roedores de los géneros *Apodemus*, *Dendromus*, *Leggada*, *Mastomys* y *Mus*), jerbos (*Meriones Illiger*) y ratones de campo (*Microtus Schrank*) (Schmidt 1986, Litchford 1963). Sin embargo, es más frecuente hallarlo en *M. musculus* tal como lo demuestra este estudio.

En un estudio se evaluó experimentalmente el poder infeccioso de *H. microstoma* en *Mus musculus*, *Rattus norvegicus* y *Mesocricetus auratus*, y concluyeron que *M. musculus* es la especie más adecuada como hospedero definitivo. Esto debido a que el porcentaje de infección fue hasta 80% en *M. musculus* comparado con el hámster (*M. auratus*), el cual fue 30% y no logrando la infección en *R. norvegicus* (Dvorak et al. 1961).

Los estadios adultos de *H. microstoma* e *H. nana* son distinguibles morfológicamente (Baer & Tenora 1970, Czaplinski & Vaucher 1994). Algo peculiar es la forma morfológica de los huevos de *H. microstoma*, los cuales son muy similares con los huevos de *H. nana*, las medidas de los huevos y oncósferas, así como la posición de los filamentos polares son muy similares entre ellos (Macnish et al. 2003, Baer & Tenora 1970).

Los hallazgos de *H. microstoma* en humanos (Macnish et al. 2003) sugiere la importancia del uso de herramientas moleculares

para la detección e identificación de cestodos hymenolepididos colectados de humanos, especialmente en especies morfológicamente similares. Debido a la confirmación de *H. microstoma* en ratones *M. musculus*, un roedor que tiene estrecha relación con los humanos, se requerirá realizar futuros estudios epidemiológicos para saber el estado actual de infección en humanos y la comprensión de la dinámica de transmisión del parásito.

Literatura citada

- Baer J.G. & F. Tenora. 1970. Some species of *Hymenolepis* (Cestodea) from rodents and from primates. *Acta Scientiarum Naturalium - Academiae Scientiarum Bohemoslovaca* Brno 4:1-32.
- Blanchard R. 1891. *Histoire Zoologique et Médicale des Téniaidés du genre Hymenolepis* Weinland. Paris.112p
- Bowles J. & D.P. McManus. 1994. Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50(1): 33-44. PMID:7905720. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1994.50.1.TM0500010033>
- Cunningham L.J. & P.D. Olson. 2010. Description of *Hymenolepis microstoma* (Nottingham strain): a classical tapeworm model for research in the genomic era. *Parasites & Vectors* 31(3):123. doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-123>.
- Czaplinski B. & C. Vaucher. 1994. Family Hymenolepididae Ariola, 1899. In *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates*. Edited by: Khalil LF, Jones A, Bray RA. Wallingford, U.K.: CAB International.595-663.
- Dvorak J.A., A.W. Jones, H.H. Kuhlman. 1961. Studies on the biology of *Hymenolepis microstoma* (Dujardin, 1845). *The Journal of parasitology* 39: 128 - 132. doi: <https://doi.org/10.2307/3275481>
- Foronda P., M. López-González, M. Hernández, V. Haukisalmi, C. Feliu. 2011. Distribution and genetic variation of hymenolepidid cestodes in murid rodents on the Canary Islands (Spain). *Parasites & Vectors* 26(4):185. doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-185>
- Gomez-Puerta L.A., V. Alarcon, J. Pacheco, F. Franco, M.T. Lopez-Urbina, A.E. Gonzalez. 2016. Molecular and morphological evidence of *Taenia omissa* in pumas (*Puma concolor*) in the Peruvian Highlands. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 25(3):368-73. doi: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016046>.
- Litchford R.G. 1963. Observations on *Hymenolepis microstoma* in three laboratory hosts: *Mesocricetus auratus*, *Mus musculus*, and *Rattus norvegicus*. *Journal of Parasitology* 49(3):403-410. <https://doi.org/10.2307/3275808>
- Macnish M.G., U.M. Ryan, J.M. Behnke, R.C.A. Thompson. 2003. Detection of the rodent tapeworm *Rodentolepis* (= *Hymenolepis*) *microstoma* in humans. A new zoonosis? *International journal for parasitology* 33:1079-1085. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(03\)00137-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(03)00137-1)
- Marangi M., B. Zechini, A. Fileti, G. Quaranta, A. Aceti. 2003. *Hymenolepis diminuta* infection in a child living in the urban area of Rome, Italy. *Journal of clinical microbiology* 41:3994-3995. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.8.3994-3995.2003>
- Nkouawa A., V. Haukisalmi, T. Li, M. Nakao, A. Lavikainen, X. Chen, H. Henttonen, A. Ito. 2016. Cryptic diversity in hymenolepidid tapeworms infecting humans. *Parasitology International* 65(2):83-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.10.009>.
- Okamoto M., T. Agatsuma, T. Kurosawa, A. Ito. 1997. Phylogenetic relationships of three hymenolepidid species inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequences. *Parasitology* 115(6):661-6.
- Olson P.D., K. Yoder, L.F. Fajardo L-G, A.M. Marty, S. van de Pas, C. Olivier, D.A. Relman. 2003. Lethal invasive cestodiasis in immunosuppressed patients. *J Infect Dis*, 187:1962-1966.
- Schmidt G.D. 1986. *Handbook of Tapeworm Identification*. Boca Raton, Florida: CRC Press;.
- Spasskii A.A. 1954. Classification of Hymenolepididae from mammals. *Trudy Gel'mintologicheskoy Laboratorii Akademii Nauk* 7:120-167.
- Tamura K., M. Nei, S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(30): 11030-11035. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0404206101>.