

# Caracterización morfológica y molecular de *Paragonimus mexicanus* y *Paragonimus caliensis* en Costa Rica

Roderico Hernandez-Chea<sup>1</sup>, Ana E. Jiménez Rocha<sup>2</sup>, Ruth Castro<sup>2</sup>, David Blair<sup>3</sup>, Gaby Dolz<sup>1,2</sup>

1 Maestría en Enfermedades Tropicales, Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, Universidad Nacional  
2 Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional  
3 College of Marine Environmental Sciences, James Cook University, Australia  
Correo electrónico: roderik123animal@gmail.com, gaby.dolz.wiedner@una.cr



## Objetivo

La paragonimiasis es una enfermedad zoonótica de transmisión alimentaria en Latinoamérica. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar las especies de *Paragonimus* presentes en cangrejos de agua dulce de Costa Rica.

## Metodología

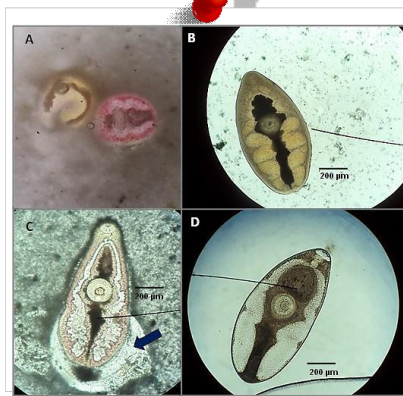
Entre marzo y noviembre de 2015 se recolectaron 347 cangrejos de agua dulce (*Pseudohelphusidae*), en quebradas distribuidas en las vertientes Atlántica, Pacífica y el Valle Central. Se extrajeron metacercarias de *Paragonimus* spp. de los órganos y tejidos de los cangrejos examinados, las cuales fueron fijadas, observadas y caracterizadas en el microscopio de luz. Para su caracterización en el microscopio electrónico de barrido (Hitachi TM 3000) las metacercarias fueron fijadas y se localizó la ventosa ventral, determinándose la presencia de papilas, y en base al número y distribución de las papilas se determinó el morfotipo de metacercaria. Se extrajo ADN total de cada metacercaria seleccionada y se amplificaron regiones parciales de los marcadores moleculares 28S, ITS2 y CO1. Se construyeron árboles filogenéticos para los genes amplificados por el método de Maximum likelihood.

## Resultados

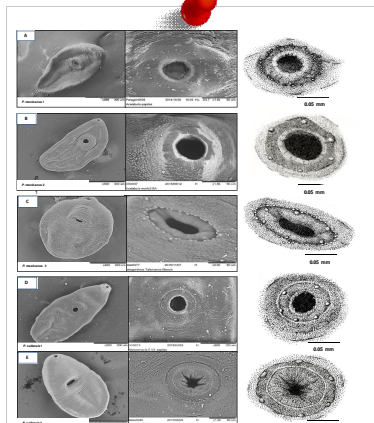
Se lograron recolectar 599 metacercarias. Por microscopía de luz se determinaron dos tipos de metacercarias, *P. mexicanus* y *P. caliensis* (Fig. 1A). Las metacercarias de *P. mexicanus* se mostraron desnudas y con un cuerpo de color amarillo (Fig. 1B). Las metacercarias de *P. caliensis* se mostraron recubiertas por una membrana viscosa y cuerpo de color rosado (Fig. 1C), y fuera del quiste las metacercarias se observaron con ciegos intestinales transparentes (Fig. 1D). Mediante microscopía electrónica de barrido se clasificaron 3 morfotipos de metacercarias de *P. mexicanus*: el morfotipo 1, con 19 a 30 papilas externas en el acetábulo (Fig. 2A), el morfotipo 2, con 6 papilas mediales en el acetábulo (Fig. 2B), y el morfotipo 3, con 6 papilas mediales y 36-38 externas (Fig. 2C). Para *P. caliensis* se clasificaron dos morfotipos, el morfotipo 1, con 6 papilas mediales y 7 internas en el acetábulo (Fig. 2D) y el morfotipo 2, con 6 papilas mediales en acetábulo (Fig. 2E). En la Figura 3 se muestran los análisis filogenéticos de las regiones 28S, ITS2 y CO1. En los tres árboles se muestra que los especímenes de *P. mexicanus* y *P. caliensis* costarricenses poseen distanciamiento genético entre ellos y con las especies de *Paragonimus* asiáticos.

## Conclusiones

- Se determinaron dos especies de duelas pulmonares en Costa Rica, *P. mexicanus* y *P. caliensis*, a través de análisis moleculares y filogenéticos de las regiones 28S, ITS2 y CO1.
- Las variación morfológica de los acetábulos de *P. mexicanus* y *P. caliensis* y los resultados del análisis molecular demuestran que los morfotipos de cada especie comparten la misma identidad genética, demostrándose así que ambas especies son polimórficas.
- La confirmación de *P. caliensis* como especie separada de *P. mexicanus* dirige varios cuestionamientos sobre la ecología, diversidad biológica y epidemiología del género *Paragonimus* en Costa Rica y en Latinoamérica.

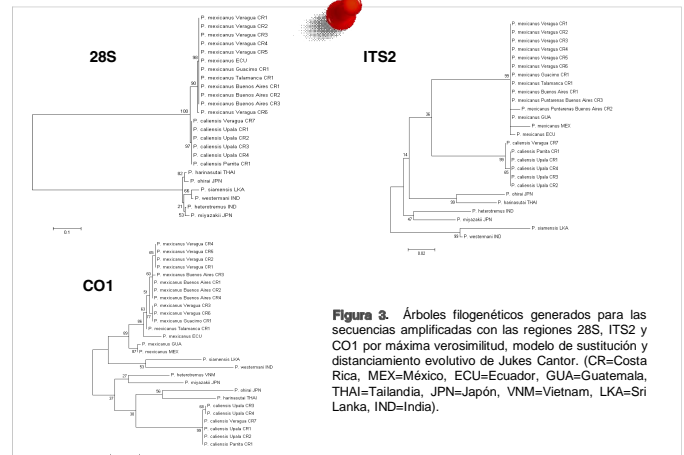


**Figura 1.** Características morfológicas de metacercarias de *P. mexicanus* y *P. caliensis* en Costa Rica. (A) Metacercaria de *P. mexicanus* (amarilla), izquierda y metacercaria de *P. caliensis* (rosada) derecha, vistas en estereoscopia. (B) Metacercaria de *P. mexicanus*, microscopía de luz objetivo 10X. (C) Metacercaria de *P. caliensis* saliendo del quiste, la flecha muestra el quiste. (D) Metacercaria de *P. caliensis*, microscopía de luz objetivo 10X.



**Figura 2.** Características morfológicas de los morfotipos de metacercarias de *P. mexicanus* y *P. caliensis* visualizados por microscopía electrónica de barrido (SEM), características de las papilas en el acetábulo (medio) visualizados por SEM y dibujos (derecha).

- Metacercaria *P. mexicanus* morfotipo 1
- Metacercaria *P. mexicanus* morfotipo 2
- Metacercaria *P. mexicanus* morfotipo 3
- Metacercaria *P. caliensis* morfotipo 1
- Metacercaria *P. caliensis* morfotipo 2



**Figura 3.** Árboles filogenéticos generados para las secuencias amplificadas con las regiones 28S, ITS2 y CO1 por máxima verosimilitud, modelo de sustitución y distanciamiento evolutivo de Jukes Cantor. (CR=Costa Rica, MEX=México, ECU=Ecuador, GUA=Guatemala, THAI=Tailandia, JPN=Japón, VNM=Vietnam, LKA=Sri Lanka, IND=India).

## Agradecimientos

Al CONARE y al DAAD. Un especial agradecimiento al Dr. Ingo Wehrmann, Fresia Villalobos y Raquel Romero del CIMAR, UCR, por su valiosa colaboración en la recolección de especímenes de cangrejos de agua dulce. Al Dr. Paron Dekumyoy, Mahidol University, Tailandia, por donar el control positivo.