



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Ciencias Biológicas**

**Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología**

**Identificación molecular de larvas plerocercoides del  
género *Diphyllobothrium* sp. obtenidas en peces  
marinos de mayor consumo utilizando los marcadores  
moleculares ITS y 18S**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo  
Parasitólogo

**AUTOR**

Diego Eduardo MARROQUIN VILCHEZ

**ASESOR**

Rosa MARTÍNEZ ROJAS

Lima, Perú

2018

## RESUMEN

La difilobotriasis es una zoonosis ampliamente distribuida afectando a más de 20 millones de personas. El hombre adquiere la infección por *Diphyllobothrium* sp. al ingerir, de forma accidental, la larva plerocercóide que se encuentra enquistada o libre en la superficie visceral o músculos de peces marinos y de agua dulce. El agente causal marino de esta zoonosis es *Adenocephalus pacificus* (Syn. *D. pacificum*), pero existe la controversia de la existencia de *D. arctocephalinum*. El objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar larvas plerocercóides de *Diphyllobothrium* sp. de peces marinos de la costa peruana de mayor consumo humano mediante técnicas moleculares, utilizando los marcadores moleculares ITS y 18S rDNA. Para ello se muestrearon 831 ejemplares de *Sciaena deliciosa* "Lorna", 5 de *Sarda chilensis* "Bonito", 201 de *Scomber japonicus* "Caballa", 40 de *Galeichthys jordani* "Bagre marino", 34 de *Trachurus murphyi* "Jurel", 18 de *Merluccius gayi* "Merluza", 5 de *Coryphaena hippurus* "Perico" y 2193 de *Engraulis ringens* "anchoveta"; adquiridos en diferentes periodos estacionales y diferentes Puertos de las ciudades de Chiclayo, Lima, Ica y Moquegua de la costa peruana. Se extrajo el ADN genómico de 36 larvas plerocercóides colectadas y se evaluó la calidad del mismo mediante electroforesis y espectrofotometría. Se amplificó los fragmentos ITS, 18S rDNA y COI (control interno) de las larvas plerocercóides mediante PCR y se analizaron filogenéticamente utilizando los métodos de Neighbor-Joining (NJ) y Máxima Parsimonia (MP). Los resultados muestran que al analizar morfológicamente las larvas plerocercóides, se observaron tres formas diferentes de escólex: lanceolada, acorazonada y redondeada, según Mondragón (2017). En el análisis filogenético se observa que para cada uno de los marcadores moleculares utilizados, las secuencias de las larvas plerocercóides fueron agrupadas en un solo clado, junto con las secuencias obtenidas de la base de datos de NCBI de *A. pacificus* y *D. pacificum*, manteniendo una distancia

marcada con las otras especies de *Diphyllobothrium* reportadas como zoonóticas. En conclusión, los datos demuestran que, a nivel de morfología de escólex, las larvas plerocercoides presentan alta plasticidad; por ende, esta no es una característica útil ni válida para la identificación a nivel de especie. De acuerdo a los análisis filogenéticos basados en el gen 18S rDNA y ITS, se determinó que las larvas plerocercoides se agrupan en un mismo clado con *A. pacificus* y probablemente se trate de una sola especie la que esté presente en la zona costera del Perú.

Palabras clave: Larvas plerocercoides, *Adenocephalus pacificus*, gen ITS, gen 18S rDNA,

## ABSTRACT

The diphyllbothriasis is a widely distributed zoonosis affecting more than 20 million people. The man acquires the infection by *Diphyllbothrium* sp. by ingesting, accidentally, the plerocercoid larva that is encysted or free on the visceral surface or muscles of marine and freshwater fish. The marine causal agent of this zoonosis is *Adenocephalus pacificus* (Syn. *D. pacificum*), but there is controversy about the existence of *D. arctocephalinum*. The objective of the present research work was to identify plerocercoid larvae of *Diphyllbothrium* sp. of marine fish of the Peruvian coast with the highest human consumption by means of molecular techniques, using the molecular markers ITS and 18S rDNA. To this end, 831 specimens of *Sciaena deliciosa* "Lorna", 5 of *Sarda chilensis* "Bonito", 201 of *Scomber japonicus* "Caballa", 40 of *Galeichthys jordani* "Bagre marino", 34 of *Trachurus murphyi* "Jurel", 18 of *Merluccius gayi* were sampled. "Merluza", 5 of *Coryphaena hippurus* "Perico" and 2193 of *Engraulis ringens* "Anchoveta"; acquired in different seasonal periods and different Ports of the cities of Chiclayo, Lima, Ica and Moquegua of the Peruvian coast. The genomic DNA of 36 collected plerocercoid larvae was extracted and the quality thereof was evaluated by electrophoresis and spectrophotometry. The ITS fragments, 18S rDNA and COI (internal control) of the plerocercoid larvae were amplified by PCR and phylogenetically analyzed using the methods of Neighbor-Joining (NJ) and Máximum Parsimony (MP). The results show that when analyzing the plerocercoid larvae morphologically, three different forms of scolex were observed: lanceolate, heart-shaped and rounded, according to Mondragón (2017). In the phylogenetic analysis, it is observed that for each of the molecular markers used, the sequences of the plerocercoid larvae were grouped into a single clade, together with the sequences obtained from the NCBI database of *A. pacificus* and *D. pacificum*, maintaining a marked distance with the other *Diphyllbothrium* species reported as zoonotic. In

conclusion, the data show that, at the level of scolex morphology, plerocercoid larvae have high plasticity; therefore, this is not a useful or valid feature for identification at the species level. According to the phylogenetic analyzes based on the 18S rDNA and ITS gene, it was determined that the plerocercoid larvae are grouped in the same clade with *A. pacificus* and it is probably a single species that is present in the coastal zone of Peru.

Key words: Plerocercoid larvae, *Adenocephalus pacificus*, gen ITS, gen 18S rDNA