

MASSIMO TRENTINI(*), SILVIO PAMPIGLIONE(**), MARIO MARINI(*)
e MARIA LETIZIA FIORAVANTI(**)

(*) Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale dell'Università di Bologna

(**) Cattedra di Parassitologia veterinaria dell'Istituto di Malattie Infettive,
Profilassi e Polizia Veterinaria dell'Università di Bologna

Alcune osservazioni istologiche e al microscopio elettronico a scansione sulle larve di *Dermatobia hominis* Linneus jun., 1781 (Diptera, Cuterebridae). ⁽¹⁾⁽²⁾

I. INTRODUZIONE

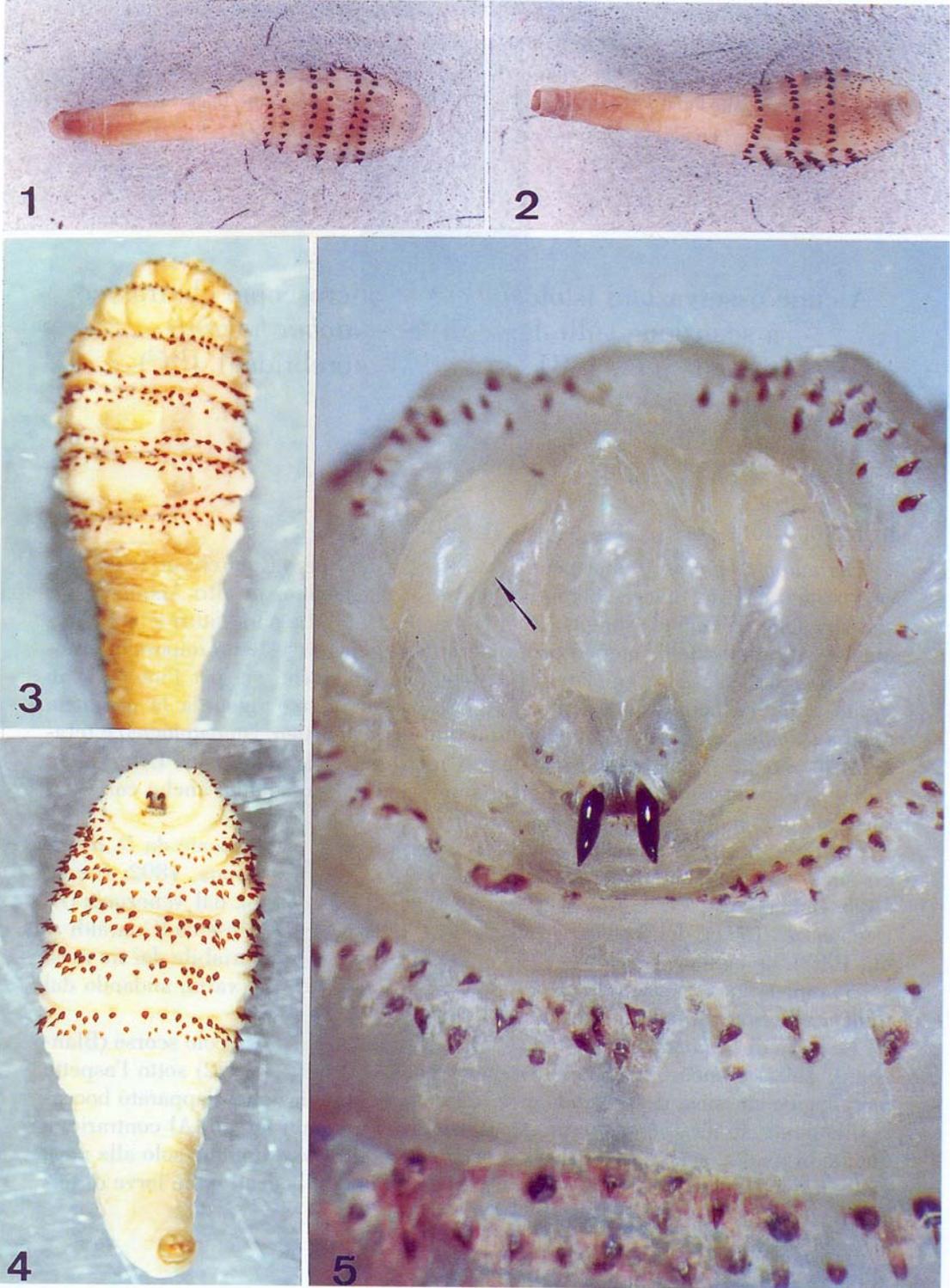
Dermatobia hominis è una specie neotropica di Dittero Cuterebride le cui larve possono causare miasi cutanee foruncolose nel bovino, in altri Mammiferi e spesso anche nell'uomo (Zumpt, 1965; Leclercq, 1990). La parassitosi è molto frequente soprattutto nell'America centromeridionale dove riveste un importante ruolo economico sia per le gravi perdite produttive nei bovini sia per l'interesse in sanità pubblica come zoonosi (Sancho, 1988). Per quanto riguarda la patologia umana *D. hominis* è stata studiata sotto il profilo diagnostico, istopatologico e terapeutico, soprattutto in Europa su soggetti di ritorno dal Sudamerica (Alexander, 1984); inoltre la sintomatologia è stata ampiamente documentata anche con infestazioni sperimentali umane (Dunn, 1930).

In Italia, fin dalla fine del secolo scorso, miasi cutanee provocate da *D. hominis* sono state segnalate su persone di ritorno dal Brasile (Parona, 1892; Breda, 1895; Baldassarre, 1924; Marini *et al.*, 1982; Gatti *et al.*, 1988), dal Venezuela (Di Deco *et al.*, 1981), dall'Uruguay (Polidori *et al.*, 1992) e dal Messico (Guaraldi *et al.*, 1993). Le persone colpite sono di entrambi i sessi, di età variabile dai tre mesi a 76 anni; la localizzazione delle lesioni foruncoloidi è la più varia, andando dal tronco, alle braccia, alla fronte, fino alle palpebre.

Le larve di *D. hominis* sono state studiate fin dalla fine del secolo scorso (Blanchard, 1892) e anche più recentemente (Jobsen & Mourier, 1972) sotto l'aspetto morfologico classico, descrivendo cioè la forma, la spinulazione, l'apparato boccale dilaniante, le fessure stigmatiche posteriori dei tre stadi larvali. Al contrario, a quanto ci risulta, scarse sono state le osservazioni al SEM e limitate solo alle uova e alla larva di prima età (Rios Leite, 1988) e agli uncini boccali delle larve di ter-

⁽¹⁾ Lavoro eseguito con un contributo M.U.R.S.T. 60%.

⁽²⁾ Lavoro accettato il 21 marzo 1994.



za età (Marini *et al.*, 1982; Alexander, 1984; Sancho, 1988). Infine istologicamente è stato studiato lo sviluppo post-embriionale delle gonadi maschili e femminili (Lello *et al.*, 1985) e ultrastrutturalmente la morfologia dell'ovario nelle larve mature e nelle pupe (Gregorio *et al.*, 1990; Secco *et al.*, 1992).

Per quanto concerne infine la loro posizione sistematica i Cuterebridi sono considerati da alcuni autori (Zumpt, 1965; Smith, 1973) come una famiglia a sé stante, anche se filogeneticamente vicina a quelle degli Estridi e dei Calliforidi, mentre da altri (Wood, 1987) come una sottofamiglia (Cuterebrinae) degli Estridi.

Poiché in questi ultimi anni ci sono pervenute alcune larve di *Dermatobia* estratte sia da bovini dell'Ecuador che da persone di ritorno dal Costarica e dalla Bolivia, ci è sembrato utile descrivere le larve, soprattutto quelle mature, sia al microscopio elettronico a scansione che istologicamente. Questo ultimo aspetto è di una certa importanza poichè sempre più spesso accade che lesioni cutanee foruncoloidi comparse su viaggiatori o turisti di ritorno da paesi esotici arrivino all'osservazione dei medici (Pampiglione *et al.*, 1993) che chiedono un esame istopatologico delle lesioni.

II. MATERIALI E METODI

Sono state esaminate sei larve e una esuvia larvale di *Dermatobia hominis* provenienti da lesioni cutanee in bovini dell'Ecuador (1991) e una larva estratta da una lesione ad una coscia in uomo di 30 anni di ritorno dal Costarica (1993); inoltre sono stati esaminati 2 preparati istologici inviatici dalla divisione di Anatomia Patologica dell'Ospedale Civile di Mestre (prof. G. Candiani) relativi ad una lesione localizzata al labbro inferiore di un missionario di ritorno dalla Bolivia (1989) e 4 preparati istologici inviatici dal Servizio di Anatomia Patologica dell'Ospedale S. Carlo di Milano (prof. C. Schmid) relativi ad una lesione alla nuca di una giovane 27 enne di ritorno dal Venezuela (1993).

Alcuni esemplari sono stati dissezionati per meglio osservare lo scheletro cefalo-faringeo e gli spiracoli posteriori.

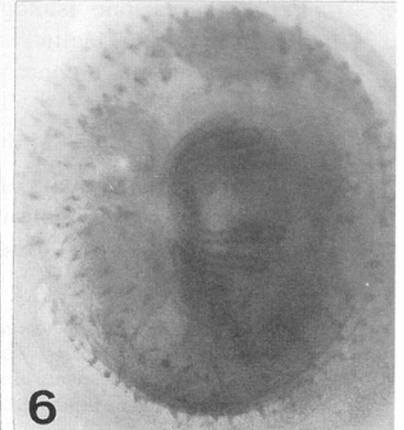
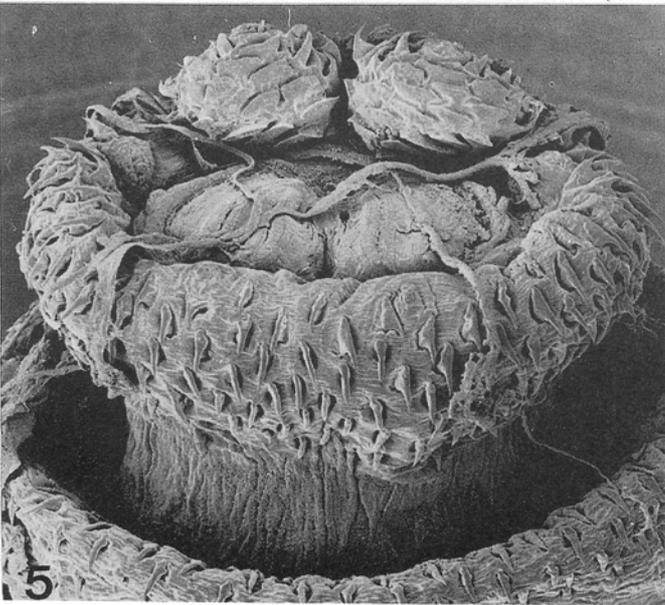
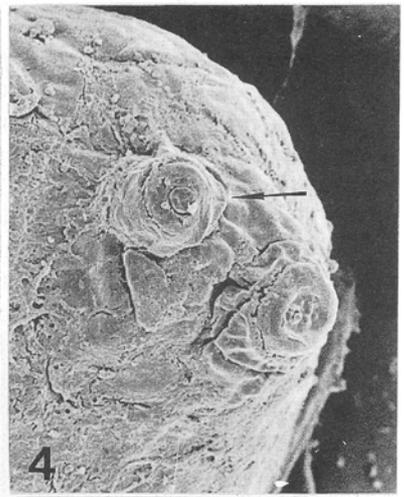
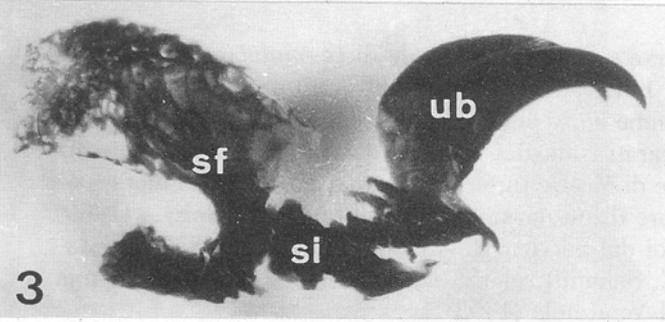
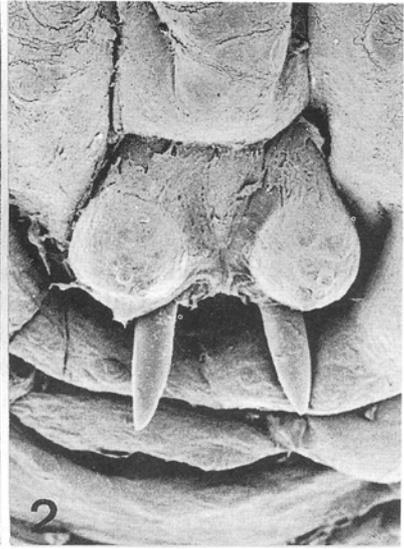
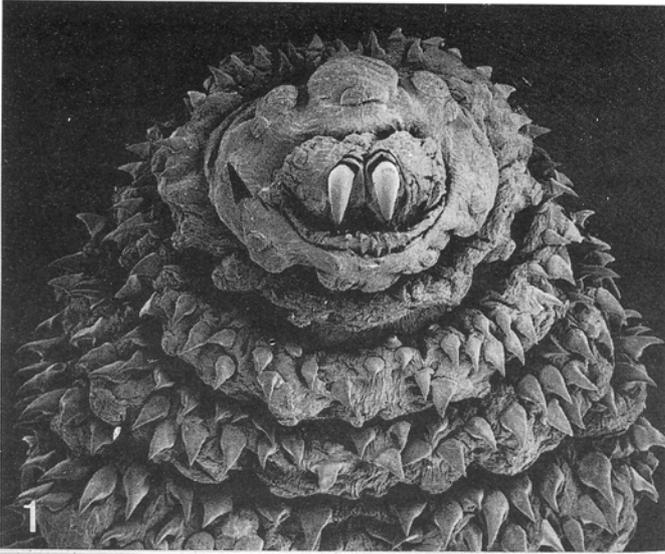
Per l'osservazione al microscopio elettronico a scansione (JEOL 5200) alcuni esemplari sono stati disidratati nella serie ascendente degli etanoli da 70% a 100%, montati su stub con biadesivo e metallizzati con oro.

Per l'osservazione istologica alcuni esemplari sono stati, previa fissazione, inclusi in paraffina, tagliati in sezioni dello spessore di circa 8 μm e colorati con emallume ed eosina o con colorazione tricromica di Masson-Goldner.

III. OSSERVAZIONI E DISCUSSIONE

Abbiamo riportato nella tabella I la grandezza ed il peso delle sei larve di *Dermatobia hominis* esaminate; i valori osservati sono comparabili con quelli riportati da Dunn (1930) e da Jobsen & Mourier (1972), tenendo presente che le nostre

Fig. I - Larve di *Dermatobia hominis*, provenienti dall'Ecuador (1-4) e dal Costarica (5). 1-2) larva di seconda età vista dal dorso e dal ventre. 4x. 3-4) larva di terza età vista dal dorso e dal ventre. 4x. 5) pseudocefalo e segmenti toracici di larva alla terza età; si notano per trasparenza gli spiracoli anteriori protoracici (freccia). 20x.



larve, conservate in alcol, risultano disidratate e quindi con un peso inferiore. Abbiamo identificato le età larvali osservando il numero degli stigmi respiratori posteriori: 2 coppie nella 2^a età, 3 coppie nella 3^a età (Jobsen & Mourier, 1972).

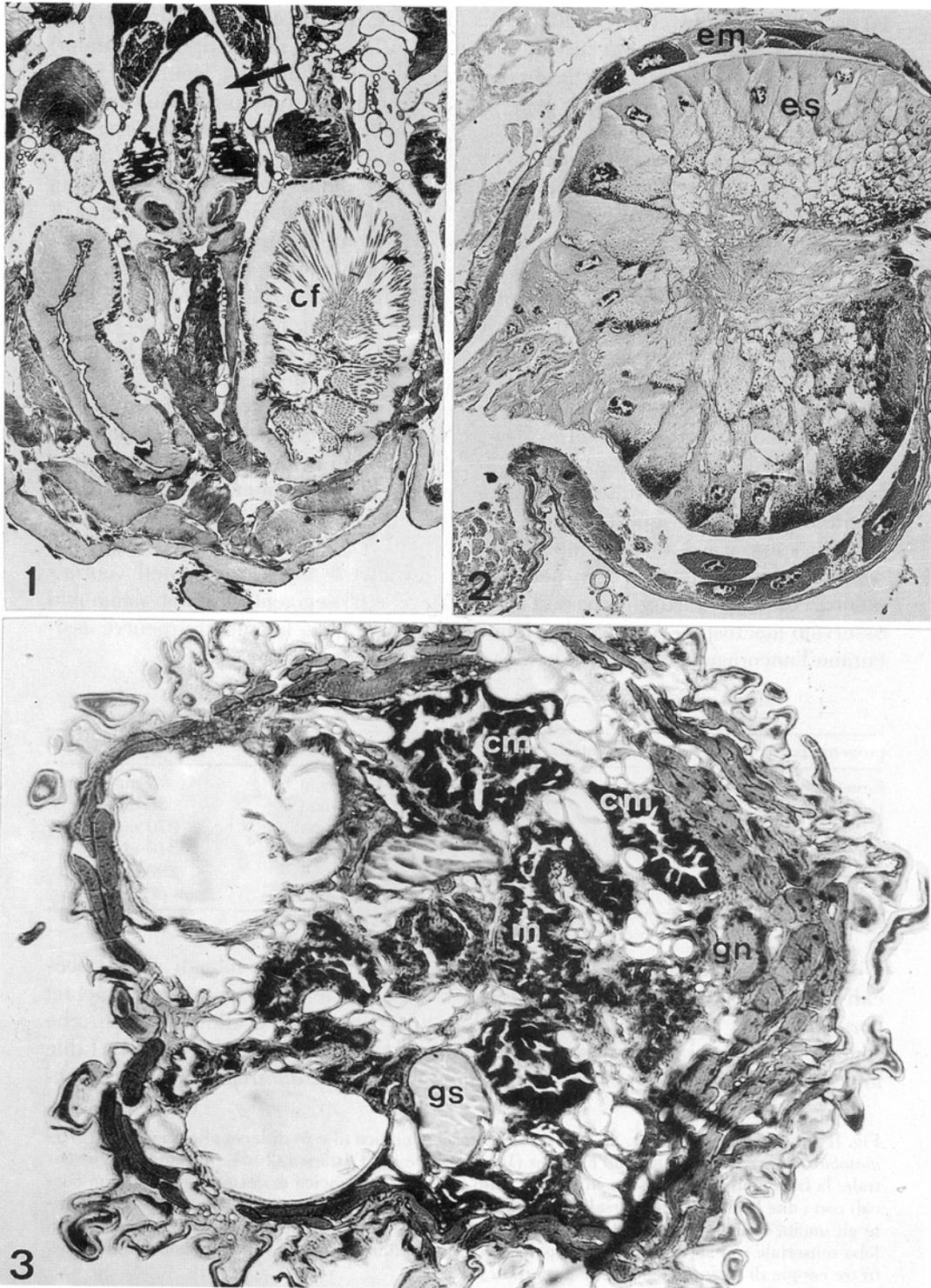
Le larve di *D. hominis* (fig. I, 1-4) hanno un aspetto di solito piriforme con colorazione che va dal biancastro al marrone chiaro; la metà anteriore del corpo è di forma globulare e armata di spine, mentre la metà posteriore è più ristretta, di forma quasi tubulare e glabra. Nelle larve, soprattutto alla terza età, sono visibili un segmento pseudocefalico, tre segmenti toracici e otto addominali. L'armatura di spine è costituita da macrospine rivolte posteriormente e microspine rivolte anteriormente. Nelle larve alla seconda età (fig. I, 1 e 2) le spine sono di colore nero: le macrospine sono disposte su 6 anelli concentrici dei quali 3 sono completi e collocati al margine anteriore del 5°, 6° e 7° segmento, mentre gli altri 3 sono incompleti ventralmente e collocati al margine posteriore del 4°, 5° e 6° segmento; le microspine sono presenti sia nella parte anteriore dei segmenti 3° e 4° sia, disposte ad anello, collocate posteriormente agli anelli di macrospine dei segmenti 5° e 6°; microspine sono inoltre presenti negli ultimi due segmenti addominali. Nelle larve alla terza età (fig. I, 3 e 4) le spine sono di colore marrone più o meno scuro e sono diventate tutte macrospine, poichè anche le microspine sono fortemente ingrossate; per questo motivo il 3° e 4° segmento hanno 2 anelli doppi completi di spine e i 3 anelli completi di spine del 5°, 6° e 7° segmento diventano ognuno composto da due file; permangono gli altri 3 anelli, incompleti ventralmente, collocati al margine posteriore del 4°, 5° e 6° segmento. Non abbiamo mai osservato macrospine bifide. Oltre alla funzione irritativa, le spine retrocurve assicurano l'ancoraggio della larva nella sede della lesione.

Tabella I

provenienza	età larvale	grandezza del corpo	peso
Ecuador	2°	13×3 mm	70 mg
Ecuador	2°	8,5×3 mm	50 mg
Ecuador	3°	17×6 mm	270 mg
Ecuador	3°	16×8 mm	310 mg
Ecuador	3°	16×6 mm	290 mg
Costarica	3°	15×7 mm	non pesata

Lo pseudocefalo di *D. hominis* è ipognato e presenta due robusti uncini boccali ricurvi di colore nero (fig. I, 5); l'apertura boccale è collocata ventralmente; dorsalmente vi sono due lobi che portano due coppie di papille sensoriali, che sono le antenne e i palpi mascellari entrambi molto ridotti (fig. II, 1, 2 e 4). I due lobi sensoriali dorsali sono simili a quelli osservati in *C. anthropophaga* da Black-

Fig. II - Particolari al SEM (1, 2, 4 e 5) e al microscopio ottico (3 e 6) di larve alla terza età di *Dermatobia hominis* provenienti dall'Ecuador (1, 3, 5 e 6) e dal Costarica (2 e 4). 1) parte antero-ventrale; la freccia indica la fessura stigmatica dello spiracolo protoracico di destra. 15x. 2) uncini boccali con i due lobi sensoriali dorsali. 35x. 3) apparato cefalo-faringeo, estratto da una larva, mostrante gli uncini boccali (ub), lo sclerite ipostomale (si) e quello faringeo (sf). 35x. 4) particolare di un lobo sensoriale con antenna (freccia) e palpo mascellare. 200x. 5) ultimo segmento addominale. 75x. 6) tre coppie di fessure stigmatiche posteriori. 50x.



lock & Thompson (1923). L'apparato boccale dilaniante o apparato cefalo-faringeo (fig. II, 3) è costituito dagli uncini boccali retrattili che si articolano con un piccolo sclerite ipostomale fatto a doccia collegato a sua volta con lo sclerite faringeo; le dimensioni dello scheletro cefalofaringeo sono un sicuro carattere diagnostico per individuare l'età larvale.

Le larve di *D. hominis* sono, come quelle degli Oestridae e dei Gasterophilidae (Grandi, 1951; Principato e Tosti, 1988), di tipo metapneustico, cioè durante la vita larvale la respirazione è assicurata solo dagli stigmi situati in una depressione dell'ultimo segmento addominale (fig. II, 5). Le fessure stigmatiche sono costituite da una coppia nelle larve di prima età, due coppie in quelle di seconda età e tre coppie in quelle di terza età (fig. II, 6); gli stigmi respiratori possono essere chiusi e protetti dai margini spinosi dell'ultimo segmento, che può essere telesopicamente retratto come il penultimo (fig. II, 5). La larva può respirare solo opponendo gli stigmi respiratori posteriori al foro d'ingresso della lesione, così che uno dei metodi terapeutici utilizzati è quello di occludere il foro d'ingresso con sostanze oleose per soffocare la larva e farla uscire spontaneamente.

Nelle larve di *D. hominis* sono presenti anche una coppia di spiracoli anteriori, situati nel primo segmento toracico (fig. I, 5), che però non sono funzionanti durante la vita larvale. Le due fessure stigmatiche degli spiracoli anteriori sono situate in due profondi solchi nella parte latero-posteriore del primo segmento toracico (fig. II, 1); gli stigmi sono chiusi e coperti dall'epidermide, ma per la loro sclerotizzazione sono visibili per trasparenza attraverso la pelle, soprattutto nelle larve di terza età. Internamente ogni spiracolo protoracico è formato da una camera feltrata a parete chitinoso nel cui interno vi sono centinaia di papille spiracolari (fig. III, 1); ogni camera feltrata si continua con un largo tubo tracheale (fig. III, 3) che prosegue fino all'addome, terminando negli stigmi posteriori. Non abbiamo osservato alcuna ostruzione tra la camera feltrata e la successiva trachea, a differenza di quanto osservato nelle larve di *Gasterophilus* (Principato e Tosti, 1988). Allo stadio di pupa ogni camera feltrata viene spinta fuori dal corpo e le papille spiracolari sono estroflesse a formare una sorta di ciuffo respiratorio. A volte può accadere che la fuoriuscita delle papille spiracolari sia causata dalla manipolazione o dallo schiacciamento della parte anteriore delle larve di terza età (Marini et. al., 1982).

Per quanto riguarda la struttura interna nel canale alimentare, al termine dello stomodeo si osserva la valvola cardiaca, costituita, come in tutti gli Insetti (Grandi, 1951), da una invaginazione dello stomodeo nel successivo mesentero, che appare quindi dilatato a forma di bulbo; nella valvola cardiaca sono ben visibili lo spesso epitelio stomodeale e quello mesenterico (fig. III, 2). Il lungo mesen-

Fig. III - Sezioni istologiche di larve di terza età di *Dermatobia hominis* provenienti dal Venezuela (1 e 2) e dall'Ecuador (3), colorate con tricromica di Masson-Goldner (1 e 2) e con emallume-eosina (3). 1) sezione obliqua a livello del primo segmento toracico mostrante le camere feltrate (cf) con le papille spiracolari e la faringe (freccia). 30x. 2) sezione obliqua della valvola cardiaca mostrante l'epitelio mesenterico (em) e quello stomodeale (es). 120x. 3) sezione trasversale a livello del primo segmento addominale mostrante le due ampie trachee dorsali, il mesentero (m), vari ciechi mesenterici (cm), la parte terminale di una ghiandola salivare (gs) e un ganglio nervoso ventrale (gn) 35x.

tero presenta molte anse ed ha un calibro abbastanza uniforme; i processi digestivi possono essere a vario livello e quindi si può osservare a volte il lume ripieno di cellule della vittima ancora discretamente conservate. Sono presenti alcuni ciechi mesenterici (fig. III, 3). Dalle nostre osservazioni sembra che vi sia una normale progressione del contenuto intestinale in direzione posteriore e una normale defecazione, a differenza di quanto osservato nei Ditteri Larvevoridi che, presentando un tappo epiteliale a livello della valvola pilorica e un forte restringimento del lume del proctodeo, si liberano del contenuto intestinale solo dopo aver raggiunto la maturità (Gardenghi e Mellini, 1990).

Ringraziamenti

Si ringrazia vivamente il prof. Giorgio Candiani, il prof. Corrado Smidt e il Dr. Nunzio Salfi per averci inviato gli esemplari studiati.

RIASSUNTO

Vengono descritte, mediante osservazioni istologiche e al microscopio elettronico a scansione, larve di seconda e terza età di *Dermatobia hominis*, alcune delle quali hanno causato miasi cutanee in persone di ritorno dal Costa Rica e dalla Bolivia. In particolare sono stati esaminati l'apparato cefalo-faringeo, la valvola cardiaca e gli spiracoli respiratori anteriori e posteriori.

Histological and scanning electron microscope observations on larval instars of *Dermatobia hominis* Linneus jun., 1781 (Diptera, Cuterebridae)

SUMMARY

Morphological features of second and third instar larvae of *Dermatobia hominis* are given. Mouth parts, cephalo-pharyngeal skeleton, digestive system, anterior closed and posterior open spiracles were described by light and scanning electron microscopy.

Key words: Cuterebridae, *Dermatobia hominis*, larval morphology, SEM.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ALEXANDER J.O.D., 1984. - Arthropods and Human Skin. - Springer Verlag Berlin, 422 pp.
BALDASSARRE T., 1924. - Contributo alla oftalmomiasi. - *Boll. Oculist.*, 3: 663-682.
BLACKLOCK B. and THOMPSON M.G., 1923. - A study of the tumbu-fly, *Cordylobia anthropophaga* Grünberg, in Sierra Leone. - *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 17: 443-511.
BLANCHARD R., 1892. - Sur les Oestrides américaines dont la larve vit dans la peau de l'Homme. - *Ann. Soc. Entomol. France*, 61: 109-154.
BREDA A., 1895. - *Dermatobia noxialis* (Cuterebra noxialis, Goudot). Caso clinico. - *Riv. Ven. Sci. Med.*, 22: 3-8.
DI DECO M.A., RUGGERO G., PETRARCA V., LAURENZA M., 1981. - Un caso umano di miasi da *Dermatobia hominis*. - *Parassitologia*, 23: 173-175.
DUNN L.H., 1930. - Rearing the larvae of *Dermatobia hominis* Linn., in man. - *Psyche*, 37: 327-342.
GARDENGHI G., MELLINI E., 1990. - Note anatomo-istologiche sul canale alimentare delle larve di ultima età del parassitoide *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 44: 233-248.

- GATTI M., GIARDINO R., VAROLI O., SOMMARIVA F., PISCOLLA F., 1988. - Un caso di miasi cutanea sostenuta da larve di *Dermatobia hominis*. - *Giorn. Mal. Infett. Parassit.*, 40: 963-966.
- GRANDI G., 1951. - Introduzione allo studio dell'Entomologia. - *Ed. Agricole*, Bologna, 2° vol. pag.: 493-496.
- GREGORIO E.A., SECCO V.N.D.P., TOLEDO L.A., LELLO E., 1990. - Ultrastructure of the ovary of *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). I. Development during the 3rd larval instar. - *Mem. Inst. O. Cruz*, Rio de Janeiro, 85: 305-313.
- GUARALDI G., CORRADI L., PAOLILLO F., ZANCHETTA G., 1993. - Miasi da *Dermatobia hominis*. - *Giorn. Mal. Infett. Parassit.*, 45: 957-959.
- JOBSEN J.A. and MOURIER H., 1972. - The morphology of the larval instars and pupa of *Dermatobia hominis* L. Jr. (Diptera: Cuterebridae). - *Entomol. Ber.*, 32: 218-224.
- LECLERCQ M., 1990. - Les myiases. - *Annls Soc. ent. Fr. (N.S.)*, 26: 335-350.
- LELLO E., GREGORIO E.A., TOLEDO L.A., 1985. - Desenvolvimento das Gonadas de *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). - *Mem. Inst. O. Cruz*, Rio de Janeiro, 80: 159-170.
- MARINI D., STUCCHI D., SALA G.P., BENCINI P.L., 1982. - Su un caso di miasi cutanea da *Dermatobia cyaniventris*. - *Giorn. Mal. Infett. Parassit.*, 34: 71-74.
- PAMPIGLIONE S., BETTOLI, V., CESTARI G., STAFFA M., FIORAVANTI M.L., 1993. - Miasi da *Cordylobia anthropophaga*: 7 casi su turisti italiani di ritorno dal Senegal. - *Ann. Ital. Dermatol. Cl. Sper.*, 47: 195-200.
- PARONA C., 1892. - Larva di *Dermatobia* (Torcel) nell'uomo. - *Bull. Soc. Ent. Ital.*, 24: 313-315.
- POLIDORI G.A., PRINCIPATO M., AMENDUNI M., BUSSANI F., 1992. - Miasi cutanea da *Dermatobia hominis*: aspetti zoonosici ed interesse zootecnico della parassitosi. - *Praxis vet.*, 13: 26-28.
- PRINCIPATO M., TOSTI M., 1988. - Scanning electron microscope observations on the anterior thoracic and post-abdominal spiracles of *Gasterophilus* larvae (Diptera: Gasterophilidae). - *Int. J. Parasitol.*, 18: 191-196.
- RIOS LEITE A.C. 1988. - Scanning electron microscopy of the egg and the first instar larva of *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). - *Mem. Inst. O. Cruz*, Rio de Janeiro, 83: 253-257.
- SANCHO E., 1988. - *Dermatobia*, the Neotropical Warble Fly. - *Parasitol. Today*, 4: 242-246.
- SECCO V.N.D.P., GREGORIO E.A., TOLEDO L.A., LELLO, E., 1992. - Ultrastructure of the ovary of *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). III. Gonial cell degeneration. - *Mem. Inst. O. Cruz*, Rio de Janeiro, 87: 375-380.
- SMITH K.G.V., 1973. - Insects and other arthropods of medical importance. - *British Museum*, London pp: 320-321.
- WOOD D.M., 1987. - Oestridae. - In "Manual of Nearctic Diptera" coordinated by McAlpine J.F., Peterson B.V., Shewell G.E., Teskey H.J., Vockeroth J.R., Wood D.M. *Research Branch Agriculture Canada*. Monograph No. 28, vol. 2: 1147-1158.
- ZUMPT F., 1965. - Myiasis in man and animals in the old world. A text book for physicians, veterinarians and zoologists. - *Butterworths ed.*, London, 255 pp.