

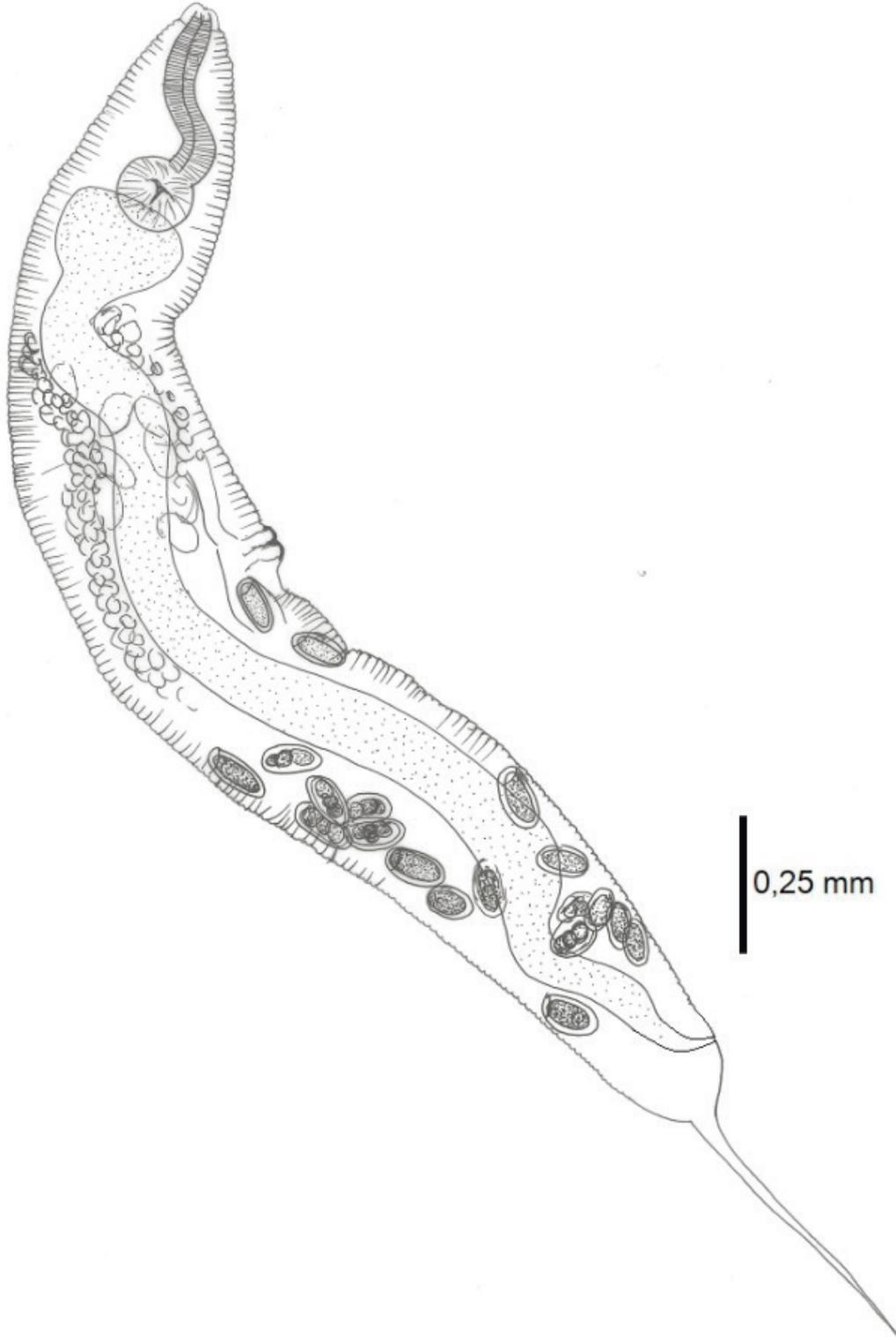


Asociación
Parasitológica
Argentina

Volumen 8. Nro. 1

(Rev. Arg. Parasitol.)

Órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina



ISSN: 2313-9862

Revista Argentina de Parasitología

REVISTA ARGENTINA DE PARASITOLOGÍA (*Rev. Arg. Parasitol.*)

ISSN 2313-9862

Volumen 8 Nro. 1

E-mail: revargparasitologia@gmail.com**Patrocinado por****Asociación Parasitológica Argentina****Editor****Liliana Graciela Semenas**

Laboratorio de Parasitología - Universidad Nacional del Comahue - Argentina -

liliana.semenas@crub.uncoma.edu.ar

Secretaria**Norma Brugni**

Laboratorio de Parasitología - Universidad Nacional del Comahue - Argentina - normabrugni@gmail.com

Comité de Redacción**Julia Inés Díaz** (Investigador Adjunto CONICET. Docente de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP) - Argentina - jidiaz@cepave.edu.ar**María del Rosario Robles** (Investigador Asistente CONICET. Docente de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP) - Argentina - rosario@cepave.edu.ar**María Lorena Zonta** (Investigador Asistente CONICET. Docente de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP) - Argentina - lorenazonta@cepave.edu.ar**Comité Editorial****Protozoos:** **Cristina Salomón** (Universidad Nacional de Cuyo) - Argentina - csalomon@fmc.uncu.edu.ar**Helmintos (Nematodos) y Epidemiología y Salud****Pública:** **Graciela T. Navone** (Centro de Estudios de Parásitos y Vectores- Mar del Plata) - Argentina - gnavone@cepave.edu.ar**Helmintos (Cestodos):** **Guillermo Denegri**

(Universidad Nacional de Mar del Plata) - Argentina - gdenegri@mdp.edu.ar

Helmintos (Trematodos): **Sergio Martorelli** (Centro de Estudios de Parásitos y Vectores-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas -La Plata) - Argentina - sergio@cepave.edu.ar**Artrópodos:** **Elena Beatriz Oscherov** (Universidad Nacional del Nordeste) - eboscherov@yahoo.com.ar, **Marcela Lareschi** (Centro de Estudios de Parásitos y Vectores - La Plata) - Argentina - mlareschi@cepave.edu.ar**Biología Celular y Molecular:** **Hugo Luján** (Universidad Católica de Córdoba) - Argentina - hlujan@ucc.edu.ar**Inmunología:** **Susana Elba Gea** (Universidad Nacional de Córdoba - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) - Argentina - sgea@fcq.unc.edu.ar**Helmintología y Ecología parasitaria:** **Daniel Tanzola** (Universidad Nacional del Sur) - rtanzola@uns.edu.ar, **Liliana Semenas** (Universidad Nacional del Comahue - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) - liliana.semenas@crub.uncoma.edu.ar y **Juan Timi** (Universidad Nacional de Mar del Plata) - jtimi@mdp.edu.ar**Diagnóstico:** **Leonora Kozubsky** (Universidad Nacional de La Plata) - Argentina - kozubsky@biol.unlp.edu.ar**Tratamiento:** **Juan Carlos Abuin** (Universidad Católica Argentina-Hospital Muñiz) - Argentina - fliaabuin@ciudad.com.ar**Zoonosis:** **Eduardo Guarnera** (Instituto Nacional de Microbiología - Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de la Salud) - Argentina - guarnerae@yahoo.com**Comité de Expertos o Asesores (Nacionales y Extranjeros)****Scott Lyell Gardner**
University of Nebraska - USA**Daniel Brooks**
University of Toronto - Canadá**Agustín Jimenez**
University of Carbondale - USA

Diana Masih

Universidad Nacional de Córdoba - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Argentina

Ana Flisser

Universidad Nacional Autónoma de México - México

Oscar Jensen

Departamento Investigación en Salud - Argentina

Federico Kaufer

Hospital Alemán - Argentina

Alberto A. Guglielmo

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Argentina

Analia Autino

Universidad Nacional de Tucumán - Argentina

Juan A. Basualdo Farjat

Universidad Nacional de La Plata - Argentina

José M. Venzal Bianchi

Universidad de la República - Uruguay

Katharina Dittmar

Department of Biological Sciences - USA

Santiago Nava

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Argentina

Pedro Marcos Linardi

Universidade Federal de Minas Gerais - Brasil

Esteban Serra

Universidad Nacional de Rosario - Argentina

Revista Argentina de Parasitología

Rev. Arg. Parasitol.

Órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina

ISSN: 2313-9862

Revista en línea y de acceso abierto:  www.revargparasitologia.com.ar

Diseño original: *Victoria Amos*

Diseño web y diagramación: *Rocío Vega*

Laboratorio de Parasitología. INIBIOMA (CONICET-UNCo)

Difusión APA: *Gustavo Viozzi*

Laboratorio de Parasitología. INIBIOMA (CONICET-UNCo)

Ilustración de Portada:

Esquema de ejemplar de hembra ovígera de *Gyrinicola chabaudi* (Oxyuroidea, Nematoda). Villegas Ojeda, M. A. y R. D. Tanzola.

La Asociación Argentina de Parasitología (APA) forma parte de la Asociación Argentina de Revistas y Editores de Ciencias de la Salud (AARECS) Asociación Civil y se encuentra indizada por la Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases) y el Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex).

Editorial	5
VIII Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas	6
Sixto Costamagna	
XII Reunión sobre Parasitismo en Ecosistemas de Agua Dulce	8
Carlos Rauque	
Detection of anisakids (Nematoda, Anisakidae) in food and human clinical samples in Argentina Detección de anisákidos (Nematoda, Anisakidae) en alimentos y muestras clínicas humanas en Argentina	9
Degese María Fernanda, Gatti Graciana Mabel, Krivokapich Silvio Jesús	
Ensamblajes de helmintos parásitos en larvas de <i>Boana pulchella</i> (Anura, Hylidae) en un arroyo serrano del Sudoeste bonaerense (Argentina) Parasite helminth assemblages of <i>Boana pulchella</i> (Anura, Hylidae) tadpoles from a mountain stream from Southwest of Buenos Aires province (Argentina)	15
Villegas Ojeda María Alejandra, Tanzola Rubén Daniel	
Estudio serológico de un presunto brote causado por el consumo de carne de puma infectada con <i>Trichinella patagoniensis</i> en El Calafate, Santa Cruz (Argentina) Serological study of a supposed outbreak caused by consumption of cougar meat infected with <i>Trichinella patagoniensis</i> in El Calafate, Santa Cruz (Argentina)	25
Krivokapich Silvio Jesús, Arbusti Patricia Andrea, Ayesa Graciana Evangelina, Gonzalez Prous Cinthia Lorena, Gatti Graciana Mabel, Saldía Luisa	
Resúmenes de tesis	30
Instrucciones a los autores	31

UNA SALUD ¿ONE SIZE, FITS ALL?

La visión y puesta en marcha de las acciones de “Una Sola Salud” (OH, One Health) surgió de una alianza programática entre la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en 2008. Esta alianza le permitió a estas tres Instituciones, cada una desde sus contextos, generar un consenso para facilitar acciones coordinadas en el campo de la salud. Plantea una estrategia mundial de prevención, manejo y soluciones a problemas de salud a través de políticas de cooperación para el control de enfermedades en la interfaz hombre-seres vivos-medio ambiente.

La Agenda de OH considera múltiples escalas de intervención, variedad de disciplinas y sectores involucrados, y peculiaridades económicas, sociales, culturales, políticas, históricas y demográficas tanto a escala local, regional como global. La propuesta es abordar la salud desde distintos paradigmas, incluyendo todos los seres vivos en estudios holísticos que prioricen la conectividad entre la multiplicidad de factores involucrados. Las áreas de trabajo más relevantes son seguridad alimentaria, control de zoonosis y resistencia a antibióticos.

Pero las complicaciones llegan a la hora de la puesta en acción, cuando los proyectos independientemente de su escala, se enfrentan con datos multidimensionales en ambientes reales que tienen su propia dinámica, con cierto grado de impredecibilidad y con relaciones no lineales. La pregunta es ¿One Health es simplemente una re-denominación conveniente para actividades pre-existentes o es una crítica profunda a la manera en la cual trabajan muchos profesionales e instituciones ligados a la salud cuando se plantean estrategias globales de intervención? La mayoría coincide en que OH es una propuesta de ampliar nuestra perspectiva antropocéntrica para mejorar la salud construyendo puentes (*contributing factors, por ejemplo el abordaje multidisciplinario en contextos reales*) y eliminando barreras (*impeding factors, por ejemplo, la tradicional división entre medicina humana y veterinaria*) que se traduciría de algún modo en la frase *la salud más allá de la salud*.

La SALUD es un tema complejo que no puede ser abordado desde una única perspectiva, menos aún en un mundo globalizado y profusamente interconectado, así que en particular, a lo que control de zoonosis concierne, los parasitólogos, independientemente que provengan del campo médico, veterinario, bioquímico o biológico tienen un rol fundamental en la construcción concertada de soluciones para problemas de salud que tienen su propio perfil dependiendo del contexto en el cual se desarrollan de modo que *¿one-size, fits all?* no sea el paradigma que subyace en estas intervenciones.

Para mayor información: Wallace et al. 2015. The dawn of structural One Health: A new science tracking disease emergence along circuits of capital. *Social Science & Medicine* 129, 68–77; Kingsley & Taylor. 2016. One Health: competing perspectives in an emerging field. *Parasitology* 2, 1-8 y Rüegg et al. 2017. A blue print to evaluate One Health. *Frontiers in Public Health* 5: 20. También puede accederse a la One Health Platform, con información diversa entre ellas, la organización de los Congresos One Health, cuya 5° Edición se celebró en 2018 en Saskatoon (Canadá).

Liliana Semenas
Editor RAP

Entre el 6 y el 9 de noviembre de 2018, se realizaron en el Palais Rouge en la ciudad de Buenos Aires, el VIII Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas (SADEBAC), presidido por la Dra. Alicia Arechavala, la Ila Jornada de Micología Clínica, presidida por la Dra. Silvia Relloso y la I Jornada de Parasitología Clínica, presidida por la Dra. Liliana Arias. El Comité de Honor estuvo integrado por los Doctores: Marta Tokumoto (Bacteriología), Mario Bianchi (Bacteriología y Micología), Diana Masih (Micología y Parasitología) y Sixto Costamagna (Parasitología), que recibieron plaquetas “en reconocimiento y agradecimiento por su contribución a la Microbiología Clínica”.

El objetivo de estas 3 Reuniones fue presentar a los profesionales microbiólogos, bioquímicos, médicos, biólogos, veterinarios, odontólogos y trabajadores de la salud las distintas áreas de la Microbiología Clínica, las experiencias realizadas por distintos grupos de trabajo y las ponencias de los expertos en cada tema. En la reunión se presentaron y se discutieron los progresos en el conocimiento de los microorganismos y las enfermedades que producen, desde distintos enfoques que abarcaron desde la microbiología clásica hasta la microbiología molecular y proteómica, incluyendo las novedades en los aspectos clínicos y terapéuticos

Participaron 805 asistentes de Argentina, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Guatemala, Honduras, México, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela. Además, asistieron los siguientes disertantes del exterior: Isabella Dib Gremiao, Nilton Lincopan y Mauro Peralta de Brasil; María Cristina Díaz Jarabrán de Chile, Pablo Goldschmidt de Francia; John Mc Quiston, María Soledad Ramírez de USA y Jordi Vila de España.

Se presentaron 333 trabajos, de los cuales 67 fueron en la modalidad oral y 266 en modalidad de posters. Se otorgaron 3 premios y 3 menciones a los mejores trabajos correspondientes a las 3 áreas de SADEBAC. Los integrantes de los Jurados fueron los Dres. Costamagna, Kaufman, Mollerach, Mujica, Negroni y Predari.

Se realizaron 4 Cursos pre Congreso, al que asistieron 124 participantes: Serodiagnóstico de trichinellosis en humanos y animales; Herramientas

de diagnóstico de bacterias anaerobias, de la teoría a la práctica; Actualización en micosis superficiales y Actualización de los criterios de ensayo, interpretación e informe de Antimicrobianos.

Las conferencias fueron: Microbioma humano y salud, Una mirada filosófica de la resistencia a los antibacterianos, Nuevas tecnologías en microbiología, Nano(bio) materiales como potenciales agentes para la erradicación del biofilm, Actualización en infecciones de transmisión sexual (ITS), Enfermedades infecciosas en poblaciones olvidadas, Tracoma, Diseño de nuevas estrategias antimicrobianas, ¿Pueden las proteínas propias del hospedador causar efecto sobre la persistencia y adquisición de ADN foráneo en *A. baumannii*?, Amebas de vida libre, Miasis y Antiparasitarios: resistencia.

Las Mesas Transversales versaron sobre: Neumonías adquiridas en la comunidad no inmunoprevenibles, Neumocistosis, Taller de la Red Nacional de Espectrometría de Masa, Uso de la genómica en microbiología clínica, Aspectos clínicos y microbiológicos de las infecciones en pacientes con fibrosis quística, Resistencias emergentes a los antimicrobianos, Diagnósticos diferenciales de las manifestaciones cutáneas de etiología infecciosa, Bacteremias, fungemias y parasitemias, Problemática en la interpretación de los resultados microbiológicos y la visión del infectólogo, Aspectos clínicos y microbiológicos de las infecciones oculares, Revisión de los últimos 10 años en un hospital oftalmológico, Parásitos oculares y Zoonosis transmitidas por vectores.

Las Mesas Redondas desarrollaron las siguientes temáticas: Novedades acerca de los estreptococos; Infecciones por *Streptococcus pneumoniae* en tiempos de vacunación en niños y adultos; *Clostridioidium difficile*: nuevas perspectivas de diagnóstico y tratamiento; Estrategias para la contención de la resistencia a los antimicrobianos en humanos, veterinaria y agricultura; Impacto de los métodos rápidos en la microbiología clínica; Estudio de brotes de enfermedades respiratorias producidas por bacterias atípicas; Controles microbiológicos en el ámbito hospitalario; Epidemiología de las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes;

Avances en el diagnóstico de micobacterias; Métodos alternativos para la detección de resistencias emergentes de impacto clínico en bacilos Gram negativos; Enfrentando la resistencia: discusión clínico-microbiológica de casos reales; Estado actual de los inhibidores de β -lactamasas: del análisis bioquímico-estructural a la aplicación clínica; Infecciones asociadas a prótesis osteoarticulares; Vigilancia de bacterias MDR y XDR; Estado actual de las meningitis bacterianas en Argentina; Dinámica de poblaciones y microevolución de bacterias resistentes; Infecciones adquiridas en la comunidad: presentación de casos clínicos; Infecciones asociadas al cuidado de la salud (IACS): presentación de casos clínicos; Estado actual de las infecciones genitales; Estado actual de las infecciones por *Chlamydia trachomatis*; *Mycoplasma genitalium*: un pequeño patógeno, un gran desafío; Diagnóstico molecular y cultivo de *Trichomonas vaginalis*; Panel sobre publicaciones científicas en microbiología clínica; Sífilis y gonorrea: viejas enfermedades y nuevas epidemias; Micosis endémicas; Zoonosis de etiología fúngica e impacto en humanos y Desafíos en el diagnóstico de micosis profundas: un trabajo en equipo.

Los Simposios trataron los siguientes temas: Técnicas moleculares en parasitología, su utilidad en el diagnóstico: Strongyloidosis, Fasciolosis y Toxoplasmosis y Vacunas antiparasitarias: enfermedad de Chagas, giardiosis y toxoplasmosis.

EL Congreso, que tiene una periodicidad trianual, se caracterizó por una completa agenda temática desarrollada en diversas modalidades: cursos, simposios, mesas transversales, mesas redondas y conferencias que le brindaron a todos los asistentes diferentes instancias de participación, actualización y aprendizaje.

Sixto Costamagna

CEPAVE

(CONICET- Universidad Nacional de La Plata)

Facultad de Veterinaria -

Universidad Nacional de La Plata

rcosta@yahoo.com.ar



Asistentes a la XII Reunión sobre Parasitismo en Ecosistemas de Agua Dulce

Entre el 23 y el 24 de noviembre de 2018, en la sala del Consejo de la Municipalidad de San Carlos de Bariloche se desarrollaron las sesiones de la "XII Reunión sobre Parasitismo en Ecosistemas de Agua Dulce - PAD XII". La reunión fue organizada por los integrantes del Laboratorio de Parasitología del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA, Universidad Nacional del Comahue-Conicet) y el Comité Científico estuvo compuesto por los doctores Rubens Riscala Madi (Brasil), Patricio Torres Hevia (Chile), Liliana Semenas (Argentina) y Guillermo Salgado-Maldonado (México).

Se contó con los avales de la Universidad Nacional del Comahue y del INIBIOMA y la reunión fue auspiciada por la Asociación Parasitológica Argentina (APA), el Colegio Médico Bariloche, el Consejo Municipal de San Carlos de Bariloche (Concejal Gerardo Ávila), el Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCYT), el Laboratorio Especializado del Sur (LES), el Sindicato de Obreros y Empleados Municipales (SOYEM) y la Universidad Nacional del Comahue.

Esta reunión se realiza periódicamente desde el año 1991, alternando las sedes en Argentina (Bariloche) y en Chile (Universidad Austral de Chile; Valdivia) y tuvo como objetivo inicial, nuclear investigadores dedicados a esta temática de Argentina y Chile, pero actualmente se ha ampliado a investigadores de otros países, como Brasil y México.

Intercambiar conocimientos, hallazgos y metodologías sobre estudios de parasitismo en organismos acuáticos de ecosistemas continentales de Latinoamérica, generar nuevos lazos, realizar publicaciones conjuntas, resolver problemas comunes

y fomentar la formación de estudiantes de grado y postgrado han sido los objetivos principales de estas reuniones a lo largo de sus ediciones.

Asistieron 24 investigadores pertenecientes a diferentes instituciones de México, Brasil y Argentina. Las 22 ponencias presentadas contemplaron exposiciones orales con una duración aproximada de 30 minutos cada una. Las exposiciones se desarrollaron en un entorno ameno, cordial y sobre todo, sin rigidez por los tiempos de exposición, lo que permitió fructíferos intercambios de ideas y de experiencias entre los participantes. Si bien, los tópicos de los trabajos se refirieron mayoritariamente a diversos aspectos del parasitismo en peces (aspectos taxonómicos, zoonóticos, poblacionales y de impacto comercial), se abordaron otras temáticas del parasitismo en invertebrados, aves y mamíferos. Los trabajos incluyeron análisis morfológicos, genéticos, ecológicos y de diversidad, incluyéndose prácticamente todos los grupos parásitos.

Los auspicios recibidos permitieron entregar la versión impresa del Libro de Resúmenes, solventar todos los costos organizativos de la reunión y ofrecer un almuerzo a todos los participantes.

Al finalizar la reunión se acordó la realización de la próxima, en la Universidad de Tiradentes en el Instituto de Tecnología e Pesquisa en la ciudad de Aracajú (Brasil) en el año 2020.

Carlos Rauque
INIBIOMA

Universidad del Comahue-Conicet
carlosalejandroraque@gmail.com

Detection of anisakids (Nematoda, Anisakidae) in food and human clinical samples in Argentina

Detección de anisákidos (Nematoda, Anisakidae) en alimentos y muestras clínicas humanas en Argentina

Degese María Fernanda¹, Gatti Graciana Mabel¹, Krivokapich Silvio Jesús¹

ABSTRACT: Human anisakidosis is caused by the ingestion of anisakid third-stage larvae of the genera *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum*, and *Hysterothylacium*, present in raw or undercooked fish and shellfish. The members of the complex *Anisakis simplex*, followed by those of the *Pseudoterranova decipiens* complex, are the most common anisakids infecting humans. In Argentina, infective larvae of these nematode species, have been identified in marine and freshwater fish. However, there are few human cases of anisakidosis from which the involved species, has not been documented yet. In this study, we reported the detection of anisakids in food and clinical samples from patients of Argentina. Nine samples of larvae were analyzed: two from clinical samples removed orally by patients, and seven found in raw, undercooked and cooked fish. The larvae from the two clinical samples were identified as *Pseudoterranova cattani* whereas larvae of *Anisakis pegreffii*, *Anisakis* sp., and *P. cattani* were found in food.

Keywords: molecular identification, diagnosis, nematode.

RESUMEN: La anisakidosis humana es causada por la ingestión de larvas de tercer estadio de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum* e *Hysterothylacium* a través del consumo de pescado y mariscos crudos o poco cocidos. El complejo de especies *Anisakis simplex*, seguidos por los nematodos del complejo *Pseudoterranova decipiens*, son los anisákidos más comunes que infectan humanos. En Argentina, se han identificado larvas infectivas de estas especies de nematodos en peces marinos y de agua dulce, sin embargo, existen muy pocos casos descritos de anisakidosis humana, en los cuales las especies involucradas no han sido documentadas. En este estudio, informamos la detección de anisákidos en alimentos y en muestras clínicas humanas de Argentina. Se analizaron nueve muestras: dos muestras clínicas de larvas eliminadas por pacientes por vía oral y siete muestras de alimentos con larvas encontradas en pescado crudo, poco cocido o cocido. Las larvas de las dos muestras clínicas fueron identificadas como *Pseudoterranova cattani* mientras que en las de alimentos, se hallaron larvas de *Anisakis pegreffii*, *Anisakis* sp. y *P. cattani*.

Palabras clave: identificación molecular, diagnóstico, nematode.

INTRODUCTION

Anisakids occur worldwide, showing a species-specific geographical distribution (Navone *et al.*, 1998; Torres *et al.*, 1998; Mattiucci and Nascetti, 2007; Garbin, 2009; Mattiucci *et al.*, 2009, 2013; Rossin *et al.*, 2011; Knoff *et al.*, 2012; D'Amelio *et al.*, 2013; Garbin *et al.*, 2013; Hernández-Orts *et al.*, 2013; Timi *et al.*, 2014). Some species of the genera *Anisakis* Dujardin, 1845 and *Pseudoterranova* Mozgovoi, 1951 are the main etiological agents of human anisakidosis, although a few cases of *Contracaecum* Raillet *et al.*, 1912 and a case by *Hysterothylacium aduncum* Rudolphi, 1802 have been reported (Yagi *et al.*, 1996). All these genera use fish, crustaceans or squids as

intermediate/paratenic hosts and marine mammals (*Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum*), birds (*Contracaecum*) or fish (*Hysterothylacium*) as definitive hosts.

Humans can accidentally be infected by the third-stage larvae consuming raw or undercooked fish and shellfish (D'Amelio *et al.*, 2013). Most human cases have been reported from countries where raw or undercooked fish is traditionally consumed. Despite the larvae do not develop in humans, they can live and cause severe symptoms because they penetrate the stomach wall causing an acute abdominal pain, nausea and vomit within a few hours after ingestion. When they invade the gastric or intestinal mucosa,

¹Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán", Departamento de Parasitología. Vélez Sarsfield 563; 1281, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

they often produce an ulcer or an eosinophilic granuloma, and usually cause allergic reactions ranging from urticaria to anaphylactic shock (D'Amelio *et al.*, 2013).

In Argentina, only a few cases of human infection have been reported, one of them was considered non-autochthonous, since it involved a patient infected with *Anisakis* sp., who was a crew member of a foreign ship (Tanzola, 2011). Besides, the other one, was an autochthonous case of a girl who eliminated an anisakid third-stage larva in her feces (Menghi *et al.*, 2011). *Anisakis pegreffii* Campana-Rouget *et* Biocca, 1955, was the only anisakid species genetically identified in a sample of 91 larvae found in hakes, *Merluccius hubbsi* Marini, 1933, from a fish-market in Buenos Aires City and off the coast of Mar del Plata, in the southwestern Atlantic Ocean (Hutler Wolkowicz, pers. com.). Adults of *Pseudoterranova cattani* George-Nascimento *et* Urrutia, 2000, have been reported parasitizing Patagonian sea lions (*Otaria flavescens*, Shaw 1800) from the southeastern Pacific Ocean, and the southwestern Atlantic Ocean. These larvae were detected in muscles of edible fish collected in Argentine and Chilean waters (Hernández-Orts *et al.*, 2013; Timi *et al.*, 2014), and isolated from patients in Chile (Mercado *et al.*, 1997, 2001; Weitzel *et al.*, 2015). Finally, larvae of *P. decipiens sensu latum* were recovered from human patients in Perú (Tantaleán, 1972; Cabrera and Trillo-Altamirano, 2004).

Diagnosis of anisakidosis may be difficult due to its nonspecific symptomatology, so inquires, to the patients, about chronology of previous ingest of raw or undercooked fish or squid, are always necessary. The presence of larvae and lesions caused by them are often revealed by ultrasonography, x-rays or gastroscopy. The definitive diagnosis relies on the identification of larvae removed by endoscopy and surgery, found in vomit and stools, or by the histopathological examination of biopsies (Zuloaga *et al.*, 2004). Larvae are identified up to the genus level based on the morphology of the digestive tract and excretory system under light microscopy. However, it is very difficult to identify worms which have been partly destroyed or lack key morphological features. Thus, DNA differential diagnosis is considered a key procedure for the accurate identification of clinically

obtained worms.

The objective of this study is detection and molecular identification of anisakids in food and clinical samples from Argentina during 2012-2017.

MATERIALS AND METHODS

Nine samples sent to Department of Parasitology of INEI ANLIS "Carlos G. Malbrán" for diagnosis, between 2012-2017, were analyzed. Two of these were from clinical samples, and the remaining ones were collected from food.

The two infected humans were adult females and lived in Buenos Aires city. One patient from Colombia expectorated a roundworm, and she reported that had eaten ceviche in Perú 15 days before the incident (Table 1). One larva was found between teeth in the other patient. She referred to have been eating sushi every 15 days, and travelled five months previously, to Dubai and Spain, where she also ate some dishes based on raw fish (Table 1). She was treated with mebendazole.

All food samples were collected from fish sold in the local market of Buenos Aires city, except one from which no source data were available (Table 2). Six samples out of seven were fixed with ethanol 70%, and the other one was preserved in formaldehyde. Parasites were analyzed by morphological criteria and PCR amplification of the internal transcribed spacer (ITS1) of nuclear ribosomal DNA followed by nucleotide sequencing (Degese *et al.*, 2016). A 3-mm long piece from the mid-body region of each specimen was cut off for molecular study. DNA was isolated according to the "Rapid isolation of Mammalian DNA" protocol (Sambrook and Russell, 2001). The PCR mix was made up to a volume of 25 µl, containing 0.5 U of Taq polymerase (Invitrogen), 1X Taq buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.8 µM of each dNTP, 0.25 µM of each primer (Ani-9F: CCGCCTTAATCGCAGTGG and Ani-552R: CAATTGCGACTATTTATCGCAGC) and 5 ng of parasite DNA. The cycling conditions were: 94°C for 3 min, 40 cycles of 94°C for 1 min, 60°C for 1 min, 72°C for 1 min, and a final extension at 72°C for 10 min. Amplification was carried out in a Px2 Thermal Cycler/Electron Corporation. Double-distilled water was used as negative control. The amplified fragments were separated by electrophoresis on a

Table 1. Characteristics of the two patients infected by *Pseudoterranova cattani* in Argentina.

Date	Patient	Origin of infection	Larvae collection	Symptoms	Suspected source of infection	*Period ingestion/expulsion	State of preservation	Larvae	Molecular identification
Jan-12	1	Perú	coughed up from the throat	coughing	ceviche	15 days	poor	1	<i>Pseudoterranova cattani</i>
Oct-16	2	CABA**	between the teeth	no	sushi	n/a	poor	1	<i>Pseudoteranova cattani</i>

10 *Period between fish ingestion to expulsion of larvae; ** CABA: Ciudad Autónoma de Buenos Aires. n/a: not available data

1.5% agarose gel, stained with GelRed® (Biotium) and compared to a 100-bp DNA ladder molecular weight marker (fermentas). Amplification fragments of the expected size were purified from the agarose gel using an AccuPrep Gel Purification Kit (Bioneer). Sequences were determined by an ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Chromatograms were viewed with Chromas Lite 2.01 and sequences were compared with those in GenBank database using BLASTn program (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). The anterior and posterior portions of each larva, were cleared in lactophenol for morphological examination.

RESULTS

All the worms were yellowish, and 2-4 cm long. Specimens were identified at genus level by morphological criteria only in three samples (Figs. 1, 2). The specimens in the remaining samples could not be identified by their poor state of preservation. Five out of seven fish samples were identified as *P. cattani* by molecular methods. From the other two, one was identified as *A. pegreffii*, and the other could not be analyzed since it was preserved in formaldehyde, a PCR inhibitor.

Only *P. cattani* was present in the two clinical samples (Table 1). Larvae of this species were also found in food samples from Argentine Sea Bass *Acanthistius brasiliensis* (Cuvier, 1828), Brazilian codling *Urophycis brasiliensis* (Kaup, 1858), and *M. hubbsi*. *Anisakis* sp., and *A. pegreffii* larvae were found in the white salmon *Stenodus leucichthys* (Güldenstädt, 1772), and hake, respectively (Table 2).

The DNA sequences obtained were deposited in the GenBank database under accession numbers MK492705 and MK492706 for *A. pegreffii* and *P. cattani*, respectively. The sequences showed 100-99% identity with available sequences in GenBank

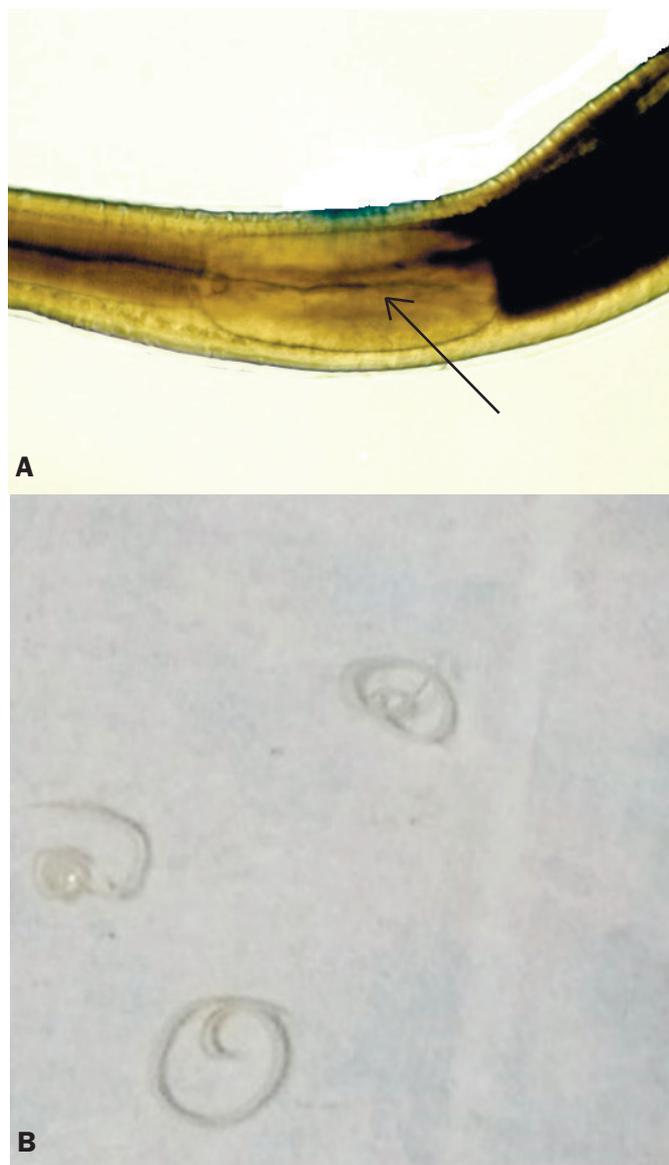


Figura 1. A. L3 larva of an anisakid worm, B. L3 larvae of *Anisakis* sp. Optical microscopy, arrow indicates the ventriculus.

Table 2. Characteristics of the seven samples of fish food with anisakids collected in Buenos Aires city, Argentina.

Date	Fish Species	Origin	Larvae collection	State of preservation	Larvae	Diagnostic method	Result	Food preparation
Feb-12	<i>Urophycis brasiliensis</i>	CABA*	during consumption	poor	3	molecular	<i>Pseudoterranova cattani</i>	undercooked
Apr-12	<i>Acanthistius brasiliensis</i>	CABA	newly purchased fillets	poor	1	molecular	<i>Pseudoterranova cattani</i>	raw
Feb-15	<i>Stenodus leucichthys</i>	CABA	rolled salmon purchased fact	formaldehyde	4	morphological	<i>Anisakis</i> sp.	cooked
Mar-15	Fish**	n/a	cleaning fish	poor	1	molecular	<i>Pseudoterranova cattani</i>	raw
Apr-15	<i>Urophycis brasiliensis</i>	CABA	before cooking	good	3	morphological and molecular	<i>Pseudoterranova cattani</i>	raw
Oct-16	<i>Merluccius hubbsi</i>	CABA	before cooking	poor	1	molecular	<i>Pseudoterranova cattani</i>	raw
Aug-17	<i>Merluccius hubbsi</i>	CABA	before cooking	good	4	morphological and molecular	<i>Anisakis pegreffii</i>	raw

*CABA: Ciudad Autónoma de Buenos Aires. **Unknown fish species. n/a: not available data

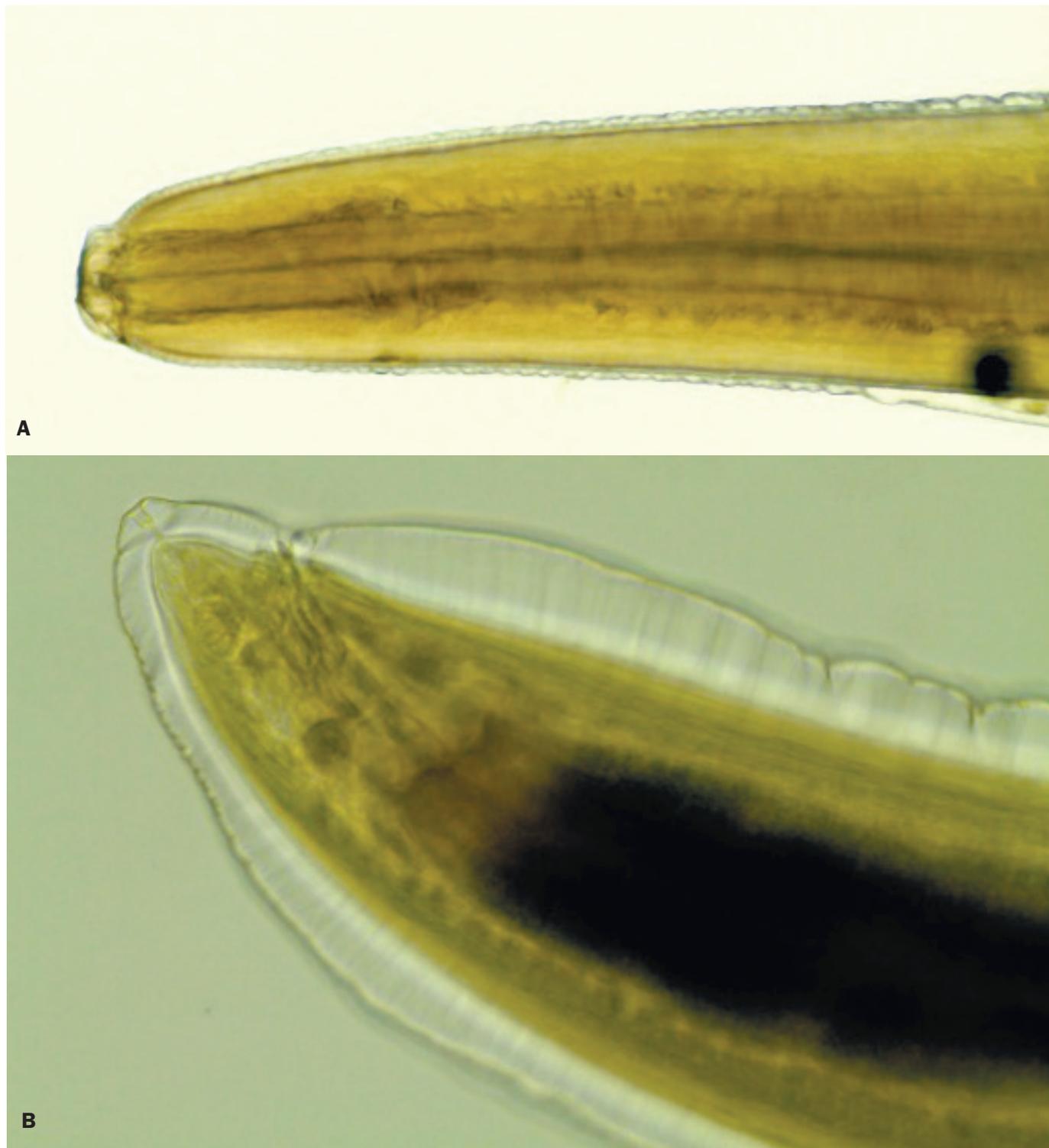


Figure 2. L3 larva of *Pseudoterranova* sp. A. Anterior end, B. Posterior end. Optical microscopy.

(Accession no KU991879, AB277823, HE997159, KF781285, KC970078, KF781284). Sequence variation was not observed between 2 larvae of *A. pegreffii* and in 7 isolates of *P. cattani* analyzed.

DISCUSSION

Our study is the first report of human anisakidosis caused by the genus *Pseudoterranova* in Argentina, and involves a non-native case belonging to a patient who had consumed ceviche 15 days before in Perú. The other one was a patient who often consumed

sushi in Buenos Aires city, although she had also consumed raw fish dishes during a previous trip around Europe and Asia. The fact that, the trip was several months before the larvae elimination, and the species involved has not been related to these geographical areas, let us suspect this case is an autochthonous one. Clinical cases of human pseudoterranovosis by *Pseudoterranova* sp., herein described are similar to those reported from Chile, Perú, North America, and Europe, which have been classified as “transient luminal” with worms expelled by coughing (Tantaleán,

1972; Mercado *et al.*, 1997; Cabrera and Trillo-Altamirano, 2004; Mattiucci *et al.*, 2013; Weitzel *et al.*, 2015). Most pseudoterranovosis usually cause severe pathology due to the penetration of the alimentary tract by larvae, as for example *Pseudoterranova azarasi* (Yamaguti *et Arima*, 1942) in Japan (Arizono *et al.*, 2011). *Pseudoterranova cattani* uses the sea lion as definitive host in the southeastern Pacific and southwestern Atlantic Oceans. Also, larvae of this species were found in muscles of different edible fish species from Argentinean and Chilean waters (Hernández-Orts *et al.*, 2013; Timi *et al.*, 2014). In Chile, *P. cattani* has been involved in autochthonous human anisakidosis (Torres *et al.*, 2007; Weitzel *et al.*, 2015). Larvae of *P. decipiens sensu latum* were recovered from human cases in Perú (Mercado *et al.*, 1997; Cabrera *et Trillo-Altamirano*, 2004), but taking into account the geographical distribution of its definitive host, the species involved probably belongs to *P. cattani*. On the other hand, no human cases have been yet reported in Argentina, probably because fish products are usually well-cooked before consumption or due to no recognition of symptoms by physicians. It is very important to perform the differential diagnosis with other gastrointestinal pathologies, allowing in this way, an effective treatment of the patient.

The chosen procedure for larvae extraction was endoscopy or surgery. Gastrointestinal lesions refer back within two or three weeks after the parasite elimination. The diagnosis of intestinal anisakiasis is more difficult; however, it can usually be controlled without extracting worms since they eventually die in about three weeks. Surgery may be necessary for intestinal or extraintestinal infections when intestinal obstruction, appendicitis or peritonitis occur (Hochberg and Hamer, 2010). Limited evidence suggests that albendazole is an effective therapy, but the antihelmintic use of peppermint essential oil (*Mentha piperita*, Lineo 1758) in assays with experimental animals probe to be more effective than treatment with albendazole (Hochberg and Hamer, 2010; Romero *et al.*, 2014).

In food samples, larvae of *P. cattani* were found in *A. brasiliensis*, *U. brasiliensis*, and *M. hubssi* whereas those of *Anisakis* sp. and *A. pegreffii* were found in *S. leucichthys*, and *M. hubssi*, respectively. It is unknown if such larvae belonged to this fish or if a cross food contamination took place in the sale place.

The presence of anisakid larvae in the muscle of edible fish from Argentine waters supposes a risk to public health, and emphasizes the necessity of implementing adequate sanitary control measures to prevent anisakidosis in Argentina. Preventive measures include adequately freezing or cooking of fish (Adams *et al.*, 1997).

LITERATURE CITED

- Adams AM, Murrell KD, Cross JH. 1997. Parasites of fish and risks to public health. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 16: 652-60.
- Arizono N, Miura T, Yamada M, Tegoshi T, Onishi K. 2011. Human infection with *Pseudoterranova azarasi* roundworm. *Emerging Infectious Diseases* 17: 555-556.
- Cabrera R, Trillo-Altamirano M. 2004. Anisakidosis: ¿Una zoonosis parasitaria marina desconocida o emergente en el Perú? *Revista de Gastroenterología del Perú* 24: 335-342.
- D'Amelio S, Cavallero S, Busi M, Ingrosso S, Giuffra E, Farjallah S, Costa G. 2012. *Anisakis* Chapter 45. In: Liu D (Ed.). *Molecular detection of human parasitic pathogens*. CRC Press and Taylor & Francis. Florida, USA: 485-496.
- Degese MF, Timi J, Krivokapich SJ. 2016. Molecular identification of anisakids of public health importance. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* 11: 15-20.
- Garbin LE. 2009. Taxonomía y evaluación de la especificidad hospedatoria de nematodos Anisakidae parásitos de aves marinas en el área de Península Valdés, Chubut, Argentina. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata. La Plata. 197 pp.
- Garbin LE, Mattiucci S, Paoletti M, Diaz JI, Nascetti G, Navone GT. 2013. Molecular identification and larval morphological description of *Contracaecum pelagicum* (Nematoda: Anisakidae) from the anchovy *Engraulis anchoita* (Engraulidae) and fish-eating birds from the Argentine North Patagonian Sea. *Parasitology International* 62: 309-319.
- Hernández-Orts JS, Aznar FJ, Blasco-Costa I, García NA, VÍllora-Montero M, Crespo EA, Raga JA, Montero FE. 2013. Description, microhabitat selection and infection patterns of sealworm larvae (*Pseudoterranova decipiens* species complex, Nematoda: Ascaridoidea) in fishes from Patagonia, Argentina. *Parasite Vector* 6: 252.
- Hochberg NS, Hamer DH. 2010. Anisakidosis: Perils of the Deep. *Clinical Infectious Diseases* 51: 806-812.
- Knoff M, Felizardo NN, Iñíguez AM, Maldonado A, Torres EJJ, Pinto RM, Gomes DC. 2012. Genetic and morphological characterization of a new species of the genus *Hysterothylacium* (Nematoda) from *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) of the Neotropical Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 107: 186-193.
- Mattiucci S, Nascetti G. 2007. Genetic diversity and infection levels of anisakid nematodes parasitic in fish and marine mammals from Boreal and Austral Hemispheres. *Veterinary Parasitology* 148: 43-57.

- Mattiucci S, Paoletti M, Webb SC. 2009. *Anisakis nascettii* n. sp. (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the Southern Hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Systematic Parasitology* 74: 199-217.
- Mattiucci S, Paoletti M, Webb SC, Nascetti G. 2013. *Pseudoterranova* and *Contracaecum*. Chapter 62. In: Liu D (Ed.). *Molecular detection of human parasitic pathogens*. CRC Press and Taylor & Francis. Florida, USA: 645-654.
- Menghi CI, Comunale E, Gatta CL. 2011. Anisakiosis: primer diagnóstico en Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 31: 71-73.
- Mercado R, Torres P, Maira J. 1997. Human case of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). *Revista de Saúde Pública* 31: 178-81.
- Mercado R, Torres P, Muñoz V, Apt W. 2001. Human infection by *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) in Chile: Report of seven cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96: 653-655.
- Navone G, Sardella NH, Timi JT. 1998. Larvae and adults of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda: Anisakidae) in fishes and crustaceans in the South West Atlantic. *Parasite* 5: 127-136.
- Romero MC, Navarro MC, Martín-Sánchez J, Valero A. 2014. Peppermint (*Mentha piperita*) and albendazole against anisakiasis in an animal model. *Tropical Medicine & International Health* 19: 1430-1436.
- Rossin MA, Datri LL, Incorvaia IS, Timi JT. 2011. A new species of *Hysterothylacium* (Ascaridoidea, Anisakidae) parasitic in *Zenopsis conchifer* (Zeiformes, Zeidae) from Argentinean waters. *Acta Parasitologica* 56: 310-314.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. Rapid isolation of mammalian DNA. Vol 1. In: *Molecular cloning. A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA: 6.28-6.30.
- Tantaleán VM. 1972. La presencia de larvas de *Anisakis* sp. en algunos peces comerciales del mar peruano. *Revista Peruana de Medicina Tropical* 1: 38-43.
- Tanzola RD. 2011. La migración larval: clave para el desarrollo de anisakidosis humana. Cap 47. In: *Temas de Zoonosis V*. Asociación Argentina de Zoonosis. Editorial Ideográfica. Buenos Aires, Argentina: 415-419.
- Timi JT, Paoletti M, Cimmaruta R, Lanfranchi AL, Alarcos AJ, Garbin L, George-Nascimento M, Rodríguez DH, Giardino GV, Mattiucci S. 2014. Molecular identification, morphological characterization and new insights into the ecology of larval *Pseudoterranova cattani* in fishes from the Argentine coast with its differentiation from the Antarctic species, *P. decipiens* sp. (Nematoda: Anisakidae). *Veterinary Parasitology* 199: 59-72.
- Torres P, Andrade P, Silva R. 1998. On a new species of *Hysterothylacium* (Nematoda: Anisakidae) from *Cauque mauleanum* (Pisces: Atherinidae) by brightfield and scanning electron microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93: 745-752.
- Torres P, Jercic MI, Weitz JC, Dobrew EK, Mercado RA. 2007. Human Pseudoterranovosis, an emerging infection in Chile. *Journal of Parasitology* 93: 440-443.
- Weitzel T, Sugiyama H, Yamasaki H, Ramírez C, Rosas R, Mercado R. 2015. Human Infections with *Pseudoterranova cattani*, Nematoda, Chile. *Emerging Infectious Diseases* 21: 1874-1875.
- Yagi K, Nagasawa K, Ishikura H, Nakagawa A, Sato N, Kikuchi K, Ishikura H. 1996. Female worm *Hysterothylacium aduncum* excreted from human: a case report. *Japanese Journal of Parasitology* 45: 12-23
- Zuloaga J, Arias J, Balibrea JL. 2004. Anisakiasis digestiva. Aspectos de interés para el cirujano. *Cirugía Española* 75: 9-13.

Recibido: 6 de enero de 2019

Aceptado: 27 de febrero de 2019

Ensamblajes de helmintos parásitos en larvas de *Boana pulchella* (Anura, Hylidae) en un arroyo serrano del Sudoeste bonaerense (Argentina)

Parasite helminth assemblages of *Boana pulchella* (Anura, Hylidae) tadpoles from a mountain stream from Southwest of Buenos Aires province (Argentina)

Villegas Ojeda María Alejandra¹ y Tanzola Rubén Daniel¹

RESUMEN: Se aportan datos de la diversidad y ecología de los helmintos parásitos de larvas de *Boana pulchella* en el Arroyo El Belisario, perteneciente a la cuenca hidrográfica de Sierra de la Ventana, Provincia de Buenos Aires (Argentina). Las comunidades de helmintos están integradas por tres especies, un nematode oxyuroideo especialista de larvas de anuros, *Gyrinicola chabaudi* y dos trematodes, uno de ellos, en estado de metacercaria del tipo *prohemistomulum* identificada como *Diplostomoidea* gen. sp. y el adulto de *Catadiscus uruguayensis*. Las dos primeras especies alcanzaron prevalencias significativas que permiten considerarlas como componentes habituales del ensamble, en tanto la tercera, tuvo apariciones esporádicas. Presentaron distribuciones de tipo agregado. Los ensambles se estudiaron a partir de dos muestras tomadas en diferentes épocas y años (otoño 2016 y primavera 2017). En la muestra total (N= 71), 18 larvas (25,35%) no presentaron helmintos, no habiéndose hallado diferencias estacionales significativas en la proporción de individuos sin parásitos. Se halló una correlación significativa y positiva entre el desarrollo ontogénico y la riqueza específica de helmintos, no así entre la edad de las larvas y su abundancia parasitaria. En 69,8% de las infracomunidades, el nematode fue dominante exclusivo de los ensambles. Las prevalencias y abundancias de *G. chabaudi* no resultaron diferentes entre ambas épocas de muestreo. Las metacercarias de *Diplostomoidea* gen.sp. tuvieron diferencias altamente significativas entre las estaciones, siendo mucho más prevalentes y abundantes en primavera. Se analizan las probables causas de estas diferencias poblacionales. Los resultados de este trabajo son consistentes con antecedentes previos, que indican que las comunidades de helmintos en anuros se caracterizan por su pobreza tanto de individuos como de diversidad.

Palabras clave: Anura, *Boana pulchella*, renacuajos, comunidades de helmintos, ecología parasitaria.

ABSTRACT: Data on the diversity and ecology of the helminth parasites of *Boana pulchella* tadpoles' from El Belisario stream, located in Sierra de la Ventana basin, Buenos Aires province (Argentina), are provided. Helminth communities are composed by three species, a nematode, *Gyrinicola chabaudi*, a specialist oxyuroid of tadpoles and two trematodes, one of them as metacercaria of *prohemistomulum* type and identified as *Diplostomoidea* gen. sp., and adults of *Catadiscus uruguayensis*. The two former species reached significant prevalences to consider them as common components of the assemblage, meanwhile the third one, had sporadic appearances. They showed an aggregate pattern of dispersion. Assemblages were studied from two samples taken at different seasons and years (autumn 2016 and spring 2017). In the total sample (N = 71), 18 larvae (25.35%) did not harbored helminths, and no significant seasonal differences in the proportion of individuals without parasites have been found. A significant positive correlation between the ontogeny of tadpoles and species richness of helminth was found, but the relationship between the age of the larvae and parasitic abundance were not significant. In the 69.8% of the infracomunities, the nematode species was the exclusive dominant. Prevalences and abundances of *G. chabaudi* were not different between both sampling seasons. On the other hand, the metacercaria of *Diplostomoidea* gen.sp. had highly significant differences between autumn and spring, being more prevalent and abundant in spring. The probable causes of these populational differences are analyzed. The results of this study are consistent with previous records, which indicate that communities of helminths in anurans are characterized by their poverty, of both individuals and diversity.

Keywords: Anura, *Boana pulchella*, helminth communities, parasite ecology, tadpoles

¹Laboratorio de Parasitología. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. INBIOSUR (UNS-CONICET). Bahía Blanca, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Los estadios larvales representan etapas efímeras en la vida de los anfibios anuros, e independientemente que vivan en cuerpos de agua tanto lóticos como lénticos e incluso temporarios, poseen una fisiología y comportamiento tan particulares que difieren de las fases post-metamórficas. Estos rasgos ecológicos peculiares hacen de las fases larvales de los anuros, interesantes modelos de estudio de las interacciones parásito-hospedador, en especial desde la perspectiva de la estructura de sus ensambles de helmintos (Rhoden y Bolek, 2015). Sin embargo, esta área temática representa un campo poco explorado y con escasos antecedentes documentados. Hasta la fecha, se conocen a nivel global solo tres investigaciones de la estructura de las comunidades de helmintos parásitos de renacuajos (Kehr y Hamann, 2003; Rhoden y Bolek, 2012, 2015), siendo la primera de ellas, única en el Neotrópico. Estos autores han hipotetizado acerca de los factores estructuradores de las comunidades de helmintos en larvas de anuros entre los que figuran: la duración del desarrollo metamórfico, la talla de las larvas, las características del hábitat y las estrategias de colonización de los parásitos, así como variables ambientales tales como temperatura, régimen de lluvias, flora y fauna asociadas al biotopo. En Argentina, los antecedentes publicados sobre parásitos en larvas de anuros son relativamente escasos y proceden en su mayoría de la región noreste del país, habiendo sido estudiadas las especies *Pseudis paradoxa* (Linnaeus, 1758), *Scinax nasicus* (Cope, 1862), *Rhinella diptycha* (Cope, 1862) y *Boana pulchella* (Duméril y Bibron, 1841) (Kehr y Hamann, 2003; González y Hamann, 2005; Hamann y González, 2009; Tanzola y Villegas Ojeda, 2017). *Boana pulchella* es un hylido de pequeño a mediano tamaño (3-5 cm) que habita lagunas, charcas temporarias o permanentes y arroyos, entre los 0 y 1250 msnm (Heredia, 2008). Dubois (2017) luego de un exhaustivo análisis histórico sobre aspectos nomenclaturales controvertidos de la validez nominal, propuso que este hylido sea considerado integrante del género *Boana* Gray, 1825. Sus larvas son relativamente grandes y su desarrollo en las diferentes latitudes, pudiendo llegar a aproximadamente a 6 meses. Kehr y Basso (1992) señalan que en el noreste de la provincia de Buenos Aires presenta dos épocas reproductivas, con nacimientos en abril-mayo y en septiembre-octubre, aunque es frecuente observar renacuajos todo el año, mientras el biotopo se encuentre con agua, condición que depende localmente del régimen de lluvias. Se distribuye desde Santa Catarina (Brasil), en todo Uruguay, sur de Paraguay y en Argentina se la encuentra en las provincias de Misiones, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Córdoba, Santa Fe y La Pampa

llegando hasta el sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Kwet et al., 2004). Su estatus de conservación es de Preocupación Menor, según UICN 2018 (<http://www.iucn.org/regiones>).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las comunidades de helmintos parásitos de una población larval de *B. pulchella* en el sector más austral de su dispersión, aportando nuevos registros hospedatorios y geográficos así como analizando la estructura de los ensambles parasitarios en dos estaciones anuales de muestreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La cuenca de este pequeño cauce serrano se ubica en el Sudoeste de la provincia de Buenos Aires (38°4'S, 61°55'O) con una superficie aproximada de 25 km² y dos afluentes, los arroyos El Negro y Las Piedras, que en conjunto bordean la localidad de Villa Ventana (Casado et al., 2006-2007) (Fig. 1). El área define un pequeño valle intermontano en el Centro-Este del cordón de Sierra de la Ventana con un clima templado húmedo pampeano, caracterizado por sus veranos secos y cálidos e inviernos secos y fríos (Campo et al., 2004). Las precipitaciones se producen principalmente en otoño y primavera, con caudales que alcanzan valores de hasta 2 m³/seg. Sin embargo el rasgo climático más relevante del área es la marcada fluctuación interanual del régimen pluvial, con notable alternancia de año húmedo-año seco (Casado et al. 2006/2007). Este fenómeno provoca una oscilación en la disponibilidad hídrica durante el año y a lo largo de años consecutivos, con diferencias que pueden alcanzar los 800 mm, valores que considerando la geomorfología del terreno se tornan altamente significativos en cuanto a su impacto en la biodiversidad. En las épocas de escasez de precipitaciones (veranos secos), el caudal desciende a 0,2 m³/seg. Es así que a través de dos sucesos críticos, el impacto en la biota se manifiesta por inundaciones y sus fenómenos de avenida asociados (lavado de suelos, carcavamiento, erosión de las márgenes, anegamientos) o por épocas de prolongadas sequías e incendios del pastizal serrano. La vegetación palustre nativa que sirve de refugio a las poblaciones de anuros es típicamente herbácea con algunos arbustos bajos (Fig. 2). En el sitio de muestreo, las márgenes del arroyo presentaron predominio de *Senecio bonariensis* (Asteraceae), *Paspalum quiadrifarium* (Poaceae), *Cortaderia selloana* (Poaceae) y árboles exóticos como *Salix viminalis* (Salicaceae). Como vegetación flotante, el cauce registra abundancia de *Ludwigia peploides* (Onagraceae) y *Nasturtium officinale* (Brassicaceae) y el musgo acuático *Fissidens* sp. (Bryophyta) dominando la flora sumergida.

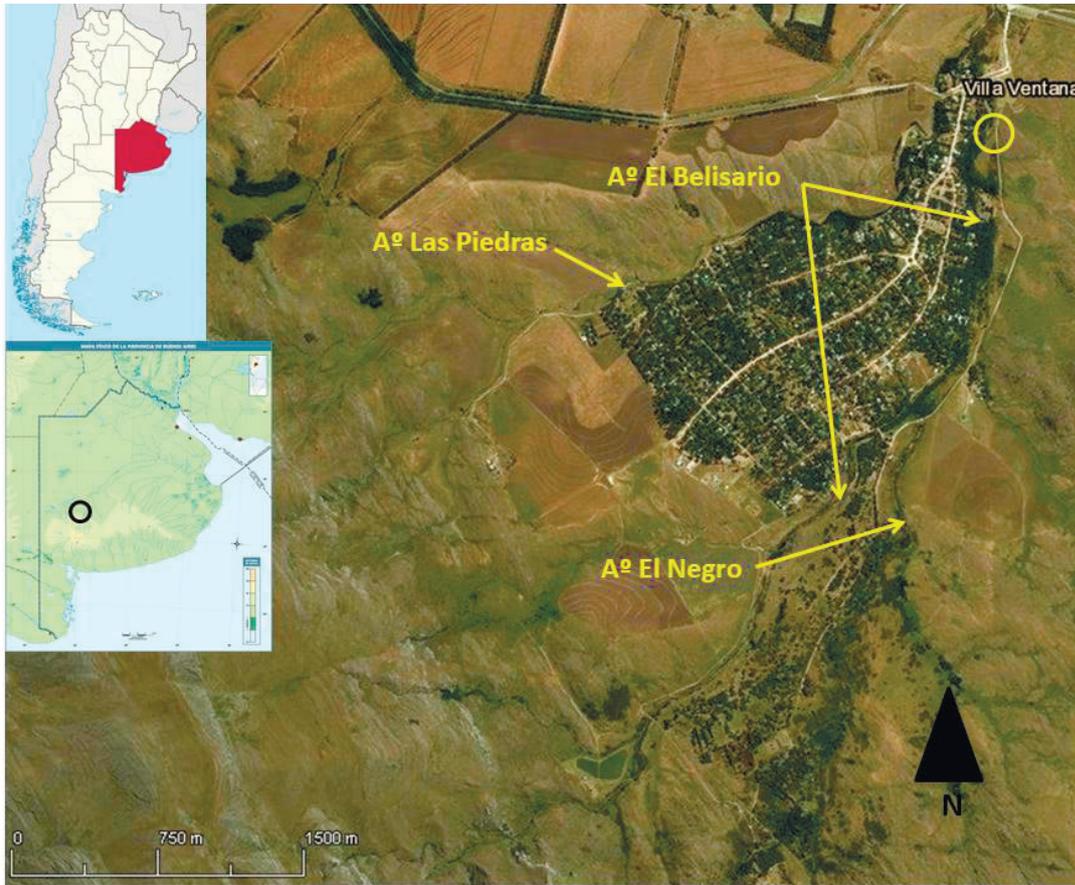


Figura 1. Ubicación geográfica del sitio de muestreo (círculo amarillo) en el curso del arroyo El Belisario y los arroyos tributarios El Negro y Las Piedras (Buenos Aires, Argentina).



Figura 2. Vista del sitio de muestreo del arroyo Belisario con su vegetación característica (Buenos Aires, Argentina). **17**

Toma y análisis de muestras

Se examinó un total de 71 larvas de *B. pulchella*, durante la temporada reproductiva de otoño 2016 (N= 29) y primavera 2017 (N= 42). Las muestras se colectaron con una red de mano con malla de 5 mm en la ribera del arroyo El Belisario.

Los ejemplares fueron transportados vivos al laboratorio y se le practicó eutanasia por sobredosis de benzocaína alcohólica al 3% (Gilderhus y Marking, 1987). Para la identificación taxonómica de las larvas de *B. pulchella* se siguieron los criterios de Kehr y Williams (1990) y para el reconocimiento de los diferentes estadios ontogénicos a Gosner (1960). A cada larva se le midió la longitud total y la longitud hocico-cloaca en mm. Se examinaron el tegumento, las branquias, la cavidad visceral, el tubo digestivo y la vesícula biliar. Los helmintos fueron fijados en formalina 10% y conservados en alcohol 70°. Una alícuota de ejemplares de cada especie se conservó en colección en alcohol etílico de 96° para futuros estudios moleculares. La morfología de los helmintos fue estudiada transparentando los vermes con glicerina en preparaciones semipermanentes así como con coloraciones de carmín clorhídrico de Langeron. Se realizaron dibujos a escala mediante una cámara clara y microfotografías con una cámara incorporada al microscopio. Las medidas de variables morfométricas se expresan en μm como la media y, entre paréntesis, el rango y la desviación estándar (DE). Ejemplares voucher de los helmintos fueron depositados en la Colección Helmintológica del Museo de La Plata (MLP-He), cuyos números de colección se indican en cada caso.

Cálculos y análisis estadísticos

Se consideraron especies componentes de las comunidades aquellas con prevalencia $\geq 10\%$ y sobre ellas, se efectuó el análisis estadístico (Bush *et al.* 1997). Para conocer el tipo de distribución parasitaria se estimó el coeficiente de dispersión varianza/media (Morales y Pino, 1987). A nivel de población componente (metapoblacional) se calcularon la prevalencia, abundancia media e intensidad media de cada especie parásita (Bush *et al.*, 1997) y se correlacionaron con un test no paramétrico de Spearman con la talla total y con el estadio ontogénico de las larvas. Las prevalencias de las

especies componentes se compararon entre épocas de muestreo (otoño 2016-primavera 2017) mediante el estadístico Z para muestras ≤ 100 hospedadores (Morales y Pino, 1987). Las abundancias parasitarias entre épocas se compararon por medio de la prueba U de Mann Whitney (Siegel y Castellan, 1995). A nivel de cada infracomunidad se calculó la riqueza específica, el índice de dominancia de Berger-Parker (BP) y la diversidad específica mediante el índice HB de Brillouin (Magurran, 1988). Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el software IBM SPSS® v. 23 con un nivel de significancia $\alpha=0,05$.

RESULTADOS

Los detalles meteorológicos de temperaturas máximas y mínimas y precipitaciones en la zona de muestreo se detallan en la Tabla 1.

Los renacuajos muestreados tuvieron una longitud total de 30,46 (11-55, DE 10,74) mm, con estadios Gosner de 30,4 (25-41, DE 3,59). Se halló una alta correlación positiva y significativa entre los estadios ontogénicos y la longitud total de las larvas ($r_s=0,86$ $p<0,000$). La distribución de edades en ambas épocas de muestreo fue coincidente con un amplio predominio del rango de edades Gosner 28-30. Ello indica la presencia de renacuajos todo el año en el ambiente, con varias cohortes y agrupamientos poblacionales factibles de ser comparados desde el punto de vista parasitológico.

Se registró un total de 186 helmintos identificados en tres taxa hallados en la cavidad celómica: Diplostomoidea gen. sp. y en el tubo digestivo: *Catadiscus uruguayensis* Freitas y Lent, 1939 (Trematoda; Diplostomidae) y *Gyrinicola chabaudi* Araujo y Artigas, 1982 (Oxyuroidea; Pharyngodonidae).

Aspectos taxonómicos

Diplostomoidea gen. sp. (Fig. 3a, 3b).

(Trematoda; Diplostomoidea)

Prevalencia: 23,9 (otoño 6,9-primavera 35,7)

Intensidad Media: 2,76 (otoño 2,5-primavera 2,8)

Abundancia Media: 0,66 (otoño 0,17-primavera 1)

Coeficiente de dispersión: 12,63 (otoño 2,43 - primavera 13,66)

Ejemplar voucher: Colección Helmintológica MLP-He 7495

Sitio de infección: Cavidad celómica

Tabla 1. Datos climáticos durante los períodos de estudio en el arroyo Belisario (Buenos Aires, Argentina)

Época de muestreo	Temperaturas mínimas (rango)	Temperaturas máximas (rango)	Frecuencia de precipitaciones
Otoño 2016 (mar)	3 / 17 °C	17 / 32 °C	5/31 días (16,12%)
Primavera 2017 (oct-nov)	-0,2 / 16,5 °C	14,1° / 34 °C	20/61 días (64,51%)

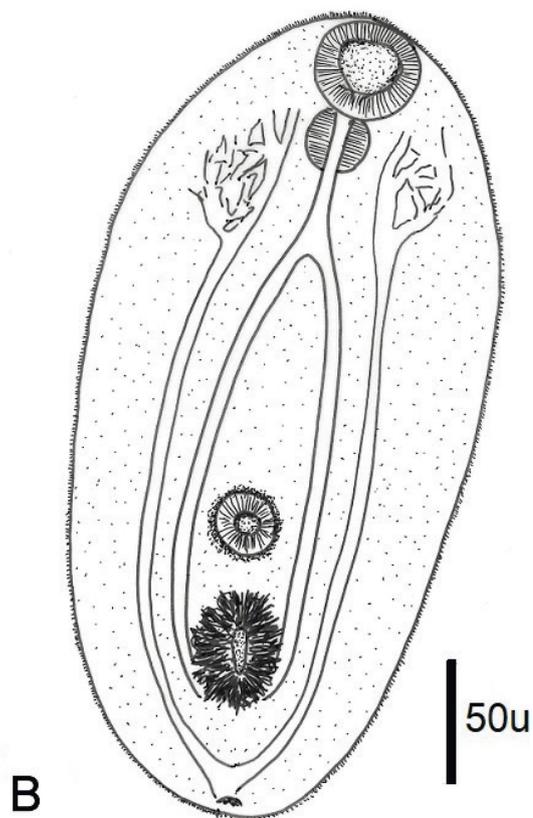
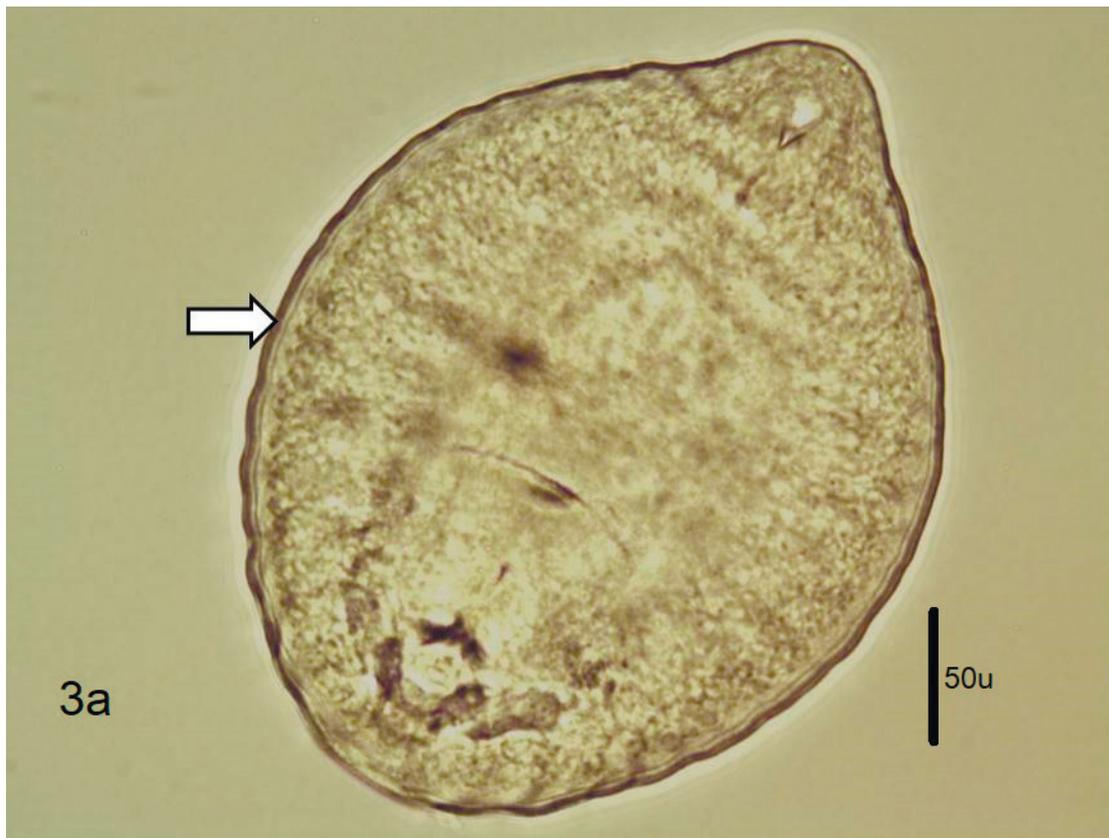


Figura 3. Diplostomoidea gen. sp. A: microfotografía de ejemplar fresco *in toto*. La flecha señala la delgada pared quística; B: esquema de ejemplar *prohemistomulum*.

Descripción (basada en 6 ejemplares fijados, aplastados y medidos): Las metacercarias están rodeadas por una delgada pared quística flexible, que les permiten desplazarse libremente en la cavidad celómica (Fig. 3a, flecha). Presentaron cuerpo redondeado o elíptico, aplanado y totalmente cubierto por diminutas espinas (Fig. 3b). No poseen *hindbody* y el sistema excretor consta de dos reservorios longitudinales paralelos a los ciegos intestinales anastomosados en la región post-faríngea. Los ciegos intestinales alcanzan el extremo caudal por detrás del órgano tribocítico. Se observa un poro caudal. El órgano tribocítico es de contorno circular o elíptico y presenta una hendidura central en sentido longitudinal. Las dimensiones principales fueron: longitud total 222,9 (187,5-262,5), ancho máximo 144,3 (80-237,5), ventosa oral 20,6 (15-25), faringe elipsoidal (23,2 x 18), ventosa ventral 15 (12,5-17,5), órgano tribocítico 25 (17,5-32).

Observaciones: Las metacercarias fueron identificadas como Diplostomidea gen. sp. por la presencia de un órgano tribocítico post-acetabular. De los cuatro tipos de metacercarias reconocidos en la superfamilia Diplostomoidea (Gibson *et al.*, 2002) se aproximan a *prohemistomulum* por la siguiente combinación de caracteres: 1) el cuerpo es redondo u ovalado, aplanado, foliáceo, no dividido en dos partes (*forebody* y *hindbody*), 2) se rodean de un quiste, 3) no poseen pseudoventosas antero-laterales, 4) el órgano tribocítico está bien desarrollado y 5) presentan el sistema excretor en forma de reservorios tubulares longitudinales. Este tipo larval fue descrito en peces y anfibios y es característico de la familia Cyathocotylidae, cuyos adultos maduran en aves

asociadas al medio acuático (Gibson *et al.*, 2002). Lutz (1935) señaló que algunas cercarias de esta familia, denominadas *cercaria vivax*, pueden ser deglutidas o penetrar el tegumento de pequeños peces ciclidos de agua dulce y también podrían enquistarse en renacuajos. Sheena *et al.* (2007) estudiaron el ciclo biológico de *Mesostephanus indicum* Mehra, 1947 (Digenea, Cyathocotylidae) y encontraron infestaciones naturales de metacercarias morfológicamente similares a las del presente estudio, enquistadas en la musculatura de varias especies de peces (cyprínidos, bágridos, cíclidos, heteropnéustidos) en Kerala (India). Los adultos de este trematode maduran sexualmente en aves rapaces de la familia Accipitridae.

Catadiscus uruguayensis Freitas y Lent, 1939 (Fig. 4). (Trematoda; Diplostomidae)

Prevalencia: 3,2 (otoño 3,4-primavera 11,9)

Intensidad Media: 1 (otoño -primavera 1)

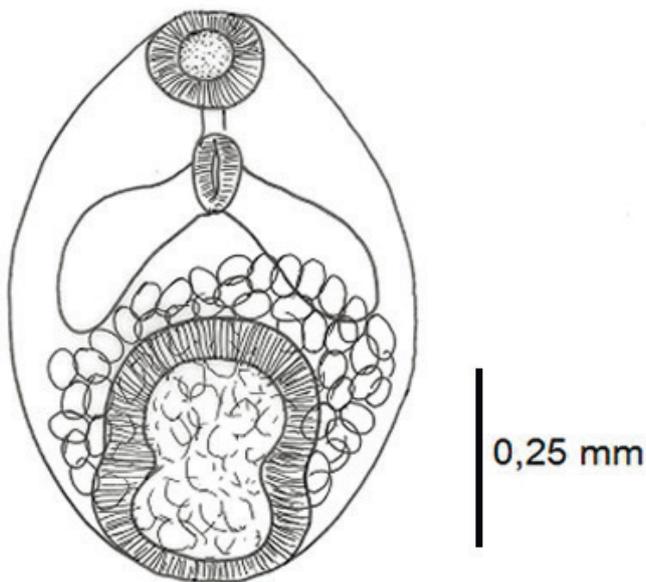
Abundancia Media: 0,08 (otoño 0,01- primavera 0,07)

Coefficiente de dispersión: 1 (otoño 0,97-primavera 0,89)

Sitio de infección: Intestino

Descripción (basada en 3 ejemplares aplastados, fijados y medidos): Los adultos se hallaron en el contenido de la ampolla rectal en muy baja abundancia y con escasa frecuencia. Las medidas corporales coincidieron en general con las registradas por Ostrowski de Núñez (1978) para ejemplares estudiados en renacuajos de *Hyla pulchella* capturados en zanjones y áreas inundadas del río Luján, localidad de Zelaya (provincia de Buenos Aires, Argentina). Las medidas principales fueron: longitud total 400-1000; ancho máximo 240-470; ventosa oral 75-250; faringe 100x50-70; ciegos digestivos cortos y gruesos de 240-250x100; acetábulo posterior 200-330x 160-300. Relación long. Acetábulo / long. total de 0,33-0,54. Los ejemplares estudiados eran maduros y con el útero ocupando la mitad posterior del cuerpo, inmediatamente por detrás de ambos ciegos intestinales, cargado de huevos de 60 x 35-70 x 42, cuya masa ocultaba completamente las gónadas.

Observaciones: Ostrowski de Núñez (1978) halló individuos de *C. uruguayensis* tanto en renacuajos de *H. pulchella* como en adultos de la rana criolla, *Leptodactylus ocellatus* (actualmente *L. latrans* (Steffen 1815)) y de la ranita verde, *Lysapsus mantidactylus* (actualmente *Pseudis minuta* Günther 1858) en el mismo ambiente acuático del río Luján. La autora incluyó medidas comparativas de los renacuajos y ranas y puede deducirse que los ejemplares de *C. uruguayensis* provenientes de larvas de anuros tienen, en general, un tamaño ligeramente menor y menor desarrollo de las gónadas. Es probable



20 **Figura 4.** *Catadiscus uruguayensis*, esquema de ejemplar *in toto*.

que el trematode acceda a sus hospedadores definitivos cuando estos son aún larvas y acompañan el desarrollo postmetamórfico hasta alcanzar el estado adulto de las ranas.

Gyrinicola chabaudi (Fig. 5a, 5b).

(Nematoda; Oxyuroidea; Pharyngodonidae)

Prevalencia: 56,3 (otoño 68,9- primavera 64,3)

Intensidad Media: 3,32 (otoño 2,7- primavera 2,8)

Abundancia Media: 1,87 (otoño 1,93- primavera 1,83)

Coefficiente de dispersión: 2,28 (otoño 1,93- primavera 2,53)

Ejemplar hembra voucher: Colección Helmintológica MLP-He 7496

Sitio de infección: Intestino

Descripción (basada en dos hembras y un macho, fijados y transparentados): Se hallaron juveniles, machos adultos y hembras ovígeras. Estas últimas típicamente poseen dos ramas uterinas, la anterior con huevos de cáscara delgada y la rama posterior, con huevos de cáscara gruesa, operculados y con inicio de segmentación. Las medidas de las hembras (N=2) fueron: longitud total 1,96-2,62 mm; ancho máximo 200-275; longitud del esófago muscular 300-330; diámetro del bulbo esofágico 120-125; cola 450-520; huevos de cáscara fina 60-70 x 24-37,5; huevos de cáscara gruesa 87,5-97,5 x 37,5-45, vulva en la mitad ventral del cuerpo (Fig. 5a). Las medidas del macho (N=1) fueron: longitud total 1,10 mm; ancho máximo 68,2; longitud del esófago muscular 90,9; diámetro del bulbo 38,6; cola 79,5; espícula única de extremos aguzados de 45 de longitud; un par de papilas ad-cloacales y un par distal, ubicado a 18,9 de la cloaca (Fig. 5b). El macho, a diferencia de la hembra, presenta el cuerpo recorrido lateralmente por un par de alas poco conspicuas que parten aproximadamente de la zona esofágica media y llegan hasta poco antes de la cloaca. Se hallaron abundantes ejemplares inmaduros cuyas dimensiones fueron (N=1): longitud total 262,5; ancho máximo 30, longitud del esófago muscular 55, diámetro del bulbo esofágico 20; cola 75.

Observaciones: Araujo y Artigas (1982) propusieron la especie *Gyrinicola chabaudi* sobre la base de 20 ejemplares hembras, halladas en renacuajos de *Leptodactylus ocellatus* de Santo Amaro (San Pablo, Brasil). Ésta es la única de las cinco especies descritas hasta el momento que parasita anuros neotropicales. En Argentina, González y Hamann (2005) reportaron su presencia en el intestino de *Scinax nasicus* (Cope, 1862) en la ciudad de Corrientes (Noreste de Argentina), describiendo los estadios adultos del macho y la hembra y aportando datos sobre variables poblacionales. Este oxyuroideo es un parásito especialista de estadios larvales

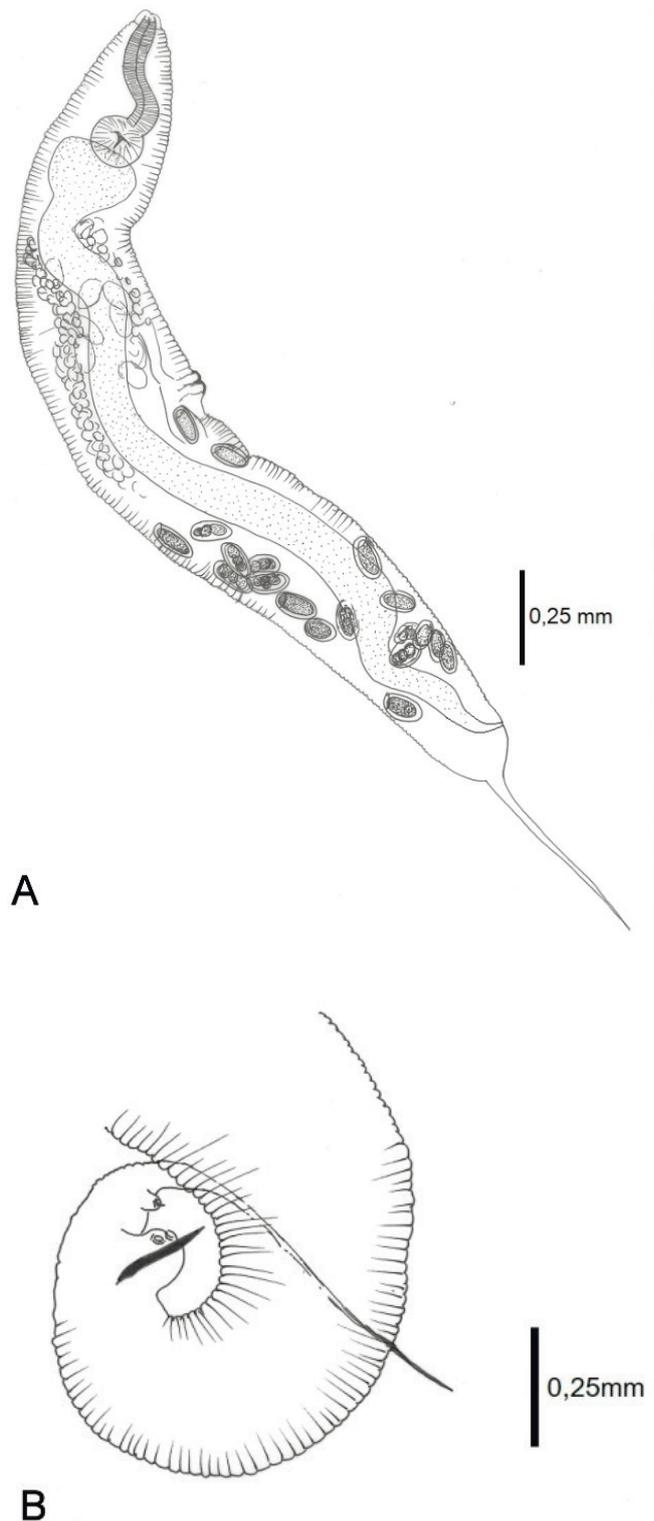


Figura 5. *Gyrinicola chabaudi*. a: esquema de ejemplar de hembra ovígera *in toto*; b: extremo caudal del macho mostrando la espícula única y las papilas ad-cloacales y postcloacales.

de anuros, y desaparece en ranas y sapos post-metamórficos. Los individuos estudiados presentaron rasgos morfométricos coincidentes con los descriptos por Araujo y Artigas (1982) y por González y Hamann (2005). Este hallazgo constituye el registro más austral de la especie y la primera cita en renacuajos de *Boana pulchella*. Pierce et al. (2018) analizan la distribución y plasticidad reproductiva de otra especie de *Gyrinicola*, *G. batrachiensis* (Walton, 1929), que se caracteriza porque sus hembras maduras presentan dos ramas uterinas desarrollando, en la anterior, huevos de cáscara delgada, y en la posterior huevos de cáscara gruesa, que son empleados en dos estrategias adaptativas. Los de cáscara delgada desarrollan embriones por partenogénesis y son funcionales para producir autoinfecciones en el hospedador. Los de cáscara gruesa participan de la infección vertical entre renacuajos. Las hembras grávidas de *G. chabaudi* estudiadas en el presente trabajo presentaron ambos tipos de huevos, lo que implicaría que esta especie podría utilizar ambas estrategias de infección.

Aspectos cuantitativos y estadísticos

En la muestra de hospedadores (N=71), la prevalencia parasitaria total fue de 74,65%. Dieciocho renacuajos (25,35%) no presentaron helmintos, no habiéndose hallado diferencias significativas en la proporción de individuos sin parásitos entre otoño (27,6%) y primavera (23,8%) ($Z = 0,516$ $p > 0,05$). Las comunidades de helmintos parásitos de larvas de *B. pulchella* en el ecosistema estudiado se componen de tres especies, un digeneo larval que habita la cavidad celómica, un digeneo adulto y un nematode oxyuroideo, ambas en el intestino. Durante el otoño tanto la riqueza (media 0,79; rango 0-3; DE 0,62) como la diversidad específica (HB media 0,024; rango 0-0,705; DE 0,13) fueron muy bajas, sólo una infracomunidad presentó más de una especie de helminto. En las muestras de primavera la composición cualitativa no varió, si bien se observó un ligero incremento en los parámetros comunitarios. La riqueza específica promedio en primavera fue de 1,12 (rango 0-3; DE 0,80) y la diversidad media HB de 0,121 (rango 0-0,599; DE 0,184). Las dos especies con mayor dominancia y consideradas componentes del ensamble, *G. chabaudi* (dominancia Berger-Parker 49,86%, rango 0-100; DE 43,37) y *Diplostomoidea* gen.sp. (dominancia B-P 22,07%, rango 0-100; DE 34,66) mostraron un patrón de distribución agregado, aunque las estrategias de colonización del hospedador son disímiles. En 69,8% (37/53) de las larvas que presentaron parásitos, el nematode fue exclusivo dominante de los ensambles.

El desarrollo ontogénico y la riqueza específica de helmintos presentan correlación significativa y positiva aunque con discreto valor ($r_s = 0,237$ $p < 0,05$)

mientras que el desarrollo y la abundancia parasitaria ($r_s = 0,218$ $p > 0,05$) no lo presentan. Las prevalencias de *G. chabaudi* no resultaron diferentes ($Z = 0,592$ $p > 0,05$) entre ambas épocas de muestreo (otoño 2016-primavera 2017) y tampoco fueron disímiles las abundancias parasitarias ($U = 568,5$ $p > 0,05$). Las metacercarias de *Diplostomoidea* gen.sp. presentaron diferencias altamente significativas en la prevalencia entre las estaciones, siendo mucho más frecuente su aparición en la primavera de 2017 ($Z = -4,48$ $p > 0,000$) y además, mucho más abundante ($U = 444,5$ $p < 0,05$).

DISCUSIÓN

La correlación significativa y positiva entre el desarrollo ontogénico y la riqueza específica de helmintos, indicaría que si bien las larvas de *B. pulchella* pueden incorporar nuevas especies parásitas, por ejemplo a través de la ingesta de estadios libres (caso de los trematodes), los determinantes de la estructura comunitaria de helmintos en los ensambles tendrían otros aportes extrínsecos o ambientales que podrían explicarla, por ejemplo el régimen hídrico del arroyo, la temperatura del agua, el incremento de poblaciones de caracoles o el cambio en las preferencias dietarias de los renacuajos con el aumento del tamaño del disco oral.

La dominancia del oxyuroideo *G. chabaudi* coincide con los estudios previos de ecología de comunidades de helmintos en larvas de anuros (Kehr y Hamann, 2003; Rhoden y Bolek, 2012, 2015). La falta de diferencias de las prevalencias y de las abundancias de *G. chabaudi* entre ambas épocas de muestreo (otoño 2016-primavera 2017) estaría indicando el eficiente uso de ambas modalidades de colonización que posee este nematode de ciclo directo, garantizando la continuidad del ciclo biológico a lo largo de toda la fase larval de los anfibios. Las metacercarias de *Diplostomoidea* gen. sp. presentan mayor prevalencia y abundancia en primavera. Curiosamente su prevalencia fue tan baja en otoño que en la muestra no alcanzó el nivel necesario como para considerarla componente del ensamble ($P = 6,9\%$). Debido a que no se pudo, establecer la identidad taxonómica de este trematode, sería apresurado pensar en los potenciales hospedadores involucrados en su transmisión. Probablemente acceden a las larvas de *B. pulchella* en forma activa, a través de la piel, o pasiva por la ingestión de las furcocercarias emergidas de algún gasterópodo que cohabita el mismo ecosistema. Restan investigar las especies de caracoles en el arroyo El Belisario que podrían servir de hospedadores intermediarios primarios, aunque las observaciones preliminares indican que el pulmonado *Chilina parchappii* (d'Orbigny, 1835) (Gastropoda; Chiliniidae) abunda en el ambiente. Hallazgos previos indican que *Ch. parchappii* de este sitio alberga furcocercarias,

aunque no se logró establecer su filiación taxonómica (Com. pers., Tanzola). Martín (1999) estudió la ecología de varias especies de gasterópodos en el Arroyo Napostá Grande, un sistema lótico perteneciente a misma cuenca hidrográfica de Ventania y señaló que *Ch. parchappii* posee neonatos durante la mayor parte del año, encontrándose en el otoño las tallas más pequeñas mientras en la primavera y el verano la especie desarrolla crecimiento corporal logrando las mayores biomásas somáticas. En este escenario, la disponibilidad de mayor número de caracoles de talla adecuada para ser parasitados por miracidios en primavera permitiría un incremento en la producción y liberación de furcocercarias al medio, determinando una mayor exposición de las larvas de anfibios a estos estadios infectivos. Es necesario realizar futuros estudios para poder describir con precisión el ciclo biológico de esta especie de trematode. Si bien se aprecia una amplitud térmica considerable en ambas épocas de muestreo, la frecuencia de precipitaciones fue mayor en primavera 2017 que en otoño 2016 (Tabla 1). Tales condiciones meteorológicas combinadas con el comportamiento reproductivo de los caracoles pulmonados, propiciarían en primavera un aumento en la disponibilidad de larvas infectivas de trematodes (furcocercarias).

Es llamativa la escasa representación del trematode *Catadiscus uruguayensis* en las larvas estudiadas, patrón que contrasta con los hallazgos de Kehr y Hamann (2003) en larvas de *Pseudis paradoxa* Lineo 1758, estudiados en estanques naturales de la provincia de Corrientes, en el Noreste de Argentina, donde tanto *Gyrinocola* sp. como *Catadiscus* sp. fueron co-dominantes en los ensambles de helmintos, con prevalencias superiores al 80%. Las diferencias observadas con el presente trabajo pueden radicar en la escasez de caracoles planórbidos (*Biomphalaria* spp.) en el arroyo El Belisario, dado que estos gasterópodos han sido reportados como hospedadores naturales de esta especie de trematode (Kehr y Hamann, 2003).

Los resultados del presente trabajo son consistentes con antecedentes previos que indican que las comunidades de helmintos en anuros se caracterizan por su alta variabilidad, escasez de individuos y pobreza de especies formando conjuntos no interactivos (Aho, 1990). Así mismo, permitió corroborar el rol significativo en la estructuración comunitaria que cumplen tanto las condiciones abióticas locales (estacionalidad, temperatura, régimen de lluvias y disponibilidad hídrica del curso de agua) como bióticas (aumento de la riqueza específica en función de la edad de las larvas, relacionada probablemente por cambios tróficos, regulación del parasitismo por metacercarias por efecto de la abundancia de caracoles pulmonados).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Andrea Long y Carlos Villamil por su asesoramiento en flora del sitio de muestreo. El presente trabajo fue financiado por la Universidad Nacional del Sur (PGI UNS 24/B238 y 24/B275).

LITERATURA CITADA

- Aho JM. 1990. Helminth communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and process. En: Esch G, Bush A, Aho J. (Eds.). Parasite communities: Patterns and Processes. Chapman and Hall, London, United Kingdom: 157-195.
- Araujo P, Artigas PT. 1982. *Gyrinocola chabaudi* n. sp. (Nematoda, Pharyngodonida), oxiurídeo encontrado en girinos. *Memórias do Instituto Butantan* 44/45: 383-390.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575-583.
- Campo AM, Capelli de Steffens A, Diez P. 2004. El clima del Suroeste bonaerense. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. 99 pp.
- Casado AL, Gil V, Campo AM. 2006/2007. Consecuencias de la variación de la disponibilidad hídrica en la cuenca del arroyo El Belisario, Buenos Aires, Argentina. *Huellas* 11: 9-26.
- Dubois A. 2017. The nomenclatural status of *Hysaplesia*, *Hylaplesia*, *Dendrobates* and related nomina (Amphibia, Anura), with general comments on zoological nomenclature and its governance, as well as on taxonomic data bases and websites. *Bionomina* 11: 1-48.
- Gibson DI, Jones A, Bray RA (Eds.). 2002. Keys to the Trematoda (Vol. 1). CABI Publishing and The Natural History Museum, London, United Kingdom. 521 pp.
- Gilderhus P, Marking L. 1987. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* 7: 288-292.
- González CE, Hamann MI. 2005. *Gyrinocola chabaudi* Araujo & Artigas, 1982 (Nematoda: Pharyngodonidae) in tadpoles of *Scinax nasicus* (Cope, 1862) (Anura: Hylidae) from Corrientes, Argentina. *FACENA* 21: 143-146.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Hamann MI, González CE. 2009. Larval digenetic trematodes in tadpoles of six amphibian species from Northeastern Argentina. *Journal of Parasitology* 95: 623-628.

- Heredia J. 2008. Anfibios del Centro de Argentina. Editorial L.O.L.A. Buenos Aires, Argentina. 99 pp.
- Kehr AI, Williams JD. 1990. Larvas de anuros de la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología. Serie Monográfica* 2. 44 pp.
- Kehr AI, Basso N. 1992. Consideraciones sobre la estructura de edades, supervivencia y tiempo de metamorfosis en los estados larvales de *Hyla pulchella pulchella* (Anura: Hylidae). *Acta Zoológica Lilloana* 41:125-133.
- Kehr AI, Hamann MI. 2003. Ecological aspect of parasitism in the tadpole of *Pseudis paradoxa* from Argentina. *Herpetological Review* 34: 336-341.
- Kwet A, Aquino L, Lavilla E, di Tada I. 2004. *Hypsiboas pulchellus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2014.3. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T55619A11340514>. Último acceso 31 de julio de 2018.
- Lutz A. 1935. Beobachtungen und Betrachtungen über Cyathocotylinen und Prohemistominem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 30: 157-182.
- Magurran AE. 1988. Ecological diversity and its measurements. Princeton University Press. Princeton, United States. 178 pp.
- Martín PR. 1999. Estudios ecológicos sobre gasterópodos del Arroyo Napostá Grande. Tesis Doctoral 428, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. 286pp.
- Morales G, Pino LA. 1987. Parasitología Cuantitativa. Fundación Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela. 132 pp.
- Ostrowski de Núñez M. 1978. Fauna de agua dulce de la República Argentina. IX. Sobre representantes de la familia Paramphistomatidae (Trematoda). *Physis* 38: 55-62.
- Pierce CC, Shannon RP, Bolek MG. 2018. Distribution and reproductive plasticity of *Gyrinicola batrachiensis* (Oxyuroidea: Pharyngodonidae) in tadpoles of five anuran species. *Parasitology Research* 117: 461-47.
- Rhoden HR, Bolek MG. 2012. Helminth and leech community structure in tadpoles and caudatan larvae of two amphibian species from western Nebraska. *Journal of Parasitology* 98: 236-244.
- Rhoden HR, Bolek MG. 2015. Helminth community structure in tadpoles of northern leopard frogs (*Rana pipiens*) and Woodhouse's toads (*Bufo woodhousii*) from Nebraska. *Parasitology Research* 114: 4685-4692.
- Sheena P, Manjula KT, Subair KT, Janardanan KP. 2007. The life cycle of *Mesostephanus indicum* Mehra, 1947 (Digenea: Cyathocotylidae). *Parasitology Research* 101: 1015-1018.
- Siegel S, Castellan NJ. 1995. Estadística no Paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Editorial Trillas, México. 437 pp.
- Tanzola RD, Villegas Ojeda MA. 2017. *Argulus ventanensis* sp. n. (Crustacea, Branchiura) parasite of *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 12: 218-226.

Recibido: 1 de agosto de 2018

Aceptado: 15 de enero de 2019

Estudio serológico de un presunto brote causado por el consumo de carne de puma infectada con *Trichinella patagoniensis* en El Calafate, Santa Cruz (Argentina)

Serological study of a supposed outbreak caused by consumption of cougar meat infected with *Trichinella patagoniensis* in El Calafate, Santa Cruz (Argentina)

Krivokapich Silvio Jesús¹, Arbusti Patricia Andrea¹, Ayesa Graciana Evangelina¹, Gonzalez Prous Cinthia Lorena¹, Gatti Graciana Mabel¹, Saldía Luisa²

RESUMEN: La trichinellosis es una zoonosis parasitaria de alto impacto en la salud pública en Argentina. En Junio de 2008, ocho personas adultas de la localidad de El Calafate, (Provincia de Santa Cruz, Argentina), consumieron carne de puma (*Puma concolor*) infectada con la especie autóctona *Trichinella patagoniensis*. Las muestras de sueros de los pacientes se analizaron mediante ELISA y Western blot, empleando el antígeno de Excreción/Secreción (E/S) de *T. spiralis* y de *T. patagoniensis*. El análisis serológico reveló tres pacientes positivos de los ocho analizados, y un único paciente mostró seroconversión cuando se empleó el antígeno de E/S de *T. spiralis*. Sin embargo, en el análisis por Western blot utilizando el antígeno de E/S de *T. patagoniensis* se detectaron anticuerpos desde la primera muestra en los tres pacientes positivos. Aunque, la serología positiva de los pacientes vinculados al consumo de carne parasitada con *T. patagoniensis* sugiere una infección por esta especie de *Trichinella*, la falta de manifestaciones clínicas de la enfermedad no permite clasificarlo como un brote. Este hallazgo junto al de otros pumas parasitados con *T. patagoniensis*, destinados a consumo humano, revelan el riesgo de infección que representa esta especie autóctona descrita en Argentina, probablemente presente en toda la región Neotropical.

Palabras clave: Patagonia, *Puma concolor*, *Trichinella patagoniensis*, Trichinellosis.

ABSTRACT: Trichinellosis is a parasitic zoonosis with a high impact on public health in Argentina. In June 2008, eight adult patients from the locality El Calafate (Santa Cruz Province, Argentina) consumed cougar (*Puma concolor*) meat infected with the autochthonous species *Trichinella patagoniensis*. Patients' serum samples were analyzed by ELISA and Western blot, using the excretion/secretion (E/S) of *T. spiralis* and *T. patagoniensis*. Serodiagnosis indicated that three of the eight patients were positive; one of them showed seroconversion using E/S antigen of *T. spiralis*. However, antibodies against the E/S antigen of *T. patagoniensis* were detected by Western blot from the first sample in the three positive patients. Although the positive serology of patients involved in the consumption of food infected with *T. patagoniensis* suggest an infection by this *Trichinella* species, the lack of clinical evidence do not allow to classify it as an outbreak. This finding, together with the presence of other cougars infected with *T. patagoniensis*, that were intended for human consumption, reveals the health risk of infection represented by this autochthonous species described in Argentina, probably present throughout the Neotropical Region.

Keywords: Patagonia, *Puma concolor*, *Trichinella patagoniensis*, Trichinellosis.

INTRODUCCIÓN

La trichinellosis es una zoonosis parasitaria producida por el consumo de carne y/o productos derivados de cerdos domésticos y animales silvestres infectados por larvas del género *Trichinella*, presentes en la musculatura. El parásito infecta un amplio rango de hospederos y presenta una extensa distribución geográfica a nivel mundial. En Argentina, la trichinellosis representa un problema con alto impacto en la salud pública. En el período 2007-2017

se notificaron 7.463 casos de trichinellosis humana en el país (Boletín Integrado de Vigilancia, 2007-2017). El género *Trichinella* está compuesto por nueve especies y tres genotipos (Pozio y Zarlenga, 2013). La identificación a nivel de especie de las larvas provenientes de los alimentos implicados en brotes humanos de trichinellosis en Argentina, indica que *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) es el principal agente causal de la trichinellosis (Krivokapich et al., 2006, Calcagno et al., 2014, Krivokapich, 2014, Villamil

¹Departamento de Parasitología, INEI, ANLIS, "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina, ² Programa para el Control de la Hidatidosis; Hospital Dr. José Formenti, El Calafate, Santa Cruz, Argentina.

et al., 2013, Zotta et al, 2016). No obstante, se han detectado otras especies de este género que circulan en Argentina como *Trichinella pseudospiralis* (Garkavi, 1972) y *Trichinella britovi* (Pozio, La Rosa, Murrell & Lichtenfels, 1992), que habrían sido introducidas luego de la colonización europea, de manera análoga a la de *T. spiralis* (Krivokapich et al, 2015, 2019), mientras *Trichinella patagoniensis* es, en la actualidad, la única especie autóctona de *Trichinella* hallada en la región Neotropical (Krivokapich et al., 2012).

El objetivo del presente estudio es describir un presunto brote de trichinellosis en pacientes que habían ingerido carne de un puma parasitada por *T. patagoniensis* en la localidad de El Calafate (Santa Cruz, Argentina).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el Departamento de Parasitología, INEI, ANLIS, "Dr. Carlos G. Malbrán", se procesaron muestras de suero humano, que según la información epidemiológica adjunta provenían de un presunto brote de trichinellosis. El 11 de Junio de 2008, ocho personas adultas, de sexo masculino, consumieron carne de un puma (*Puma concolor*, Lineo 1771) en la localidad de El Calafate (Provincia Santa Cruz, Argentina, 50°20'S, 72°17'O). El alimento se analizó por la técnica de digestión artificial (DA) y se detectó positivo para *Trichinella*, un día después que los implicados consumieran parte de un costillar del animal citado, con una intensidad de infección de 5 larvas por gramo. Las larvas musculares se hallaron viables e infectivas y fueron identificadas a nivel especie como *T. patagoniensis*. Al día siguiente de la DA, los pacientes recibieron asistencia médica y fueron tratados inmediatamente con albendazol 10 mg/Kg/día durante siete días. El incremento de eosinófilos y de enzimas musculares está asociado a las infecciones tempranas por *Trichinella* (Capo y Despommier, 1996). Según la información remitida en la ficha epidemiológica, los análisis de laboratorio provenientes de seis de los implicados, no mostraron valores elevados de creatinfosfoquinasa (CPK) y solo dos evidenciaron eosinofilia (8-11%) (Tabla 1), mientras que ninguno de los ocho pacientes presentó signos o síntomas clínicos de la enfermedad.

Análisis serológico

La infección por *Trichinella* presenta un periodo de ventana inmunológica prolongado, el algoritmo diagnóstico por el sistema de ELISA/Western blot requiere la toma de muestras seriadas para detectar la seroconversión. Las primeras muestras de suero se colectaron de seis pacientes, nueve días después de haber consumido el alimento infectado y cuatro días más tarde se tomaron muestras de suero de los restantes dos. Mientras que las segundas muestras

se obtuvieron únicamente de cuatro pacientes y se recibieron 63 días después de la ingestión de la carne de puma parasitada por *T. patagoniensis* (Tabla 1).

Inicialmente, las muestras se procesaron de acuerdo al algoritmo del serodiagnóstico, mediante el sistema de tamizaje por ELISA y confirmación por Western blot, utilizando el antígeno de E/S de *T. spiralis*. Posteriormente, se analizaron empleando el método de detección por Western blot, con el antígeno de E/S de *T. patagoniensis*, con el fin de evaluar un posible incremento de la sensibilidad del método mediante el uso de un antígeno específico.

Obtención del antígeno

En los ensayos serológicos se utilizó el antígeno E/S de larvas L1. Se obtuvieron dos antígenos de E/S, uno a partir de un aislamiento de *T. spiralis* y el otro de *T. patagoniensis*, registrados en el Centro de Referencia Internacional de *Trichinella* (<https://trichinella.iss.it>) con los códigos ISS643 y ISS2311, respectivamente. Las larvas L1 fueron obtenidas por digestión artificial de tejido muscular de ratones CF-1 (Gamble et al., 2000). Se lavaron tres veces en solución salina tamponada con fosfato (PBS) pH 7,2 y se cultivaron 18 hs en medio de cultivo DMEM adicionado con 2mM de L-glutamina, 10 mM HEPES y antibióticos (penicilina G 100U/ml, estreptomycin, 100 mg/ml, 1 ml cada 100 ml de solución) a 37 °C con 5% de CO₂ en 1 ml de solución cada 5000 larvas. Se obtuvo el sobrenadante del cultivo y los productos de E/S fueron concentrados por centrifugación (Centriplus YM-10) y conservados a -70 °C. La concentración de proteínas totales fue determinada por medio del método de Bradford (1976).

ELISA

La técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) se realizó sobre una placa sólida de polivinilo con pocillos de fondo plano de pegado máximo (Maxisorp). Los pocillos se sensibilizaron con 100 µl de antígeno diluido a una concentración de 50 µg/placa, en buffer carbonato-bicarbonato pH 9,6. La placa con el antígeno de *T. spiralis* diluido se incubó durante toda la noche a 4 °C. Posteriormente, se lavó tres veces durante 3 minutos con solución PBS-Tween 20 al 0,05% y se incubó 30 minutos a 37 °C con PBS-Tween 20 al 0,05 % / albúmina 3 %. Se realizaron 3 enjuagues con la solución de lavado y la placa quedó en condiciones de uso. Para la prueba, se colocó 100 µl de suero incógnita diluido 1/250 en PBS-Tween 20 al 0,05 % / albúmina 3 % y se incubó 30 minutos a 37 °C. Se lavó tres veces como se indicó anteriormente. Se adicionó en cada pocillo 100 µl de suero de cabra anti IgG humana, conjugado con peroxidasa de rábano picante (Sigma Aldrich, A8667) en PBS-Tween 20 al 0,05 %, albúmina 3 %, se incubó 30 minutos a 37 °C.

Se lavó nuevamente tres veces. La reacción de color se desarrolló a temperatura ambiente por agregado de 100 µl/pocillo de 0,04 % de ortofenilendiamina (OPD) y 0,1 % de H₂O₂ en buffer citrato de sodio pH 5. Luego se incubó 5 minutos en oscuridad. La reacción de color se leyó a 450 nm en un lector de ELISA (BIO-TEK- ELx800). Se consideraron no reactivos los sueros que arrojaron una densidad óptica inferior a 0,211 y reactivos a los que exhibieron un valor superior a 0,339, mientras que los valores entre 0,211 y 0,339 se interpretaron como indeterminados.

Western blot

Las proteínas del antígeno E/S de *T. spiralis* y de *T. patagoniensis* fueron separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% en una cuba Bio-Rad Mini-Protean III a voltaje constante de 150 V por 1 hora. Luego se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Bio rad, 162-0115) a 100V durante una hora. Las membranas se bloquearon toda la noche con PBS-Tween 20/ leche 5% en agitación permanente. Se enjuagaron tres veces durante 10 minutos con solución de lavado. Luego, cada membrana transferida se incubó con el suero incógnita, diluido 1:100, durante una hora con agitación permanente. Se enjuagaron tres veces durante 10 minutos con solución de lavado. Luego se hicieron reaccionar con suero de cabra anti IgG humana conjugado con peroxidasa (Sigma Aldrich A8667), una hora a temperatura ambiente con agitación permanente. Se enjuagaron nuevamente con solución de lavado, tres veces durante 10 minutos. Se revelaron con solución diaminobencidina- H₂O₂ (Sigma D5905-100 TAB) al 0,05%. El Western blot se consideró positivo cuando se observaron bandas de precipitación correspondientes a los antígenos identificados por los pesos moleculares de 45, 49 y 53 kDa.

RESULTADOS

De los ocho pacientes analizados por serología empleando el antígeno E/S de *T. spiralis*, se detectaron tres positivos, reactivos o indeterminados por la técnica de ELISA y confirmados por Western blot (Tabla 1, Fig. 1A). Dos pacientes fueron positivos en la primera y segunda muestras de suero tomadas a los 9 y 63 días, respectivamente, luego de la ingestión de carne de puma infectada con *T. patagoniensis* mientras que el otro paciente mostró seroconversión, ya que fue negativo en la primera y positivo en la segunda muestra. El estudio de los sueros de estos tres pacientes mediante Western blot empleando el antígeno E/S de *T. patagoniensis* arrojó un resultado similar, a excepción del paciente que evidenció seroconversión con el E/S de *T. spiralis* que fue positivo tanto en la primera como en la segunda muestra (Fig. 1B).

Las muestras de suero de los restantes cinco pacientes fueron reactivas, no reactivas o indeterminadas por ELISA y todas resultaron negativas por Western blot. Éstas incluyen a los casos de los pacientes 4 y 5, que presentaron eosinófilos elevados (Tabla 1, Fig. 1).

DISCUSIÓN

El estudio serológico de las personas que ingirieron carne de puma infectado con *T. patagoniensis*, en la localidad de El Calafate, reveló tres pacientes positivos de los ocho analizados. En el serodiagnóstico con antígeno E/S de *T. spiralis*, el paciente 3 mostró seroconversión, ya que la primera muestra de suero tomada nueve días luego del consumo de la carne de puma, fue negativa y la segunda muestra, tomada 63 días después, evidenció la presencia de anticuerpos anti-*Trichinella*, mientras que los pacientes 1 y 2 fueron positivos desde el inicio del análisis. Los anticuerpos

Tabla 1. Resultados del análisis de laboratorio y el estudio serológico mediante el sistema ELISA empleando el antígeno de E/S de *T. spiralis*

Paciente	CPK ¹ (UI/L)	Eosinófilos ² (%)	Serología 9 dpc ³		Serología 13 dpc ³		Serología 63 dpc ³	
			DO ⁴	ELISA	DO ⁴	ELISA	DO ⁴	ELISA
1	116	0	0,808	Reactivo	-	-	0,922	Reactivo
2	107	4	0,685	Reactivo	-	-	0,824	Reactivo
3	180	4	0,299	Indeterminado	-	-	0,730	Reactivo
4	117	8	0,031	No Reactivo	-	-	0,075	No Reactivo
5	75	11	0,086	No Reactivo	-	-	-	-
6	43	4	0,245	Indeterminado	-	-	-	-
7	-	-	-	-	0,067	No Reactivo	-	-
8	-	-	-	-	0,472	Reactivo	-	-

Valores de referencia: ¹CPK, Creatinfosfoquinasa, 26-195UI/L; ²Eosinófilos: 2-4%. ³dpc: días post consumo de la carne parasitada con *T. patagoniensis*. ⁴DO: densidad óptica.

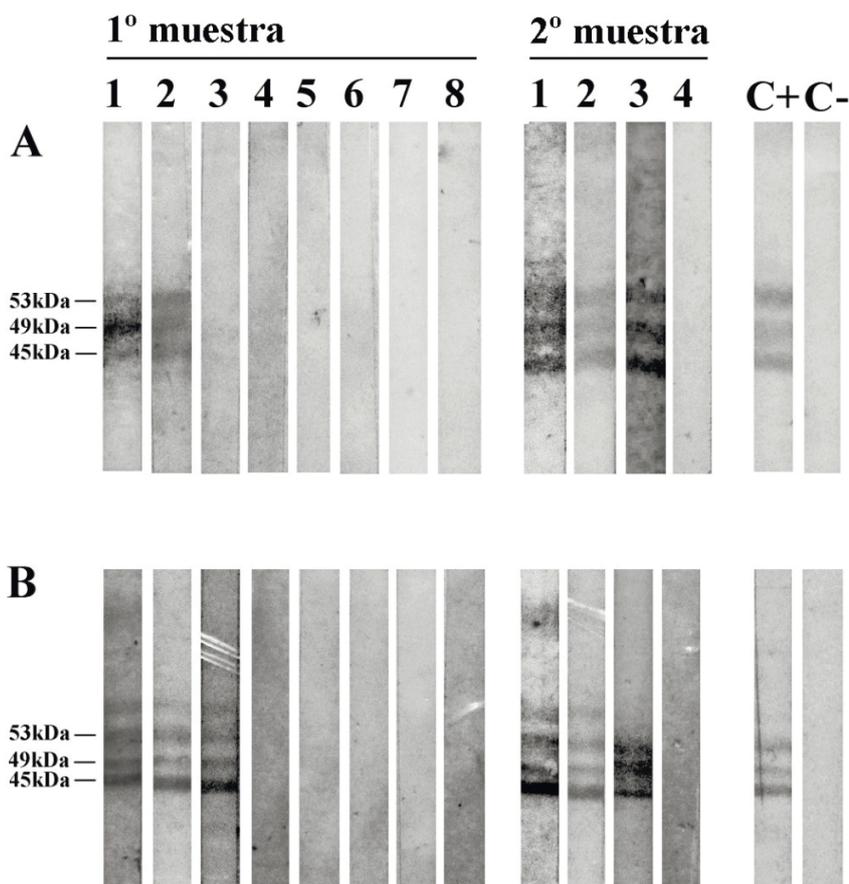


Figura 1. Análisis mediante Western blot con antígenos de excreción/secreción de *T. spiralis* (A) y de *T. patagoniensis* (B) de los sueros de los pacientes infectados (1 a 8). Izquierda: pesos moleculares de las bandas antigénicas específicas de una infección por *Trichinella*. Derecha: C- Suero de persona de área no endémica de trichinellosis. C+ Pool de sueros de pacientes con trichinellosis confirmada.

detectados en la primera muestra de suero pueden corresponder a una infección previa por *Trichinella*, ya que las IgG específicas suelen persistir por años, en tanto que la seroconversión señala una infección aguda del parásito, dado que en humanos los anticuerpos se evidencian entre la segunda y quinta semana después de la infección (Yang *et al.*, 2016). Sin embargo, el análisis por Western blot utilizando el antígeno de E/S de *T. patagoniensis* detectó anticuerpos desde la primera muestra, en los tres pacientes positivos. La detección serológica por ambos tipos de antígenos está en concordancia con la reactividad cruzada observada con productos de E/S de distintas especies de *Trichinella* (Yang *et al.*, 2016). La mayor sensibilidad de detección del E/S de *T. patagoniensis* frente al E/S de *T. spiralis* podría asociarse a la utilización de un antígeno de la misma especie del parásito que causó la infección. Sin embargo, los ensayos serológicos no son recomendados para la identificación a nivel especie en *Trichinella* (Gamble *et al.*, 2004).

En las infecciones humanas por *Trichinella* es habitual la detección de eosinofilia y el incremento de las enzimas musculares, como la CPK, entre la segunda y quinta semana luego de la infección (Capo y Despommier, 1996; Gottstein *et al.*, 2009). La información epidemiológica adjunta a las muestras de sueros que se enviaron no revela valores alterados de

elevados únicamente en los pacientes 4 y 5, que resultaron negativos a la serología. No obstante, estos análisis se realizaron en muestras de sangre extraídas a solo nueve días del consumo del alimento infectado. Ninguno de los implicados manifestó signos ni síntomas característicos de la enfermedad. La ausencia de evidencia clínica de trichinellosis podría deberse a que los pacientes recibieron el tratamiento temprano con albendazol, durante la fase inicial de infección con *T. patagoniensis*. Este antihelmíntico es altamente efectivo contra los parásitos adultos durante la etapa intestinal de la infección, y previene que se establezcan las larvas L1 en el músculo del hospedero (Siriya-satien *et al.*, 2003). Los resultados de serología positiva de los tres pacientes vinculados al consumo de carne parasitada con larvas viables e infectivas de *T. patagoniensis* sugieren una infección por esta especie, pero la falta de manifestaciones clínicas no permiten confirmar un brote por este genotipo autóctono.

En Argentina, el hallazgo de pumas parasitados con *T. patagoniensis*, provenientes de las provincias de Río Negro y Catamarca (Krivokapich *et al.*, 2008, 2012), revelan el riesgo de infección por el consumo de animales silvestres que representa la presencia de esta especie autóctona, y probablemente con ocurrencia en toda la región Neotropical. Adicionalmente, en Argentina, también se han reportado infecciones

humanas por consumo de carne de puma y jabalí infectados con *T. spiralis* (Krivokapich, 2014, Villamil et al., 2013). Esto indica, que más allá de la especie de *Trichinella* implicada, se debe enfatizar en el riesgo zoonótico que constituye el consumo de animales de caza.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a Raúl Lasala por facilitarnos información clínica sobre los pacientes y a Marcela Monfellano por su asistencia técnica.

LITERATURA CITADA

- Boletín Integrado de Vigilancia, 2007-2017. Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación, República Argentina www.msal.gov.ar/index.php/home/boletin-integrado-de-vigilancia. Último acceso 07 agosto 2018.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Calcagno MA, Bourlot I, Taus R, Saracino MP, Venturiello SM. 2014. Description of an outbreak of human trichinellosis in an area of Argentina historically regarded as *Trichinella*-free: the importance of surveillance studies. *Veterinary Parasitology* 200: 251-256.
- Capó V, Despommier D. 1996. Clinical aspects of infection with *Trichinella* spp. *Clinical Microbiology Reviews* 9: 47-54.
- Gamble HR, Bessonov AS, Cuperlovic K, Gajadhar AA, van Knapen F, Noeckler K, Schenone H, Zhu X. 2000. International commission on trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Veterinary Parasitology* 93: 393-408.
- Gamble HR, Pozio E, Bruschi F, Nöckler K, Kapel CMO, Gajadhar AA. 2004. International commission on trichinellosis: recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man. *Parasite* 11: 3-13.
- Gottstein B, Pozio E, Nöckler K. 2009. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clinical Microbiology Reviews* 22: 127-145.
- Krivokapich SJ, Molina V, Bergagna HFJ, Guarnera EA. 2006. Epidemiological survey of *Trichinella* infection in domestic, synanthropic and sylvatic animals from Argentina. *Journal of Helminthology* 80: 267-269.
- Krivokapich SJ, González Prous CL, Gatti GM, Confalonieri V, Molina V, Matarasso H, Guarnera E. 2008. Molecular evidence for a novel encapsulated genotype of *Trichinella* from Patagonia, Argentina. *Veterinary Parasitology* 156: 234-240.
- Krivokapich SJ, Pozio E, Gatti GM, González Prous CL, Ribicich M, Marucci G, La Rosa G, Confalonieri V. 2012. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. *International Journal for Parasitology* 42: 903-910.
- Krivokapich S. 2014. Identificación, distribución geográfica y transmisión de *Trichinella*. En: Basualdo Farjat J, Enría D, Martino P, Rosenzvit M, Seijo A. (Eds.). Temas de Zoonosis VI, Asociación Argentina de Zoonosis. Buenos Aires, Argentina: 459-465.
- Krivokapich S, González Prous CL, Gatti GM, Saldía L. 2015. First finding of *Trichinella pseudospiralis* in the Neotropical region. *Veterinary Parasitology* 208: 268-271.
- Krivokapich S, Gatti GM, González Prous CL, Degese MF, Arbusti PA, Ayesa GE, Bello GV, Salomón MC. 2019. Detection of *Trichinella britovi* in pork sausage suspected to be implicated in a human outbreak in Mendoza, Argentina. *Parasitology International* 71: 53-55.
- Pozio E, Zarlenga DS. 2013. New pieces of the *Trichinella* puzzle. *International Journal for Parasitology* 43: 983-997.
- Siriyasatien P, Yingyoud P, Nuchprayoon S. 2003. Efficacy of albendazole against early and late stage of *Trichinella spiralis* infection in mice. *Journal of the Medical Association of Thailand* 86: S257-262.
- Villamil J, Krivokapich S, Ribicich M. 2013. Análisis epidemiológico de trichinellosis en humanos y jabalíes del Departamento de Utracán, La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* 8: 16-19.
- Yang Y, Cai YN, Tong MW, Sun N, Xuan YH, Kang YJ, Vallée I, Boireau P, Cheng SP, Liu MY. 2016. Serological tools for detection of *Trichinella* infection in animals and humans. *One Health* 2: 25-30.
- Zotta CM, Silva A, Pili N, Colino C, Bienaimé S, Peñalver PA, López Miranda L, Hollmann P, Ayesa G, Krivokapich S, Arbusti A, Buonarrotti A, Lavayén S, Gatti G, González Prous C, Bolpe J. 2016. Brote de trichinellosis en Mar del Plata - 2014. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* 11: 15-24.

Recibido: 12 de agosto de 2018

Aceptado: 28 de enero de 2019

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE INFECCIONES PARASITARIAS INTESTINALES EN POBLACIONES INFANTO-JUVENILES DE ARGENTINA: EL IMPACTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES Y SOCIO-ECONÓMICOS EN SU DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Paola Cociancic (paolacociancic@cepave.edu.ar)

Título obtenido: Doctora en Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata

Fecha de defensa: 18/03/2019

Directores: Graciela T. Navone y María L. Zonta

Miembros del Tribunal Evaluador: Guillermo Denegri, Fabiana Drago y Ximena Porcasi

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo de tesis fue realizar un diagnóstico territorial de las parasitosis intestinales en poblaciones infanto-juveniles pertenecientes a diferentes eco-regiones de Argentina, a fin de identificar áreas vulnerables a la presencia y los patrones de distribución de de las enteroparasitosis. Para ello, se realizó un estudio transversal de las enteroparasitosis halladas, evaluando las variables ambientales y socio-económicas, asociadas a las enteroparasitosis presentes en las mascotas convivientes.

Se analizaron muestras de 3937 niños y jóvenes de ambos sexos (50,5% mujeres y 49,5% varones) menores de 14 años de edad en las provincias de Buenos Aires, Chubut, Entre Ríos, Formosa, Mendoza y Misiones. El número de participantes y el año del relevamiento fueron: Buenos Aires (n=1411; 2005-2008 y 2010-2016), Chubut (n=377; 2010-2013 y 2017), Entre Ríos (n=268; 2010-2012), Formosa (n=114; 2014), Mendoza (n=752; 2008-2011) y Misiones (n=1015; 2005-2008). El 67% de individuos analizados estuvo parasitado, hallándose 17 especies parásitas, siendo las más prevalentes: *Blastocystis* sp., *Enterobius vermicularis* y *Giardia lamblia*. Entre los geohelmintos, los ancylostomídeos (*Ancylostoma duodenale* / *Necator americanus*) y *Strongyloides stercoralis* fueron los más frecuentes seguidos de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*. El parasitismo múltiple fue mayor respecto del monoparasitismo (53,3% y 46,7%, respectivamente) y hasta un máximo de ocho especies parásitas fue encontradas en un mismo individuo. La prevalencia de las parasitosis fue mayor en Misiones (82,1%) y Formosa (78,1%), seguidas por Buenos Aires (66,8%), Mendoza (61,8%), Entre Ríos (58,6%) y Chubut (38,7%). El riesgo de infección parasitaria fue mayor en Misiones (OR=7,2) y en Formosa (OR=5,6) respecto de Chubut. Asimismo, los protozoos y helmintos fueron más prevalentes en Formosa y Misiones, y los geohelmintos estuvieron ausentes en Chubut.

De las técnicas copromicroscópicas empleadas, el método de Ritchie fue más sensible para el diagnóstico de *Blastocystis* sp., *G. lamblia* y *Entamoeba coli* respecto del método FLOTAC Pellet. Por el contrario, este último, con las soluciones flotantes de sulfato de zinc (SF3) y de cloruro de sodio (SF2) (densidad=1,2) fueron más sensibles para el diagnóstico de *Hymenolepis nana*. Los valores predictivos negativos fueron mayores a 92% y los índice Kappa mostraron mayoritariamente una concordancia considerable entre técnicas. Además, la técnica de escobillado anal permitió detectar un mayor número de individuos parasitados por *E. vermicularis* seguidas por SF3 y SF2.

El análisis de las variables ambientales indicó que las altas prevalencias de parasitosis halladas en Misiones y Formosa se corresponden con las condiciones ambientales, que son más favorables para la transmisión parasitaria. Los factores de riesgo fueron la temperatura media de los meses de verano, la isotermalidad, la temperatura media del trimestre más húmedo y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Este último junto con la generación y evaluación de mapas de uso/cobertura del suelo a partir de imágenes satelitales, mostró que los suelos de Misiones y Formosa, constituidos principalmente por vegetación alta vigorosa y vegetación baja de uso agropastoril, son el ambiente más adecuado para la infección por ancylostomídeos.

El análisis de las variables socio-económicas mostró que las poblaciones con condiciones sanitarias insuficientes estuvieron más parasitadas. Los factores de riesgo de parasitosis fueron: viviendas construidas con materiales precarios y pisos de tierra en algún ambiente; falta de agua de red, cloacas y recolección pública de residuos; hacinamiento (compartir cama simple); nivel educativo básico e inestabilidad laboral de los padres. Además, el análisis de distribución geográfica permitió observar que las parasitosis fueron más frecuentes en áreas no urbanas de Buenos Aires, donde las viviendas presentaban condiciones sanitarias inadecuadas, siendo el riesgo de parasitosis en esas poblaciones mayor que en aquellos individuos que vivían a menos de 150 metros de un curso o cuerpo de agua.

El análisis de las enteroparasitosis en perros permitió evaluar las de importancia zoonótica. Un 82,1% de los perros examinados estuvo parasitado, diagnosticándose 11 especies parásitas, siendo las más prevalentes *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis* y *Toxocara canis*, todas con importancia zoonótica. El 67,8% de los niños y jóvenes convivientes con las mascotas estuvo parasitado, hallándose 11 especies parásitas en esa población, siendo las más prevalentes *Blastocystis* sp., *E. vermicularis* y *G. lamblia*. El riesgo de infección en los individuos examinados estuvo relacionado principalmente con prácticas de higiene insuficientes como no lavarse las manos luego de tocar a las mascotas y comerse las uñas, y a factores socio-económicos como habitar en viviendas con anegamiento frecuente y tener padres con un nivel educativo primario.

Los resultados alcanzados dan cuenta de la heterogeneidad en la distribución de las parasitosis intestinales en concordancia con la variabilidad ambiental y socio-económica que caracteriza al territorio de la Argentina.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

REVISTA ARGENTINA DE PARASITOLOGIA

(Órgano de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina)

ISSN 2313-9862

La *Asociación Parasitológica Argentina (APA)* es una Institución Científica sin fines de lucro con Personería Jurídica (Folio de Inscripción 24264, Resolución DPPJ: 0113) y es Miembro de la World Federation of Parasitologists (WFP) y de la Federación Latinoamericana de Parasitología (FLAP). Su objetivo es reunir a la comunidad científica interesada en el estudio y en el desarrollo de la Parasitología en las distintas disciplinas que estudian a los parásitos tales como Medicina, Bioquímica, Veterinaria y Biología, propiciando su permanente contacto y comunicación y promocionando reuniones periódicas, conferencias, foros de discusión, cursos, simposios y talleres.

La *Revista Argentina de Parasitología (RAP- abreviatura Rev. Arg. Parasitol.)*, órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina, tiene el objetivo de difundir trabajos científicos relacionados con la Parasitología en todas sus Áreas. Procura de este modo, generar un espacio donde se den a conocer los avances de las diferentes líneas de investigación a nivel nacional e internacional, y se propicien los intercambios de experiencias de trabajo. De esta manera contribuye a la promoción, la difusión y el asesoramiento referidos a aspectos de su competencia: *propiciar un enfoque multidisciplinario de la Parasitología en nuestro país y para todo el mundo.*

Se reciben artículos científicos en todos los campos teóricos y aplicados de la Parasitología. Los manuscritos, en español o inglés, son sometidos a evaluación de pares con la modalidad doble ciego, participando un sistema de Editores Asociados y revisores especialistas de reconocida trayectoria nacional e internacional en la temática pertinente.

La revista es semestral, de publicación gratuita, de acceso abierto y se descarga a través de la página: www.revargparasitologia.com.ar o bien de la web de la APA: www.apargentina.org.ar

La Revista Argentina de Parasitología se sostiene con fondos de la APA, los cuales provienen principalmente del pago de cuotas societarias. De este modo, si bien no es condición para publicar, invitamos a todos los autores a formar parte de la Asociación.

1. CONTENIDO

La Revista Argentina de Parasitología considera

cuatro tipos principales de manuscritos: artículos originales, artículos de revisión, notas cortas y casos clínicos/reportes de casos. También publica, en la medida de la disponibilidad, otras contribuciones como reseñas de libros y/o eventos científicos, resúmenes de tesis y cartas al editor.

2. ASPECTOS GENERALES

El texto deberá ser escrito en formato Word, en letra Times New Roman, tamaño 12, interlineado doble, hoja A4, márgenes de 2,5 cm, sin justificar, incorporando números de líneas en forma continua y números de página en el margen inferior derecho en forma consecutiva. Los párrafos deben comenzar con tabulaciones de un centímetro.

Los nombres científicos de géneros y especies deben escribirse en cursiva. Las especies se escriben como binomio completo solamente la primera vez que se usan en cada sección, luego se abreviará el nombre genérico. El autor y el año de cada taxón parásito (sólo autor en el caso de los hospedadores) deben ser escritos únicamente la primera vez que se mencionan y se deberán incluir los nombres vulgares de los hospedadores.

En el texto, figuras y tablas se debe utilizar el sistema métrico decimal para la indicación de las medidas y grados Celsius para las temperaturas. Los números entre uno y nueve deben escribirse en letras. El tiempo de reloj se designará en el sistema de 24 horas. Para los puntos cardinales se utilizarán las iniciales N, S, E, O y sus combinaciones. Las coordenadas geográficas se emplearán de acuerdo al sistema sexagesimal.

Las diferentes expresiones latinas, (por ejemplo et al., sensu) se escribirán en cursiva.

No se aceptarán notas al pie de página.

3. ESTRUCTURA DE LOS MANUSCRITOS

Primera página

Deberá contener:

Título: se escribirá alineado a la izquierda sin justificar, en minúscula con negrita. Se recomienda incluir entre paréntesis la filiación taxonómica de la o las especies estudiadas.

Título en inglés: se escribirá saltando un renglón alineado a la izquierda sin justificar, en minúscula con negrita.

Título abreviado: se incluirá salteando un renglón con una extensión no mayor de 50 caracteres.

Título abreviado en inglés: se incluirá salteando un renglón.

Autores: dejando un renglón, se escribirán apellido seguido de nombres completos de los autores indicando con superíndice numérico, la filiación y dirección laboral. El nombre del autor para correspondencia deberá estar indicado además con asterisco como superíndice.

Filiación y dirección laboral del autor para correspondencia: se escribirá dejando un renglón y debe incluir la sección o departamento de la institución, nombre completo de la institución, dirección postal, localidad, país y correo electrónico.

Segunda página y siguientes:

-RESUMEN/ABSTRACT

Los manuscritos en español o inglés deben incluir un RESUMEN (en español) y un ABSTRACT (en inglés), seguido cada uno de ellos de Palabras Clave (en español) y Keywords (en inglés).

El resumen/abstract no sobrepasará las 300 palabras. Debe especificar claramente los objetivos, materiales y métodos, los resultados sobresalientes y las principales conclusiones.

Las palabras clave/key words, separadas por comas, no deben ser más de cinco por idioma, y deben ser indicativas del contenido del manuscrito (preferentemente palabras que no estén en el título ni en el resumen).

-Cuerpo del texto

Los artículos originales no deberán superar las 12000 palabras, los artículos de revisión las 15000 palabras, mientras que las notas cortas y casos clínicos/reportes de casos, las 3000 palabras.

Artículos originales

El manuscrito se dividirá en las siguientes secciones: INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS (si corresponde) y LITERATURA CITADA. Estos títulos se escribirán en mayúsculas y en negrita. Pueden emplearse subtítulos en minúscula y negrita, sin punto final y deberá escribirse en el renglón siguiente.

Artículos de revisión

Las revisiones corresponden a actualizaciones o consensos de grupos de trabajo acerca de temas de interés parasitológico en el ámbito regional o internacional. Sus autores deben ser especialistas en la temática y el texto debe incluir una revisión bibliográfica amplia y actualizada. No podrán exceder las 15000 palabras, y podrán incluir hasta 8 tablas o figuras y no más de 100 citas bibliográficas.

Casos clínicos/reportes de casos

Corresponden a resultados diagnosticados en pacientes con enfermedades parasitarias inusuales, con hallazgos patológicos novedosos o con nuevas asociaciones en procesos de una enfermedad, entre otros. El RESUMEN no debe exceder las 250 palabras. Debe incluir una INTRODUCCIÓN, la descripción del CASO y DISCUSIÓN. El cuerpo del texto no podrá exceder las 3000 palabras y no deberá tener más de 15 referencias ni más de dos Tablas y dos Figuras.

Notas cortas

Corresponden a novedades taxonómicas, biogeográficas u hospedatorias. El RESUMEN no debe exceder las 250 palabras. Se conservará el mismo orden que para los artículos sin colocar los subtítulos. El cuerpo del texto no podrá exceder las 3000 palabras y no deberá tener más de 15 referencias ni más de dos Tablas y dos Figuras.

-AGRADECIMIENTOS

No deben figurar abreviaturas/títulos tales como Lic., Dr., Sr., Prof., Srta., etc.

-FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Los autores deberán proporcionar toda la información acerca de las fuentes de financiamiento que cubrieron los costos de la investigación.

-CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores deben declarar si existen o no conflictos de interés.

-LITERATURA CITADA

Todas las referencias deben estar citadas según normas APA (American Psychological Association, 6^o Edición).

-En el texto:

Un autor: (Ostrowski de Nuñez, 1994)

Dos autores: (Price y Gram, 1997)

Tres o más autores: (Costamagna et al., 2012)

Cuando se citen dos o más referencias realizadas por diferentes autores se ordenarán alfabéticamente, siempre separadas por punto y coma (García et al., 2010; Pérez y Williams, 2011; Rey, 2015).

Las citas de un mismo año se ordenarán alfabéticamente (Martínez, 1999; Ramírez et al., 1999; Saúl y Arteg, 1999).

En el caso de haber dos o más referencias del mismo autor se separarán las citas por comas en orden cronológico (Gallo-Fernández, 2008, 2009, 2011).

No se deben citar trabajos no publicados tales como trabajos en prensa, resúmenes de congreso o tesis de grado.

-En las referencias bibliográficas:

Las citas bibliográficas deberán llevar sangría francesa, siempre se ordenarán alfabéticamente por el apellido del primer autor, se escribirán los apellidos completos de todos los autores y se colocarán al final del documento:

-Artículos:

Un autor: Stromberg Bert, E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*, 72, 247-264.

Dos autores: García, J. J. y Camino, N. B. (1987). Estudios preliminares sobre parásitos de anfípodos (Crustacea: Malacostraca) en la República Argentina. *Neotrópica*, 33, 57-64.

Tres autores o más: Messick, G. A., Overstreet, R. M., Nalepa, T. F. y Tyler, S. (2004). Prevalence of parasites in amphipods *Diporeia* spp. from Lakes Michigan and Huron, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 59, 159-170.

Varias citas del mismo autor, primero se ordenarán en las que aparece como único autor y según el año de publicación. Si hubiere más de un autor se ordenarán alfabéticamente por el segundo autor y, si éste coincide, por el tercero y así sucesivamente. Si coinciden todos los autores, se ordenará por año de publicación en orden creciente.

-Libros:

Atkinson, C. T., Thomas, N. J. y Hunter, D. B. (2008). *Parasitic Diseases of Wild Birds*. New York: Wiley-Blackwell Publishing.

Capítulos de libros:

Cicchino, A. C., Castro, D. C. (1998). Amblycera. En J. J. Morrone, y S. Coscarón (Eds.). *Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonomica* (84-103). La Plata: Ediciones Sur.

-Tesis:

Zonta, M. L. (2010). Crecimiento, estado nutricional y enteroparasitosis en poblaciones aborígenes y cosmopolitas: los Mbyá guaraní en el Valle del arroyo Cuña Pirú y poblaciones aledañas (Misiones) (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

-Páginas web:

Kern Jr., W. H. (2003). *Pseudolynchia canariensis* (Macquart) (Insecta: Hippoboscidae). Recuperado de http://creatures.ifas.ufl.edu/livestock/pigeon_fly.htm. Último acceso 15 abril 2012.

-TABLAS Y FIGURAS

Las tablas y las figuras deben indicarse en el texto, entre paréntesis, del siguiente modo (Fig.) o (Figs.) y (Tabla) o (Tablas), respectivamente. Las leyendas deben ser autoexplicativas. Todas deben estar numeradas en formato arábigo de manera consecutiva.

Tanto las leyendas de las figuras como la de las Tablas deben ser incluidas al final del cuerpo principal del manuscrito. Las abreviaturas o símbolos utilizados deben ser explicados en la leyenda correspondiente.

En las tablas no se deben usar líneas verticales, sólo horizontales y no se aceptarán palabras escritas en mayúscula ni en negrita. Los archivos deben enviarse separados en formato Word o Excel.

Las figuras pueden incluir fotos, dibujos, radiografías, gráficos y mapas. Deben ser numeradas en formato arábigo de manera consecutiva, y se sugiere, cuando corresponda, agrupar las figuras en láminas, en este último caso cada figura debe ser indicada con letras minúsculas. Si corresponde, las figuras deben ubicar la barra de la escala en la esquina inferior derecha. En el caso de los mapas deben tener indicados también las Coordenadas y el Norte geográfico. Las figuras deben enviarse en formato JPG o TIFF con una resolución no menor a 400 dpi. El ancho máximo no debe superar los 18 cm y el largo máximo, no debe superar los 24 cm.

4. OTROS CONTENIDOS**Reseñas de libros y/o eventos científicos**

Estas reseñas corresponden a comentarios de libros y eventos científicos en el ámbito de la Parasitología que por su novedad y actualidad sean de interés para los lectores de la RAP. Se publicarán hasta dos reseñas de libros y/o de eventos científicos por número. Las mismas deberán tener entre 400 y 700 palabras debiéndose incluir foto de la tapa del Libro o de algún aspecto de la Reunión, respectivamente.

Resúmenes de Tesis

Los resúmenes de Tesis (Doctorales, de Especialización y Maestría), en español o en inglés, no deberán exceder las 800 palabras. Se deberá enviar la siguiente información:

Título de la Tesis (en español e inglés), Autor y correo electrónico, Título obtenido, Unidad Académica y Universidad, Fecha de defensa, Director/s de Tesis y Miembros del Tribunal Evaluador.

Cartas al Editor

Las cartas al editor estarán referidas preferentemente a comentarios sobre artículos publicados en la revista. No excederán las 800 palabras, hasta 5 referencias y una Tabla o Figura. Los comentarios deberán hacer mención del volumen y el número en que se publicó el artículo comentado, su título completo y el apellido del primer autor.

Otros tipos de manuscritos

Sólo serán publicados por invitación del Director de la RAP y del Comité Editorial.

Editoriales

La oportunidad y las características de los Editoriales quedan exclusivamente a criterio del Director de la RAP y del Comité Editorial.

5. EVALUACIÓN Y REVISIÓN

Los manuscritos son sometidos a evaluación de pares, con la modalidad doble ciego y mediante un sistema de Editores Asociados y revisores especialistas, de reconocida trayectoria nacional e internacional en la temática pertinente. El Editor Asociado asignado, enviará el manuscrito a dos revisores para su evaluación. En este marco, los autores deben sugerir por lo menos tres posibles evaluadores, con sus correspondientes correos electrónicos. El Cuerpo Editorial tomará en cuenta estas sugerencias, aunque puede elegir otros especialistas. El Editor Asociado informará a los autores las etapas de evaluación, en el caso de haber disenso en las mismas se enviará a un tercer evaluador.

La Revista se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, cambios gramaticales, lingüísticos y editoriales que mejoren la calidad del manuscrito.

La decisión final sobre la publicación del artículo será tomada por el Editor.

6. ENVÍO Y CONSULTAS SOBRE MANUSCRITOS

El envío y las consultas sobre manuscritos deben realizarse a: revargparasitologia@gmail.com

7. PUBLICACIÓN

La responsabilidad sobre el contenido de los artículos será de los autores, quienes deberán brindar el consentimiento para su publicación mediante nota firmada y dirigida al Editor Responsable de la Revista. En la misma deberá constar que el manuscrito no ha sido publicado previamente en ningún medio y que no será enviado a otra revista científica o a cualquier otra forma de publicación durante su evaluación, aclarando asimismo, que no existe conflicto de intereses.

Una vez publicado el Número de la Revista en la Página WEB, cada autor tiene derecho a realizar un "auto-archivo" de los trabajos de su autoría en sus páginas personales o repositorios institucionales.

8. ASPECTOS ÉTICOS

En aquellas investigaciones que así lo requieran, deberá adjuntarse la aprobación por el Comité de Bioética y/o Comité de Ética de Investigación de la Institución o Dependencia donde fue realizado el estudio, respetando las normas éticas para el trabajo con animales de laboratorio y los Principios de la Declaración de Helsinki, promulgada por la Asociación Médica Mundial (WMA). La documentación, a la que Argentina ha adherido y ha generado en temas

de Bioética, puede obtenerse en LEGISALUD, área dependiente del Ministerio de Salud de la Nación Argentina: www.legislaud.gov.ar

En la presentación de casos clínicos/reportes de casos, los autores deben mencionar sobre el consentimiento informado del paciente/s para la publicación de la información, si ésta puede revelar la identidad de la persona/s (Ley de Habeas Data). Incluye lo relacionado con la historia clínica, las imágenes y cualquier otro tipo de información acerca del paciente.

En el caso de corresponder, deben figurar los permisos de captura y/o de manejo de animales, así como de ingreso de material al país. Asimismo, en los casos correspondientes, deben colocarse números de colección y repositorio de referencia, tanto de especímenes de comparación, como de los vouchers resultado del estudio.