



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA-FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de tesis realizado para optar al título de: DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

“COMPROBACIÓN EXPERIMENTAL DEL CICLO BIOLÓGICO DE *Dioctophyma renale*,
EN UN ÁREA RIBEREÑA AL RÍO DE LA PLATA”

AUTORA: BURGOS LOLA Médica- Bacterióloga.

DIRECTORA: Radman, Nilda E.

CO-DIRECTOR: Linzitto, Oscar R.

LUGAR DE TRABAJO

Cátedra de Parasitología Comparada. Laboratorio de parasitosis humanas y Zoonosis
parasitarias LAPAHUZO.

MIEMBROS DEL JURADO:

Dr. Abuin Juan Carlos

Dr. Rodriguez Capítulo Alberto

Dr. Unzaga Juan Manuel

2021

Agradecimientos

ESTA TESIS, VA DEDICADA:

A LOS QUE SIEMPRE ESTUVIERON Y ESTÁN: ¡MI FAMILIA!

Dra. MÓNICA GUARDIS, UNA AMIGA Y COMPAÑERA, QUIEN ME INICIÓ, EN EL MUNDO DE TRABAJOS EXPERIMENTALES.

Directora de tesis: Bact Radman Nilda E, Profesora Titular de la Cátedra de Parasitología Comparada y Zoonosis

Co-director: Doctor Linzito Oscar R, Profesor Titular de la Cátedra de Microbiología.

Dra. Armendáriz Laura, del ILPLA, por su colaboración incondicional, para el reconocimiento de los Anélidos.

Dra. Santillán GI Instituto Malbrán, por su colaboración incondicional y tiempo.

Dra. Müller Gertrud, por su colaboración en el camino de este trabajo experimental.

Dra. Mascarenhas Carolina Silveira, por su colaboración en el camino de este trabajo experimental.

Dra. Rube Ana y Dr. Barrena J. Pablo. Por realizar las ecografías a los animales de laboratorio.

Topa Emilio: CEPAVE. Por realizar los cortes histológicos y coloración de anélidos.

Dr Robledo Oscar. Por realizar las anestias a roedores.

Dr. Maschi Fabricio. Por su colaboración con los animales de laboratorio.

Dra. Quiroga M, Alejandra. Observaciones histopatológicas e interpretación.

Dra. Bonzo Estela, Por su colaboración.

Dr. Arias Daniel, Por su colaboración.

Trabajos presentados en congresos y reuniones científicas vinculados a esta tesis.

1. Burgos L, Acosta R, Archelli S, Linzitto OR, De Venardi A, López M, Osen B, Gamboa M, Tunez M. 2006. Dioctofimosis en una zona selvática, ribereña al Río de La Plata. Congreso de Zoonosis. ABCL, suplemento – N° 3 – mayo 2006 1-307- ISSN 0325- 2957.
2. Burgos L, Armendáriz L, Lasta GE, Gamboa MI, Radman N. 2008. Investigación de *Lumbriculus variegatus* (Müller, 1774), hospedador intermediario de *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) en muestras de sedimento en un área del Partido de Ensenada. I Jornada Platense de Salud Pública, Enfermedades Emergentes y Zoonóticas. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. 3: 26.
3. Burgos L, Radman NE. 2008. Capítulo 36 dioctophymosis de Zoonosis. Temas de Zoonosis IV. Editado por Asociación Argentina Buenos Aires 2008.
4. Burgos L, Armendáriz L, Fonrouge RD, Archelli SM, Acosta RM, Acosta WG, Acosta LA, Radman NE. 2009. Investigación experimental de *Dioctophyma renale*. III Jornadas de Microbiología Clínica, Industrial y Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. Coronel Suárez, Pcia. De Buenos Aires, ISBN: 950-34-0589.
5. Burgos L, Fonrouge RD, Linzitto OR, Archelli SM, Acosta M, Acosta WG, Osen BA, López MA, Gamboa MI, Lasta G, Radman NE. 2010. Prevalencia de un parásito zoonótico, *Dioctophyma renale* (Goeze 1782) en un área endémica de la provincia de Buenos Aires, República Argentina. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (1943 -- .1910) Universidad Nacional de Córdoba. Volumen 67/ Suplemento N° 2 Pág. 63- 64
6. Burgos L, Armendariz L, Archelli SM, Gamboa MI, Lasta G, Radman NE. 2011. Investigación experimental de Naidididos como hospedadores intermediarios

de *Dioctophyma renale*. I congreso internacional de zoonosis y enfermedades emergentes y VII congreso argentino de zoonosis, Buenos aires.

7. Burgos L, Acosta W, García Mitacek MC, Acosta R, Radman N. 2011. Investigación Ultrasonografica de dioctofimosis en caninos hembra provenientes de un área endémica. I congreso internacional de zoonosis y enfermedades emergentes y VII congreso argentino de zoonosis, Buenos aires.
8. Burgos L, Oliva D, Archelli S, Acosta R, Gamboa M, Radman N. 2011. Investigación de la forma renal de la dioctofimosis en humanos y equinos de un área de riesgo. I congreso internacional de zoonosis y enfermedades emergentes y VII congreso argentino de zoonosis, Buenos aires.
9. Burgos L, Armendariz L, Archelli S, Gamboa M, Lasta G, Radman N. 2011. Investigación experimental de Polychaeta Aeolosomatidae. *Aeolosoma* como hospedador intermediario de *Dioctophyma renale*. Congreso Cambio Climático. La Plata Bs. As.
10. Burgos L, Acosta RM, Reinaldo DF, Archelli SM, Gamboa MI, Linzitto OR, Linzitto JP, Osen BA. And Radman NE. 2014. Prevalence of a zoonotic parasite, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782), Among male canines in a wild riverside area of La Plata river, Province of Buenos Aires, República of Argentina. Revista Medicina Tropical Vol 43(4) 420-426 Pag. 420-425).
11. Burgos L, Acosta RM, Archelli SM, Gamboa MI, Osen B, Butti M, Corbalán V, Winter M, Radman NE. 2014. Diversas Observaciones acerca del Parasito Gigante del Riñón. X Jornada Platense de Salud Pública, Enfermedades Infecciosas Emergentes y Reemergentes y Zoonóticas VIII Jornada Sobre Cambio Global y Desarrollo Sostenible. 9 de octubre de Federación

12. Burgos L; Acosta R, Archelli SM, Gamboa MI, Osen B, Butti M, Paladini A; Corbalán V, Blanco M; Rube A, Barrantes S; Córdoba P, Linzitto OR, Manfredi M, Marin JC, Lasta G, Giambelluca L, Montali G, Radman N. 2015. *Dioctophyma renale*: evolución de los huevos a temperatura constante de 24°C. VII Congreso Argentino de Parasitología. S Carlos de Bariloche. ISBN: 978-987-46069-0-7
13. Burgos L, Armendariz L, Archelli S, Linzitto O, Gamboa M, Lasta G, Fonrouge R, Butti M, Paladini A, Raimondi I, Córdoba P, Manfredi M, Rube A, Corbalán V, Montali G, Acosta R, Marin J, Correa J, Barthelemy F, Radman N. 2016. Investigación Experimental de Probables hospedadores intermediarios de *Dioctophyma renale*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl XIV V. Congreso de Cambio Climático.
14. Burgos L, Gamboa MI, Butti MJ, Nigro J, Osen B, Paladini A, Mastrantonio F, Manfredi M, Carabajal R, Monzón Fabrizi R, Corbalán V, García Alonso M, Archelli S, Espósito NM, Acosta R, Brusa M, Borrelli S, Terminiello J, Radman N. 2017. Descripción de una jornada educativo-sanitaria en un área vulnerable. XXIV Jornada, sobre enfermedades Infecciosas Emergentes y reemergentes. XXII Jornada sobre Cambio Globaly Desarrollo Sostenible Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes vol.12, 2017 p 21- 22 ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493.
15. Burgos L, Armendariz, L, Linzitto OR, Topa E, Barrera JP, Robledo O, Maschi F, Rube A, Quiroga MA, Santillán GI, Archelli SM, Radman, NE. 2019. Ensayos para evaluar anélidos de la familia Enchytraeidae como probables hospedadores hospedadores intermediarios de *Dioctophyme renale*. VIII Congreso Argentino de Parasitología. Corrientes. Argentina.

16. Butti M, Gamboa MI, Estevez MF, Terminiello J, Brusa M, Burgos L, Radman N. 2016. Mantenimiento in vitro de ejemplares adultos de *Dioctophyma renale*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl XIV. V Congreso de Cambio Climático. Cátedra de Parasitología Comparada.FCV UNLP).
17. Osen BA, López MA, Gamboa MI, Burgos L, Fonrouge RD, Radman NE. 2009. Investigación de huevos de *Dioctophyma renale* en tierras de un área de Dioctofimosis endémica en caninos. III Jornadas de Microbiología Clínica, Industrial y Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. Coronel Suárez, Pcia. de Buenos Aires.
18. Corbalán V, Gamboa MI Butti M, Paladini A, Osen B, Archelli S, Burgos L, Zubiri K, Radman N. 2016 Los caninos de una población vulnerable como centinela de enfermedades parasitarias zoonóticas Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl XIV. V Congreso de Cambio Climático.
19. Arias D, Burgos L, Rube A, Abate I, Butti M, Gamboa MI, Radman N. 2017. Caso clínico: *Dioctophyma renale*, ubicación extrarrenal del parásito adulto. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes vol.12, p 21- 22 ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329- 8493. XXIV Jornada Sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes Y Re emergentes XXII Jornada Sobre Cambio Global Y Desarrollo Sostenible. 2017.
20. Estevez MF, Mastrantonio F, Manfredi M, Monzón R, Carabajal R, Raimondi I, Butti MJ, Paladini A, Osen BA, Burgos L, Gamboa MI, Radman NE 2017. Prevalencia *Dioctophyme renale* en un área vulnerable de la Provincia de Buenos Aires. XVIII Simposio Internacional Sobre Enfermedades Desatendidas.
21. Paladini A, Butti M, Blanco MC, Osen B, Archelli SM, Burgos L, Corbalán V, Lasta G, Radman NE. 2015. Prevalencia de *Dioctophyma renale* en zona

- ribereña Provincia de Buenos Aires. VII Congreso Argentino de Parasitología, Asociación Parasitológica Argentina 2015.
22. Radman NE, Burgos L, Gamboa MI, Archelli SM, Osen BA, Butti M, Paladini A, Winter M, Rodríguez E JI, Kozubsky L, Costas ME, Acosta RM, Corbalán V, Giorello N, Rube A, Blanco M, Espósito N, Barrantes S, Marsilli R, Manfredi M, Córdoba P, Gutiérrez C, Bianchi K, Sacramone G. 2015. Parasitosis zoonóticas en un asentamiento a orillas del Río de La Plata”. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. Vol.10 Pag 19-20. ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493)
23. Radman NE, Gamboa MI, Butti MJ, Blanco M, Rube A, Terminiello J, Osen BA, Burgos L, Corbalán V, Paladini A, Acosta RM, Rodríguez Eugui JI, Borrelli S, Brusa M, Martino P. 2017. Occurrence of Dioctophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. Vol 10 pp 43-50).
24. Radman N, Burgos L, Gamboa MI, Butti M. 2017. Proteómica y genómica, y otras ciencias auxiliares de la parasitología. XXIV Jornada, sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Reemergentes. XXII Jornada sobre Cambio Global y Desarrollo Sostenible. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. Vol.12, 2017 p 14 ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493.
25. Terminiello J, Luna MF, Osen B, Butti MJ, Blanco M, Rube A, Gamboa MI, Paladini A, Burgos L, Radman NE. 2015. Descripción de caso de dioctofimosis renal y extrarrenal en un canino. VII Congreso Argentino de Parasitología. San Carlos de Bariloche, Rio Negro. ISBN: 978-987-46069-0-7

Otras actividades realizadas en el marco de la temática

1. Burgos L. 2016. Ha participado en calidad de expositor: "Trabajo práctico a campo de *Dioctophyma renale* en una zona endémica y ribereña del Río de la Plata", en las 1° Jornadas sobre las prácticas docentes en la Universidad Pública. Transformaciones actuales y desafíos para los procesos de formación, desarrolladas el 7 y 8 de abril de 2016, organizada por la Dirección de Capacitación y Docencia y la Especialización en Docencia Universitaria de la Secretaría de Asuntos Académicos de la UNLP
2. Burgos L. 2018. Ha participado en calidad de expositor: "Trabajos prácticos a campo en Parasitología" una zona endémica y ribereña del Río de La Plata", en las 2° Jornadas sobre las prácticas docentes en la Universidad Pública. Transformaciones actuales y desafíos para los procesos de formación, desarrolladas el 19 y 20 de abril de 2018, organizada por la Dirección de Capacitación y Docencia y la Especialización en Docencia Universitaria de la Secretaría de Asuntos Académicos de la UNLP.
3. Burgos L. 2018 "1° Simposio Estadual de Dioctofimatoze: Desafios e Perspectivas", Palestrante. Universidad Federal de Pelotas.
4. Burgos L. 2018. Mesa redonda: *Desafios e Perspectivas* apresentada no "1° Simposio Estadual de Dioctofimatoze: Desafios e Perspectivas". Universidade Federal de Pelotas.
5. Burgos L. 2018. Curso: Colecta e identificação de larvas de Dioctophymatidae Parásitos de animales silvestres. Laboratorio Parasitología de Animais Silvestres do departamento de Microbiología e parasitología do Instituto de Biología. Universidad Federal de Pelotas. Octubre 2018. Carga horaria 100 horas. Aprobado.
6. Burgos L. 2018. Actividades: coleta, triagem e identificação de anelídeos dulceacuícolas em área endêmica para dioctofimose na região sul do Rio Grande do Sul. Laboratorio de Parasitología de Animais Silvestres do departamento de Microbiología e parasitología do Instituto de Biología. Universidade Federal de Pelotas, Brasil. Outubro de 2018

Índice de contenidos

Agradecimientos	I
Trabajos presentados vinculados a esta tesis	II
Abreviaturas y símbolos	X
Resumen	1
Abstract	3
Capítulo 1: Introducción	5
1.1 Historia	5
1.2 Generalidades	6
1.3 Ubicación taxonómica	8
1.4 Morfología	9
1.5 Morfología y evolución de los huevos	13
1.6 Ciclo biológico	13
1.7 Migración	19
1.8 Localización renal	20
1.9 Diagnóstico	21
1.10 Localización ectópica	22
1.11 Estudios poblacionales	23
1.12 Sintomatología	24
1.13 Distribución geográfica	24
1.14 Parasitosis en el hombre	24
1.15 Objetivos	32
1.16 Hipótesis mas relevante	32
Capítulo 2: Objetivo 1	33
Identificar probables hospedadores intermediarios de <i>Dioctophyma renale</i> en un área ribereña al Río de La Plata correspondiente a la Localidad de Ensenada Provincia de Buenos Aires, República Argentina.	
2.1 Introducción	33
2.2 Materiales y métodos	33
2.3 Resultados	43
2.4 Discusión	53
Capítulo 3: Objetivo 2	56
Reproducir experimentalmente la dioctofimosis en ratas	
3.1 Introducción	56
3.2 Materiales y métodos	57
3.3 Resultados	67
3.4 Discusión	95

Capítulo 4: Conclusiones	111
Inconvenientes hallados	113
Bibliografía	115

Abreviaturas y símbolos.

A. hemprichi: *Aeolosoma hemprichi*

ABZ: albendazol

CICUAL: Comité Interno para El Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

ILPLA: Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet"

CEPAVE: Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores

FCV: Facultad de Ciencias Veterinaria

UNLP: Universidad Nacional de La Plata

D. renale: *Dioctophyma renale*

EJ1: Estadio juvenil 1.

EJ3: Estadio juvenil 3.

FCV: Facultad de Ciencias Veterinarias.

HD: hospedador definitivo.

HI: hospedador intermediario.

HP: hospedador paraténico.

R. norvegicus: *Rattus norvegicus*

HL: huevos larvados: elementos infectantes para el anélido.

IA: inóculo para anélidos.

IME: inóculo para modelo experimental.

IEM: inoculum for experimental model

L. variegatus: *Lumbriculus variegatus*

M. auratus: *Mesocricetus auratus*

ME: Modelo experimental

PP: prueba piloto

IM: inóculo del modelo

Rpm: revoluciones por minuto

μl: microlitros

μm: micras o micrómetros

mg: miligramo

ml: mililitro

gr: gramo

N°: número

Cm: centímetro

T°: Temperatura

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de La Plata

Resumen

La dioctofimosis es una enfermedad parasitaria zoonótica, de distribución mundial, ciclo heteroxeno, producida por *Dioctophyma renale*; los adultos de estos nematodos se encuentran en tejidos, órganos y cavidades de una amplia variedad de mamíferos, los cánidos, con mayor prevalencia. Argentina presenta zonas endémicas, con alto potencial hídrico. La experiencia se realizó con los anélidos *Aeolosoma hemprichi* y Enchytraeidae, quienes cumplieron con criterios de inclusión prefijados para esta experiencia.

Prueba Piloto. Se realizó en *Mesocricetus auratus*, inoculado con oligoqueto infectados in vitro, de familia Enchytraeidae, en su orina se hallaron huevos de *D. renale* infértiles en ecografías se observó, ausencia parcial de médula en riñón derecho, imagen vermiforme en cavidad abdominal y riñón. El riñón izquierdo mantuvo su forma y tamaño inalterado. Durante los controles se observó lesión cutánea neoformada, se supone que el verme abandono su ubicación por allí. Murió espontáneamente, en los preparados histopatológicos se observaron huevos y restos de nematodos mineralizados”, así como diversas lesiones coincidentes con las observadas en estudios histopatológicos de casos de dioctofimosis canina. Modelo experimental. Se utilizaron *Rattus norvegicus* Wistar fue n=10 para cada IME (Enchytraeidae y *Aeolosoma hemprichi*) y se mantuvo un animal como control. Se realizaron controles al igual que los del *M. auratus*, una rata (90 días IME, óbito, post anestesia - intra ecografía) en la cual se observó imágenes en hígado, compatible con

D. renale. Se realizó necropsia, se enviaron: riñón derecho, riñón izquierdo e hígado y muestras granulomatosas, al servicio de patología, para cortes y coloración histopatológica: las lesiones glomerulares recuerdan aquellas observadas en casos de nefritis inmunomediadas. Se considera este comentario en el contexto de la reproducción experimental.

Hígado: marcada congestión y ocasional presencia de amplia cavidad llena de sangre sin ningún tipo de respuesta tisular periférica. Riñón: ambos riñones presentan lesiones similares, observadas en casos de nefritis inmunomediadas.

La presencia del hospedador intermediario, la alta prevalencia en caninos, los hábitos alimenticios y recreativos acuáticos de los pobladores, serían suficientes bases para plantear esta hipótesis. Hay que seguir estudiando la zona por posible transmisión a los humanos.

Palabras Clave: *Dioctophyma renale*; *Rattus norvegicus* Wistar; Enchytraeidae; *Aeolosoma hemprichi*.

Experimental verification of the biological life cycle of *Dioctophyma renale* in the riparian area of Rio de La Plata

ABSTRACT

Dioctophimosis is a zoonotic parasitic disease of worldwide distribution and heteroxene cycle, produced by *Dioctophyma renale*; the adults of these nematodes are found in tissues, organs and cavities of a wide variety of mammals, with a highest prevalence on the canines. Argentina presents endemic areas, with high hydric potential. The experiment was carried out with annelids from *Aeolosoma hemprichi* and *Enchytraeidae*, which fulfilled the inclusion criteria. Pilot test. It was carried out in *Mesocricetus auratus* inoculated with infected oligochaetes in vitro of the *Enchytraeidae* family, in their urine infertile *D. renale*'s eggs were found; in the ultrasound partial absence of marrow in the right kidney, vermiform image in the abdominal cavity and kidney were observed. The left kidney kept its shape and size unchanged. During the controls, a newly formed skin lesion was observed, it is assumed that the vermin abandoned its location through there. It died spontaneously, eggs and mineralized nematode cuts were observed in the histopathological preparations, as well as various lesions coinciding with those observed in histopathological studies of cases of canine dioctophimosis. Experimental model. *Rattus norvegicus* Wistar were used, n = 10 for each IEM (*Enchytraeidae* and *Aeolosoma hemprichi*) and one animal was kept as a control. Controls were carried out as well as those of *M. auratus*, a rat (90 days IEM, death, post anesthesia - intra ultrasound) in which liver images compatible with *D. renale* were observed. A necropsy was performed, right kidney, left kidney and liver and

granulomatous samples were sent at the pathology service for cuts and histopathological staining: the glomerular lesions resemble those observed in cases of immune-mediated nephritis. This comment is considered in the context of experimental breeding.

Liver: marked congestion and occasional presence of a wide cavity filled with blood without any type of peripheral tissue response. Kidney: both kidneys have similar lesions, observed in cases of immune-mediated nephritis.

The presence of the intermediate host, the high prevalence in canines, the eating and aquatic recreational habits of the inhabitants, would be sufficient bases to raise this hypothesis. We must continue studying the area for possible transmission to humans.

Keywords: *Dioctophyma renale*; *Rattus norvegicus* Wistar; Enchytraeidae; *Aelosoma hemprichi*.

Capítulo 1: Introducción

Cuando se hace la historia de un animal, es inútil e imposible tratar de elegir entre el oficio del naturalista y el del compilador: es necesario recoger en una única forma de saber todo lo que ha sido visto y oído, todo lo que ha sido relatado por la naturaleza o por los hombres, por el lenguaje del mundo, de las tradiciones o de los poetas.

Michel Foucault. 1968. "Las palabras y las cosas"

1.1 Historia

Dioctophyma renale: el parásito es tan antiguo como la humanidad, ya que en 2003 en la zona de Arbón - Bleiche en Suiza se descubrieron vestigios de huevos en coprolitos que datan de la era neolítica, entre los años 3,384-3,370 A.C. La zona de referencia se encuentra cerca de un lago, de donde se deduce que los humanos que habitaron la zona tuvieron acceso al consumo de peces y ranas de agua dulce que como se sabe forman parte del ciclo biológico del parásito (Le Bailly, 2003).

En el año 2013 se obtuvo el primer registro de hallazgo de huevos de *D. renale* en una muestra arqueológica de la Patagonia, a partir de la capa del sitio arqueológico ubicado en Cerro Casa de Piedra, Provincia de Santa Cruz, Argentina. Ellos podrían datar de 6.540 ± 110 años antes del presente. Estos estudios son abordados por la paleoparasitología (Fugassa et al, 2013). La tabla 1.1.1, resume hallazgos realizados por distintos autores después de Cristo (DC) (Mascaro, 1974).

Tabla 1.1.1 Después de Cristo DC, Mascaro. 1974.

Año	Autor	Descripción.
1782	Goeze	Especie: <i>D. renale</i> : Macho mide 14 a 40 cm, la hembra 40 a 103 cm.

1802	Collet y Meygret.	Género: <i>Dioctophyme</i> . Cuerpo cilíndrico adelgazado en sus extremos.
1915	Railliet	Familia: Dioctophymatidae. Esófago termina en forma de clava, macho con una sola espícula, vulva de la hembra a 50 mm del orificio bucal-
1915	Railliet	Orden: Dioctopymatida Boca hexagonal, con 6 papilas, macho con bolsa caudal sin costillas, musculosa, en forma de plato, con una espícula que emerge del centro.

1.2 Generalidades

La dioctofimosis es una helmintiasis causada por *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782; Barriga, 1982), conocido también como: *Ascaris renalis*, *Ascaris visceralis*, *Eustrongylus gigas* (Rudolphi, 1802; Diesing, 1851; Pérez de Villarreal et al., 2010) también nombrado, como “gusano gigante del riñón”, que afecta a diversos mamíferos domésticos y silvestres (Boch. 1976; Burgos, 2006). Los hospedadores definitivos y principales reservorios son los mamíferos, carnívoros y omnívoros. Entre ellos, se ha citado en distintas regiones a cánidos domésticos (*Canis familiaris*), y silvestres (*Canis lupus*, y *Canis aureus*) (Cooperrider et al., 1954; Acha y Szyfres, 1989; Florez, 2018), visón (*Neovison vison*) (Crichton y Urban, 1970; Mace y Anderson, 1975, Burgo, 2008; Boch Jose, 1976) zorro plateado (*Vulpes vulpes*), coatí (*Nasua narica*), nutria (*Lutra lutra*), zorrino (*Conepatus humboldtii*), hurón (*Mustela putorius furo*, *Galictis cuja*), marta (*Marta americana*) (Seville. 1995), mapache (*Procyon lotor*) (Andrey Fyvie, 1971; Barros DM et al., 1990), zorro cangrejero (*Cerdocyon thous*) ((Torres RC et al., 2009), comadreja (*Mustela nivalis*), mapache (*Procion* sp), caballo (*Equus ferus caballus*) (Lapage G, 1974, primates (Morini y Grillo, 1975), cerdo (*Sus scrofa domestica*) (Lapage G, 1974), glotón (*Gulo gulo*), puma (*Puma concolor*), gato (*Felis silvestris domesticus*) (Pedrassani et al., 2014), focas (*Phoca vitulina*) (Hoffman et

al., 2004), bovino (*Bos primigenius*), mono capuchino (*Cebus apella*) (Ishizaki et al., 2010), ratas (*Rattus norvegicus*) (Chin, 1964; Taniguchi et al., 1976; Tokiwa et al., 2011; Banzai et al., 2018), aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus*) (Kumar et al., 1972; Vieira et al., 2016; Ruiz et al., 2013). En la República Argentina se ha encontrado en caninos que habitan zonas ribereñas de localidades de las Provincias de Buenos Aires, Corrientes, Formosa (Ruiz et al., 2013; González et al., 2013), Chaco, Formosa y Santa Fe (Ruiz et al., 2013), litoral Argentino, (Goldman y Perez Tort, 2008).

En la provincia de Santa Fe, de 31 profesionales encuestados, el 82% respondieron, haber diagnosticado *D. renale* en al menos una oportunidad, siendo reportado en perros (*Canis lupus familiaris*) en Aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus*) (Goldman y Perez Tort, 2008; Fiorentini y Negro, 2007). Éste cánido sudamericano, el de mayor tamaño, cuya distribución abarca el sudeste de Perú, norte de Bolivia, centro y este de Paraguay, centro y sur de Brasil, noroeste de Uruguay y litoral argentino (Goldman y Perez Tort, 2008), merece una mención especial ya que fue la especie en la que se halló primeramente *D. renale* en América del Sur. Se encuentra categorizada como especie casi amenazada y en Argentina en peligro de extinción. En la Provincia de Corrientes fue declarada Monumento Natural por decreto 1555/92, constituyendo la máxima figura legal de protección otorgada a la fauna de este país, (Gonzalez et al., 2013).

En el hombre, hospedador accidental, *D. renale* es poco frecuente (Acha et al., 1989; Le Bailly LU et al., 2003; Morini y Grillo T orrado, 1975; Basualdo. 1996), sin embargo, se lo ha hallado desde épocas remotas, en coprolitos correspondientes a los años

3384 a 3370 AC (Le Bailly et al., 2003) y también a lo largo de los años hasta la actualidad.

La dioctofimosis es de distribución mundial (Morini y Grillo Torrado, 1975; Bellini y Ferreira, 2001), mientras que en algunos países es considerada una infección rara, (Mech y Shawn, 2001), para otros es de relativa frecuencia. La parasitosis animal ha sido descrita en casi todo el continente americano, en Canadá y EEUU el visón (*Mustela vison*) constituye el principal hospedador (Acha y Szyfres, 1989; Mace, 1976, Mech y Shwan, 2001).

En la República Argentina, fue citado primeramente por Pacella y Esquivel en una perra de Berisso, Provincia de Buenos Aires, (Morini y Torrado, 1975). Se ha reportado como hallazgo de necropsias o accidentalmente en laparotomías exploradora (Luna et al., 2003). Se presenta en forma endémica en la región noreste del país y en la zona costera del Río de La Plata donde se han comunicado la mayoría de los casos en caninos (Luna et al., 2003). La presencia de *D. renale* en animales determina la posibilidad de contaminación humana (Coppo y Brem, 1981).

1.3 Ubicación taxonómica

Según Koelher A et al., 2009.

D. renale: tiene la siguiente ubicación taxonómica:

Phylum Nematelmintos

Clase Enoplea = Adenophorea =Aphasmidea

Orden Dioctophymatida

.....Superfamilia Dioctophymatoidea, se compone de 2 familias:

.....Flia Soboliphymatidae (Anderson, 2000).

.....Género *Soboliphyme* (Petrov, 1930) (incluye 9 especies).

.....Flia Dioctophymatidae,

.....Género monotípico: *Dioctophyme*

.....Especie *renale* (Goeze, 1782)

Avances recientes permitieron la determinación de los genomas y transcriptomas de numerosas especies de nematodos. Los datos surgidos de estas investigaciones podrían ser utilizados para resolver la filogenia de nematodos e identificar posibles patrones genéticos asociados al parasitismo. Se están realizando estudios de secuenciación sobre mas de 100 especies de nematodos, estos datos, indudablemente, producirán importantes conocimientos sobre biología e historia evolutiva del parasitismo (Blaxter et al., 2014).

1.4 Morfología

Morfología de *D. renale*: El parásito adulto es de color rojo sangre (Lapage, 1974), (Figura 1.4.1). Presenta dimorfismo sexual, el macho puede medir hasta 35 cm por 0,3 a 0,4 cm y la hembra hasta 103 cm por 0,5 a 1,2 cm (Barriga, 1982), (Figura 1.4.2). Sus dimensiones varían según el número de nematodos presentes y la especie afectada. Por ejemplo, en los hurones mide unos pocos centímetros (Acha et al., 1989). En su extremidad anterior, hembra y macho, presentan un orificio bucal circundado por seis papilas (Figura 1.4.3). La vulva está localizada en la parte anterior del cuerpo, a 5 cm de la cavidad bucal (Figura 1.4.4) por detrás del extremo posterior del esófago (Soulsby, 1987).

El macho, tiene en su extremidad posterior la bolsa copuladora, es una estructura carnosa campaniforme, sin costillas que la sostengan (Soulsby, 1987; Burgos et al., 2014). En su superficie interna tiene papilas y la cloaca se abre en su centro. Presenta

una sola espícula, que es proporcional al tamaño final que alcanza el verme en su estado adulto (Figura 1.4.5).

La hembra, en su extremo posterior con una formación obtusa, en forma de semiluna y ano terminal (Figura 1.4.6).



Figura 1.4.1. Imagen macroscópica de dos ejemplares adultos: macho y hembra de *D. renale*.



Figura 1.4.2. Imagen macroscópica de hembras adultas de *D. renale*. (Extracción de cavidad abdominal de canino, por laparotomía)

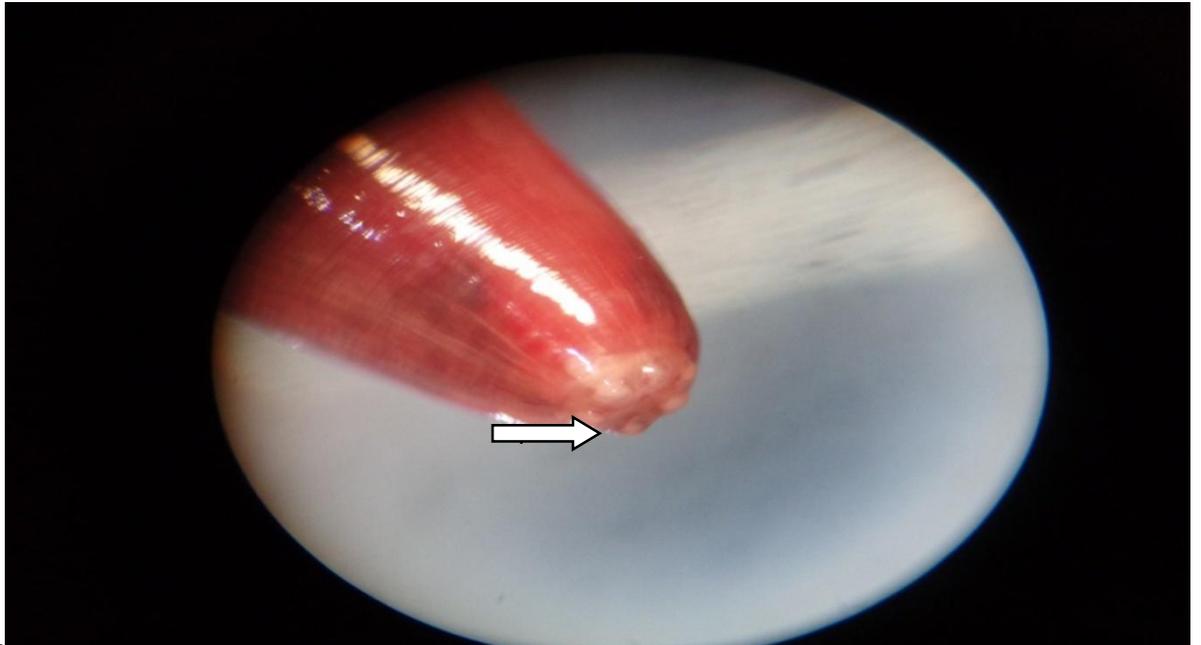


Figura 1.4.3. Imagen microscópica de la extremidad anterior. Se observan las papilas bucales de *D. renale*. (Obj. 40x).

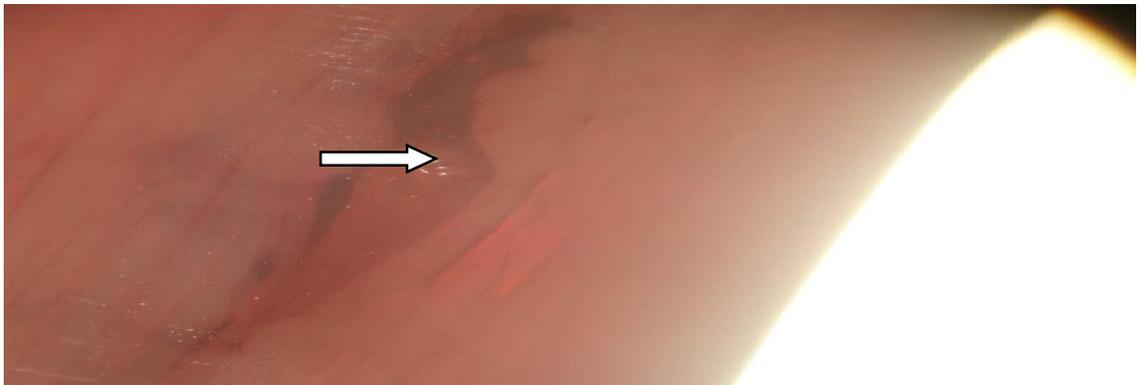


Figura 1.4.4. Imagen Microscópica, de la región vulvar de *D. renale* hembra. (Obj. 40x).

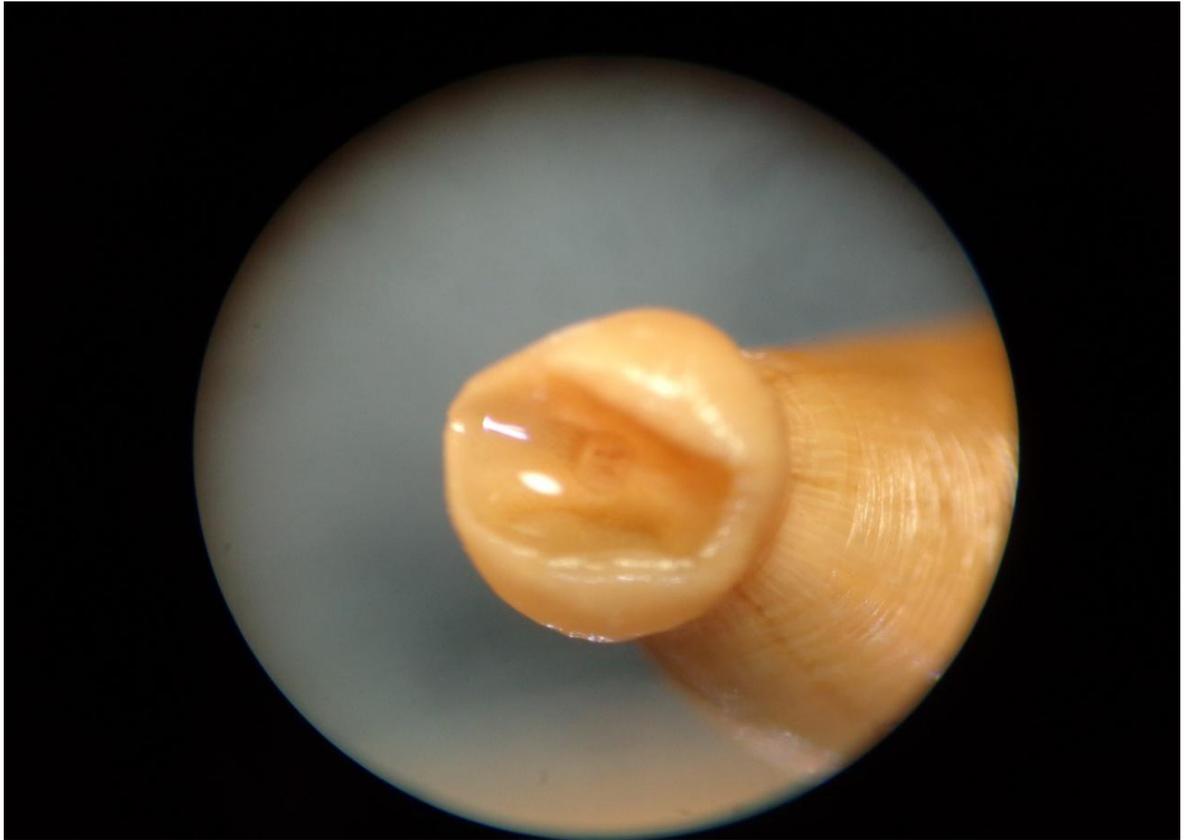


Figura 1.4.5. Imagen de la extremidad posterior Obj. 40x, bolsa copuladora de *D. renale* macho. (Obj. 40x).

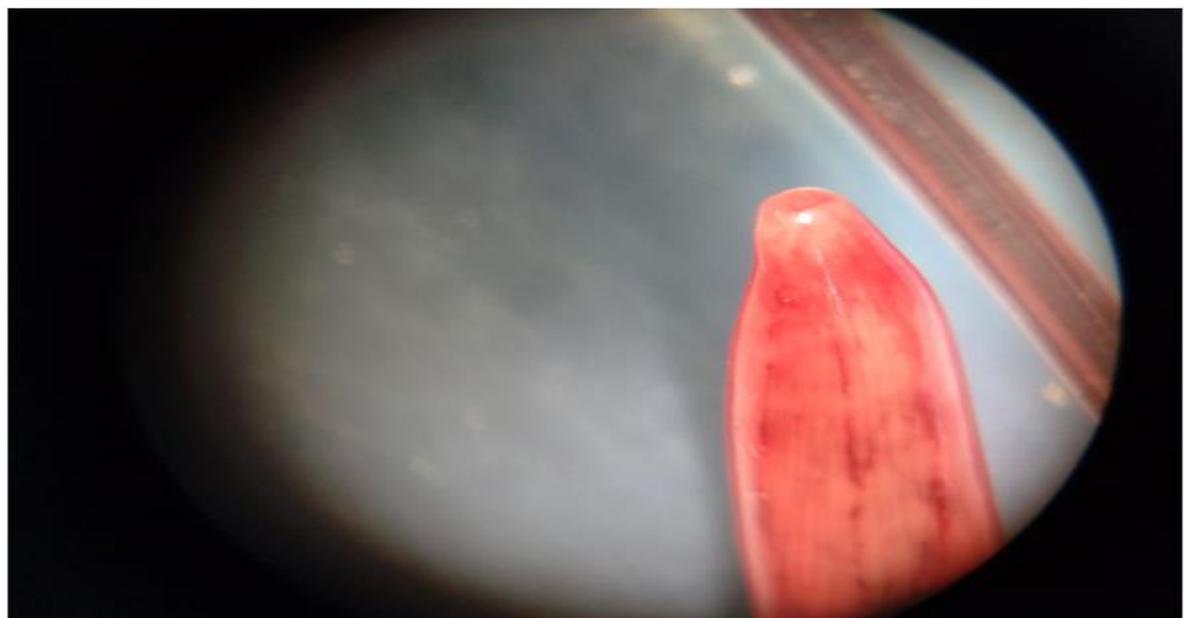


Figura 1.4.6. Imagen microscópica de la ext. posterior de *D. renale* hembra. (Obtusa y ano terminal). (Obj. 40x)

1.5 Morfología y evolución de los huevos.

Las hembras son ovíparas, los huevos fértiles son elipsoides con abolladuras y extremos lisos, su color es amarillo parduzco sucio (Burgos y Radman, 2008). El tamaño medio es de 74,3 μm por 46,7 μm , 60 μm X 23 μm (Burgos y Radman, 2008), 39 μm X, 47 μm (Perez Tort et al., 1997; Fiorentini et al., 2007), 67,23 μm x 42 μm , 78 μm , (Pedrassani et al., 2009). Los huevos no embrionados de parásitos localizados en el riñón, salen al exterior con la orina del hospedador definitivo (HD).

1.6 Ciclo biológico (Figura 1.6.1)

Es heteroxeno, su hospedador intermediario (HI) sólo vive en agua dulce por lo que cobran importancia las áreas ribereñas que le brindan características propicias (Perez Tort et al., 1997). La descripción original del ciclo de vida fue realizada por Woodhead en 1945- 1950, quien menciona la intervención de dos hospedadores intermediarios en su ciclo, un invertebrado (oligoqueto) y un vertebrado, (un pez). Posteriormente, Karmanova, esclareció el ciclo biológico, donde un invertebrado es hospedador intermediario HI, cumpliendo el vertebrado acuático la función de hospedador paraténico (HP) (Karmanova. 1960-1962). Para una mejor comprensión del ciclo evolutivo lo dividiremos en dos etapas, A y B.

A. Pre parasítica que abarca la evolución ambiental de los huevos (Osen et al., 2009). **(E.1)**, en el HI **(E.2)** y en el HP **(E.3.)**.

E.1. Es indispensable para su evolución que lleguen a un medio acuoso (Barros et al., 1990; Fiorentini y Negro, 2007; Tokiwa et al., 2011), allí a temperatura ambiente, en un período de entre 15 a 102 días de acuerdo a las condiciones de temperatura

(Barriga O, 1982; Ignjatovic et al., 2003). Desarrolla en su interior el primer estado juvenil (EJ1). Sin embargo, Woodhead. 1950, refiere que esto ocurre dentro de los 21 días. Otros investigadores relatan que entre 15 a 102 días, en agua bien oxigenada e incubados a temperaturas de entre 14°C y 30°C desarrolla el EJ1 (Fiorentino y Negro, 2007; Barriga, 1982), también se menciona que la evolución de huevo a huevo embrionado puede tardar 1 a 7 meses, dependiendo de las condiciones ambientales (Osborne et al., 1969).

Condiciones adversas como desecación, altas temperaturas y congelamiento, son mortales para el blastómero. Los huevos pueden permanecer viables e infectantes, por períodos de tiempo de hasta cinco años (Mace y Anderson, 1975). Posteriormente deben ser ingeridos por un hospedador intermediario para continuar con su desarrollo.

E.2. El Hospedador Intermediario es un invertebrado en el que el verme alcanza el estado juvenil 3 (EJ3), infectante para hospedadores paraténicos y definitivos (Pedrassani et al., 2015). Se ha reproducido la historia de vida de *D. renale* utilizando anélidos Branquiobdellidae, *Cambarincola chirocephala* (Woodhead, 1950) y al anélido oligoqueto dulceacuícola, del Orden Lumbriculida, Familia Lumbriculidae, *Lumbriculus variegatus* (*L. variegatus*) (Müller 1774, Karmanova, 1960-1962; Mace y Anderson, 1975). Este invertebrado es conocido comúnmente como California blackworms. En condiciones naturales posee longitud variable, a veces de varios centímetros, su tamaño varía de 4 a 10 cm y tiene 1,5 mm de diámetro (Drewes, y Marchese 2004), en cultivos llega a medir entre 4 y 6 cm. Los organismos vivos presentan la extremidad anterior de color verdoso y el resto del cuerpo rojo. Las quetas son indistintamente bífidas, mantiene el mismo ancho a lo largo de todo el cuerpo (Brinkhurst y Marchese, 1991). Habita en ríos, arroyos, zanjones, colectas

acuosas y zonas anegadizas. *L. variegatus* es el único huésped intermedio conocido de *D. renale*, y citado en los trabajos de los mencionados autores que trabajaron en ciclo biológico y reiterado en todos los que informan otros aspectos de *D. renale* y dioctofimosis. Aunque los huevos eclosionan en el intestino de algunas sanguijuelas y oligoquetos branquioides (Anderson RC, no publicados), (Mace y Anderson, 1975), las larvas finalmente mueren en el intestino de los mencionados invertebrados. La aparente especificidad del *D. renale* es peculiar, ya que se sabe que otros nematodos, integrantes de la superfamilia Dioctophymatoidea se desarrollan en dos o tres especies de oligoquetos acuáticos. Tal es el caso de *Eustrongylides excisus* (Jägerskiöld, 1909) quien desarrolla en *L. variegatus*, *Tubifex tubifex* y *Limnodrilus* sp (Karmanova, 1965 – 1968).

E.3. Los hospedadores paraténicos (HP)

En la naturaleza la probabilidad de adquirir la infección se amplía con la existencia de hospedadores de transporte o paraténicos, como ranas, peces, tortugas, serpientes y otros vertebrados de agua dulce. Las larvas infectantes de *D. renale* han sido halladas en la pared del estómago y musculatura de peces, *Lepomis gibbosus* (Measures y Anderson, 1985, *Acestrorhynchus lacustris*, *Gymnotus sylvius*, *Hoplosternum littorale* (Mascarenhas, 2015; Mascarenhas et al., 2018), *Icatulus nebulosus*, (Mace y Anderson, 1975), *Idus spp*, *Esox lucius* (Soulsby, 1987), También en musculatura abdominal, pectoral, cavidad peritoneal y pared de estómago de ranas, entre otras localizaciones. Las especies fueron *Rana catesbiana*, *R. clamitans melanota*, *R. septentrionalis*, *R. pipiens* (Mace y Anderson, 1975), *Rhinella icterica*. Se han hallado también larvas infectantes de *D. renale* en otros vertebrados acuáticos, sapos, *Chaunus ictericus* (Bufonidae) (Pedrazzani et al., 2009) *Trachemys dorbigni*

(Mascarenhas, 2015; Silveira, 2015), *Phrynops hilarii*, (Mascarenhas, 2015) y *Philodryas patagoniensis* (Mascarenhas, 2018). Estos animales siguiendo con la cadena trófica son alimento de sus predadores naturales y numerosas veces son ingeridos por caninos, en especial por aquellos que habitan áreas ribereñas y a veces también por personas (Bellini y Ferreira, 2001; Burgos y Radman, 2008. Sin embargo, estudios realizados indican que *D. renale* puede causar infecciones si es ingerido crudo, el estadio infectante (EJ3) en musculatura de HP en áreas enzoóticas (Mace y Anderson, 1975).

B) Parasítica (Figura 1.6.1.B) se desarrolla en un mamífero que es el hospedador definitivo (HD). (**E.4.**). También el hombre puede resultar infectado, él es un hospedador accidental (**E.5**) que también puede actuar como definitivo o albergar larvas en sus tejidos (Beaver, 1979; Beaver, 1984; Gutierrez, 1989).

E.4. El hospedador definitivo (HD), ya sea animal o humano, adquiere la infección al ingerir a los HI infectados, con el estado juvenil 3 (EJ3) del verme, con el agua de bebida o por alimentarse con hospedadores paraténicos crudos o mal cocidos, que alberguen ese estado en sus tejidos. (Figura 1.6.2.E4) (Figura 1.6.3. E4)

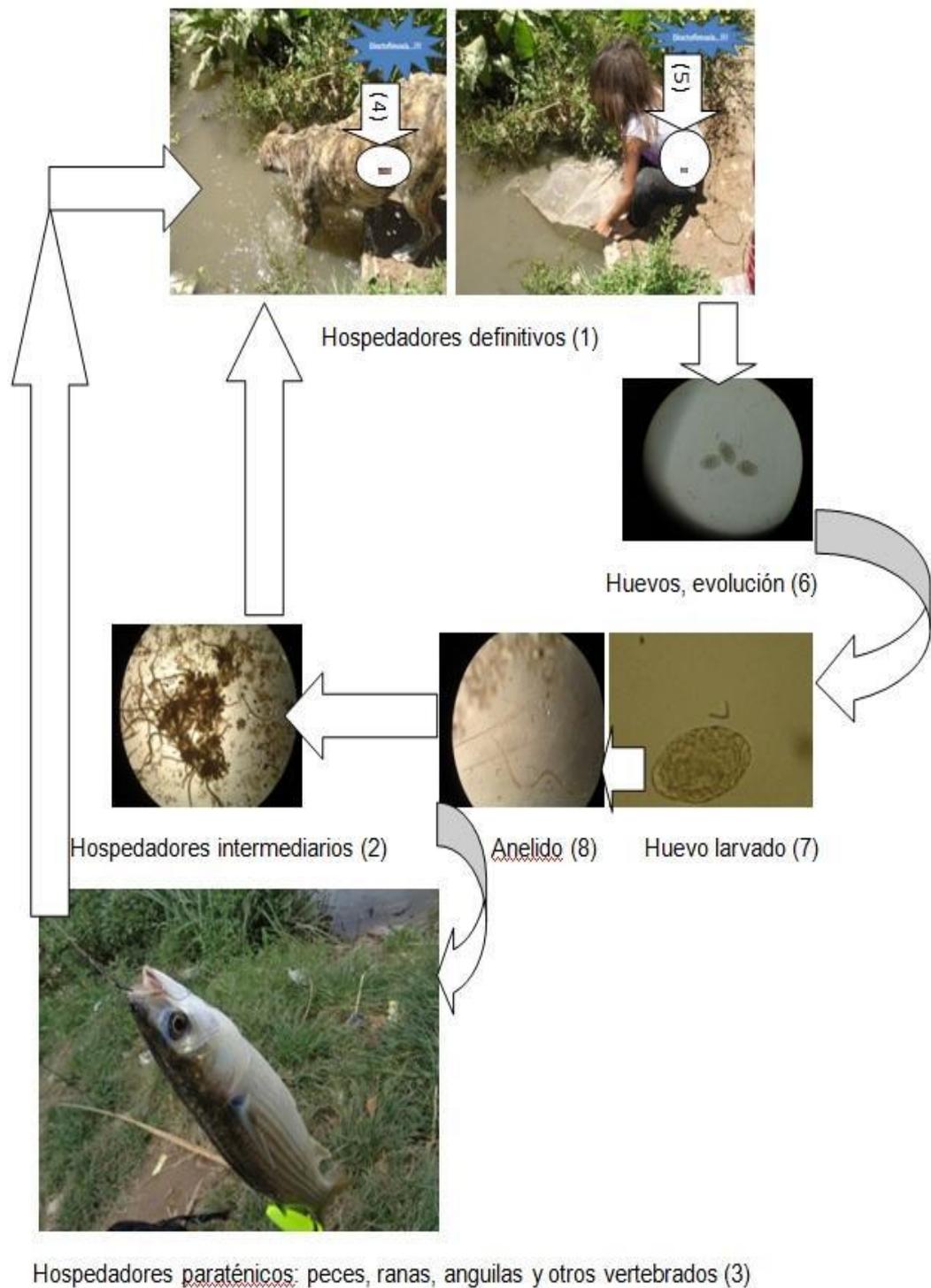


Figura 1.6.1. Se representa el ciclo biológico del *D. renale*.

Los hospedadores definitivos (1), se infectan al ingerir, hospedadores intermediarios (anélidos con EJ3 (2, 8), o paraténicos (peces, ranas, anguilas) conteniendo estadios EJ3 enquistados en sus tejidos (3). Determinando así, un cuadro de dioctofimosis con

localización ectópica o renal (4,5). Ésta generalmente es patente en los caninos, con eliminación de huevos (elementos de diseminación) (6) que contaminan el ambiente.



Figura 1.6.2. Imagen de un canino de área endémica (HD). Bebiendo agua de una zanja.



Figura 1.6.3. Imagen de habitante en un área endémica, practicando su hábito de captura de ranas (HP).

1.7 Migración

La ruta migratoria que sigue *D. renale* en caninos, desde el ingreso de sus formas infectantes por vía oral, hasta su arribo al riñón, es aún discutida no existiendo al momento, referencias bibliográficas que la describan en su totalidad. Sin embargo, pareciera estar asociada al sitio de penetración de las larvas infectantes en el tracto digestivo. También se analizan las opiniones de distintos autores respecto a la etapa de desarrollo del verme en la que invade el riñón y si ésta se produce anteriormente o con posterioridad a las otras localizaciones registradas, ingresando por la pared duodenal a la cavidad peritoneal para luego ubicarse en el riñón (Morini y Grillo Torrado, 1975).

Se han realizado reproducciones experimentales en visones, infectados con E3 liberados de hospedadores intermediarios, así se describió la ruta migratoria de *D. renale* en esos animales. Las larvas ingresaron a la submucosa del estómago, donde permanecieron al menos 5 días. Desde allí migran al hígado, donde se mantuvieron por aproximadamente 50 días, a partir de los cuales abandonaron el parénquima hepático y migraron directamente al riñón. Se sugiere que el 85% de las infecciones por *D. renale* en el visón están restringidas al riñón derecho (Bellini y Ferreira 2001). Las larvas que penetran en la pared del estómago entrarían en los lóbulos derechos del hígado y desde el hígado podrían migrar directamente al riñón derecho (Mace y Anderson, 1975). Si las larvas permanecen en la pared de la curvatura mayor pueden alojarse en el riñón izquierdo (Woodhead, 1950; Fiorentini y Negro, 2007). En esta especie animal el período pre patente fue de 154 días. Distintos autores mencionan períodos pre

patentes similares, en el hurón de 155 días, Woodhead. 1950 y en caninos de 135 días, (Woodhead, 1945 -1950; Karmanova, 1962).

1.8 Localización renal: d. La expresión clínica puede ser inespecífica o estar ausente. En los caninos, la enfermedad puede presentarse en forma patente y no patente. Las formas patentes, con localización de los vermes en el tracto urinario y al menos la presencia de una hembra adulta, se diagnostican mediante técnicas diagnósticas parasitológicas (Burgos y Radman, 2008; Burgos et al., 2014; Terminiello et al., 2015), observando la presencia de huevos en el sedimento urinario, por microscopía óptica, previa centrifugación de la muestra, aunque en ocasiones puede ser necesario realizar el diagnóstico diferencial con otro verme de localización en el tracto urinario como lo es *Capillaria plica*. (Rudolph, 1819), verme actualmente denominado *Pearsonema plica*. Formas no patentes, con localizaciones extrarrenales como otros órganos, tejidos y cavidades, cavidad abdominal (Vieira et al., 2016) y torácica (Meyer et al., 2013). En su órgano blanco, *D. renale* ejerce primariamente acción traumática producto de la colonización del verme en el órgano. Destruye el parénquima renal por medio de la secreción de enzimas proteolíticas y lipolíticas de sus glándulas esofágicas, alimentándose del tejido y de sangre. En algunos casos solo queda la cápsula renal conteniendo vermes y un líquido hemorrágico (Burgos y Radman, 2008). Puede obstruir el uréter o bien descender hasta la vejiga urinaria y obstruir la uretra (acción mecánica), salir de ella en forma espontánea (Trumbull, 1897), o inducida, mediante cirugía (Arias et al., 2017). Se hallaron huevos del nematodo en quistes renales en cinco oportunidades (Fernando, 1983). En el año 1930 se menciona lo que sería el primer caso de parasitosis

múltiple en perro y hallazgo en riñón izquierdo, años mas tarde se reportó un caso en Brasil, hallando vermes inmaduros, mediante diagnóstico ultrasonográfico (Pedrassani, 2010). Las manifestaciones clínicas dependen de la cantidad de parásitos y de la localización de los mismos en el huésped.

1.9 Diagnóstico

El diagnóstico de dioctofimosis puede ser, presuntivo (Goldman et al., 2008), especialmente tratándose de animales provenientes de zonas ribereñas o alimentadas frecuentemente con vertebrados de agua dulce. También debiera incluirse la dioctofimosis entre los diagnósticos diferenciales ante casos de hematuria, (Fiorentini y Negro, 2007; Terminiello et al. 2015). Para el diagnóstico y seguimiento de formas de la enfermedad no patentes de vías urinarias, determinadas por la presencia de vermes juveniles, adultos en tejidos, u ocasionadas sólo por machos (Figura 1.9.1), se utilizan métodos ultrasonográficos (Fiorentini y Negro, 2007; Rube, 2013; Acosta et al., 2008; Burgos et al., 2011; Goldman et al, 2008; Terminiello et al., 2015) y radiográficos (Audrey Fyvie, 1971; Narváez et al., 1994). Estos métodos complementarios no son cruentos, y dependiendo del tamaño alcanzado por el parásito, su estado fisiológico y su ubicación, se observan con claridad en cortes longitudinales y transversales, especialmente en su forma renal. También resultan útiles para el diagnóstico de la enfermedad cuando la toma de muestra de orina resulta dificultosa. Tal es el caso de animales jóvenes, hembras preñadas, animales con enfermedades concomitantes, seniles, etc. Sin embargo, necesitan de la intervención de técnicos altamente entrenados. También es de gran utilidad la historia clínica del paciente y una anamnesis que incluya aspectos que orienten a dioctofimosis. Existen estudios realizados en cuanto a diagnóstico indirecto de la enfermedad mediante la

técnica de Elisa (Pedrassani, 2009; Pedrassani et al., 2015), ellos no se hallan estandarizados y por ende aún no son comercializados.



Figura 1.9.1. Imagen macroscópica de vermes machos de *D. renale* obtenidos mediante Nefrectomía

1.10 Localización ectópica

Son casuales las localizaciones ectópicas, encontradas en *Mustela visón* (Mace y Anderson, 1975). Sin embargo, en los caninos, hospedadores menos específicos, se observan más frecuentemente (Hatfield y Jones, 1964, Acosta et al., 200; Miranda et al., 1992). Distintas localizaciones aberrantes han sido reportadas, vermes libres en las cavidades abdominales (Hatfield y Jones, 1964; Meyer et al., 2013; Vieira et al., 2016; Paras KL et al., 2018), peritoneal o torácica (Meyer et al., 2013), en el hígado, tejido celular subcutáneo (Terminiello et al., 2015), vesícula biliar, bronquios, escroto, útero, glándulas mamarias (Arias et al., 2017, Kelsey et al., 2018) y en otros tejidos. Las formas ectópicas pueden

hallarse asociadas a anemia, eosinofilia y basofilia (Ortega, 1969). Migración errática (Sacco et al., 2017), reportó un caso de muerte súbita sin sintomatología previa, en un canino con dioctofimosis ectópica, de localización en las cavidades torácica y abdominal. También existen informes de infiltrados de huevos en órganos parenquimatosos ocasionando granulomas (Hallberg, 1953; Da Silva Lemos, 2010), en el intersticio pulmonar, pleuritis granulomatosa multifocal, marcada hiperemia intersticial, hiperplasia caliciforme en bronquiolos y proliferación conjuntiva intersticial multifocal (Goldman et al., 2008; Leite, 2005). Estas formas de presentación ocasionan cuadros clínicos variados asociados a dioctofimosis.

1.11 Estudios poblacionales

La bibliografía menciona numerosos casos clínicos de dioctofimosis (Hatfield y Jones, 1964; Luna et al., 2003; Goldman et al., 2008) entre muchos otros y hallazgos de necropsia (Pereira et al., 2006). Sin embargo, los estudios poblacionales de la enfermedad en caninos son escasos. En la República Argentina, en un área endémica se hallaron prevalencias del 44%, 36%, 35,3% y del 42.1% de dioctofimosis en poblaciones caninas investigadas (Burgos et al.; 2006; Burgos y Radman, 2008; Burgos et al., 2010; Burgos et al., 2014; Paladini et al., 2015; Estevez et al., 2017; Radman et al., 2017). En Uruguay, Gonçalves et al., 2015). En Brasil 14,2% (Pedrassani et al., 2017), en Ontario-Canadá, 39% de 1072 visones, en Norteamérica el principal hospedador definitivo, es el visón (Audrey Fyvie, 1971), de 102 animales. Prevalencia de 2,9% (Coppo et al., 1983).

1.12 Sintomatología

La enfermedad cursa habitualmente con dolor renal, cólicos, convulsiones y eosinofilia (Hanjan et al., 1968; Ortega, 1969; Barriga, 1982; Burgos y Radman, 2008), hematuria (Athanasios et al., 2020; Terminiello et al., 2015), anemia, eosinofilia y basofilia (Coppo y Brem, 1981), disuria, anuria, síndrome urémico, fiebre, anorexia, pérdida de peso y shock hipovolémico, y desenlace fatal. Aunque muchas veces también es asintomática, debido a que el riñón sano se hipertrofia y compensa la función renal. Lo mencionado también depende del estado fisiológico del hospedador afectado.

1.13 Distribución geográfica

El parásito, tiene distribución mundial (Acha y Szyfres, 1989). En América del sur se ha reportado en Brasil (Pedrassani, 2009; Miranda et al., 1992), Argentina (Burgos et al., 2010; Burgos et al., 2014; Paladini et al., 2015; Corbalán et al., 2016; Estevez et al., 2017; Radman et al., 2017), Colombia (Florez et al., 2018) y Uruguay (Bellini et al., 2001, Gonçalves et al., 2015), generalmente asociado a regiones con alto potencial hídrico (Burgos y Radman, 2008; Pedrassani, 2017; Perez Tort et al., 1997), Grecia (Athanasios et al., 2020).

1.14 La parasitosis en el hombre

Dioctofimosis es una enfermedad zoonótica, sin embargo, pocas veces reportada en humanos tal vez por su frecuente localización ectópica (Barriga, 1982).

Su forma patente, es aún menos frecuente, la mayor parte de los hallazgos corresponden a estados del verme incluidos en tejidos. A veces mimetizando tumores (Katafigiotis et al., 201). En los últimos años se han reportado varios casos, totalizando

al momento al menos, 42 casos en el mundo, con diferentes localizaciones. Los hallazgos reportados fueron distribuidos en Asia, Europa, América del norte, del sur y Oceanía, con alto número en Japón y China. La mayoría en personas adultas, algunas son de localización renal y otras ectópicas. Éstas, principalmente en tejido celular subcutáneo. Pacientes con hábitos de comidas de peces y ranas insuficientemente cocidos, han manifestado dolor y hematuria al momento del examen clínico y en la anamnesis. El diagnóstico fue directo, basándose en características morfológicas de los huevos y/o el hallazgo de vermes adultos en orina. O indirecto mediante técnicas complementarias, ultrasonografía, tomografía computada, resonancia magnética nuclear, técnicas de biología molecular e histopatológicas, observándose en estas últimas cortes de vermes en secciones de tejidos (Yang et al., 2019).

En América del sur, se reportaron casos humanos desde hace muchos años, De *Strongylo gigante* dies: *Strongylo gigante* aut: in hominis rene, observado por Von Linstow en 1866, un niño de 12 años descrito por Cannon y et al., 1887, paciente de 73 años descrito por Trumbull Jhon, 1897 en Valparaíso, Chile, en Brasil, Lisboa, 1945, y en la República Argentina en 2018, Provincia de Córdoba, un caso de dioctofimosis en riñón izquierdo, tercero en esta localización a nivel mundial, en una mujer adulta, que falleció, post cirugía (Heredia et al., 2018), no publicado. La totalidad de comunicaciones de casos de dioctofimosis en humanos reportados se resumen en la Tabla 1.14.1, de algunos no se obtuvieron más que resúmenes, de otros solo la cita.

Tabla 1.14.1. Localizaciones de estados de *D. renale* halladas en humanos en el mundo.

AÑO	AUTORES	TÍTULO	FORMA DE PRESENTACIÓN
-----	---------	--------	-----------------------

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

1866	Von Linstow	De Strongylo gigante dies: Strongylo gigante aut: In hominis rene observato.	Aut: in hominis rene observato.
1887	Cannon R, LKQCP, LECSI, MD CHILI.Cirujano, Marina R	Caso de <i>Strongylus gigas</i> .	Paciente de 12 años, con dificultad para orinar. dolor de cabeza e hipertermia que ceden al eliminar un ejemplar dividido en 3 partes de 10 pulgadas de color rojizo, la noche posterior a estos síntomas (Valparaiso- Chile)
1897	By Trumbull J0hn, M.D.	A case of <i>Eustrongylus gigas</i>	Paciente de 73 años de edad, ex capitán de mar reside en Valparaíso 22 años, se observa en orina 4 cilindros hialinos y un gusano con movimiento muy activo
1945	Dr. Lisboa Achilles.	Estrongilose renal humana	Paciente femenina de 54 años de edad, expulsa por vía uretral un ejemplar macho, que se identificó como <i>Dioctophyme renale</i> (Brasil).
1968	Hanjani AA, Sadeghian A, Nikakhtar B, Arfaa F.	The first report of human infection with <i>Dioctophyma renale</i> in Iran	Primer caso humano en Irán. Paciente de 28 años de edad con fiebre por 6 meses, disminución del apetito, dolor abdominal, localizado en hipocondrio derecho, eosinofilia, huevos en orina, fueron los síntomas predominantes, por laparotomía se observaron 3 pequeños nódulos calcificados, uno en el lóbulo derecho y otro en la superficie del hígado, cerca del ligamento falciforme.
1979	Beaver PC, Theis JH	Dioctophymatid larval nematode in a subcutaneous nodule from man in California.	Paciente de 26 años de edad, masculino, un nódulo en tejido celular subcutáneo del músculo pectoral. Descrito e identificado como el tercer estadio larval de <i>D. renale</i> , con antecedente de comidas poco cocidas, diagnóstico: biopsia muscular, cortes histopatológicos, coloración hematoxilina eosina, observación a 16X.
1981	Zhang SK, Zhu SH	Human dioctophymiasis.	National Medical Journal of China. 61(3). 167-168. (in Chinese)

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

1983	Fernando SS	The giant kidney worm (<i>Dioctophyma renale</i>) infection in man in Australia. American	Paciente de 47 años con dolor y hematuria, 2 meses después un traumatismo, diagnóstico: por ultrasonografía y arteriografía, en la cirugía se observó en el riñón izquierdo, un quiste conteniendo sangre con fibrosis en la pared, con estriaciones radiadas, los cuales fueron identificados, como los huevos de <i>D. renale</i>
1984	Beaver PC, Khamboonruang C.	Dioctophyma-like larval nematode in a subcutaneous nodule from man in Northern Thailand.	Masculino 12 años, nódulo en el pecho, tejido celular subcutáneo, se halla una larva de dioctofimato, posiblemente <i>D. renale</i> .
1986	Sun, T., Turnbull, A., Lieberman, P. H., & Sternberg, S. S (89).	Giant kidney worm (<i>Dioctophyma renale</i>) Infection Mimicking Retroperitoneal Neoplasm	Paciente masculino de 50 años de edad, con dolor lumbar derecho de 4 semanas de duración, febril y con leucocitosis. Diagnósticos por imágenes evidenciaron una masa retroperitoneal sobre el polo renal derecho
1987	Sun JR, Lu JR, Ju ZF.	A case report of human infection <i>renale</i> in Henan Province, China	Journal of Henan Vocational-Technical Teachers College, 15(2), 75. (in China)
1988	Chen HC, Liu GH.	A Report of human case of <i>Dioctophyma renale</i> infection.	Paciente masculino de 6 años de edad, elimina por vía uretral un ejemplar hembra de <i>D. renale</i> de 35 cm de longitud x 0,15 cm de ancho identificado por patología
1989	Gutiérrez Y, Cohen M, Machicao CN.	Dioctophyme larva in the subcutaneous tissues of the woman in Ohio.	. Am J Surg Pathol: 13(9): 800 Paciente femenina de 23 años de edad, de la ciudad de Ohio, con un nódulo abdominal, tercer caso reportado de larva de <i>Dioctophyme</i> con localización en tejido subcutáneo.
1992	Peng DS, Wang SL, Hu LY.	Report on a case of dioctophymiasis	Chinese journal of Nephrology, 9(5), 295. (in Chinese)
1992	Gong JG.	A human case of dioctophymiasis	Fujian Medical Journal. 14(1), 26. (in Chinese)

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

1994	Narvaez JA, Turell LP, Serra J, Hidalgo F.	Hperdense renal cystic lessions caused by <i>Dioctophyma renale</i>	AJR Am J Roentgeno.Oct: 163(4): 997 - 8l
1993	Hu SH.	A child case of dioctophymiasis	Sichuan Medical Journal, 14(7), 454. (in Chinese)
1995	Yang YR, Lu YY.	A case report of dioctophymiasis infection cured by albendazole. Chinese	Chinese journal of Parasitology and parasitic diseases. 13(13), 192. (in Chinese)
1997	CHEN Hong Chu and LIU Guang Hui	Report on a case of <i>Dioctophyma renale</i> infección	Paciente masculino de 6 años de edad, primer caso de Meishan Country, Sichuan, dolor abdominal, 3 días de medicación, elimina por uretra un ejemplar de color rojo (35 cm x 0,15cm de ancho. el gusano fue identificado por un grupo de patólogos del Instituto, como 1 hembra de <i>D. renale</i>
1998	Qiu HL, Yang HQ, Xie Q	Clinical analysis of two cases of human infection with <i>Dioctophyma renale</i>	Chinese journal of Zoonoses, 14(1), 52. (in Chinese)
2000	Van Velthuysen ML, Florquin S.		Microbiology REVIEWS, 13(1), 55-56th
2001	Urano Z, Hasegawa H, Katsumata T, Toriyama K., and Aoki Y.	Dioctophymatid Nematode de Larva Found from Human Skin with Creeping Eruption	Paciente de Japón, femenina de 26 años de edad, se observa un granuloma dérmico, acompañado de erupción progresiva, en la cara interna del muslo izquierdo. Cuarto caso de infección dérmica con larva de <i>D.renale</i>
2001	Liu DX.	The first findings of human infection with <i>Dioctophyma renale</i> from Heilongjiang Province, China.	Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Disease control, 14(1), 80.
2002	Lei B, Pang YQ, Kong BQ.	Report one a case of <i>Dioctophyma renale</i> infection	Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 20(3), 151. (in Chinese)
2002	Vladimoba MG, Lysenko A la, Gorbunova LU P, Avdiukhina TI, Konstantinova TN, Romanenko LN.	A case of dioctophymosis (<i>Dioctophyme renale</i>) in a girl from Arkhangelsk	Case Reports Med Parasitol (Mosk) Oct-Dec 2002 ;(4):48-50 PMID: 12557591.

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

2003	Ignjatovic I, Stojkovic Ivica I, Kutlesicb C, Tasicc S.	Infestation of the Human Kidney with <i>Dioctophyma renale</i>	Paciente masculino de 44 años de edad, con antecedentes de dolor lumbar, durante 6 años. Diagnóstico: ultrasonido y ecografía, se observa, difusa calcificación en ambos riñones, aumentada en el izquierdo. En cirugía exploratoria, toma una biopsia y se observa pielonefritis, a final fue encontrado un gusano enroscado infectando el riñón, en urianálisis, los característicos huevos de <i>D.renale</i> tratamiento ivermectina 6 años después no se observaron huevos
2005	Jin ZY, Cai SH, Sun XC.	A caso concomitant gonococcal urethritis and <i>Dioctophyma renale</i> expelled in urine	A caso concomitant gonococcal urethritis and <i>Dioctophyma renale</i> expelled in urine. Chinese Journal of Dermato venereology, 19(9), 562. (In Chinese)
2005	Cui Y, Zheng LL, Dai XD. QIN yh, Chen h, chen FY.	The first report of human infection with <i>Dioctophyma renale</i> and epidemiological analysis in Dalian, China.	Chinese Journal of Zoonoses, 21(4), 362-363. (in Chinese)
2008	Wang H.	A Case Report of human infection with <i>Dioctophyma renale</i> .	Journal of Pathogen Biology, 3(1), 4. (in Chinese)
2009	Sardjono TW, Purnomo BB, Iskandar A, Gunawan A.	Dioctophymatosis renalis in humans: first case report from Indonesia. Proceeding of the third ASEAN	Paciente masculino de 67 años de edad, expulsó un gusano largo a través de su uretra, durante la micción, previo a la internación eliminar gusanos, a los 2 días de internación, también eliminó gusanos, al examinarlo con cistoscopio, un gusano fue visto emergiendo del uréter izquierdo y el catéter, removió al gusano el cual fue expulsado a través de la uretra, se removieron los que se encontraban en la vejiga, se eliminaron 23 gusanos de 30 a 40 cm de longitud x 2 a 3 mm de diámetro,
2010	Gang Li, Liu C, Li F, Zhou M, Liu X, Niu, Y.	Fatal Bilateral Dioctophymatosis	Paciente femenina de 51 años de edad, clínica inespecífica, tratada por una colecistitis con antibióticos, el dolor continuaba, urianálisis: hematuria y piuria.

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

			Antecedentes: comió peces en un tour en Beijing. Por ultrasonografía, se observan lesiones hiperecoicas en riñón derecho, tomografía computada: una masa con alta densidad, una masa quística retroperitoneal, un quiste también fue encontrado en riñón izquierdo, la paciente rechaza la cirugía, en 2002, expele 39 fragmentos de gusanos rojos en orina durante 60 hs acompañada de lumbalgia, disfunción renal, un año después, falla renal y óbito
2012	Gu Y, Li, G., Zhang J, & Zhang Y.	<i>Dioctophyma renale</i> infection masquerading as a malignancy	Paciente de 45 años de edad. Lumbalgia derecha, hematuria, fiebre. Tomografía abdominal: una masa hipodensa en el centro, luego de varios días de fiebre, expulsa con la orina, <i>D. renale</i> , que fue confirmado.
2013	Katafigiotis, I., Fragkiadis, E., Pournaras, C., Nonni, A., Stravodimos, K. G.	A rare case of a 39-year-old male with a parasite called <i>Dioctophyma renale</i> mimicking renal cancer at the computed tomography of the Right kidney. A case reports.	Masculino 39 años, dolor, zona lumbar derecha, estudios mediante imágenes mostraron un quiste complejo hipodenso en el polo superior del riñón derecho. Se observaron estructuras en forma de anillo. Los resultados no fueron patognomónicos, sin embargo, compatibles con verme muerto dentro del quiste. El diagnóstico presuntivo había sido carcinoma renal.
2013	Hye Young Park, MD, Jung Wook Seo, MD, Byung Hoon Lee, MD, Ji Young Lee, M, SuYoung Kim, MD, Soon Joo Cha, MD, Yong Hoon Kim, MD, Yoon Joon Hwang, MD, Usted Sung Kim, MD	Aparición simultánea de histiocitoma fibroso maligno del uréter y <i>Dioctophyma renale</i> - Infección:	Paciente masculino de 57 años con aparición simultánea de histiocitoma fibroso maligno del uréter e infección de <i>D. renale</i> Diagnosticada por radiografía de abdomen, urografía intravenosa que mostró obstrucción completa de uréter superior izquierdo, tomografía computarizada, mostró lesión polipoide persistente bien definida, similar a 1 masa de 1,0 x1,3 x 1,7 cm, en el uréter superior izquierdo
2014	Venkatrajaiah, N., Kalbande, S. H., Rao, G. V., Reddy, V. C., Reddy, S. H., Rao, P. R., ... Keerthi, A.	<i>Dioctophymatosis Renalis</i> in Humans: First Case Report from India	Paciente masculino de 70 años de edad, expulsaba a través de la orina 2 gusanos largos, con hematuria, 2 días post internación, fue confirmado <i>D. renale</i> , E n urianálisis se observaron huevos específicos del parásito

Comprobación experimental del ciclo biológico de *Diectophyma renale* en un área ribereña al Río de la Plata. Médica - Bact Lola Burgos.

2014	Tokiwa, T., Ueda, W., Takatsuka, S., Okawa, K., Onodera, M., Ohta, N., Akao, N.	The first genetically confirmed case of <i>Diectophyma renale</i> (Nematoda: Diectophymatida) in a patient with a subcutaneous nodule	Masculino, 44 años. Nacionalidad, China, residente en Japón durante 15 años, se le realizó la extirpación de una pápula granulomatosa en abdomen inferior izquierdo. Se realizaron cortes histopatológicos y técnicas de biología molecular. Se confirmó la presencia de un estado juvenil de <i>D. renale</i> .
2016	Chauhan, S., Kaval, S., & Tewari, S.	Diectophymiasis: A Rare Case Report	Paciente masculino de 35 años de edad, consulta por retención de orina, seguido de eliminación del gusano y sangre en la orina, se confirmó <i>D. renale</i> macho, por sus características morfológicas. Historia de comida: peces o ranas insuficientemente cocidas
2016	Yang, J., Li, P., Su, C., Zhang, J. Y., & Gu, M.	Worms Expelled with the Urine From a Bosniak Cyst III of the Left Kidney	Hombre pescador, 92 años, eliminó vermes con orina. Observación de imágenes de vermes en el riñón izquierdo. Hallazgo de huevos en orina. Medicado con albendazol.
2016	Kuehn, J., Lombardo, L., Janda, W. M., & Hollowell, C. M.	Giant kidney worms in a patient with renal cell carcinoma	Masculino, Pérdida de peso, hematuria indolora. Riñón izquierdo. Carcinoma renal. Eliminación de un tejido por uretra que se diagnosticó como <i>D. renale</i> .
2017	Norouzi, R., Manochehri, A., Hanifi, M.	A Case Report of Human Infection with <i>Diectophyma Renale</i> from Iran.	Paciente masculino, riñón derecho. Cirugía.
2018	Heredia M, Chiarlo, M; Espejo L; Casado M Á; Roldan R; Anuch Cabiche E; Arguello F; GILI M.	Primer caso de diectophymatosis humana en Argentina	Hospital San Roque, Córdoba. Argentina (no publicado). <i>D. renaler</i> localizado en riñón izquierdo
2019	Yang, F., Zhang, W., Gong, B., Yao, L., Liu, A., Ling, H.8939.	A human case of <i>Diectophyma renale</i> (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of diectophymiasis	China, sintomatología durante dos años, quirúrgica, histopatología, células carcinomatosas. Elimina posteriormente un total de 14 vermes.
2020	Tanaka Takuji, Toshihiro Tokiwa, Hideo Hasegawa,	Morphologically and Genetically Diagnosed Dermal <i>Diectophyma</i>	Paciente de China, masculino de 43 años de edad, presencia de larva migrans en

	Teruki Kadosaka, Makoto Itoh ⁴ Fumiaki Nagaoka, Haruhiko Maruyama, Yuki Mizuno, Hiroyuki Kanoh, Naoki Shirai.	Larva in a Chinese Man: Case Report.	tejido celular subcutáneo. Larva, encontrada en lesión de piel, un nódulo, en flanco izquierdo de abdomen de 20 mm, diagnosticada morfológicamente y confirmada por secuenciación de DNA
--	--	---	---

1.15. Objetivos

Objetivo general:

Describir el ciclo biológico experimental de *Dioctophyma renale*.

Objetivos particulares:

- 1) Identificar probables hospedadores intermediarios de *Dioctophyma renale* en un área ribereña al Río de La Plata correspondiente a la Localidad de Ensenada Provincia de Buenos Aires, República Argentina.
- 2) Reproducir experimentalmente la dioctofimosis en ratas.

1.16 Hipótesis más relevante

En ausencia de *Lumbriculus variegatus* en el área en estudio, otros Anélidos dulceacuícolas cumplen su rol.

Capítulo 2: Objetivo 1

2.1 Introducción al objetivo 1. (Brinkhurst y Gelder, 1991)

Hasta el año 1983, *Lumbriculus variegatus* (Müller, 1774) no había sido notificado en el hemisferio sur (Castellano, 1983). Sin embargo, investigando el estado biológico de las corrientes de los arroyos, ha sido hallado *L. variegatus* entre otros macroinvertebrados bentónicos para evaluar en los arroyos El Gato y El Pescado que se hallan próximos a la zona involucrada en el presente estudio (Rodríguez et al., 2001). Así mismo en la República Argentina, investigadores del área de toxicología, dada su característica de organismo subletal, lo han utilizado en sus experiencias (Kristoff et al., 2006; Cochón et al., 2007). Las investigaciones se realizaron con *L. variegatus*, provenientes del Reino Unido, introducidos para tal fin (Cochon, comunicación personal). También, se lo menciona como organismo introducido en la Patagonia Argentina (Miserendino, 2008), y se observó en la Patagonia como indicadores de la degradación en mallines y en bentos de ríos (Beltrán, 2014). En Mina Gerais se describió en estanques (Marchese et al., 2015), dada la elevada prevalencia de dioctofimosis canina hallada en el área en estudio, pareció lógico encontrar con facilidad al HI de *D. renale*, especialmente en algunos sitios de reunión habitual de caninos. Y de no ser así, el anélido que actuará en el área como HI de *D. renale* sería fácilmente recuperado.

2.2 Materiales y métodos objetivo 1

A. Área de trabajo (Figura 2.2.1 A)

El lugar de trabajo corresponde a un área de la Provincia de Buenos Aires, que comprende los Barrios Piria, El Molino, El Zanjón y Villa Rubencito ubicados al norte de la Ciudad de La Plata, en la Selva Marginal de Punta Lara en la Localidad de

Ensenada. Está ubicado entre los 34° 49' 0" de latitud sur y 57° 58' 0" de longitud oeste. La zona pertenece al Gran Bañado (Lentini Rocca, 1981 – 2004), también lo han hallado en estudios de búsqueda de indicadores de la calidad del agua en ríos urbanos, Paraná- Entre Ríos, Argentina (Pave y Marchese, 2005; Lentini Rocca) y corresponde a la selva en galería más austral del mundo (Guerrero et al., 2018). El suelo es arcilloso, limoso, pobre en humus y con un elevado contenido de agua (Cabrera y D, 1944). La zona es altamente inundable, la costa del Río de La Plata y la presencia de numerosos zanjones asociadas a las cercanías del río, ponen a disposición de animales y humanos formas infectantes de parásitos y también a sus hospedadores intermediarios invertebrado (Burgos y Radman, 2008), (Figs 2.2.2 A, 2,2.3 A). Aquí el río y sus pequeñas ramificaciones que ingresan y acompañan en forma de zanjones, a los pobladores del lugar, permite que se cierren ciclos biológicos acuáticos de parásitos, algunos zoonóticos que difícilmente se cumplirían en otro medio (Espinosa et al., 1999), como el de *D. renale*.

El barrio, alberga una población precarizada con conductas higiénico-sanitarias inadecuadas para la salud (Radman et al., 2015; Radman et al., 2017; Burgos et al., 2017). Presenta una superficie de 63 manzanas (Figura 2, 2, 1A), bordeadas en parte por la costa ribereña al Río de La Plata, y surcada por arroyos, lagunas y zanjas. Los desbordes frecuentes, hacen de esta zona un área anegadiza, lo cual favorece, la presencia y desarrollo de flora y fauna múltiple entre la que se hallan anélidos, oligoquetos y poliquetos. Sobre algunos de los albardones que corren paralelos a la costa, se han ubicado asentamientos periurbanos, cada vez más numerosos, precariamente organizados y densamente poblados. El río, en sus desbordes, invade las precarias viviendas, y determina parte de la vulnerabilidad del área. Que

socialmente se caracteriza por ser de bajo poder adquisitivo, deficiente escolaridad, precariedad laboral, asistencia a comedores comunitarios, propiedad de numerosos caninos que deambulan, promiscuidad con los animales. En cuanto a infraestructura urbana, el área carece de cloacas, aunque posee de agua de red, la que sin embargo ingresa precariamente a los domicilios. Causas que en conjunto con la inundabilidad contribuyen a la dispersión de diversos patógenos, entre ellos formas infectantes de parasitosis humanas y animales, no zoonóticas y zoonóticas, como la que nos ocupa. Gran parte de las familias utilizan leña y garrafas. Una cantidad importante de personas convive con mascotas, que inevitablemente merodean por las calles en busca de alimento. Los jefes de familia escasas veces poseen trabajos fijos. La mayoría tiene trabajos temporales o está desempleado.

Es frecuente observar a caninos bebiendo de los zanjones, alimentándose de peces o ratas y también se los observa ingiriendo materia fecal contenida en pañales descartables entre otros residuos. Las personas, lugareños y turistas, realizan actividades recreativas asociadas a la cercanía del río que los pone en riesgo de adquirir parasitosis de ciclos evolutivos acuáticos.



Figura 2.2.1 A. Muestra plano, vista satelital y sitios emblemáticos del Barrio El Molino.



Figura 2.2.2 A. Imagen del zanjón más caudaloso, da nombre a uno de los barrios que integra el área en estudio.



Figura 2.2.3 A. Imagen de casa típica con eliminación de desechos a cielo abierto.

B. Muestreo. Se realizó en bentos y aguas de corriente lenta (Figura 2.2.4 B ambientes lóticos) para investigar la presencia de anélidos. Según los hábitos de localización de los macroinvertebrados, potenciales HI, descritos en la bibliografía (Rodríguez et al., 2001; Miserendino et al., 2008; Beltrán., 2014; Marchese et al.,

2015), se tomaron muestras barrosas del fondo y de agua superficial próxima a la orilla de zanjones permanentes que abundan en el lugar (Figura 2.2.5 B). No existiendo datos previos, las muestras, unidades elementales de muestreo, (UEM) se tomaron en forma cuantitativa, no probabilística y por conveniencia. (Figura 2.2.6 B) Teniendo en cuenta la proximidad de los caninos que se diagnosticaron con dioctofimosis durante jornadas educativas-saludables realizadas en el lugar. Cabe mencionar que la autora del presente trabajo, prestó servicios en medicina general y bacteriología, en el Centro de Salud El Molino a efectos de estar en mayor contacto con el lugar y sus poblaciones, humanas y animal para así ampliar sus posibilidades de realizar muestreos y de obtener imágenes de distintos momentos para ilustrar el trabajo con material propio y original. Así, se colectaron muestras de bentos en zanjones correspondientes a 50 cuadras. Una de cada extremo y una de la parte central, del fondo de la orilla mas próxima a la vereda. Las UEM fueron de 300 cm³ y comprendieron agua y fondo barroso. Se tomaron con un dispositivo especialmente diseñado (Figura 2.2.7 B). El muestreo comenzó en un zanjón que se supuso habitado por el HI, dado que numerosos caninos bebían de él, se hallaba lindero a la Escuela primaria N° 7, era utilizado como desagüe a cielo abierto y día a día a las 16 hs recibía el vuelco de restos de merienda, por lo que los animales se hallaban condicionados a beber de allí (Burgos et al., 2016), a la fecha se encuentra entubado.



Figura 2.2.4 B Ambiente lóxico



Figura 2.2.5 B Primer zanjón mostrado:



Figura 2.2.6 B: Muestreo de bentos y agua.



Figura 2.2.7 B. Dispositivo para toma de muestras

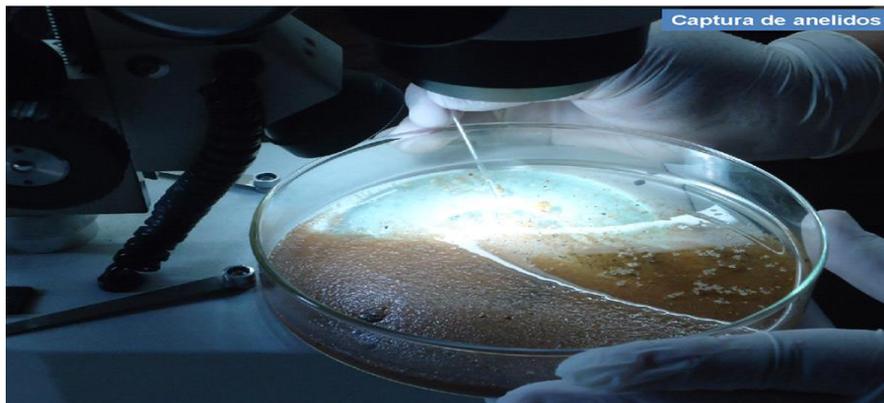


Figura 2.2.8 B. Captura de anélidos



Figura 2.2.9 B. Anélido con capilares capturados



Figura 2.2.10 B. Medio de cultivo de anélidos



Figura 2.2.11 B. Anélidos: fototropismo, termotropismo negativos y hidrotropismo, tigmotropismo positivo

Se tomó un total de 150 muestras paralelas, submuestra a) y submuestra b).

A efectos de que una de ellas a), sea fijada en formol al 5% y utilizada totalmente para la recuperación e identificación de anélidos (Figura 2.2.9 B) y la otra, b), sea reservada para capturar ejemplares y posteriormente seleccionar los más apropiados para su cultivo y multiplicación así disponer de numerosos ejemplares que permitieran realizar las experiencias propuestas. (Figura 2.2.10 B).

Para recuperar anélidos a partir de las muestras barrosas, se colocaron ambas submuestras en recipientes planos que se inclinaron a fin de lograr el desplazamiento del agua, dado su hidrotropismo positivo se logró la concentración de numerosos individuos en una menor superficie, a partir de la cual se separaron utilizando capilares de vidrio. Esto evitó que se ocasionen traumas en su cutícula y se recolectaron con

mayor facilidad (Figura 2.2.11 B). Ambas submuestras continuaron su procesamiento de distintas formas y con distintos objetivos

B.1. Procesamiento de la submuestra a): Identificación de anélidos.

Posteriormente el concentrado y el resto de la muestra se inactivaron con una solución de formol al 5%, con el agregado de unas gotas de eritrosina. Se retiraron los ejemplares visibles bajo una lámpara de luz blanca de 100w, agregando agua destilada a medida que fue necesario. Se recuperaron con capilares de vidrio los ejemplares de mayor tamaño (Figura 2.2.9 B1). Posteriormente la muestra fue observada bajo estereomicroscopio para efectuar la recuperación de posibles ejemplares más pequeños presentes en la misma. Los anélidos recuperados se colocaron en placas de Petri para su posterior separación por caracteres morfológicos más evidentes e identificación.

Luego, los ejemplares fueron investigados minuciosamente bajo microscopio óptico con objetivo de 10x. Se efectuaron mediciones y se observó la presencia de quetas, prostomio, segmentación, cilias, presencia de manchas cuticulares y branquias. Para definir la identificación de los distintos anélidos hallados se utilizaron claves taxonómicas. Fue de gran utilidad la de Brinkhurst y Marchese, 1991; Brinkhurst y Gelder, 1991. También a efectos de corroborar la identificación efectuada, se realizaron consultas personales con la Dra. Armendariz y Virtuales con la Dra. Miserendino.

B.2. Procesamiento de la submuestra b): Selección y cultivo.

A partir del concentrado de la submuestra b), se recolectaron los ejemplares viables con capilares de vidrio, bajo iluminación a simple vista y bajo estereomicroscopio, según tipos morfológicos aparentes a fin de mantenerlos en cultivos y seleccionarlos

para la continuación de la experiencia. Ésta se realizó según su mayor sobrevivencia en laboratorio y afinidad por el inóculo ha proporcionarse. Ambos criterios deberían ser cumplidos por los anélidos a utilizarse para poder ser seleccionados como posibles HI. Así 50 individuos de cada tipo se colocaron en placas de Petri conteniendo arena estéril humedecida con agua destilada y se mantuvieron a temperatura ambiente, se controló su viabilidad, comportamiento y multiplicación. En cada habitáculo se colocó semanalmente 2 mg de escamas de alimento para peces. Previo a la alimentación, se observó minuciosamente para realizar su limpieza, eliminación de anélidos muertos, detritus y ácaros. Así se mantuvieron hasta la observación de individuos jóvenes o la formación del clitelo. A partir de allí se observaron con mayor frecuencia con el objeto de separar y mantener en cultivos puros a los individuos recién nacidos, por gemación o eclosión de huevos según sus características. Cuando el número de ejemplares aumentó mas de un 20%, se incorporaron placas complementarias a efectos de que no se produzca hacinamiento. Se separaron algunos ejemplares de aquellos que mostraron la capacidad de sobrevivir en las condiciones mencionadas (primer criterio de inclusión), y se enfrentaron con huevos embrionados de *D.renale*, a efectos de comprobar si los ingerían. Los tipos morfológicos en los que por transparencia, se observó que incorporaron huevos del nematodo (segundo criterio de inclusión) fueron los seleccionados como aptos para continuar en la investigación. A partir de entonces se los mantuvo del modo descrito por mas de 10 generaciones a efectos de evitar cualquier tipo de infección proveniente de su hábitat natural, antes de ser utilizados experimentalmente.

2.3 Resultados del Objetivo 1

Submuestra a)

En la totalidad de muestras analizadas no fue hallado el oligoqueto *Lumbriculus variegatus* mencionado en la bibliografía como HI de *D. renale* (Karmanova, 1960 – 1962) para definir su ausencia en las muestras colectadas, se tuvieron en cuenta su tamaño en la naturaleza, que puede fluctuar entre 4 y 10 cm de longitud y sus características morfológicas diferenciales (Brinkhurst y Marchese, 1991).

Se recuperaron e identificaron 3 familias de anélidos pertenecientes a dos grupos, oligoquetos y poliquetos. Los oligoquetos correspondieron a 2 familias: 1) Naididae, subfamilia Naidinae: *Dero pectinata*, subfamilia Pristininae *Pristina aequiseta*, y *Pristina leidyi*. Subfamilia Tubificidinae *Tubifex tubifex*, 2) Enchytraeidae (Vejdovský František, 1879), de esta no existen al momento para su identificación en sudamérica claves.

Los poliquetos hallados correspondieron a la familia 3) Aeolosomatidae, *Aeolosoma hemprichi*, (Ehrenberg, 1828).

La experiencia se realizó con los anélidos *Aeolosoma hemprichi* y Enchytraeidae, quienes cumplieron con ambos criterios de inclusión. A continuación, se describen e ilustran las características morfológicas y reproductivas observadas.

Aeolosoma hemprichi (Phillips, 1967; Brinkhurst y Marchese, 1991; Burgos et al., 2011)

En su estado adulto, son pequeños, transparentes y delicados, miden entre 1 a 3 mm de longitud (2.3.1. a). Se mueven con agilidad nadando, reptando, serpenteando gracias a sus quetas y su prostomio redondeado cubierto de cilias. En su cara ventral,

presenta quetas capilares que nacen de parápodos y que forman haces o penachos constituidos por 3 a 5 quetas, distribuidos ventral y dorsalmente (Figura 2.3.2 a). Su cuerpo es transparente y se encuentra salpicado en la epidermis con gotas de aceite, en forma de lunares de color naranja-rojizo (Figura 2.3.4 a).

Su reproducción es asexual, por gemación, dando lugar a cadenas formadas por varios individuos alineados (Figura 2.3.1 a)

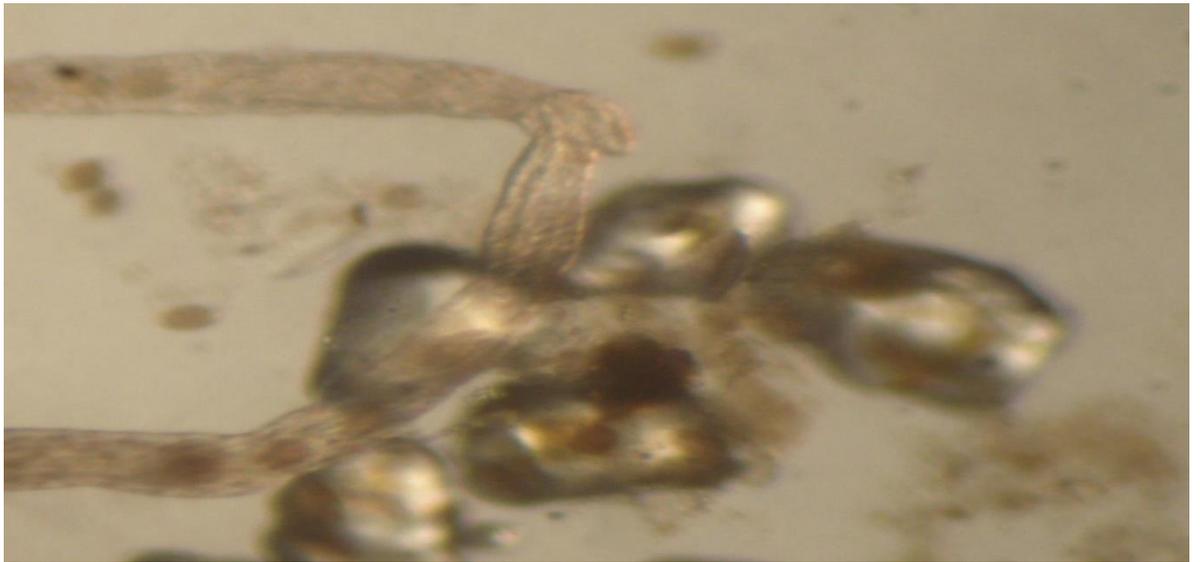


Figura 2.3.1.a Reproducción asexual por gemación. (Obj. 5x).

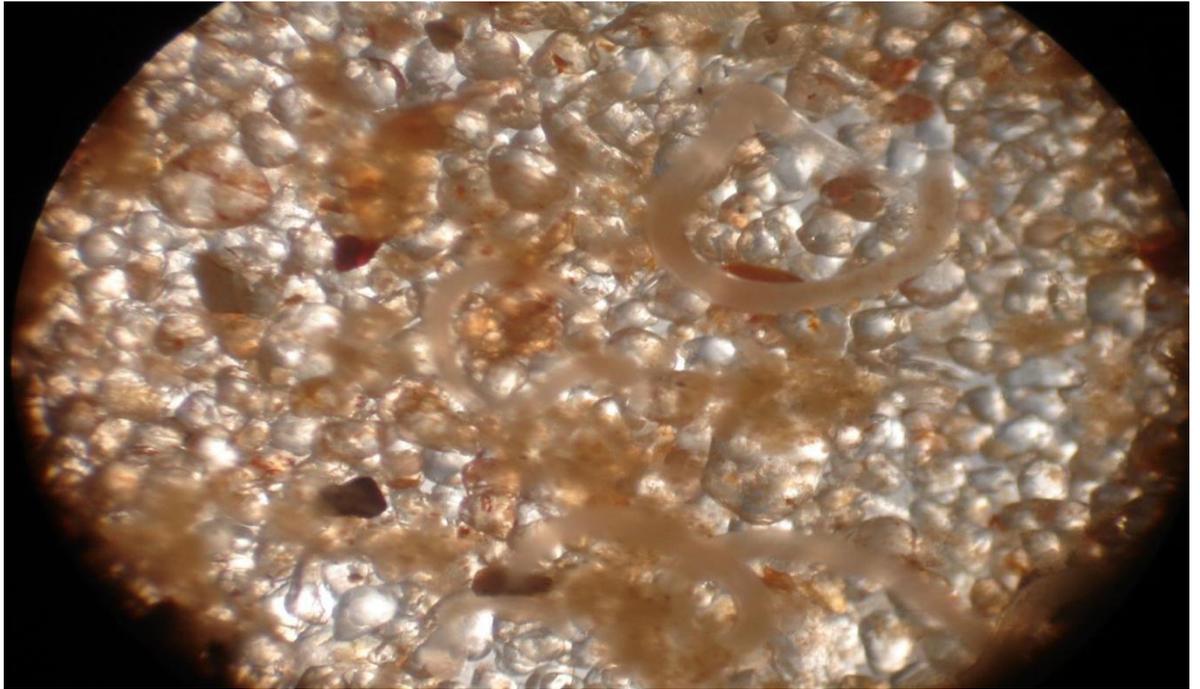


Figura 2.3.2.a Cultivo de *Aelosoma hemprichi*. (Obj. 5x).



Figura 2.3.3 a. *Aelosoma hemprichi* con numerosos huevos de *Dioctophyma renale* en su interior observados por transparencia. (Obj. 5x).



Figura 2.3.4.a *Aeolosoma hemprichi* (Obj. 10x).

Enchytraeidae (Phillips, 1967; Brinkhurst et al., 1991; Burgos et al., 2016; Burgos et al., 2019)

La pared del cuerpo tiene una cutícula gruesa y así los organismos parecen más duros y menos transparentes en la mayoría de ellos. La identificación de las especies en esta familia depende del examen de las partes blandas, así como de las quetas, y los taxónomos utilizan material fijado, teñido y montado en forma permanente. No se cuenta con una revisión reciente de los representantes acuáticos continentales de la familia.

La especie hallada durante esta investigación posee solo dos quetas sin parápodos, unicúspides e iguales constituyendo cada haz (Figura 2.3.5 a). En otras se observa que pueden diferir en número, longitud y ancho, dentro del mismo haz. Estos anélidos son hermafroditas, el adulto presenta en su tercio anterior un engrosamiento oscuro,

denominado clitelo que indica su madurez sexual (Figura 2.3.6.7.a), oviponen un cocón que es como un capullo de algodón (Figura 2.3.8.9.) y en el transcurso de los días se observa el huevo típico con forma de limón, con su blastómero (Figura 2.3.10.11.12a). Así, se ven huevos en distintos estadios, (Figura 2.3.13.a) hasta llegar a larva juvenil (figura 2.3.16a), la cual emerge del huevo (Figura 2.3.14a), y luego evoluciona hasta su estado adulto (Figura 2.3.15a).

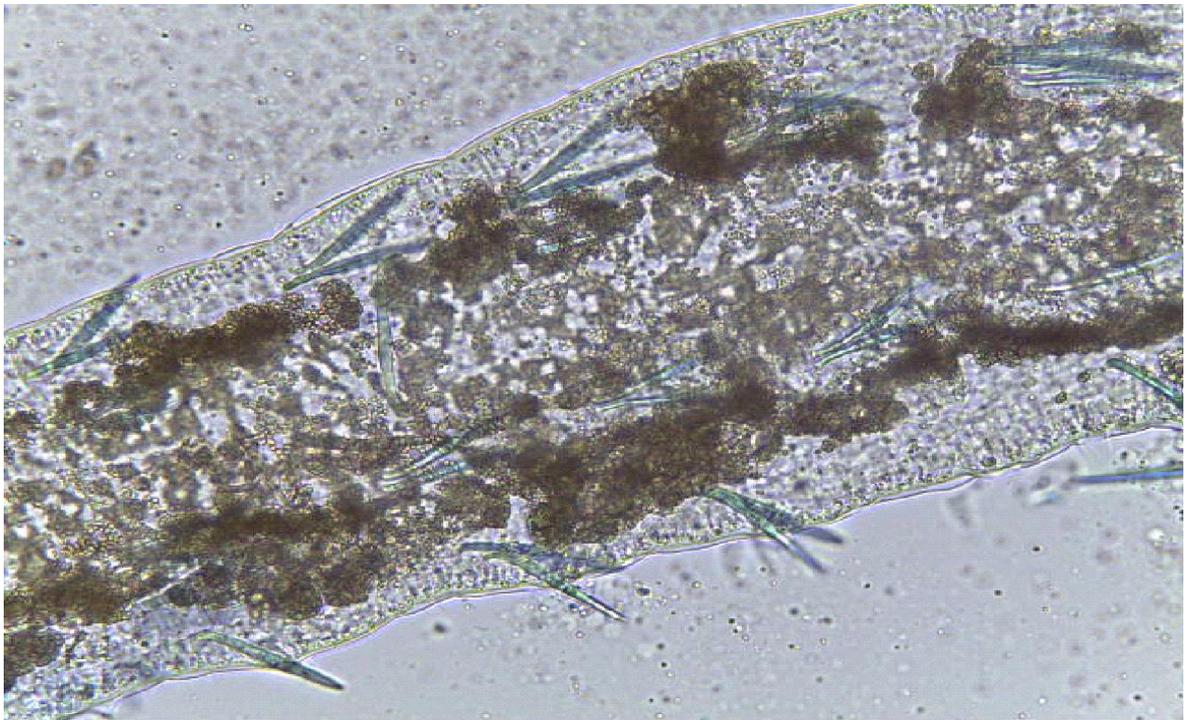


Figura 2.3.5 a. Familia Enchytraeidae: quetas unicuspides(. (Obj 40x).



Figura 2.3.6 a. Reproducción sexual de ejemplares de la familia. (Obj. 5x).

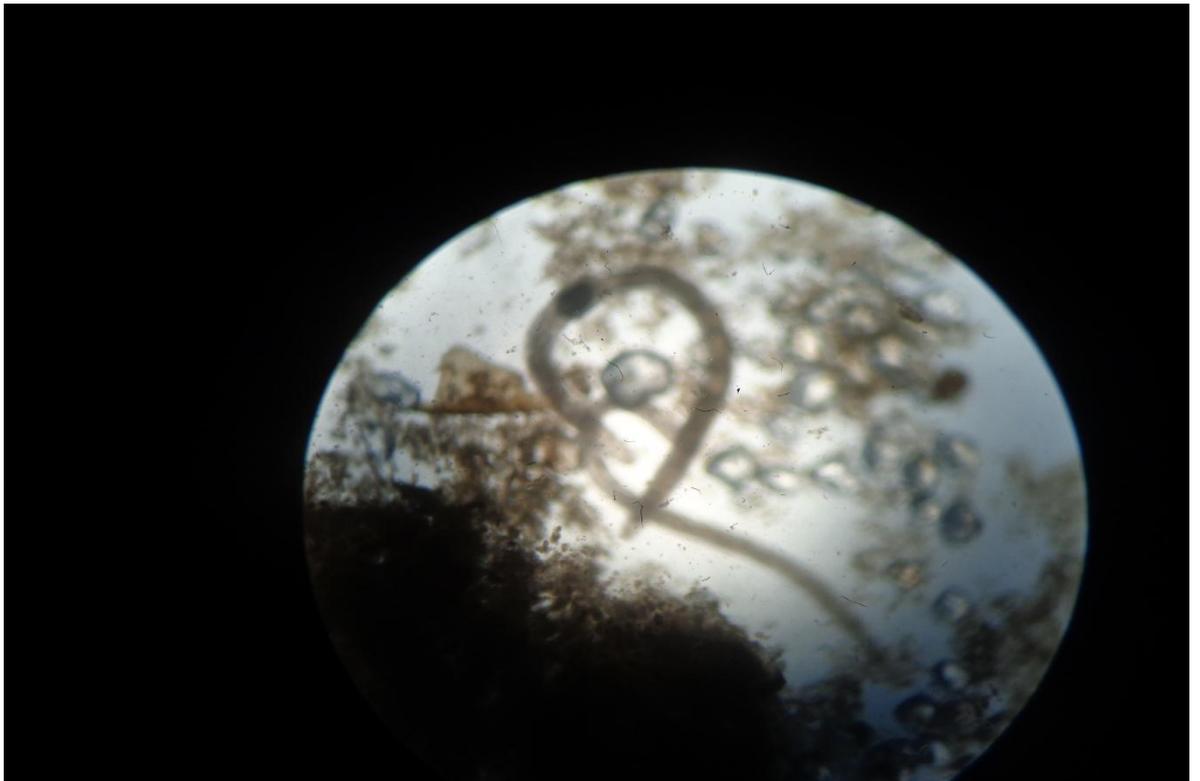


Figura 2.3.7 a. Oligoqueto adulto con madurez sexual, se observa el clitelio en el tercio anterior del oligoqueto. (Obj. 5x).

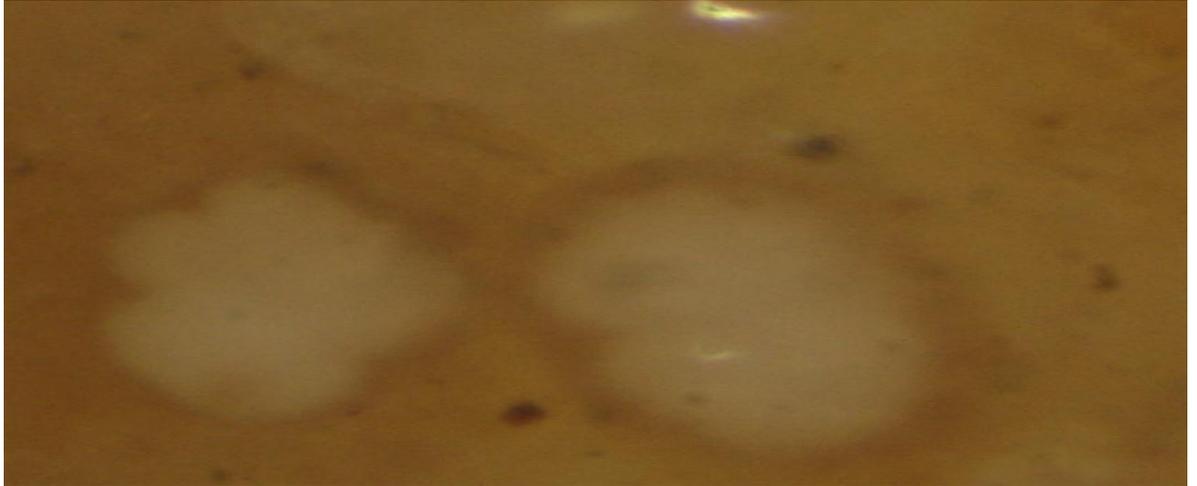


Figura 2.3.8 a. Cocon. (Obj. 10x).

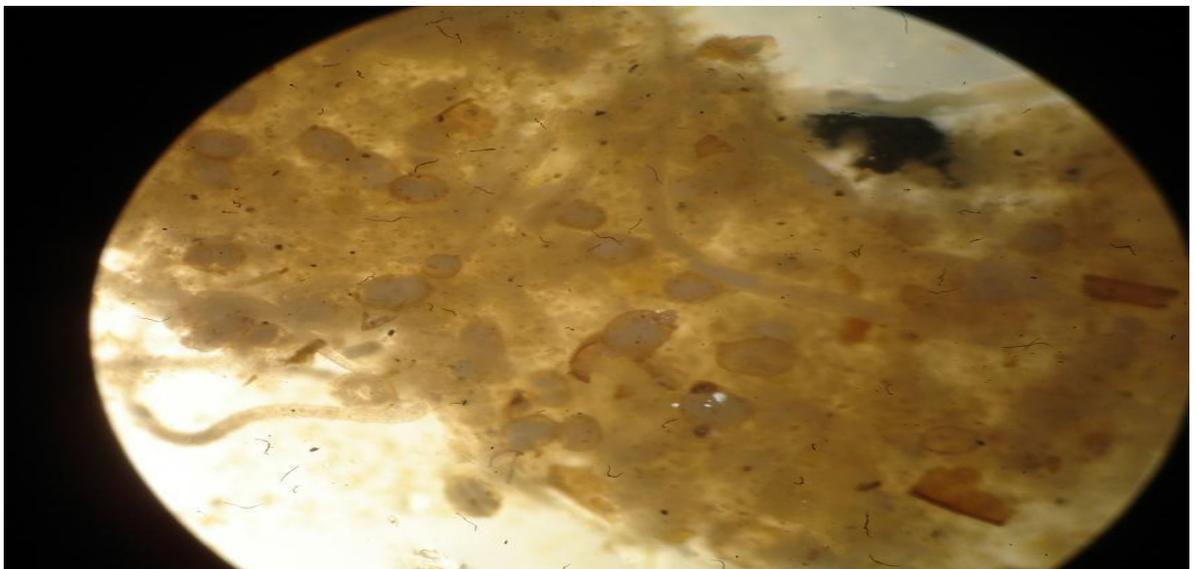


Figura 2.3.9 a. Cultivo y abundantes cocón. (Obj. 5x).

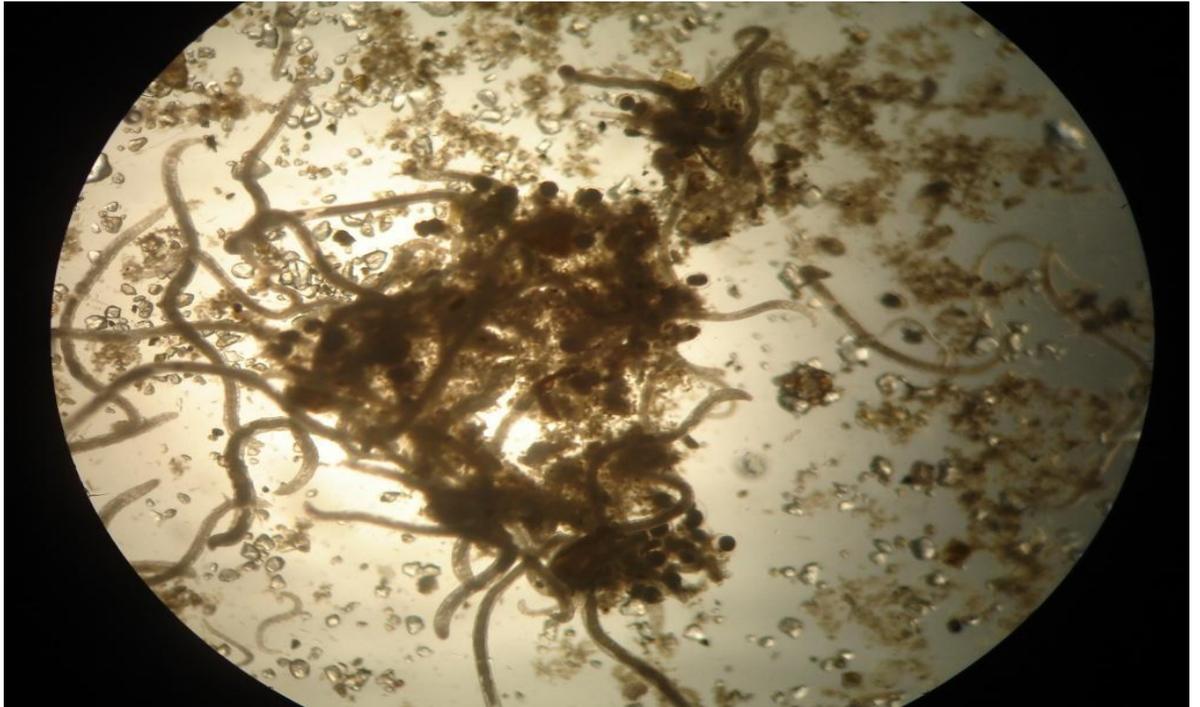


Figura 2.3.10 a. Cultivos y abundantes huevos. (Obj. 5x).

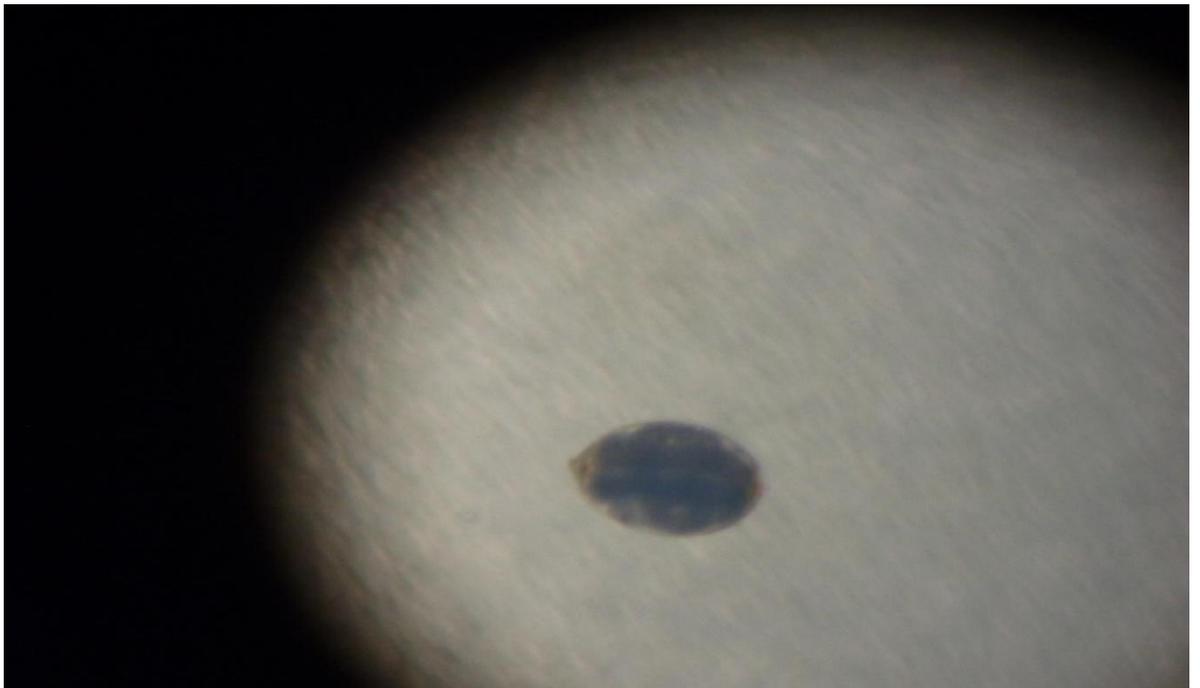


Figura 2.3.11 a. Huevo, forma de limón. (Obj. 10x).

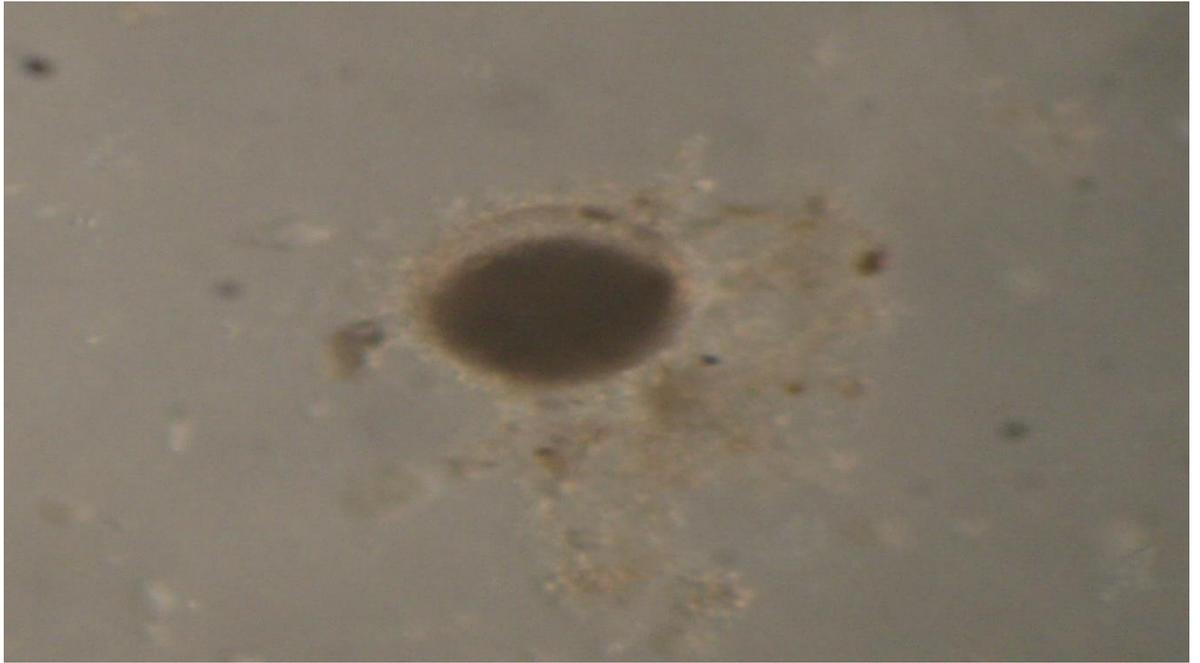


Figura 2.3.12 a. Huevo con blastómero. (Obj. 10x)

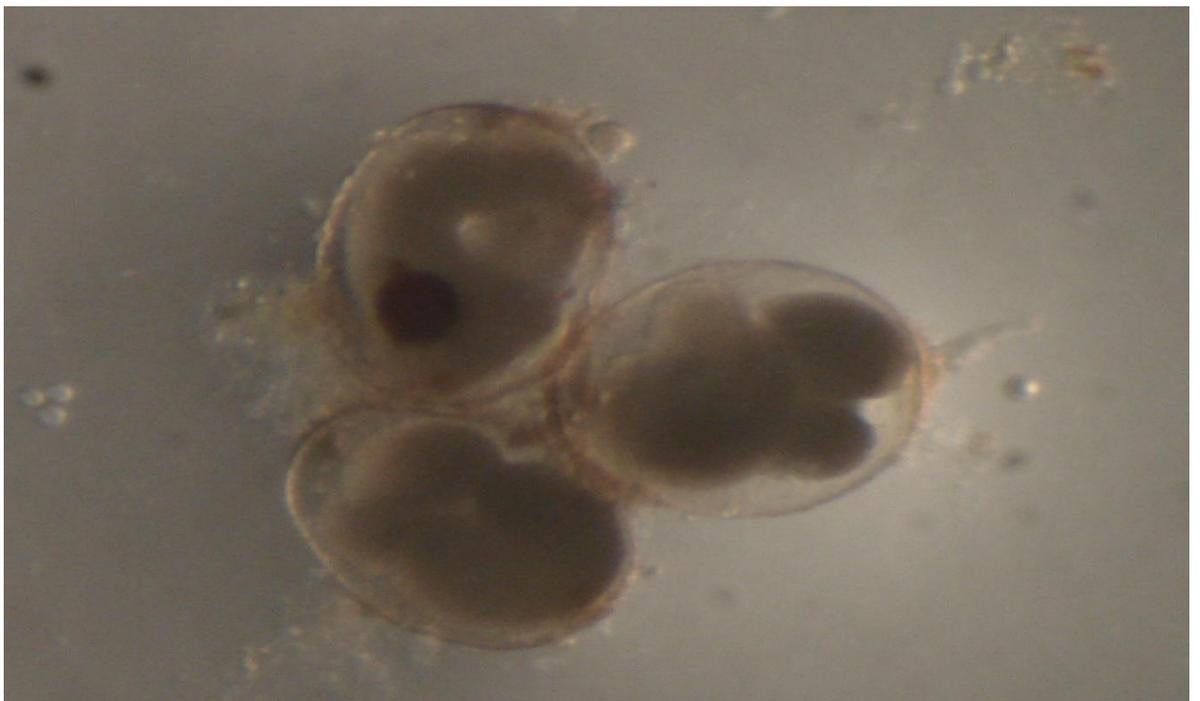


Figura 2.3.13 a. Huevos en distintos estadios de evolución. (Obj. 10x).

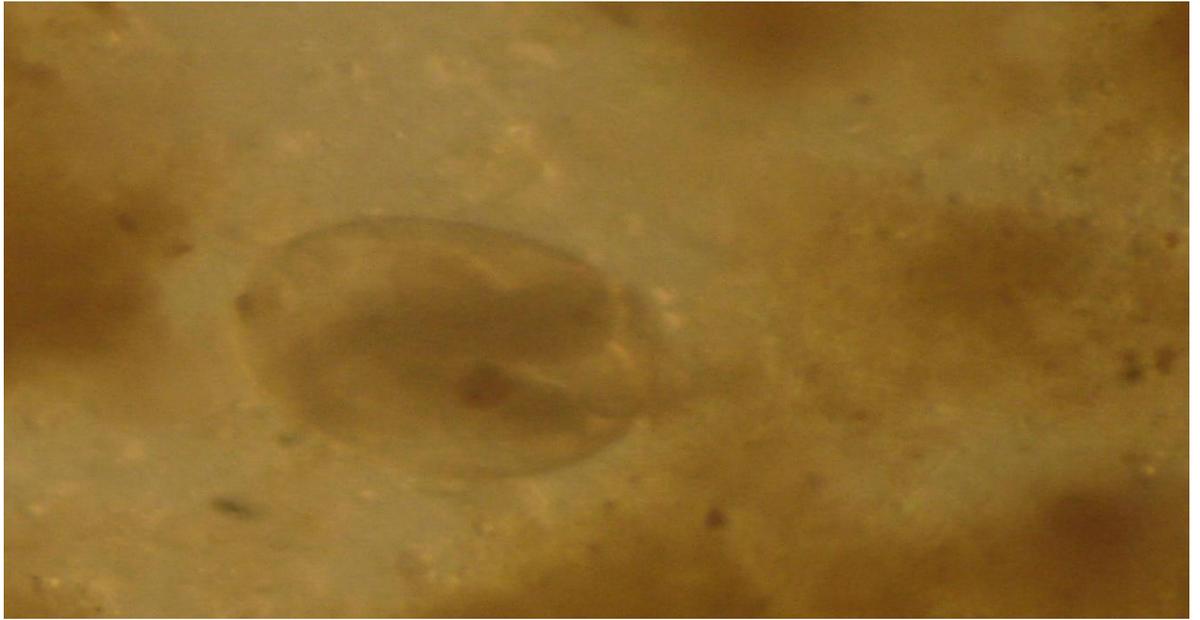


Figura 2.3.14 a. Huevo larvado. (Obj. 10x).



Figura 2.3.15 a. Larva emergiendo. (Obj. 10x).



Figura 2.3.16 a. Estadio juveniR. (Obj. 5x).

Submuestra b)

De los cultivos correspondientes a los 6 grupos de anélidos hallados se observó gran mortandad en la primera semana de vida. A los diez días sólo permanecían viables los individuos de dos de los habitáculos mantenidos en el laboratorio. Su ágil desplazamiento, el consumo de alimento y su respuesta al estímulo lumínico indicaron tempranamente su adaptabilidad al cultivo en laboratorio. En una de las placas, que se identificó por sus características morfológicas como de *Aeolosoma hemprichi*, se observó además que había comenzado la reproducción asexual por gemación. De ellos se obtuvieron abundantes ejemplares en todas las estaciones del año.

En la otra placa que correspondió a la familia Enchytraeidae los individuos mantenían su viabilidad sin aún multiplicarse, de ellos se dispuso de numerosísimos ejemplares

en primavera y otoño. Esas estaciones fueron favorables para intensificar los cultivos y desafíos de la Familia Enchytraeidae. Se observó el óbito de muchos anélidos durante invierno y verano a lo largo de la experiencia. Es de resaltar que ambas familias pudieron ser mantenidas durante más de 10 generaciones como se mencionó anteriormente.

2.4 Discusión del objetivo 1

El área, de características inundables, presenta numerosos espacios deprimidos que dan origen a zanjas y zanjones en los que se vuelcan los efluentes cloacales de los domicilios. Finalmente ellos confluyen y desembocan en el zanjón y luego en el Río de la Plat. Por esas características, motivó a ser explorada desde distintas aristas en cuanto a enfermedades parasitarias humanas y animales en general y a dioctofimosis en especial. Como se mencionó no se halló *L. variegatus* (Karmanova, 1962), lo mencionó como único HI de *D. renale*, por su parte (Castellano, 1983), mencionó que este anélido no se hallaba en el hemisferio sur. Pero años mas tarde (Figueroa et al., 2007), en Chile señalaron el hallazgo del género *Lumbriculus* sin mencionar la especie, *L. variegatus* fue informado en la Patagonia (Miserendino, 2008; Beltrán, 2014) y en Brasil (Marchese et al., 2015). Por su parte (Rodrigues Capitulo et al., 2001) en su estudio realizado para conocer el estado biológico de cursos de agua en Argentina lo identificaron en un área próxima a la de este muestreo. Basado en lo mencionado por Martínez-Ansemil et al., 1984, "*Lumbriculus variegatus* parece colonizar de preferencia los fondos fangosos y arenosos en corriente muy lenta o nula", se tomaron las muestras del fondo de zanjas y zanjones que tenían esas característica. Sin embargo, para el cumplimiento de los objetivos de esta

investigación se seleccionaron por ser los anélidos que cumplieron con los ya mencionados criterios de inclusión. Las experiencias de (Woodhead, 1945-1950; Karmanova, 1960-1962; y Mace, 1975) se han citado en numerosas publicaciones científicas en todo el mundo, pero al momento, no han sido reproducidas en el hemisferio sur. En este trabajo se realizó captura de anélidos en bentos de zanjonés del área con la finalidad de identificar probables hospedadores intermediarios de *Dioctophyma renale*, dado que pocos autores y hace muchos años trabajaron en su ciclo evolutivo (Woodhead, 1950; Karmanova, 1962; Mace et al., 1975). La investigación realizada por Chidwood y Chidwood se conoce indirectamente mediante la publicación de Mace, 1975, mientras que de estudios efectuados por Karmanova en 1959, 1960 y 1961, se dispone de un breve resumen o sólo de su título. Por ello la base de sustentación de la presente experiencia no fue suficiente. Los mencionados autores realizaron sus observaciones en áreas enzoóticas de dioctofimosis al igual que la que dio origen a este trabajo. Woodhead, 1941-1950, reprodujo la enfermedad en visones inoculando con Branquiobdellidos, olig: *Cambarincola chirocephala*, organismos de características biológicas distintas a los hallados en esta experiencia, utilizando un pez como segundo hospedador intermediario y visones y hurones como definitivos. Por su parte, (Karmanova, 1962), lo hizo en caninos utilizando solo un hospedador intermediario, *L. variegatus*. Mientras que Mace, 1975 reprodujo en visones utilizando también a *L. variegatus* y un HP vertebrado acuático. Los mencionados autores trabajaron en el ciclo biológico de *Dioctophyma renale* sin evaluar una posible infección natural de los anélidos inoculados. En este estudio los géneros seleccionados se mantuvieron durante 10 generaciones en cultivo, a fin de descartar la transmisión vertical de *D. renale* u otros parásitos. Para seleccionar a los

invertebrados a ser utilizados en el cumplimiento del objetivo 2 se tuvieron en cuenta los criterios mencionados que sólo se cumplieron en *Aeolosoma hemprichi* y Enchytraeidae. Ellos fueron utilizados en la experiencia propuesta y del mismo modo en que lo informan Woodhead, 1950 y Karmanova, 1962, los huevos se visualizaron por transparencia en su interior. La metodología proporcionó la seguridad de que éstos fueron efectivamente los suministrados en cumplimiento del objetivo N°1. La rigurosidad en esta etapa robusteció a las siguientes: inoculación en el animal usado para la prueba piloto y en el modelo experimental. Los cuidados referidos a alimentación y limpieza se realizaron de modo coincidente con lo informado por (Woodhead, 1950).

Capítulo 3: Objetivo 2

Reproducir experimentalmente la dioctofimosis en ratas

3.1 Introducción al objetivo 2

Numerosos mamíferos, domésticos y silvestres, y también el hombre son potenciales hospedadores definitivos de *D. renale*, ellos pueden albergar individuos adultos en sus vías urinarias o formas juveniles en distintos tejidos. El hospedador intermediario presente en la naturaleza ingresa al hospedador definitivo por vía oral con el agua de bebida, la infección puede también adquirirse al alimentarse de hospedadores paraténicos infectados, como se mencionó anteriormente.

Woodhead en 1950 describió la reproducción experimental en visón utilizando anélidos branchiobdellidos como HI, pero en la creencia de que el ciclo de vida de *D.*

renale, necesitaba dos hospedadores intermediarios. Más tarde, Karmanova.1960 – 1962, reprodujo dioctofimosis en varios caninos suministrando *Lumbriculus variegatus* infectados. Evidenciando así la participación de un solo HI y el rol de vertebrados acuáticos como hospedadores paraténicos (HP).

Dada la inquietud de doctorando y directora de desarrollar la reproducción experimental de *D. renale*, teniendo en cuenta la amplia gama de mamíferos mencionada en la bibliografía como hospedadores definitivos de *D. renale* sumado al antecedente de reproducción experimental en hámster (Dra. R. Feldman, comunicación personal), es que se consideró realizar una prueba piloto (PP) de reproducción experimental en *Mesocricetus auratus*. Sin ser el modelo experimental seleccionado para el desarrollo de la presente investigación, es probable que esta experiencia sirva como base para futuros ensayos, por lo cual se incluye en este texto y se la menciona como prueba piloto (PP). Debido a la ausencia de respaldo bibliográfico sobre dioctofimosis en esa especie, se consideró utilizar como modelo experimental en este trabajo a *Rattus norvegicus* Wistar, basado en los informes (Chin. 1964; Taniguchi, 197; Tokiwa et al., 2011 y Banzai et al., 2018) quienes hallaron a *Rattus norvegicus* naturalmente infectadas por el *D. renale*.

3.2 Materiales y métodos, objetivo 2

A1. Obtención y acondicionamiento del material parasitario para utilizar como inóculo para anélidos (IA).

En el marco de jornadas educativo-saludables realizadas en el área de trabajo, para realizar intervenciones como parte de proyectos de extensión universitaria y de investigación se efectuaron diagnósticos de distintas parasitosis en caninos como

bioindicadores. En cuanto a dioctofimosis, los animales se examinaron mediante sondajes vesicales los caninos machos jóvenes y adultos (Figura 3.2.1A) y por ecografías las hembras y cachorros. Los perros positivos a dioctofimosis fueron trasladados para ser intervenidos quirúrgicamente a efectos de mejorar su calidad de vida, evitar que sigan contaminando el medio y disponer de abundante material parasitario para esta y otras experiencias. Con el mismo fin se estableció contacto con numerosos profesionales privados y del hospital veterinario de la Fac de Cs Veterinarias UNLP, a efectos de solicitar la derivación de vermes obtenidos a partir de Nefrectomías (Figuras 3.2.2A, 3,2.3A y 3.2.4A). Una vez en el laboratorio, se recuperaron huevos de las muestras de orina, a partir de los úteros de vermes hembra adultos obtenidos mediante cirugías (Figura 3.2.5.A1). El material se procesó convenientemente, así se logró disponer de abundante material parasitario (huevos) para poder realizar la totalidad de observaciones, mediciones y ensayos. A continuación, se listan los procedimientos realizados con el mismo (Burgos et al., 2015).

Obtención de huevos a partir de hembras adultas:

- Obtención y maceración del útero de cada hembra con la cantidad necesaria de agua destilada.
- Filtrado con embudo, colador y doble gasa para retener tejidos y permitir el paso de los huevos.
- Observación con microscopio entre portaobjetos y cubreobjetos a Obj.10x, Obj 40x a fin de observar el tipo de huevos obtenidos y medirlos, así como de descartar los restos de tejido uterino.
- Lavado 3 veces con agua destilada, con intervalos de 30 minutos.

- Trasvasado a tubos de centrifuga y centrifugación a 2500 rpm 5 minutos

Los huevos así obtenidos se observaron y caracterizaron en tipos según sus características morfológicas (Infértiles y fértiles) también se procedió a medirlos y obtener las dimensiones promedio de largo y ancho. Posteriormente se utilizaron para la siguiente etapa.

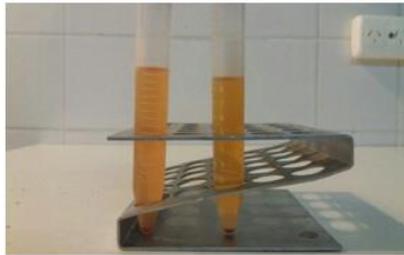


Figura 3.2.1A. Tubos de sondaje vesical (macroscópico).



Figura 3.2.2A. *D. renale* hembra macroscópica



Figura 3.2.3A. Riñón post nefrectomía, (macroscópico).



Figura 3.2.4 A1. Riñón post nefrectomía, (macroscópico).



Figura 3.2.5.A1 Disección de *D. renale* hembra, (macroscópico).

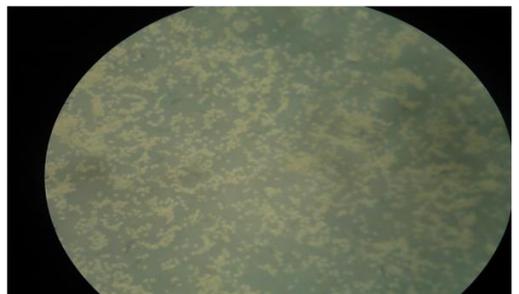


Figura 3.2.6.A1. Evolución de huevos de *D. renale* (Obj. 5x)

A.2. Incubación de los huevos

En esta etapa se propició mediante incubación en medio acuoso con formol al 1% a temperatura ambiente la formación del estado juvenil 1 (EJ1) en su interior. Los huevos se observaron mediante microscopio óptico cada 24 hs hasta la observación de ese estado, a efectos de poder medirlo luego de su liberación de las envolturas del huevo. Para tal fin se indujo su extrusión a distintos tiempos de evolución aplicando compresión manual, contacto con hipoclorito de Na al 94,2%, enfrentamiento a un macerado de anélidos, jugo gástrico artificial, o por agitación con perlas de vidrio. Este último método fue el utilizado para el resto de la experiencia por su mayor eficacia. El procedimiento se realizó a distintos tiempos de incubación desde el día 0 al día 631. Se tomaron alícuotas de la suspensión de larvas liberadas. Éstas se observaron inmediatamente entre portaobjetos y cubreobjetos a Obj. 10x y Obj. 40x. Se midieron y registraron los datos obtenidos a cada tiempo (Tabla 3.3.10.A2). En el día 81 se decidió utilizar el material parasitario como **IA**. No obstante, se siguió con la examinación de las larvas recuperadas hasta el tiempo de incubación ya mencionado.

B. Inoculación de anélidos

A los 81 días de incubación se procedió a tomar el contenido de una de las placas con huevos incubados, se lavó con agua destilada tres veces con intervalos de 30´ para eliminar el formol restante de la etapa anterior. Así se obtuvo el inóculo para los potenciales HI. De cada grupo de anélidos seleccionado (*Enchytraeidae* y *Aeolosoma hemprichi*), se separaron 75 ejemplares utilizando capilares de vidrio (Figura 2.2.8.B, 2.2.9.B) y se distribuyeron en 5 placas de Petri, en las condiciones de cultivo ya descritas, pero sin alimento. Se mantuvieron así durante 24 horas y

se procedió al agregado del IA n=200 a cada placa. Posteriormente los individuos se observaron bajo estereomicroscopio, por transparencia, permanentemente durante los primeros 30 minutos y luego cada hora durante 12 horas a efectos de observar en su interior el IA. Posteriormente se observaron diariamente a efectos de corroborar su sobrevivencia y efectuar la correspondiente limpieza de los habitáculos. Se mantuvieron a temperatura ambiente durante 50 días. En su transcurso se separaron algunos ejemplares para ser fotografiados, entre portaobjetos y cubreobjetos con el agregado de una gota de agua destilada, posteriormente se los recuperó y se los regresó a su lugar.

En el transcurso de esta etapa a distintos tiempos post inoculación, algunos Enchytraeidae, se derivaron al CEPAVE para que se efectúen cortes y coloraciones con hematoxilina y eosina así se obtuvieron imágenes de anélidos a los 30, 42, 45 y 60 días (Figura 3.3.2.A; 3.3.3.A; 3.3.4.A; 3.3.5.A; 3.3.6.A). Otros se sacrificaron con alcohol 70° y se observan por transparencia, sin emplear coloración alguna o con el agregado de azul de metileno al 1% (Figura 3.3.6.A). Ambos tipos de preparados se observaron, minuciosamente, mediante microscopía óptica. Producto de la cual y al comenzar a producirse un incremento de la mortandad de ambos grupos de anélidos, se decidió pasar a la siguiente etapa e inocular al modelo experimental, a los 50 días de inoculados.

C. Preparación e Inoculación del animal de laboratorio seleccionado.

La realización de la presente experiencia fue aprobada por el comité de ética para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Facultad de Cs Veterinarias de la UNLP. CICUAL.

PP: Como animal de experiencia de la prueba piloto se utilizó un *Mesocricetus auratus* macho adulto. Se mantuvo del mismo modo que el modelo experimental según se expone a continuación.

ME. Características: Cepa No Consanguínea. Las ratas Wistar son ratas albinas que pertenecen a la especie *Rattus norvegicus*. Esta variedad fue desarrollada en el Instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica, y es la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo en un momento en que los laboratorios utilizaban principalmente *Mus musculus*, o el ratón común de las casas. Más de la mitad de todas las cepas de ratas de laboratorio son descendientes de la colonia original establecida por el fisiólogo Henry Donaldson, Milton J. Greenman, científico administrador, y Helen Dean King, investigadora en genética y embrióloga. La rata Wistar es actualmente una de las cepas de ratas más populares utilizadas para la investigación de laboratorio. Se caracteriza por su cabeza ancha, orejas largas, y con una longitud de la cola que es siempre inferior a la longitud de su cuerpo.

Los animales utilizados fueron machos, adultos jóvenes, no hubo preferencias respecto al peso de los mismos. Se inoculó a un total de 20 ratas, n=10 para cada grupo de anélido (*Enchytraeidae* y *Aeolosoma hemprichi*), también se mantuvo una como control para cada grupo lo que totalizó 22 animales para el desarrollo de la experiencia. Se mantuvieron aislados en una habitación, en condiciones apropiadas para su especie y de acuerdo a recomendaciones y sugerencias del CICUAL de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP. Se los ubicó en cajas

individuales con agua y alimento ad libitum y adecuado control del macro y microambiente.

C.1. Control pre inoculación

PP. Se realizaron los controles mediante urianálisis del mismo modo que al modelo experimental según se expone a continuación. Al animal de PP no se le realizó ecografía previa.

ME. Los animales de experimentación provinieron del bioterio de la FCV. No obstante, se sometieron a controles ecográficos para lo cual se utilizó un ecógrafo Sonoace 1550 y un transductor de 5 Mhz. También se les realizó urianálisis semanalmente durante 30 días. Para ello se retiró de las cajas la totalidad de viruta, se las colocó en plano inclinado a efectos de que la orina se ubique en uno de sus ángulos. Cada muestra se recolectó con jeringa de 3cc, y se colocó en tubos de centrifuga. Cada tubo se evaluó utilizando tiras reactivas para orina, Wiener lab 10 y luego se centrifugó durante 5 minutos a 2500 rpm, el sedimento se observó entre porta y cubreobjetos con objetivos de 10x y 40x, a fin de observar la posible presencia de elementos formes, células, hematíes, leucocitos, cilindros, cristales, flóculos de mucus y/o huevos de helmintos.

C.2. Inoculación

PP. Se procedió a su inoculación con Enchytraeidae, la técnica se describe a continuación para el modelo experimental.

ME. Los animales se inocularon todos el mismo día, mediante la técnica del anzuelo alimenticio (Figura 3.2.1.C2). Para ello se mantuvieron con un ayuno de 24 hs. Para cada animal se colocaron 15 anélidos inoculados (IME), sobre 15 mg de una pasta de queso rallado hidratado con agua destilada. El anzuelo se colocó

en la placa de Petri sobre el piso de la caja sin viruta. Se permaneció observando hasta que cada animal ingiera la totalidad del alimento y la posibilidad de que exista algún tipo de regurgitación del mismo. Realizada la comprobación, de ambas alternativas, se colocó la viruta y se acondicionó adecuadamente cada espacio. Las cajas individuales se rotularon con N° de animal, fecha y tipo de IME (Enchytraeidae y *Aeolosoma hemprichi*), se confeccionaron planillas de registros de datos periódicos y de cada uno de los estudios realizados, éstas se fueron completando en el transcurso de la experiencia.



Figura 3.2.1.C2. Anzuelo alimenticio con IME.

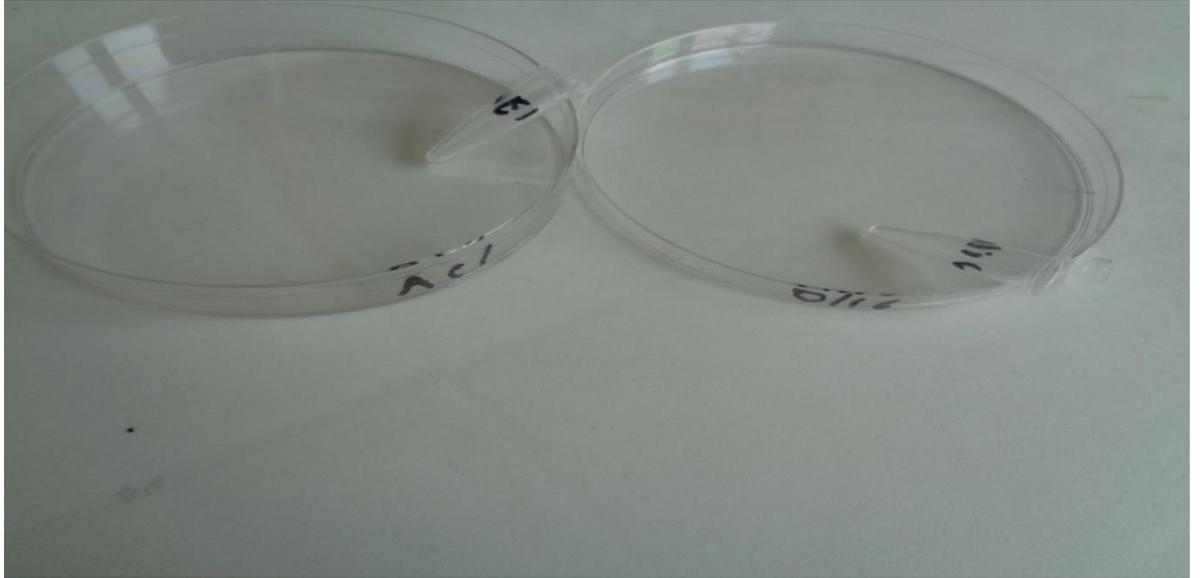


Figura 3.2.2.C2. Inóculo para modelo experimental

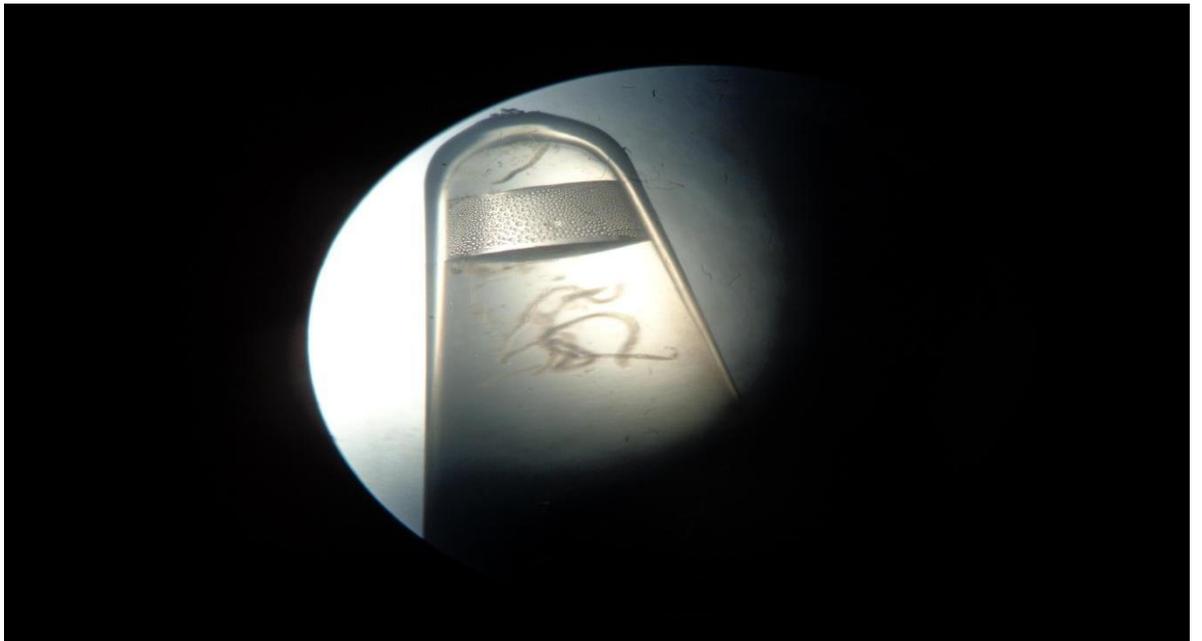


Figura 3.2.3.C2. Oligoqueto, IM. (Obj. 5x).

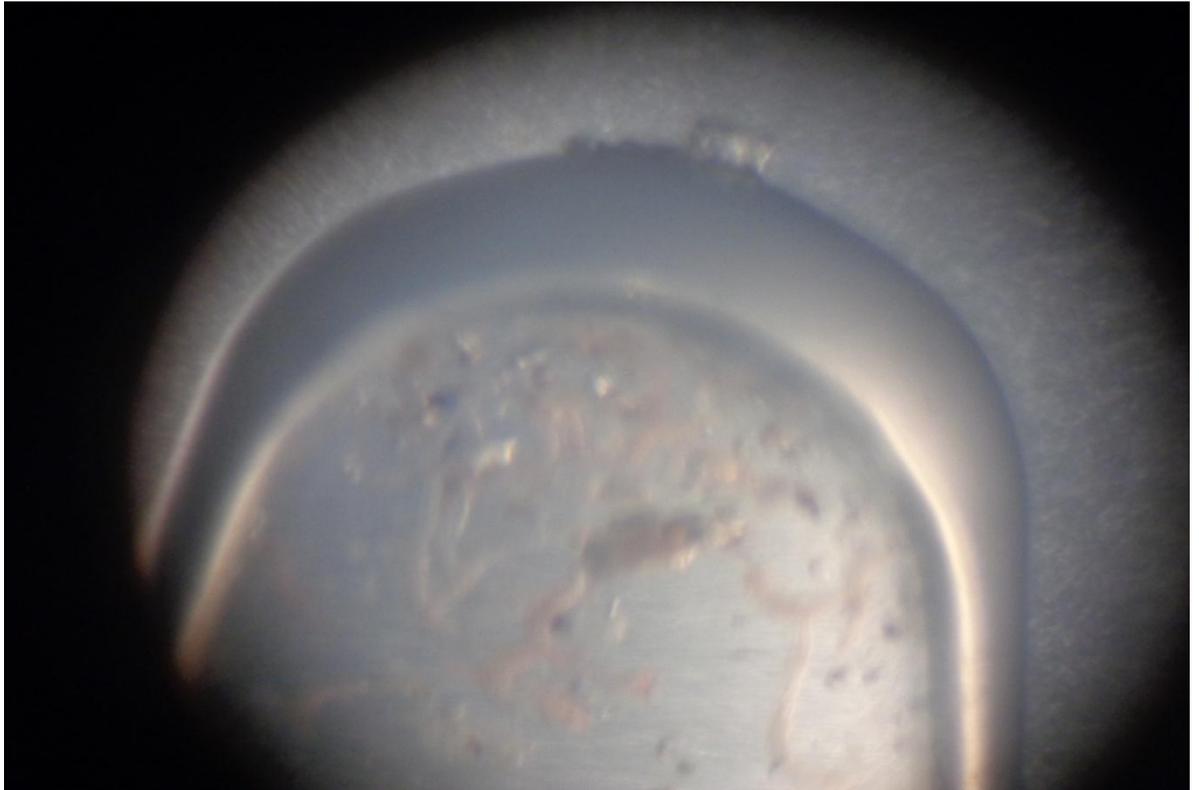


Figura 3.2.4.C2. *Aeolosoma hemprichi*, IME (Obj. 5x).

C.3. Controles post inoculación.

PP. El animal se mantuvo durante 365 días. Se lo controló en los ítems a), b) y c) del mismo modo que al modelo experimental según se expone a continuación. Aunque se realizaron sólo tres estudios ecográficos y a distintos tiempos que los realizados al ME, éstos fueron a los 286, 298 y 315 días.

ME. Los animales se mantuvieron durante un período de 310 días, tiempo prudentemente prolongado, dado que el período prepatente mencionado para visones, hurón y canino es de aproximadamente 90 días. Los controles incluyeron: a) urianálisis, b) ecografías. c) necropsia e histopatología.

- a) Se realizaron a partir de los 45 días post inoculación, cada 10 días hasta el final de la experiencia. La recolección y procesamiento de las muestras de orina se realizó como está descrito en el apartado C.1.
- b) Se realizaron en 4 oportunidades, día 60, 90, 174, 310 post inoculación. Para tal fin y sin ayuno se les realizó una inducción anestésica, Dr Oscar Robledo, Hospital Escuela, Área cirugía, FCV UNLP, con ketamina (60-80 mg/kg de peso) y Midazolam (3 mg/kg de peso) por vía intraperitoneal, a efectos de lograr la inmovilización del animal durante el período que abarcó la inspección ecográfica de órganos abdominales y cavidades abdominal y torácica. Para realizar la maniobra diagnóstica, Dres. Rube y Barrena, del servicio: métodos complementarios de diagnóstico, área: ultrasonografía, del Hospital FCV UNLP, se utilizó el mismo instrumento que para los controles que se realizaron en la etapa de pre inoculación. En el día 310 post inoculación se solicitó incrementar la dosis anestésica a fin de alcanzar el punto final humanitario, el diagnóstico ecográfico se realizó del modo ya descrito para los otros tiempos.
- c. Posteriormente se realizó la necropsia a los animales inoculados y a los testigos. Sus órganos fueron observados minuciosamente. Posteriormente riñones, hígado y lesiones granulomatosas halladas se procesaron en el Laboratorio de Patología Especial Veterinaria "Dr. B. Epstein", donde se realizaron los correspondientes estudios histopatológicos, mediante cortes y coloraciones con la técnica de hematoxilina y eosina e informe de resultados.

3.3 Resultados de objetivo 2

A: obtención de huevos de *D. renale*. y preparación del IA.

A.1. En la observación microscópica se visualizó, cuatro tipos de huevos a) elipsoides, b) esféricos, c) decorticados y d) infértiles.

- a) Elipsoides, cáscara gruesa, amarillo parduzco, con abolladuras y extremos lisos, fueron los más frecuentes, mostraron una medida promedio de $69.67\mu\text{m} \times 47.13\mu\text{m}$, y fueron capaces de evolucionar hasta el EJ1 (Figura 3.3.1. A.1).
- b) Esféricos, sin extremos lisos, sus medidas fueron en promedio $43\mu\text{m}$ por $43\mu\text{m}$ con medidas extremas de entre $31\mu\text{m}$ a $58\mu\text{m}$, ellos también evolucionaron hasta el EJ1 (Figura 3.3.2.A.1).
- c) Decorticados, carentes de envoltura externa, medidas semejantes a los fértiles corticados, también evolucionaron a estado EJ1, (Figura 3.3.3.A.1).
- d) Infértiles, con vacuolas en su interior de color amarillo parduzco sucio (Figura 3.3.4. A.1), con depresiones profundas e irregulares, excepto en los polos, en promedio midieron $74,3 \mu\text{m}$ por $46,5 \mu\text{m}$, variando de $60 \mu\text{m}$ - $80\mu\text{m} \times 39$ - $46.\mu\text{m}$. No fueron capaces de evolucionar a EJ1. (Figura 3.3.4.A.1).



Figura 3.3.1. A.1.Huevo larvado de 180 días. (Obj. 100x)(.

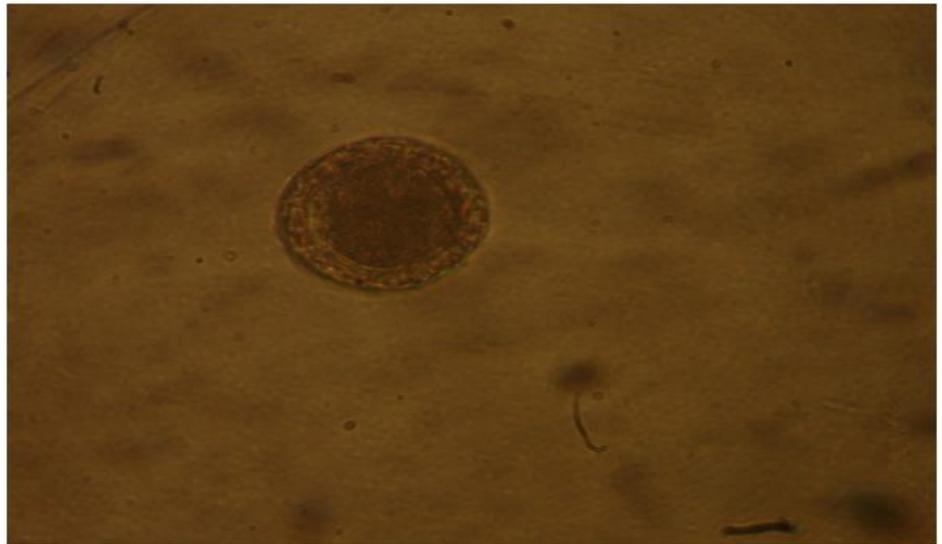


Figura 3.3.2. A1. Huevo de *D. renale* esférico sin polos lisos. (Obj. 10x).

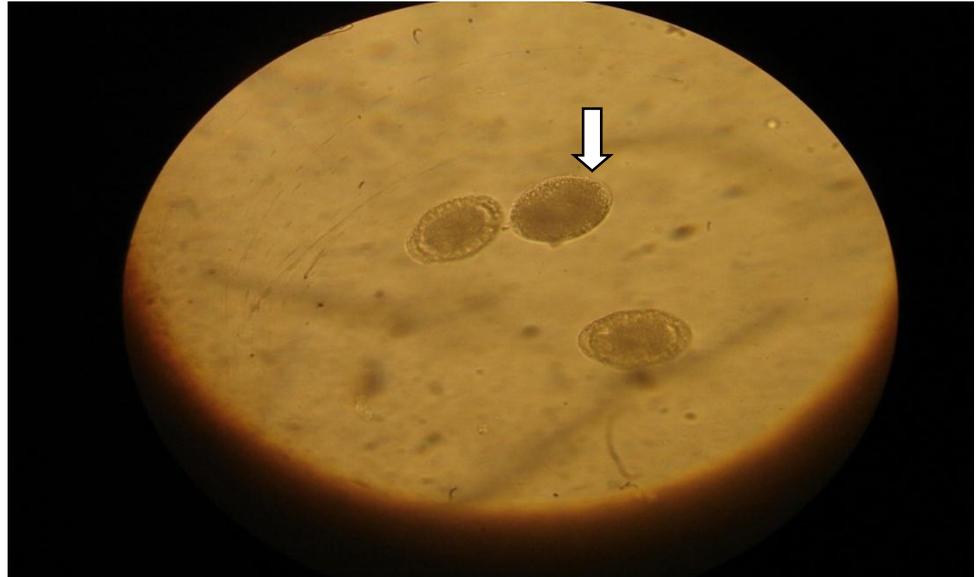


Figura 3.3.3. A1. Huevos con abolladuras y decorticado. (Obj. 10x)(.

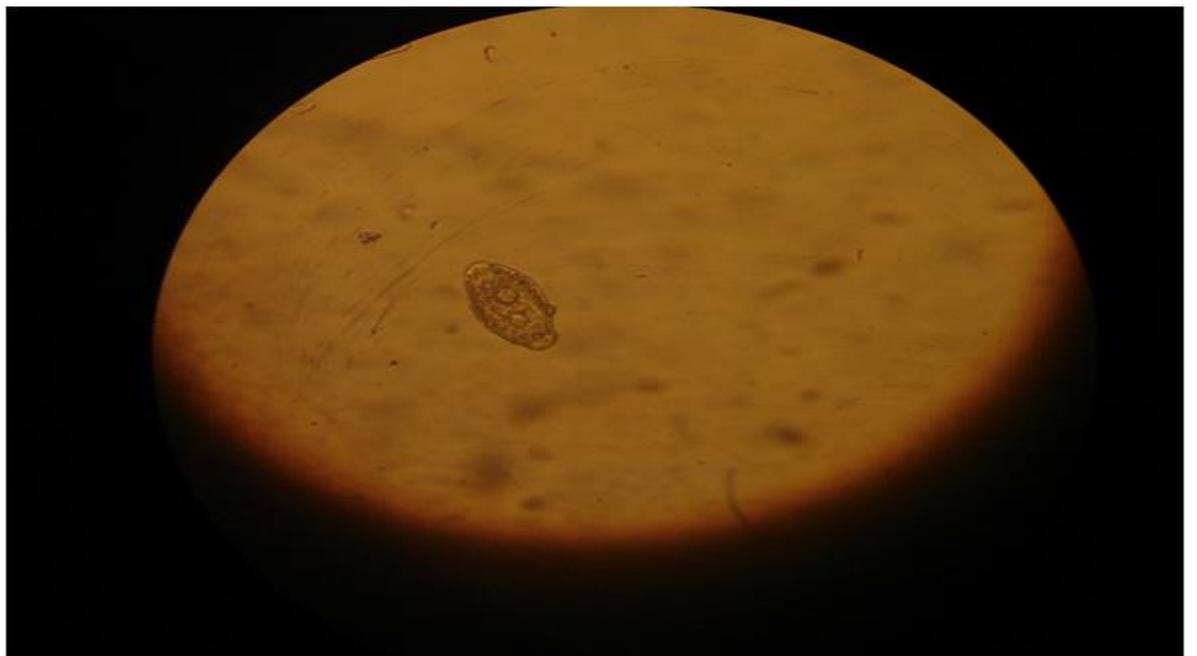


Figura 3.3.4. A1. Huevo infértil. Obj. 10x).

A.2. Los huevos fértiles (elipsoides, esféricos y decorticados) lograron su evolución hasta EJ1 en un período de 15 días de incubación (figura 3.3.5.A2, 3.3.6. A2).

La eclosión inducida a los 15 días ocasionó la salida de los EJ1, que a los pocos segundos se vacuolaron y luego se desintegraron totalmente. La tabla 3.3.10.A2,

resume tiempos de incubación de huevos, medidas de los EJ1 (Figura 3.3.7.A2) inducidos a eclosionar mediante el método seleccionado, a distintos tiempos (Figura 3.3.8.A2, 3.3.9.A2)

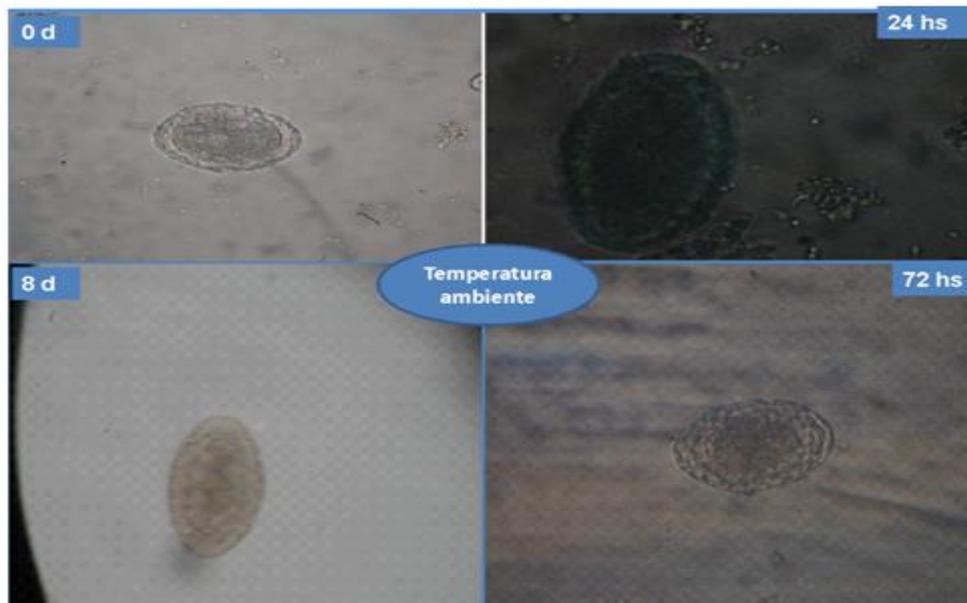


Figura 3.3.5.A2. Evolución de huevos, tiempos. (Obj.10x Obj. 40x).

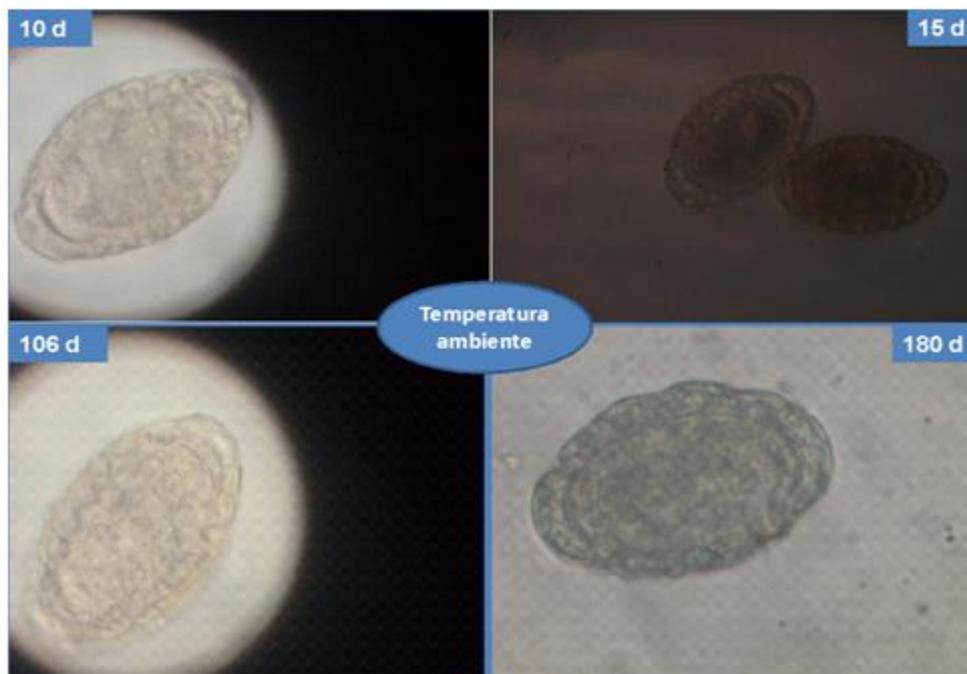


Figura 3.3.6.A2. Evolución de huevos, tiempos. (Obj. 10x y 40x).



Figura 3.3.7.A2. Larva liberada de huevos (EJ1) evolucionada en laboratorio durante 24 días. (Obj. 40x).

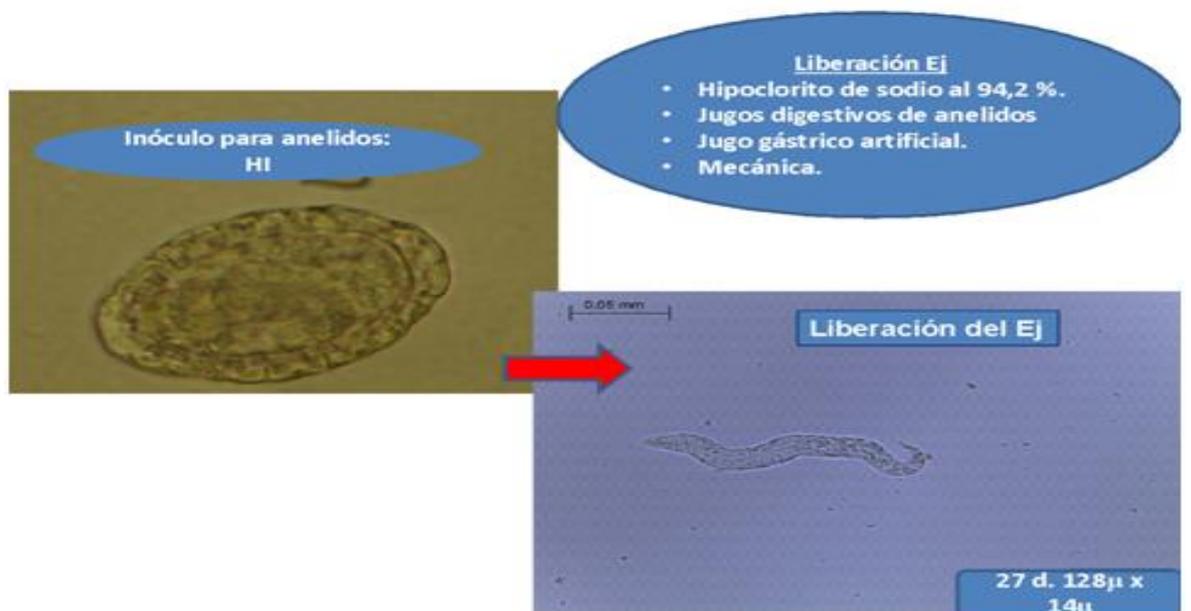


Figura 3.3.8.A2 Eclosión de larvas, EJ1. (Obj. 40x).

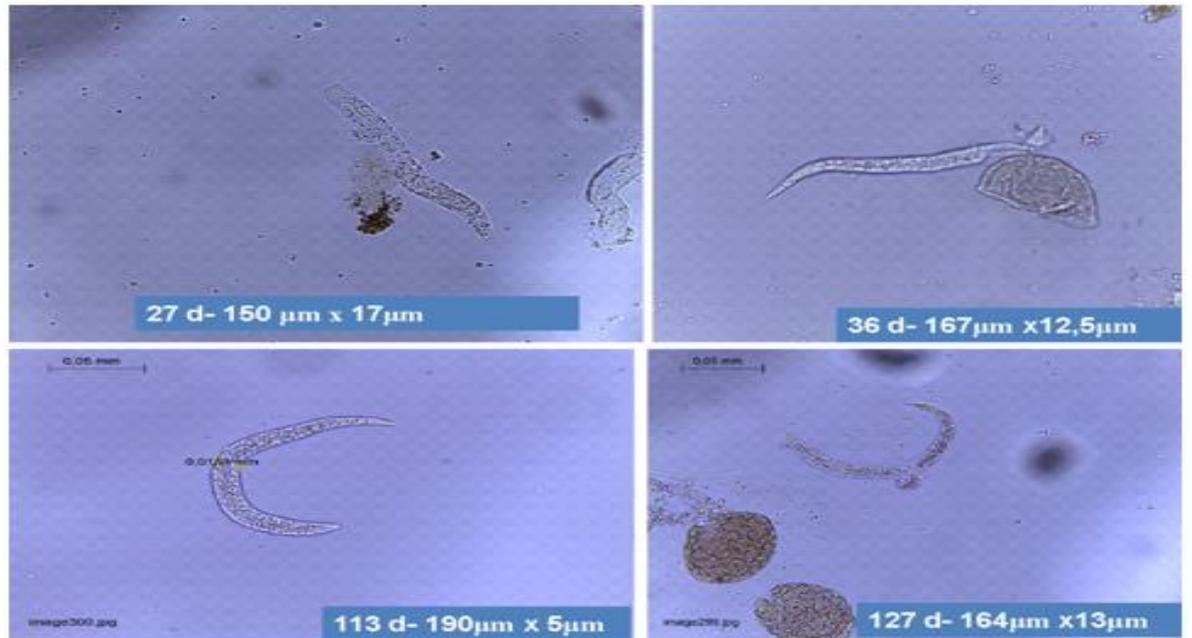


Figura 3.3.9.A2. Días y longitud de larvas

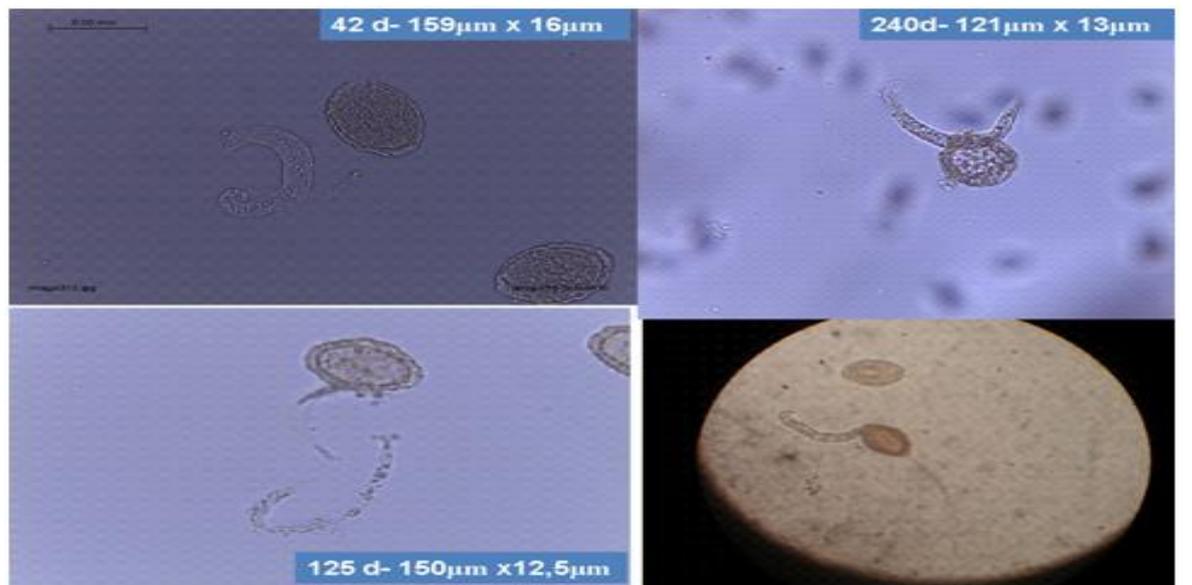


Tabla 3.3.10.A2. Tiempos de incubación del huevo y características del EJ1 liberado in vitro.

T° de incubación (Hs/días)	Huevo	EJ1.	EJ1 Movilidad	Longitud EJ1 μm	Ancho EJ1 μm
0	1 blastómero		-	-	
24 h	2 blastómeros		-	-	
72 h	4 blastómeros		-	-	
8 d	8 blastómeros		-	-	
10 d	incontables blastómeros		-	-	
15 d	Huevo larvado (HL)	Frágil e inestable.	móvil	No se realizaron mediciones debido a la casi inmediata vacuolización y lisis.	
21 d	HL	Permanente	móvil	80 μm	12,5 μm
24 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	174,6 μm	12,5 μm
27 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	72,5 μm	12 μm
30 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	131 μm	13,5 μm
35 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	131 μm	14 μm
36 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	170 μm	13,5 μm
42 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	158,6 μm	16 μm
48 días	HL	Permanente	sin movilidad evidente	219,5 μm	12,5 μm
66 días	HL	Permanente	sin movilidad evidente	187,5 μm	12,5 μm
72 días	HL	Permanente	sin movilidad evidente	225 μm	12,75 μm
81	HL	Permanente	sin movilidad evidente	175 μm	12,35 μm
90 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	150 μm	12 μm

94 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	191µm	13,5µm
113 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	190µm	14µm
127 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	164µm	13µm
150 d	HL	permanente	sin movilidad evidente	225µm	12,75µm
180 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	150µm	13µm
182 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	225µm	13µm
279 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	180µm	14µm
360 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	206,6µm	14µm
631 d	HL	Permanente	sin movilidad evidente	200µm	14µm

B. Inoculación de anélidos

Se visualizó una gran avidez de los anélidos de ambos grupos, Enchytraeidae y *Aeolosoma hemprichi*, por el IA, ellos incorporaron abundantes huevos larvados que se visualizaron y contaron ya en los primeros minutos posteriores al enfrentamiento, (Figura 3.3.1.A). En ningún caso se evidenciaron reacciones adversas en los invertebrados. En ocasiones se observó que los anélidos del género *Aeolosoma hemprichi*, eliminaban al IA intacto, aunque en forma mínima. En las siguientes observaciones se vio disminuir paulatinamente la cantidad de IA en su interior, hasta llegar a observarse el tubo digestivo vacío.

En los cortes histológicos realizados a los anélidos a los 30 días posteriores a la inoculación no se observaron imágenes de larvas. En los cortes realizados a los 42 días pos inoculación se vieron escasas imágenes de larvas, en los de la Flia Enchytraeidae, se vieron teñidas de color rosado y se les apreciaban las papilas

cefálicas /Figura.3.3.2. A), se observaron además algunas que estaban enquistadas (Figura. 3.3.3.A). No se visualizaron esas estructuras en *Aeolosoma hemprichi*. A los 45 días se apreciaron escasos cortes longitudinales y transversales de estados juveniles en escasos Enchytraeideos (Figura 3.3.4.A; 3.3.5.A) y no se observaron en el otro género de anélidos estudiados. A los 60 días se repitió la positividad en los primeros y la negatividad en los segundos y se vio una larva espiralizada en la cavidad del cuerpo del anélido (Figura. 3.3.6.A).



Figura 3.3.1.A. *Aeolosoma hemprichi* con numerosos huevos de *Dioctophyma renale* en su interior observados por transparencia.



Figura 3.3.2.A. Larva, en corte histológico de anélido inoculado 42 días. (Obj. 40x).



Figura 3.3.3.A. Quiste de larva (42 días). (Obj. 40x).

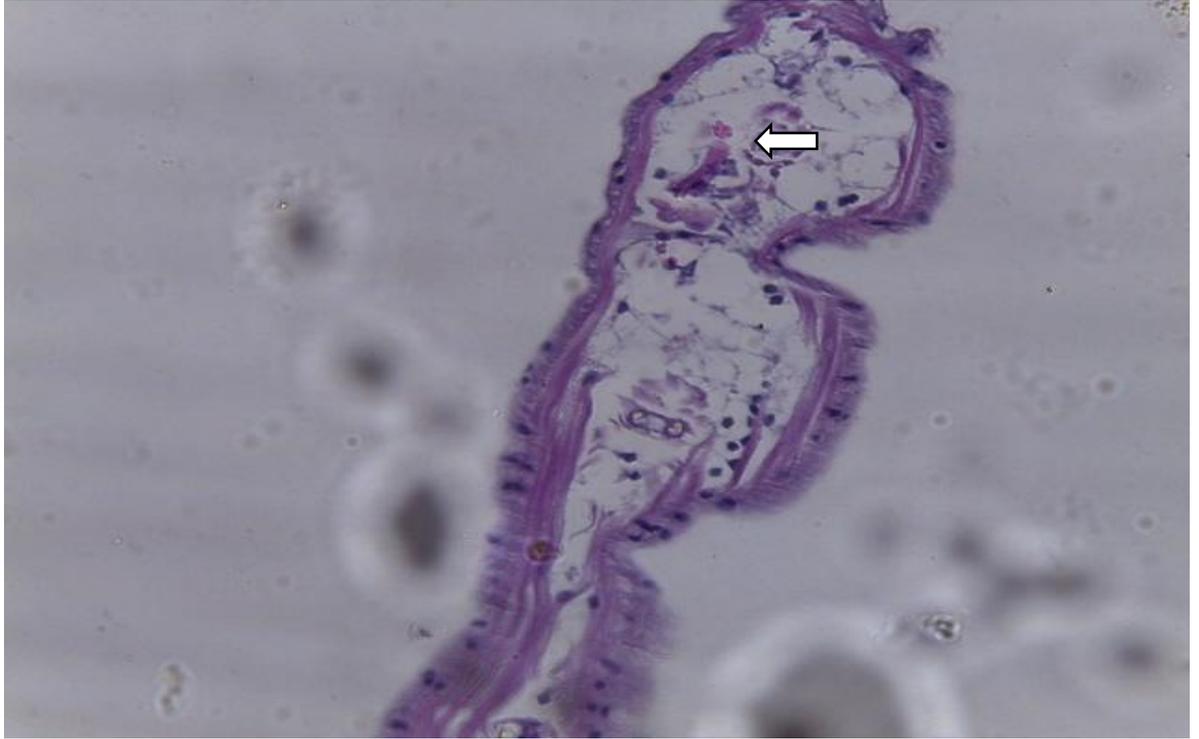


Figura 3.3.4. A .Larva, corte longitudinal (45 días). (Obj. 40x).



Figura 3.3.5.A. Larva, corte transversal (45 días). (Obj. 40x).



Figura 3.3.6.A. Visualización de larva en el celoma (60 días) (coloración azul de metileno al 1%) de anélido de la familia Enchytraeidae. (Obj. 40x).

C.1.

PP. El urianálisis realizado en la etapa de pre inoculación se observó la ausencia de urobilinógeno, glucosa, bilirrubina, proteínas, nitritos, sangre, leucocitos y cuerpos cetónicos. El PH y la densidad se observaron siempre en el rango normal. No se observaron huevos de *D. renale*.

ME. En los controles de pre inoculación realizados al modelo experimental se observaron las imágenes renales que tuvieron una medida promedio de 20,1mm x 11,7 mm para el riñón izquierdo y de 21,3 mm x 10,7 mm para el riñón derecho. En ningún caso los animales presentaron alteraciones renales ecográficas. En las orinas recolectadas, se observó la ausencia de urobilinógeno, glucosa, bilirrubina,

proteínas, nitritos, sangre, leucocitos y cuerpos cetónicos. El PH y la densidad se observaron siempre incluidos en el rango normal, 4,6 a 8 y 1001 a 1030 respectivamente. En ningún caso se halló huevos de *D. renale*.

C.2.

PP. El animal ingirió ávidamente el anzuelo alimenticio.

ME. Dado el tiempo de ayuno, todos los animales ingirieron rápidamente el IA. Posteriormente no se observó que ellos hayan manifestado indicios de haber regurgitado.

C.3.

PP. a) La totalidad de analitos se presentaron dentro del rango normal. No se observó la presencia de huevos de *D. renale* en las muestras analizadas, hasta que a partir del día 250 post inoculación se comenzó a observar eliminación proteica de 1000 mg/dl, siendo el resto de los parámetros normales. En el sedimento urinario se observó la presencia de 4 a 5 cilindros hialinos por campo microscópico con objetivo de 40x. A partir del día 273 comenzó a observarse en el sedimento urinario estructuras formes semejantes a huevos de características similares a los obtenidos a partir de hembras juveniles de *D. renale*. (Figura 3.1.C3) En el animal no se observaron manifestaciones clínicas ni cambios de comportamiento. Sin embargo, a los 315 días post inoculación se vio una lesión en la región umbilical.

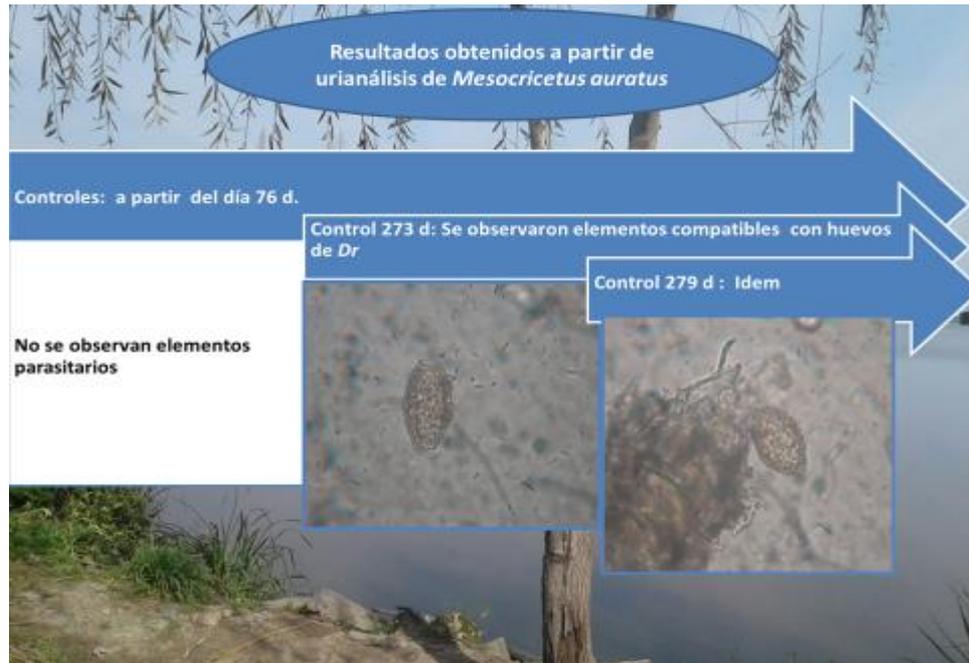


Figura 3.1.C3. *M. auratus*, 273-279 d: huevos de *D. renale* en sedimento de orina

ME. Los animales no presentaron manifestaciones clínicas observables. a) El urianálisis indicó alteraciones solo en el animal identificado como N°2. Él presentó una eliminación proteica de 1000 mg/dl de orina, la densidad de la misma fue de 1030, asimismo orina se la observó espumosa. Al examen microscópico se visualizaron 4 a 5 cilindros hialinos por campo con objetivo de 40x. El resto de los analitos se presentaron dentro del rango normal en él y en los demás animales. No se observó la presencia de huevos de *D. renale* en las muestras analizadas.

PP. En la primera ecografía (286 días) post inoculación, se visualizaron ambos riñones de tamaño normal. En la cavidad abdominal se observó una imagen cilíndrica, de la que no se pudo establecer su naturaleza. En el segundo estudio ecográfico (298 días) se observó una imagen vermicular en el interior del riñón y además la profesional actuante Dra. Rube, señaló la ausencia parcial de médula renal y destacó que la corteza se hallaba conservada (Figura 3.2.C3). Durante el

tercer estudio (315 días) post inoculación, se vio una lesión circular en la piel a la altura de la cicatriz umbilical, se observó ecográficamente la ausencia de la estructura vermiforme (supuestamente un ejemplar de *D.renale*) en el riñón derecho del animal inoculado, la corteza renal permaneció conservada. El riñón izquierdo mantuvo su forma y tamaño inalterado. En el intervalo entre el último estudio y el próximo a realizarse, la lesión de piel se hallaba cubierta por una costra (Figura 3.3.C3). El animal murió a los 365 días, sin que se realice el cuarto estudio ecográfico.



Figura 3.2. C3. *M.auratus*, II ecografía, riñón derecho, 298 días



Figura 3.3.C3. *M. auratus*, lesión umbilical, 315 días

ME. b) En la primera ecografía (45 días) no se evidenciaron imágenes dudosas en los órganos y cavidades observadas, los riñones e hígado no mostraron alteración en cuanto a su tamaño.

En la segunda ecografía (90 días) no se vieron alteraciones en los animales inoculados ni en los testigos, con excepción del animal N°2 que había recibido como inóculo a *Enchytraeidae*. En ese animal se observó el hígado aumentado de tamaño, e imágenes compatibles con formas granulomatosas (Figura 3.4.C3, 3.5.C3, 3.6.C3). No se recuperó de la anestesia y murió. Se procedió tal como se describe en el apartado material y métodos C.3.c).

La tercera ecografía (174 días) no mostró imágenes sospechosas en los órganos y cavidades observadas, los riñones e hígado en la totalidad de animales, no se evidenciaron alteraciones en cuanto a su tamaño.

En la cuarta ecografía (310 días) del mismo modo, no se observaron imágenes sospechosas en los órganos y cavidades observadas, los riñones e hígado no mostraron alteración en cuanto a su tamaño. (Figura 3.7.C3, 3.8.C3).



Figura 3.4.C3. *Rattus norvegicus* Wistar, Ecografía del modelo experimental



Figura 3.5.C3. *Rattus norvegicus* Wistar, Ecografía de hígado, IME 90 días



Figura 3.6.C3. *Rattus norvegicus* Wistar, Ecografía de riñón derecho, a los 90 días de IM



(
Figura 3.7.C3. *Rattus norvegicus* Wistar, Ecografía s/p de riñón derecho



Figura 3.8.C3. *Rattus norvegicus* Wistar, Ecografía s/p de riñón izquierdo

PP. c) Ante la muerte espontánea del animal, a los 365 días, se realizó la correspondiente necropsia y los cortes histopatológicos de ambos riñones mediante la metodología mencionada para el ME. El informe histopatológico se transcribe tal como lo redactó la patóloga. “Corpúsculo renal con aumento de espesor de la cápsula de Bowman y presencia de material proteináceo en el espacio capsular. Los túbulos presentan aumento de espesor de la membrana basal y cambios de degeneración y necrosis del epitelio tubular renal. Presencia de cilindros hialinos. Ocasional estructura oval compatible con huevos de parásito. Destacan estructuras redondas pigmentadas de negro, algunas con luz central y material granular violáceo (Figura3.1c, 3.2.c, 3.3.c). Comentario: Nefrosis. Considerar la posibilidad de que las estructuras pigmentadas de negro sean restos parasitarios mineralizados”. Dra María Alejandra Quiroga DMV PhD, profesora titular, directora del laboratorio de patología especial veterinaria, FCV.UNLP.

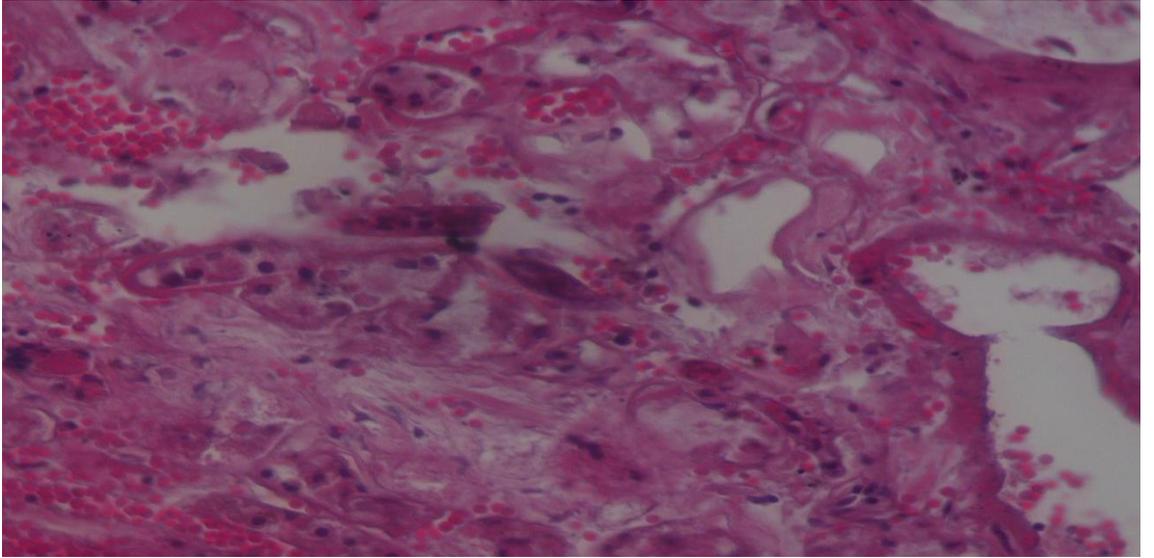


Figura 3.1.c. *M. auratus*, Corte histopatológico de riñón derecho H&E. Obj 40x

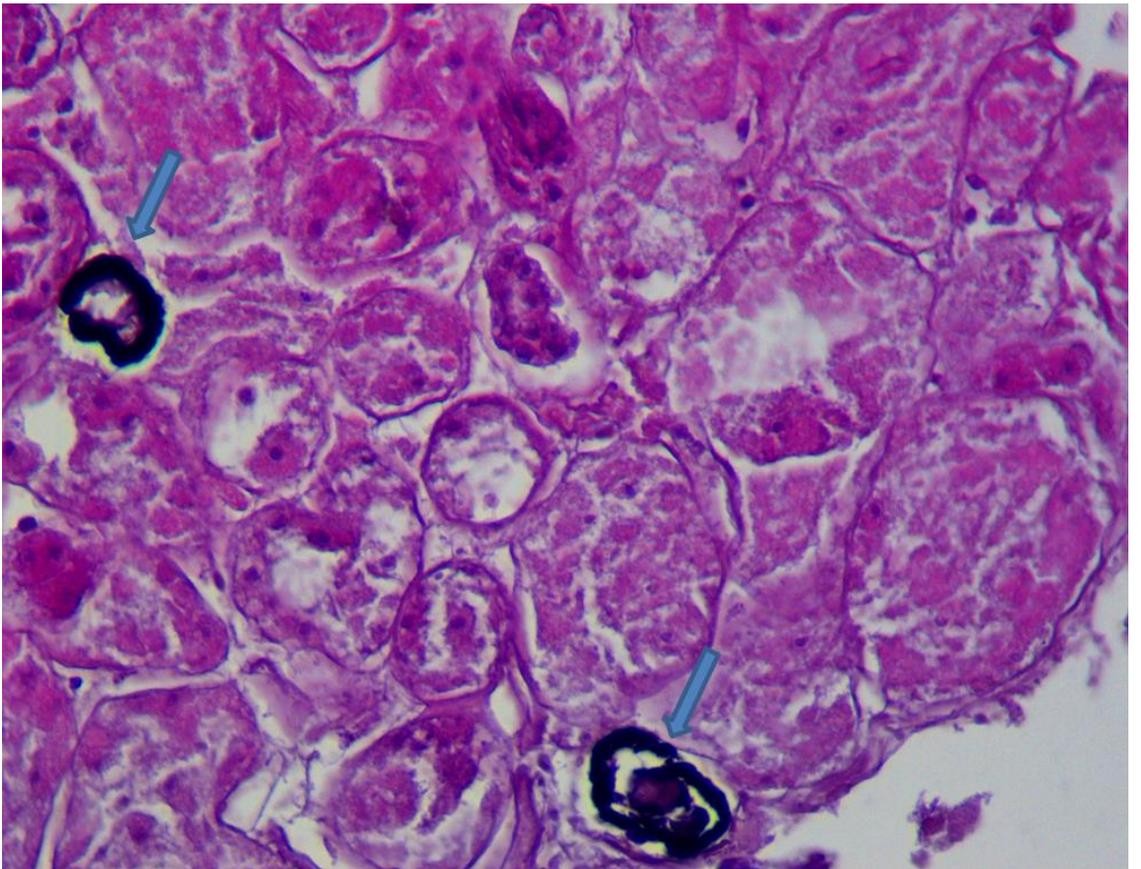


Figura 3.2.c. *M. auratus*, Estructura oval con paredes densas, compatible con huevos de *D. renale* H&E. (Obj. (40x).

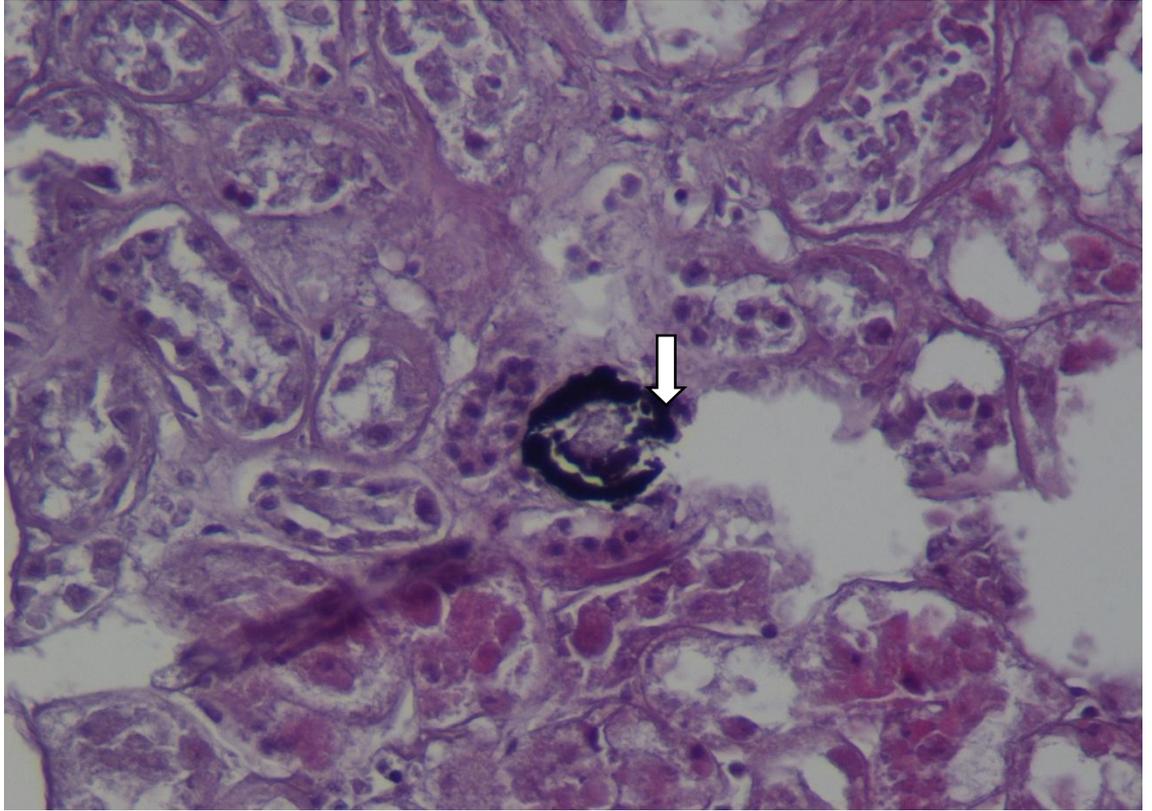


Figura 3.3.c. *M. auratus*, Estructura oval con paredes densas, compatible con huevos de *D. renale* H&E. (Obj. 40x)

ME. c) No se observaron lesiones histopatológicas en los animales inoculados ni en los mantenidos como testigos. El modelo experimental (ME) N°2 muerto en un momento inmediatamente posterior a la segunda ecografía fue el único animal que presentó lesiones histopatológicas en hígado y en ambos riñones. El informe se transcribe tal como lo redactó la patóloga. “Hígado: se observa marcada congestión (Figura 3.4.c, 3.5.c,) y ocasional presencia de amplia cavidad llena de sangre sin respuesta tisular periférica (Figura 3.6.c). Riñones: ambos presentan lesiones similares. Se observa regular número de corpúsculos renales con hipertrofia del ovillado capilar a expensas del aumento de su celularidad y de la matriz mesangial (Figura 3.7c). También regular a moderado número de glomérulos, evidencia atrofia del ovillado capilar, fibrosis de la cápsula de Bowman

y presencia de medialunas glomerulares (Figura 3.8.c). Los túbulos presentan cambios degenerativos (Figura 3.10c) (tumefacción celular, degeneración hidrópica, ocasional hialina en gotas) y abundante material proteináceo en la luz. Destaca regular cantidad de túbulos dilatados y con cilindros hialinos (Figura 3.9c). Múltiples focos de infiltración celular mononuclear intersticial. Presencia de pigmento pardo (compatible con hemosiderina) en escasos macrófagos presentes. Diagnóstico: glomerulonefritis y nefritis intersticial no supurativa. Comentario: las lesiones glomerulares recuerdan a aquellas observadas en casos de nefritis inmunomediada. Considerar este comentario en el contexto de la reproducción experimental efectuada”. Dra María Alejandra Quiroga DMV PhD, profesora titular, directora del laboratorio de patología especial veterinaria, FCV.UNLP.

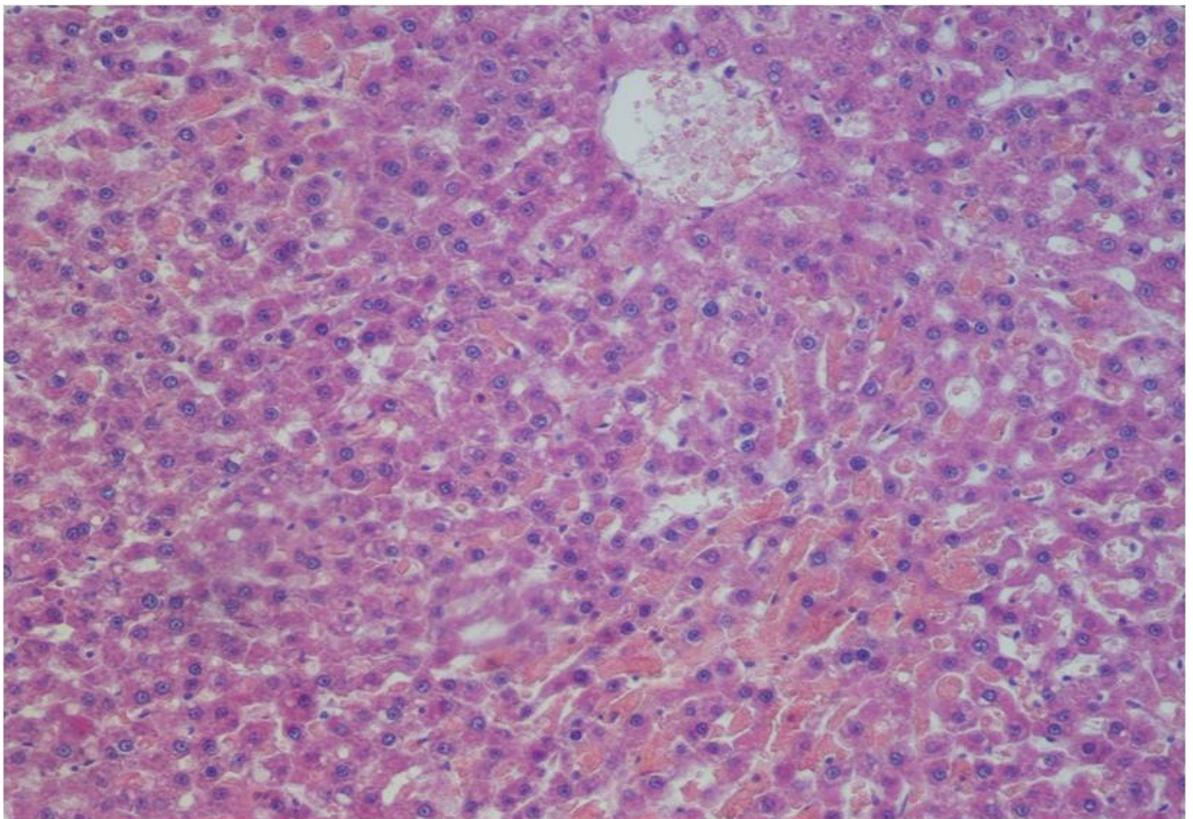


Figura 3.4.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Hígado: congestión moderada. H&E. (Obj 40x).

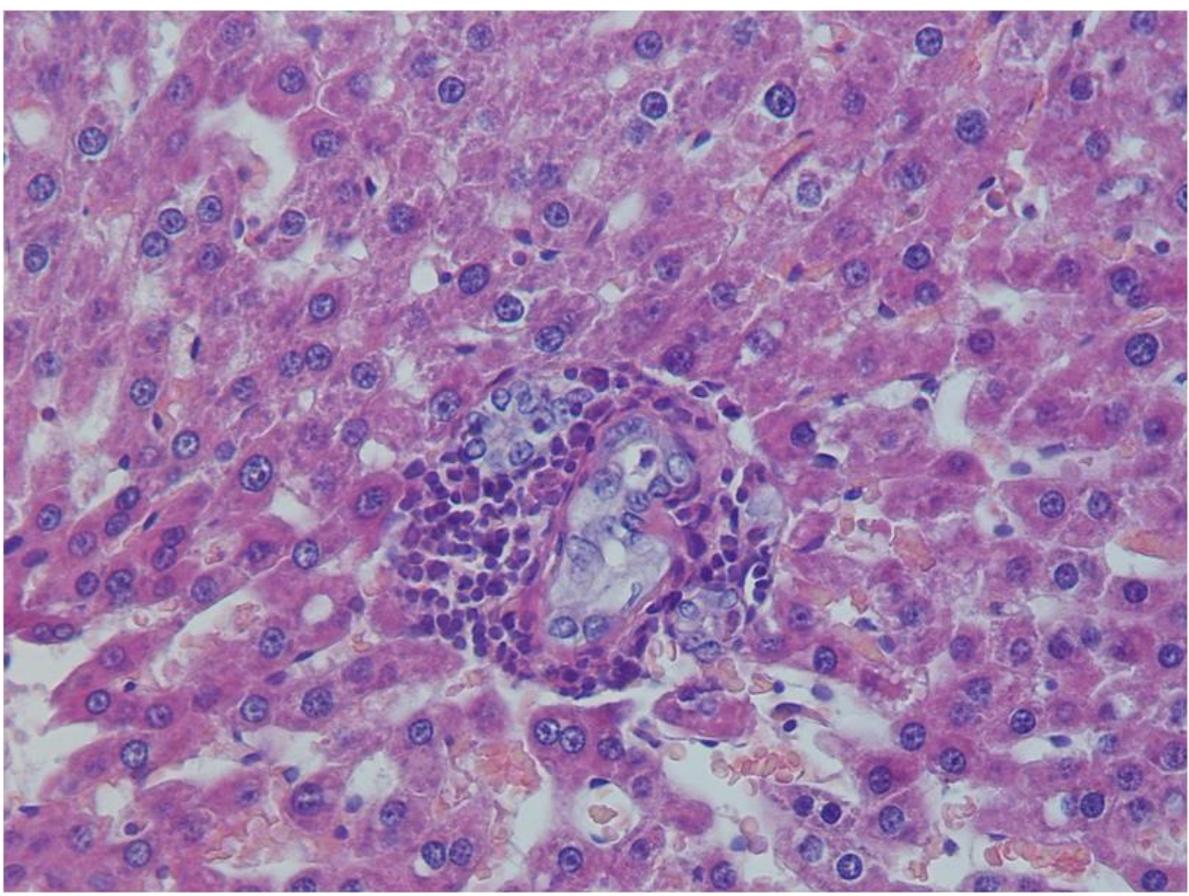


Figura 3.5.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Hígado: ocasional infiltrado inflamatorio en espacio porta. H&E. (Obj. 40x).

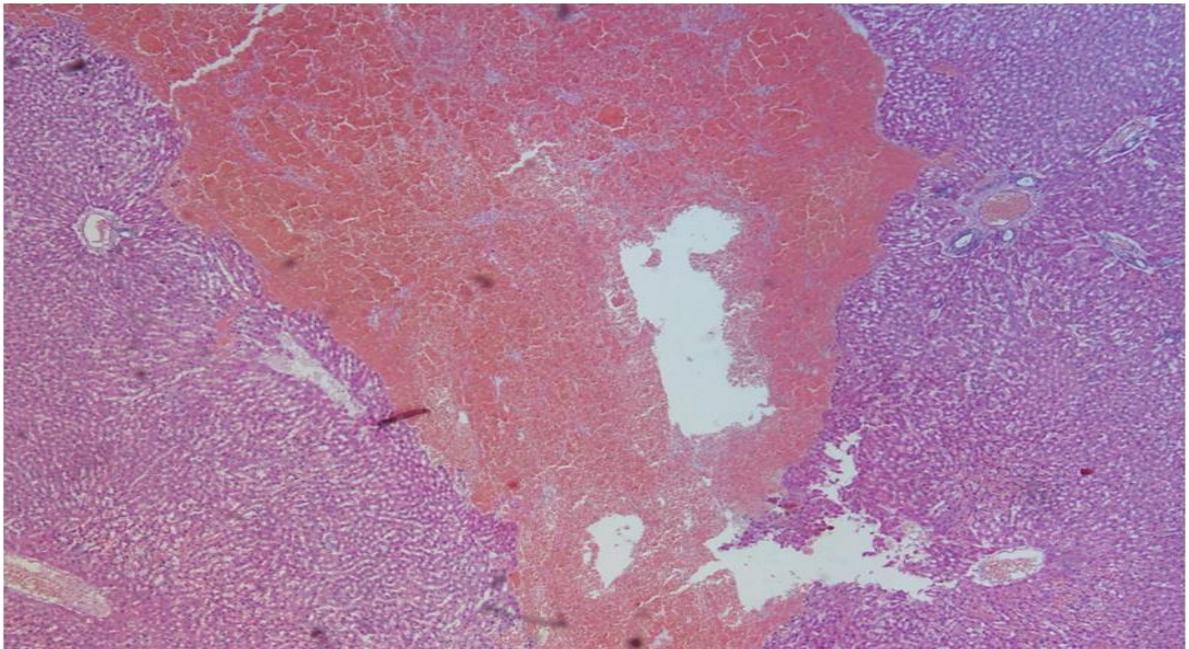


Figura 3.6.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Hígado: extenso foco de necrosis y hemorragia. H&E. (Obj. 4(x))

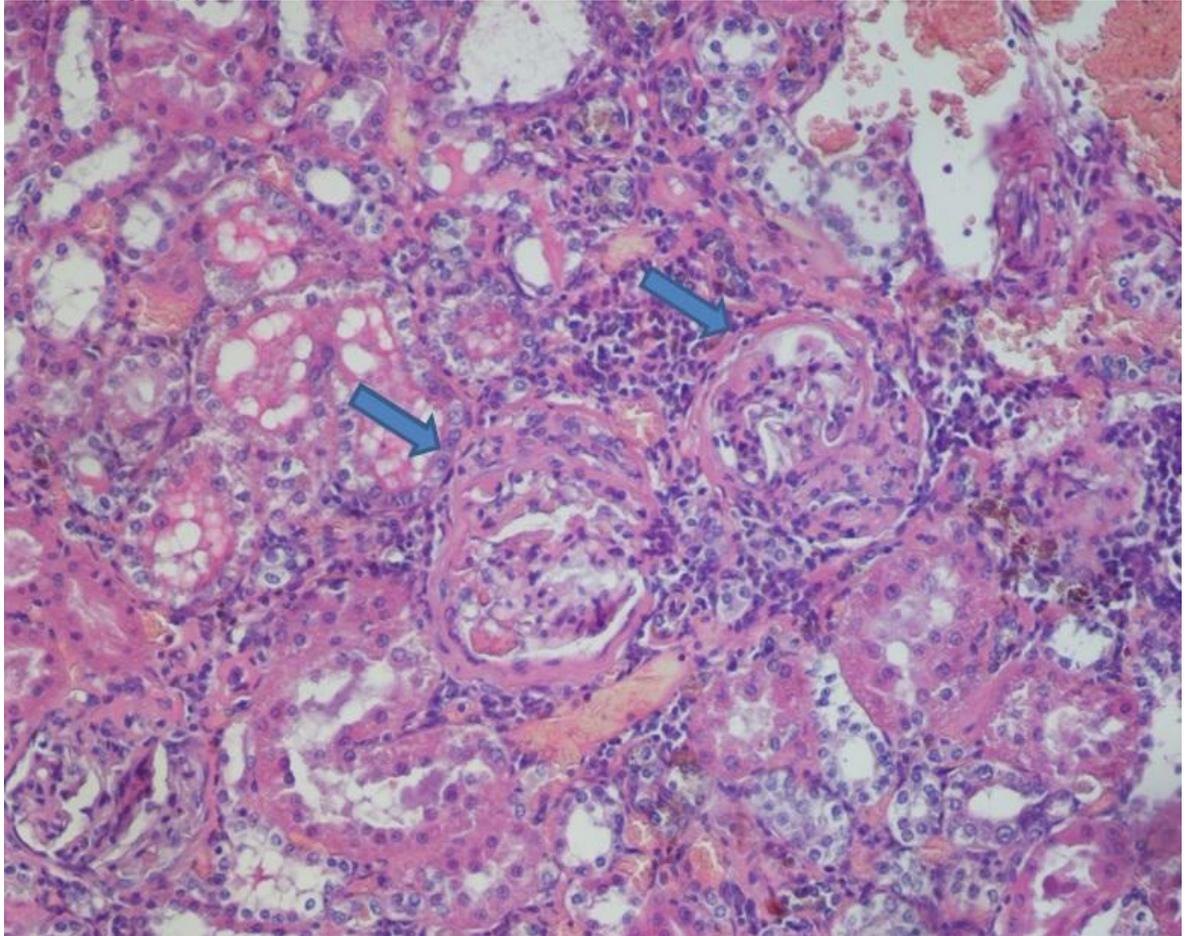


Figura 3.7. c. *Rattus norvegicus* Wistar, Glomérulos con atrofia del ovillado glomerular y presencia de medialuna epiteliales. Infiltrado mononuclear intersticial. H&E. (Obj. 20x).

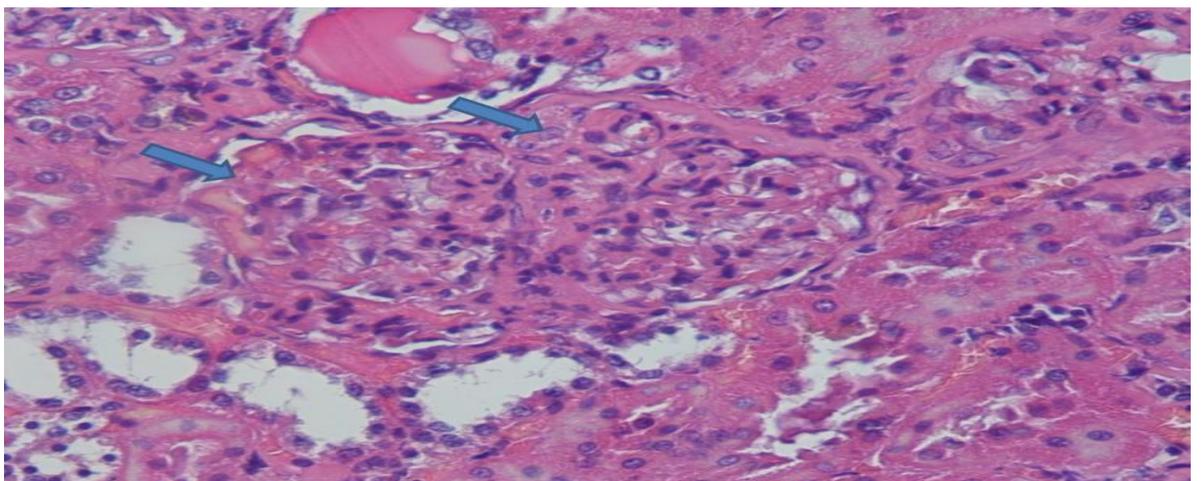


Figura 3.8.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Glomérulos aumentados de volumen con incremento de matriz mesangial y fibrosis de la cápsula de Bowman. H & E. (Obj. 40x).

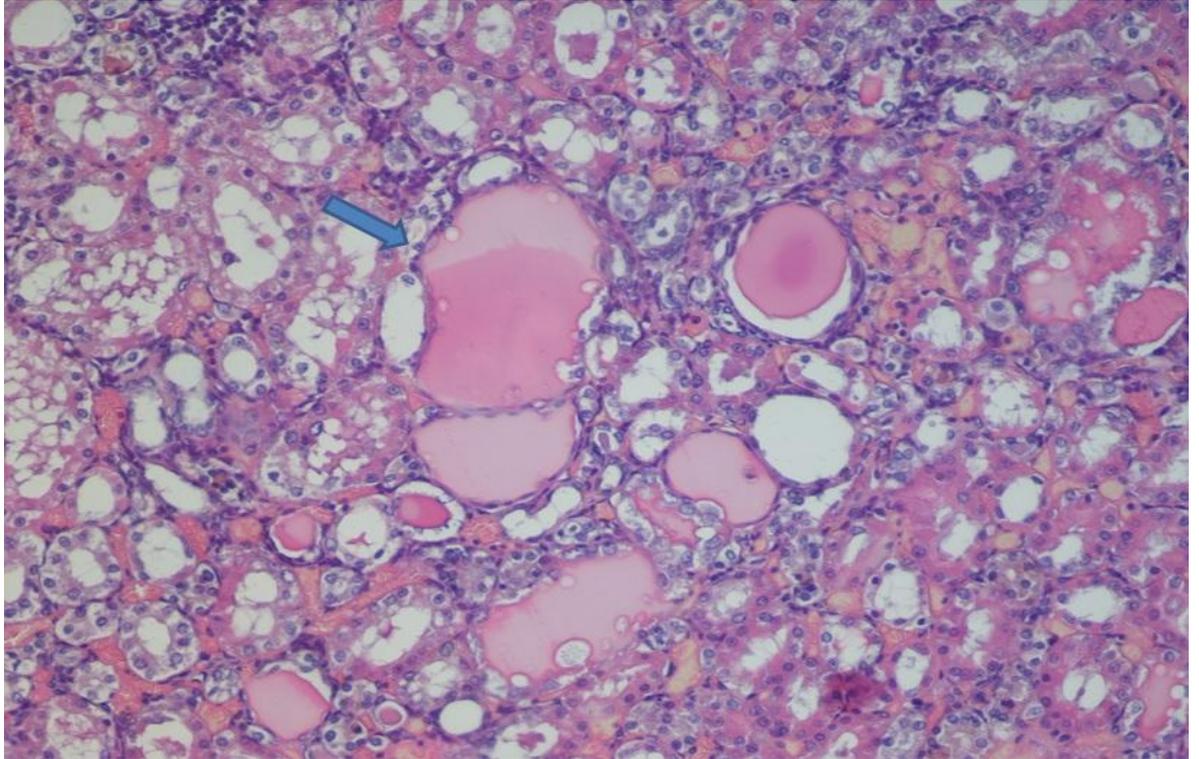


Figura 3.9.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Cilindros hialinos tubulares. H & E. Obj 20x

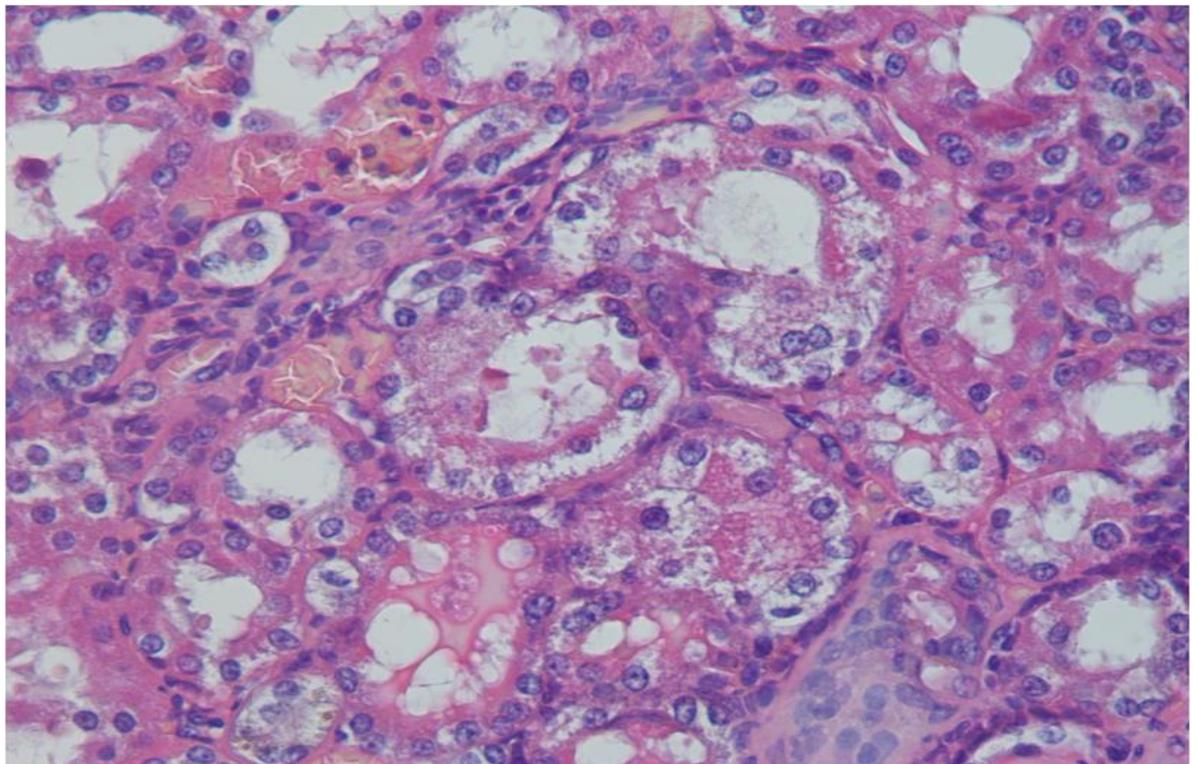


Figura 3.10.c. *Rattus norvegicus* Wistar, Túbulos con cambios degenerativos. H & E. (Obj. 40x).

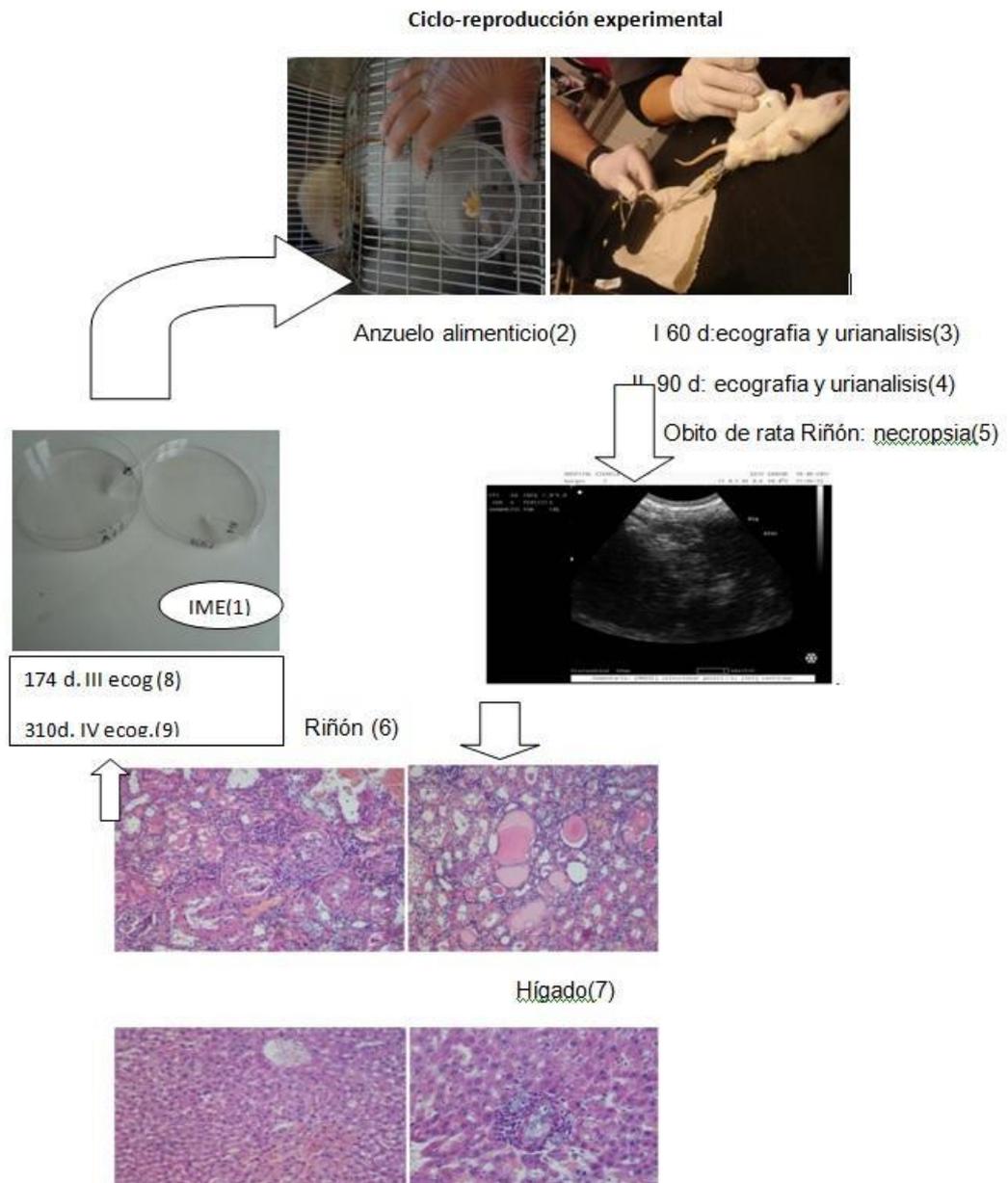


Figura 3.11.c: reproducción experimental en *Rattus norvegicus* Wistar por familia de anélido

(1) IME: 15 ejemplares infectados de la familia Enchytraeidae. 15 ejemplares de familia Aeolosomatidae: *Aeolosoma hemprichi*. (2) anzuelo alimenticio con IME por vía oral. (3) I ecografía s/p y urianálisis no se observaron elementos parasitarios de *Diectophyma renale*. (4) II ecografía: óbito de la rata N°2, IME, familia Enchytraeidae pos anestesia e intra ecografía: imágenes en hígado compatible con *Diectophyma renale* (hepatomegalia y formas granulomatosas. Urianálisis: no se observaron elementos parasitarios de *Dr*. (5) necropsia: (6) riñón: glomerulonefritis y nefritis intersticial. (7) hígado: marcada congestión. (8) III ecografía s/p y urianálisis: abundantes cristales y leucocitos, no se observan elementos

parasitarios de *D. renale*. (9) IV ecografía s/p y urianálisis: abundantes cristales y leucocitos, no se observan elementos parasitarios de *Dr*.

3.4 Discusión de objetivo 2

Área

La Ciudad de Ensenada, situada en la costa ribereña del Río de La Plata, presenta características geográficas y sociales, que propician determinadas parasitosis. A su vez la presencia del Río de La Plata, zanjas y zanjones condicionan una mayor incidencia de las de ciclo biológico acuático, entre ellas la dioctofimosis canina que es endémica como mencionan (Burgos et al., 2014; Radman et al., 2017) cuyos trabajos realizados en el área de estudio durante numerosas jornadas educativo saludables realizadas en el marco de proyectos de Extensión Universitaria y de investigación, ellos informaron elevadas prevalencias de dioctofimosis canina, de 36%, 42,1% respectivamente. Eso hizo pensar que el ciclo biológico del verme, *D. renale*, se cumple allí muy eficazmente. Trabajando en el lugar se observaron innumerables factores y conductas que colocan a la salud humana y animal en riesgo de adquirir esta enfermedad zoonótica. Entre otras, actividades recreativas acuáticas y la alimentación con ranas, peces y anguilas, potenciales hospedadores paraténicos (Espinosa et al., 1999; Burgos et al., 2014; Radman et al., 2017).

Huevos

A partir de las muestras de orina recolectadas y de los vermes recuperados de las nefrectomías y otras cirugías realizadas en las distintas asistencias brindadas a caninos del lugar, se obtuvo gran cantidad de huevos, entre ellos se observaron

los cuatro morfotipos ya mencionados. Los más frecuentemente hallados fueron los elipsoidales, de color marrón claro que mostraron en cada extremo un tapón definido y depresiones características en forma de media luna en su superficie exterior, tal como los describió Woodhead, en su trabajo publicado en 1950, en el cual sin embargo mencionó medidas de $74,3 \mu\text{m} \times 46,7 \mu\text{m}$, acordes a algunas de las obtenidas por la tesista durante su investigación, sin embargo, este autor no indicó a que tipo de huevos se refirieron sus mediciones. Dado que consiguió la evolución de los mismos, es de suponer que se trató de huevos fértiles. No obstante, sus mediciones prácticamente coinciden con las obtenidas en esta experiencia. Para huevos infértiles Otros autores tampoco informaron acerca de diferentes tipos de huevos, e indicaron medidas extremas y no promedios por lo cual se consideró que en ellas podrían estar incluidas las de los distintos morfotipos. Así Karmanova, 1962, observó huevos de $77 \mu\text{m}$ a $83 \mu\text{m} \times 45 \mu\text{m}$ a $47 \mu\text{m}$; Perez Tort et al., 1997 indicaron un rango de $60 \mu\text{m}$ a $79 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m}$ a $47 \mu\text{m}$; Fiorentini y Negro, 2007, $60 \mu\text{m}$ a $84 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$ a $45 \mu\text{m}$. En sus estudios, (Schacher y Faust, 1956; Mace y Anderson, 1975; Pedrassani et al., 2009), indicaron medidas promedio, ellas fueron $68,7 \mu\text{m} \times 42,4 \mu\text{m}$, $73 \mu\text{m} \times 52 \mu\text{m}$ y $67,23 \mu\text{m} \times 42 \mu\text{m}$, $78 \mu\text{m}$. respectivamente, de ellos solo los primeros autores mencionaron la posibilidad de que los huevos observados fueran infértiles dado que no hallaron machos en el animal de procedencia. La dimensión media de ellos fue de $67 \mu\text{m} \times 41,3 \mu\text{m}$, menor que las obtenidas en este estudio para ese tipo de huevos. De acuerdo con lo sugerido por (Schacher y Faust (t, 1956, podría ser que la variabilidad de medidas se deba a la no precisión en cuanto a morfotipos hallados, aunque ellos sólo aluden a fértiles e infértiles. Además, indicaron

posibles diferencias según la especie animal de la que se obtuvieron, habida cuenta de que las dioctofimosis más estudiadas han sido las de visones y las de caninos.

Es probable que existan diferencias regionales o subespecies y en esa dirección se llevan a cabo actualmente estudios de biología molecular (Arce et al. 2020).

En cuanto a la evolución de los huevos, en esta investigación se observó que todos los elipsoidales, esféricos y decorticados aún sin división celular al momento de puestos, evolucionaron a EJ1, a diferencia de lo informado por (Mace y Anderson, 1975). quienes observaron que solo los que contenían dos células al momento de ovipuestos fueron capaces de embrionar.

Evolución de los huevos y características de las larvas

Como se mencionó anteriormente, son escasas y antiguas las investigaciones realizadas sobre ciclo biológico de *D. renale*, no obstante, se dispone de abundante bibliografía sobre otros aspectos de la parasitosis, especialmente de hallazgos clínicos. Probablemente el primero en experimentar y publicar sobre biología del verme haya sido Balbiani. 1870, intentando reproducir la enfermedad de forma monoxenica, de él Wislock. 1919, mencionó "Balbiani.1870, en una serie de experimentos, intentó transmitir la infección directamente transfiriendo los huevos de un animal a otro, pero no tuvo éxito. De estos experimentos concluyó que debe existir un anfitrión intermedio. Observó además el desarrollo de embriones a partir de los huevos y notó el hecho de que permanece vivo durante muchos años en presencia de humedad y pensó que parte del ciclo de vida del organismo se transmite en los peces, dado que se han encontrado larvas del género". Por su parte, en su publicación Woodhead 1950, menciona autores que

han realizado experiencias sobre la historia de vida de *D. renale*. Esas publicaciones no fueron obtenidas por la tesista en su amplia revisión, por lo cual a continuación se transcriben citas por él mencionadas “Ciurea, 1921 ha llevado a la especulación para incriminar peces como el agente que lleva la infección a los mamíferos. Este artículo no fue en modo alguno el resultado de un trabajo experimental. Además, el informe del gusano renal que se encuentra en caballos en América del Sur causó que muchos parasitólogos cuestionan que los peces sean intermedios en el ciclo de vida”. “Lukasiak, 1930, en un extenso artículo, describió su trabajo con el gusano del riñón, lo encontró en los perros de Varsovia y sus alrededores. Hizo muchos intentos de incubar el huevo y finalmente fue confinado en su investigación a un estudio del adulto y de la larva expulsada del huevo por presión”. “Woodhead, 1941, describió por primera vez la eclosión y penetración de larvas de *D. renale*, y sugirió una relación entre la larva de *Paragordius* y la de *D. renale*”.

De los mencionados científicos, que sentaron bases y que es necesario nombrar en el desarrollo de este trabajo, se tomaron como referencia las investigaciones de (Woodhead, 1950; Karmanova, 1962 y Mace y Anderson, 1975) (por ser los autores cuyos manuscritos se obtuvieron y ser los referentes por haber explorado en la biología de *D. renale*).

En esta experiencia se obtuvieron huevos embrionados en un período de tiempo promedio de 15 días, espacio mucho más breve que los mencionados por (Woodhead, 1950; Karmanova, 1962 y Mace, 1975), que lo lograron a los 21, 30 y 35 días respectivamente, en condiciones similares a las de esta experiencia. De acuerdo con los mismos autores, se observó que la movilidad in ovo, cesó en

aproximadamente 1 semana y no se vieron otros signos de movimiento, hasta que la larva emergió.

A lo largo de la etapa de incubación, en este estudio, se provocó la ruptura de los huevos ya larvados a distintos tiempos, a efectos de realizar mediciones al estado juvenil liberado y observar su comportamiento. Así se apreciaron a partir del día 15 las características resumidas en la Tabla 3.3.10.A2 que también fueron ilustradas mediante distintas imágenes. Del mismo modo se vio que el estadio juvenil de esa edad era demasiado frágil e inestable. En cambio, cuando se procedió a liberar de las envolturas del huevo a larvas de más tiempo de incubación se observó una mayor movilidad y sobrevida en coincidencia con lo manifestado por (Woodhead, 1950) quien informó haber observado más actividad de las larvas de mayor edad que la observada en las jóvenes.

La edad de los huevos larvados, utilizados como inóculo para los anélidos fue en esta investigación, de 81 días. Diferió claramente respecto al resto de los autores que indagaron en la biología del *D. renale* (Woodhead, 1950), utilizó huevos larvados de 11,5 meses de edad sin mencionar la razón de haber seleccionado un tiempo tan prolongado. Karmanova, 1962, lo hizo con huevos de 30 días de cultivo sin enunciar el porqué de su elección. Mientras que (Mace y Anderson, 1975) solo indicaron que los utilizaron al observar la formación de la larva. Aunque a su vez acotaron haberlos almacenado a temperatura ambiente a la espera de disponer de anélidos para inocular, sin aclarar el espacio de tiempo total. Es de suponer que en ese período las larvas hayan alcanzado la estabilidad de su cutícula, lo que fue observado sobre el día 21 en esta experiencia. Se seleccionó para inocular a los anélidos un tiempo de madurez de los huevos de 81 días, algo

menor a la media de los tres autores. Respecto del EJ1 liberado in vitro solo woodhead realizó una rica descripción, sin embargo, no mencionó sus medidas ni la técnica con la que procesó el material para poder detallar tan minuciosamente la morfología de sus estructuras internas. En este estudio, no se profundizó en detalles morfológicos de este estado, aunque se realizaron las mediciones a diferentes tiempos y se observó el estilete de penetración. Por su parte (Karmanova, 1962; Mace y Anderson, 1975), realizaron una descripción de la larva recién cuando se encontraba liberada en el oligoqueto.

Anélidos

Al igual que en las investigaciones tomadas como base, en ésta se trabajó con material proveniente de un área endémica de dioctofimosis. De ella se obtuvieron el material parasitario y los anélidos. Por su parte, Woodhead, 1950 trabajó con Branquiobdellida, provenientes de las branquias de cangrejos. Mientras que (Karmanova, 1962; Mace y Anderson, 1975) lo hicieron con *L. variegatus*. En esta investigación al no hallarse esta especie, se experimentó con anélidos que cumplieron los mencionados criterios de inclusión. Se utilizaron luego de haberse reproducido a lo largo de 10 generaciones en el laboratorio, a fin de evitar algún tipo de infección vertical en ellos. Este método difirió absolutamente del utilizado por los tres mencionados autores quienes trabajaron con anélidos colectados de cursos de agua a los que enfrentaron a huevos larvados de *D. renale*, con el objetivo final de realizar la reproducción en el hospedador definitivo, sin haber considerado una posible infección natural en ellos. Posteriormente describieron algunos caracteres morfológicos del estado juvenil en el HI invertebrado e indicaron que correspondió a *D. renale*, (Karmanova, 1962), informó el hallazgo

de 2 a 7 larvas de *D. renale* en cada anélido e indicó la visualización por transparencia en el vaso ventral. Esa investigadora además deslizó dudas respecto del trabajo de (Woodhead, 1950), quien tras realizar cortes y coloraciones de anélidos inoculados mencionó el parecido de las larvas halladas, con las de *Paragordius varius*, gordiáceo también presente en el área en la que se realizaron sus experiencias. También informó que los estados juveniles por ella observados en *L. variegatus*, fueron larvas de *D. renale* y los describió, de forma fusiforme con su extremo anterior más ancho que el posterior, cola aguzada y longitud de 80 μm a 225 μm y cabeza armada con 1 estilete. Por su parte Mace y Anderson, 1975 señalaron la presencia de larvas en cortes de anélidos sin indicar la técnica utilizada y midiendo al primer estado larval lo describieron de una longitud de 162 a 190 μm . En el presente trabajo en cortes de anélidos coloreados con hematoxilina y eosina, se observaron escasas larvas de *D. renale* de 150 μm de longitud y 17 μm de ancho y escasos quistes. Las medidas de las larvas observadas en los invertebrados inoculados, difieren en longitud a las informadas por los autores consultados, aunque se encontraron próximas a la medida mínima obtenida por (Mace y Anderson, 1975). Es de señalar que ambos autores dispusieron de mayor cantidad de ejemplares para realizar el cálculo de la media, que en este estudio incluyó sólo a 21 larvas observadas en los enchytraeidos. En ellas se apreció su morfología externa, con la extremidad anterior más ancha y destacando como estructuras las papilas cefálicas coloreadas con un rosado más intenso que el resto del cuerpo, no se reconocieron partes de su anatomía interna. Es necesario señalar que las larvas se encontraron en la familia Enchytraeidae, no así en

Aeolosoma hemprichi. No obstante, la siguiente etapa se realizó con ambos grupos ensayados según la metodología propuesta.

Inoculación en Hámster y ratas. Prueba piloto y modelo experimental respectivamente.

En la inoculación de hospedadores definitivos, esta experiencia difiere también de las realizadas por los tres autores, ya mencionados quienes trabajaron para reproducir el ciclo de *D. renale*. Ellos además de haber utilizado anélidos recuperados del medio natural, inocularon mamíferos, perros, hurones y/o visones, sin mencionar haber realizado controles previos, a fin de descartar su infección natural. Por lo cual es posible que hayan informado resultados inexactos, es probable que los animales de experimentación hayan padecido de dioctofimosis naturalmente adquirida previo a las experiencias realizadas, aún no manifestando sintomatología alguna. Al carecer de estudios previos realizados en sus modelos experimentales pudieron haber abordado a resultados no reproducibles.

En la presente investigación se trabajó con dos especies animales. Para la prueba piloto se utilizó un *M. auratus* como modelo experimental, sin embargo, dado que solo se contó como antecedente con la comunicación personal realizada por Feldman R, 2000, no se utilizó esta especie para realizar la experiencia. En cambio, en ratas se dispuso de respaldo bibliográfico. Se han informado hallazgos en animales silvestres naturalmente infectados, lo que determinó la selección del modelo experimental para realizar el estudio propuesto (Chin, 1964) halló en China *D. renale* en *Rattus norvegicus*, mientras que, en distintos puntos de Japón (Taniguchi et al., 1976), examinaron 178 animales y encontraron uno parasitado

por 2 *D. renale* en la cavidad abdominal, (Tokiwa et al., 2011), exploraron 24 ratas y hallaron también una con 2 vermes en su abdomen. Más recientemente (Banzai et al., 2018), hallaron 11 ejemplares de *D. renale* en 3 animales de 11 muestreados. Ambas especies incluidas en esta experiencia provinieron de bioterio, no obstante, se realizaron controles previos a la inoculación.

En su trabajo (Woodhead, 1950), describió detalladamente los distintos estados de *D. renale*, pero como se mencionó anteriormente, sin el suficiente rigor como lo señaló Karmanova, 1962. Este autor, indicó que reprodujo la enfermedad en hurones alimentándolos con restos de peces provenientes del mismo hábitat, en cuyos tejidos observó quistes, por considerar que el ciclo se cumplía tras el paso por dos hospedadores intermediarios previo a infectar al definitivo. Mientras que (Karmanova, 1962 y Mace, 1975), lo hicieron inoculando *Lumbriculus variegatus* a caninos y visones por vía intragástrica y por vía oral, respectivamente, sabiendo que solo era necesario un HI, y que los vertebrados acuáticos cumplían el rol de HP.

En este ensayo ambos potenciales hospedadores definitivos recibieron el inóculo (anélidos infectados) a los 50 días de haberlos contactado con los huevos maduros de *D. renale*, mediante la técnica de anzuelo alimenticio y con los ya mencionados controles de potenciales HI y HP.

Distintos autores han recopilado información sobre *D. renale* (Morini y Grillo Torrado, 1975) lo mencionaron como hallado parasitando a numerosas especies animales, lobo, visón, perro, coatí, nutria, zorro, zorros, nutrias, marta, hurón, comadreja, mapache, puma, gato, foca y raramente, caballo, bovino, cerdo, monos y hombre. Pero describieron al perro como un huésped no habitual, con

excepción de aquellos que viven en zonas lacustres y en costas de ríos por lo que condicionan su alimentación a vertebrados acuáticos que albergan en su organismo larvas infectantes, como es el lugar que nos ocupa.

Estudios de prevalencia realizados en visón en Canadá informaron que el 2, 5 al 8, 6 % estuvieron infectados (Soulsby, 1987). Años más tarde (Mech et al., 2001), notificaron una prevalencia del 27% en Minnesota en esos animales. En caninos, (Pedrassani, 2009), halló en el distrito de San Cristóbal, Brasil una frecuencia de presentación del 30% en animales necropsiados.

En la zona estudiada (Butti et al., 2019) lo diagnosticaron en un felino y no se detectó en equinos ni en humanos (Burgos et al., 2011), sin embargo, el muestreo realizado para estas especies no fue significativo. En cambio, la prevalencia de dioctofimosis canina en el lugar fue elevada (Burgos et al., 2006; Burgos et al., 2014; Radman et al., 2017).

Las reproducciones experimentales realizadas por (Woodhead, 1950; Mace y Anderson, 1975) les permitieron describir parcialmente la migración en los visones utilizados como HD en sus investigaciones, así como características de los estados intermedios de *D. renale*, dado que fueron sacrificándolos durante el estudio. Ellos informaron que las larvas ingresaron a la submucosa del estómago, donde permanecieron al menos 5 días. Desde allí migraron al hígado, donde se mantuvieron por aproximadamente 50 días, a partir de los cuales abandonaron el parénquima hepático y migraron directamente al riñón. (Bellini y Ferreira, 2001 sugirieron que el 85% de las infecciones por *D. renale* en el visón están restringidas al riñón derecho. Mace y Anderson, 1975, indicaron que las larvas que penetran en la pared del estómago entrarían en los lóbulos derechos del

hígado y desde el hígado podrían migrar directamente al riñón derecho. Mientras que (Woodhead, 1950), señaló que si las larvas permanecen en la pared de la curvatura mayor pueden alojarse en el riñón izquierdo. Este concepto fue apoyado posteriormente por Fiorentini et al y Negro, 2007).

Por su parte (Karmanova, 1962), quien logró reproducir eficazmente la enfermedad en caninos, los sacrificó tardíamente por lo que no describió su ruta migratoria desde el ingreso de las formas infectantes por vía oral, hasta su arribo al riñón y ésta es aún discutida, no existiendo referencias bibliográficas que la describan en su totalidad. Sin embargo, pareciera estar asociada al sitio de penetración de las larvas infectantes en el tracto digestivo. También se analizan las opiniones de distintos autores respecto a la etapa de desarrollo del verme en la que invade el riñón y si ésta se produce anteriormente o con posterioridad a las otras localizaciones registradas, ingresando por la pared duodenal a la cavidad peritoneal para luego ubicarse en el riñón (Morini y Grillo Torrado, 1975).

Woodhead, 1950 informó un período prepatente de 154 días en el visón y 155 en el hurón, (Kamanova, 1962) observó eliminación de huevos en caninos a los 135 días postinfección. En esta experiencia, el objetivo fue reproducir la enfermedad, no describir la ruta migratoria de *D. renale* en el hospedador definitivo, por lo cual no se realizaron sacrificios previos al punto final, además el estudio, se ajustó a las reglamentaciones vigentes lo que implicó el uso del menor número posible de animales de experimentación. En cambio, se realizaron controles post inoculación a los animales vivos. Estos incluyeron observaciones del comportamiento, clínicas, urianálisis y ecográficas.

Prueba Piloto

En cuanto al período prepatente en esta experiencia fue de 273 días para *Mesocricetus auratus*, más prolongado que el informado para visones, hurones y caninos. En la orina del hámster utilizado para la prueba piloto los huevos de *D. renale* observados presentaron un aspecto similar en cuanto a morfología y dimensiones a los descritos para huevos infértiles.

Modelo experimental

No se observaron huevos de *D. renale* en la orina de los animales, tampoco vermes en tejido renal ni en la cavidad abdominal como mencionan otros autores en sus hallazgos en ratas silvestres (Chin, 1964; Taniguchi et al., 1976; Tokiwa et al., 2011; Banzai et al., 2018).

Localización renal

En su órgano blanco, *D. renale* ejerce primariamente acción traumática producto de la colonización del verme en el órgano. Destruye el parénquima renal por medio de la secreción de enzimas proteolíticas y lipolíticas de sus glándulas esofágicas, alimentándose del tejido y de sangre. En algunos casos solo queda la cápsula renal conteniendo vermes y un líquido hemorrágico (Burgos y Radman, 2008). Puede obstruir el uréter o bien descender hasta la vejiga urinaria y obstruir la uretra (acción mecánica), salir de ella en forma espontánea (Trumbull, 1897), o inducida, mediante cirugía (Arias et al., 2017). Se hallaron huevos del nematodo en quistes renales en cinco oportunidades (Fernando, 1983). En el año 1930 se menciona lo que sería el primer caso de parasitosis múltiple en perro y hallazgo en riñón

izquierdo, años más tarde se reportó un caso en Brasil, hallando vermes inmaduros, mediante diagnóstico ultrasonográfico (Pedrassani, 2010). Las manifestaciones clínicas dependen de la cantidad de parásitos y de la localización de los mismos en el huésped. La expresión clínica puede ser inespecífica o estar ausente. En los caninos, la enfermedad puede presentarse en forma patente y no patente. Las formas patentes, con localización de los vermes en el tracto urinario y al menos la presencia de una hembra adulta, se diagnostican mediante técnicas parasitológicas (Burgos y Radman, 2008; Burgos et al., 2014; Terminiello et al., 2015) , observando la presencia de huevos en el sedimento urinario, por microscopía óptica, previa centrifugación de la muestra, aunque en ocasiones puede ser necesario realizar el diagnóstico diferencial con otro verme de localización en el tracto urinario como lo es *Capillaria plica*. (Rudolph, 1819) La cita más antigua que se obtuvo para realizar consultas para este estudio fue la de (Hallowel, 1856), quien destaca la elevada prevalencia en visones y el hallazgo de un *Eustrongylus gigas*, tal como se lo mencionaba entonces, en el corazón de un canino en el Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Han sido numerosos los autores que han descrito localizaciones ectópicas en distintas especies animales silvestres y domésticas. En el hombre se han hallado huevos de *D. renale* en muestras arqueológicas (Fugassa et al., 2013). La publicación mas antigua sobre casos de esta zoonosis en humanos lograda en función de esta investigación es de, Cannon. 1887, ellos describieron el caso de un niño que eliminó un verme por la uretra. Posteriormente se describieron varios hallazgos en localizaciones aberrantes y también en el tracto urinario (Beaver y Khamboonruang, 1984; Beaver y Theis, 1979; Cannon, 1887; Chen y Liu, 1988;

Cui et al., 2005; Chauhan, 2016; Hanjan et al., 1968; Fernando. 1983, Gan y et al., 2010, Ignjtovic et al., 2003), y otros en tabla 1.14.1. En visones, hurones y cánidos la localización mas frecuente es la renal y cavidad abdominal. Al respecto Woodhead, 1950, comentó “También es evidente por la gran cantidad de gusanos que se encuentran en los riñones del visón y la pequeña cantidad que se encuentra en la cavidad corporal, que el visón es un huésped normal para *D. renale*.” Son numerosos los hallazgos de *D. renale* en localizaciones erráticas en caninos incluido el tejido celular subcutáneo a nivel de las glándulas mamarias (Kelsey et al., 2018), mencionan el hallazgo de un ejemplar de *D. renale* que aparentemente abandonó al hospedador a través de la piel. Por su parte (Eberhard y Ruiz, 2014), comunican la emergencia espontánea del dioctofimatido *Eustrongylides* sp en dos pacientes.

Necropsia e histopatología.

Prueba Piloto

En tal sentido como se describió anteriormente, el animal utilizado para el desarrollo de la prueba piloto manifestó mediante los estudios ecográficos la ausencia del verme observado previamente, también la aparición de una lesión en el área umbilical. A partir de los antecedentes mencionados sumado a algunas comunicaciones personales no publicadas, es que se consideró altamente probable que el verme haya emergido espontáneamente del hospedador a través de una fístula cutánea neo formada y al haber estado el hámster en su habitáculo con viruta como cama, no se halló al verme para realizar la correspondiente comprobación. Días más tarde ante la muerte espontánea del hámster se le realizó la correspondiente necropsia, durante la cual se observaron

minuciosamente las cavidades abdominal y torácica, los órganos huecos y los parenquimatosos. Llamó la atención la disminución de tamaño del riñón derecho, no se hallaron lesiones en las cápsulas de los órganos internos ni en los parénquimas al corte. Aunque coincidente con los informes ecográficos se observó ausencia parcial de la médula renal. En las observaciones microscópicas la histopatóloga observó en el tejido de la médula renal restante y en la corteza estructuras infiltradas compatibles con huevos del nematode y otras redondas pigmentadas de negro, algunas con luz central y material granular violáceo. Respecto a éstas sugirió considerar la posibilidad de que sean restos parasitarios mineralizados. Se observaron además diversas alteraciones microscópicas que coincidieron con las descritas por Leite et al., 2005, quien informó las lesiones histopatológicas halladas en 1960 caninos con diectofimosis en Brasil, quien mencionó “Outros túbulos se apresentaram dilatados, estruturas glomerulares raras, irregulares y atrofiadas. Presença de espessamento de cápsula parietal de Bowman e espaços de Bowman dilatados irregularmente, contendo em seu interior material amorfo, posteriormente corado por Eosina. Material idêntico também foi encontrado na luz tubular”. Los distintos hallazgos no pueden compararse con otras experiencias por no existir antecedentes bibliográficos de esta parte del experimento.

Modelo experimental

En esta experiencia se trabajó con ratas como animal de experimentación dados los hallazgos bibliográficos de *D. renale* en ratas naturalmente infectadas (Chin, 1964; Tokiwa et al., 2011; Banzai et al., 2018). Ello hizo suponer que estos animales podrían ser un modelo de experimentación adecuado. Por lo que se

inocularon y observaron cómo se describió anteriormente. Los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, en la medida de recuperar algún elemento parasitario en los animales como ocurrió en los casos de infecciones naturales citadas. No obstante ante la muerte de uno de los animales a los 90 días post inoculación, se realizó la necropsia, una posible reacción inmunomediada en el riñón. Como indicó (Sapin, 2016) las reacciones inmunomediadas suelen presentarse ante causas infecciosas, bacterianas, virales o parasitarias como resultado del depósito de inmunocomplejos. En ellas los antígenos exógenos pueden tener acción local directa o pueden circular como complejos inmunes depositándose en el intersticio renal. En caninos se los ha mencionado en casos de dirofilariasis, toxoplasmosis y toxocariasis, entre las enfermedades parasitarias. Proviendo de un bioterio controlado, la posibilidad de parasitosis que hayan podido ocasionar la reacción inmunomediada en estos animales fue descartada, no así la posible presencia de otros agentes infecciosos. No obstante, llamó la atención que dichas modificaciones estructurales se hallaron sólo en un animal de los del grupo experimental, mientras que el resto de los integrantes y los testigos no las evidenciaron.

Los resultados obtenidos en esta instancia no indicaron, ni negaron la posible presencia de larvas de *D. renale* que no lograron colonizar el tejido renal de un integrante del grupo experimental de la especie animal seleccionada como modelo para esta investigación. Ello debió haberse confirmado mediante técnicas moleculares.

Capítulo 4: Conclusiones

En el área estudiada se hallaron oligoquetos, de las Familias, Enchytraeidae, Naididae y un Género de poliquetos de la Familia Aeolosomatidae, no se halló *Lumbriculus variegatus*, aunque el muestreo realizado no se diseñó para su búsqueda. Se logró mantener en laboratorio e infectar sólo a Enchytraeidae y a *Aeolosoma hemprichi*. Aunque solo se observó mínima cantidad de larvas en algunos de los primeros.

En esta experiencia pese a no haber podido recuperar el verme por una probable vía de salida no habitual del organismo, se consideró que el ciclo biológico de *D. renale* se logró reproducir en el Hámster como modelo animal. Los estudios realizados, ecográficos e histopatológicos indicaron su presencia. Se hallaron imágenes ecográficas, huevos infértiles en su orina, distintas alteraciones microscópicas comparables con las descritas en la bibliografía para casos de dioctofimosis canina. No pudo obtenerse el ejemplar a partir del hospedador definitivo inoculado. Sería necesario realizar nuevos ensayos de reproducción experimental o aplicar técnicas de biología molecular a sus tejidos a fin de obtener una indiscutible evidencia, que permitan afirmarlo o refutarlo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que los oligoquetos de la familia Enchytraeidae, podrían comportarse en la naturaleza como hospedadores intermediarios de *D. renale*. Sin embargo, se logró escasa infección en

laboratorio, en relación a la elevada prevalencia de dioctofimosis hallada en caninos del lugar, es probable que exista en el área otro anélido más eficaz en el cumplimiento de ese rol. También es probable que debiera repetirse la experiencia utilizando una mayor cantidad de *M. auratus*.

Aunque limitada, se decidió incorporar a este manuscrito a la prueba piloto a fin de sentar bases para futuros estudios.

La enfermedad no logró reproducirse en el modelo seleccionado para el desarrollo del trabajo. Aunque en la naturaleza han ocurrido varios hallazgos en especies del género *Rattus*. La respuesta inmunomediada observada en uno de los animales seleccionados como ME podría indicar algún grado de infección por el verme, no obstante, sería necesario corroborarlo mediante pruebas de inmunohistoquímica y biología molecular. Lo cual queda como propuesta para futuras investigaciones.

Según los resultados obtenidos podría concluirse en que *Mesocricetus auratus* sería un hospedador de mayor eficacia que individuos del Género *Rattus* para ser usado como animal de laboratorio en estudios de biología de *D. renale*.

Respecto de las tres publicaciones tomadas como de referencia para este estudio, por ser las únicas investigaciones sobre la historia de vida de *Dioctophyma renale*, se concluye con interrogantes y la fundamentación de los mismos: ¿Es posible que hayan creído reproducir el ciclo biológico y no sea así?

El fundamento del primer interrogante se basa en el uso de animales con altas posibilidades de estar naturalmente infectados y sin controles previos para el desarrollo de sus respectivas experiencias.

Esto indujo a otra duda: ¿será *Lumbriculus variegatus* el invertebrado hospedador intermediario de *D. renale*?

Esta reflexión surge de recordar que su rol en el ciclo biológico de *D. renale* se debió a los estudios y posteriormente se recuperó en la bibliografía sin haberse corroborado sus experiencias.

El trabajo de Comprobación experimental del ciclo biológico de *Dioctophyme renale* en un área ribereña al Río de La Plata propuesto, fue inédito pero sus resultados fueron insuficientes. No obstante, sentó bases respecto de la metodología para mantener a los anélidos en laboratorio y seleccionarlos. Tal vez se podría incorporar a otro grupo de estos invertebrados y repetirlo en *M. auratus*, empleando más cantidad de especímenes.

Disponer de un modelo experimental para la reproducción de esta parasitosis facilitaría el desarrollo de drogas y metodologías diagnósticas posibles de ser utilizadas en animales y humanos para poder realizar el control oportuno de esta enfermedad zoonótica.

Inconvenientes hallados en el desarrollo de las investigaciones

- a) Se limitó el desarrollo de invertebrados en cultivos, en verano-invierno.
- b) No se observó por transparencia estadios juveniles del verme en el interior de los anélidos.
- c) En ocasiones no se obtuvo la evolución de los huevos de *D. renale*, lo que obligó a repetir experiencias.
- d) Se solicitó al laboratorio de histopatología, la entrega de los tacos correspondientes a la prueba piloto, a fin de realizar a partir de ellos la

identificación de ADN de *D. renale* mediante técnicas moleculares. Al material se le realizaron en el **INBIOLP**. (Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata) , las correspondientes técnicas de extracción de ADN, el proceso posterior no se ha realizado aún a raíz de la falta de presencialidad obligada durante la pandemia por el COVID-19. Cabe mencionar que el mencionado instituto trabaja en colaboración con la Cátedra de Parasitología Comparada. Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias **LAPAHUZO**, al que pertenece la tesista.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acha Pedro N, Szyfres B. 1989. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 2º Ed. Organización Panamericana de la Salud. EEUU. p. 265-67. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/acha-zoonosis-spa.pdf>
2. Acosta WG, Burgos L, Radman NE. 2008. Evaluación de la presencia renal y extrarrenal de *Diocotophyma renale* por ultrasonografía, en caninos y humanos en un área endémica. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. ISSN 0329-8493 Pág. 40 <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/66515>
3. Arce, L., Facelli Fernández, F., Giorello, N., Butti, M. J., Maldonado, L., Arrabal, J. P., & Kamenetzky, L. 2020. Genetic Diversity of *Diocotophyma renale* in Northeast Argentina and Southern Brazil. In *Molecular Parasitology Meeting XXXI (September 21-24, 2020)*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/107830>
4. Arias D, Burgos L, Rube A, Abate L, Butti M, Gamboa MI, Radman NE. 2017. Caso clínico: *Diocotophyma renale*, ubicación extrarrenal del parásito adulto. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. vol.12, p 21-22 ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493. [Online] http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/90509/Documento_comp_letto.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

5. Athanasios Angelou A, Tsakou K, M Pranditsas K, Sioutas G, Anderson Moores D, Papadopoulos E. 2020. Giant kidney worm: novel report of *Diectophyma renale* in the kidney of a dog in Greece. *Helminthologia*, 57,1:43-48. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6996256/>
6. Andrey Fyvie A. 1971. *Diectophyma renale*. Parasitic. Disc. Wild mammals. p. 303-307 [Online] <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19720801758>
7. Banzai A, Tanikawa T, Kimura G, Sasaki T, Kawakami Y. 2018. Parasitic helminths collected from brown rat, *Rattus norvegicus*, in Chuo Ward. Tokyo, Japan. *Med. Entomol. Zool.* Vol. 69 N°. 4 P. 171-176. [Online] https://www.researchgate.net/publication/330612176_Parasitic_helminths_collected_from_the_brown_rat_Rattus_norvegicus_in_Chuo_Ward_Tokyo_Japan
8. Barriga O. 1982. Diectophymiasis 1982. Chapters of Ancylostomiasis, Ascariasis, Diectophymiasis, Dirofilariasis, and Trichuriasis. En Steele JH. (ed.), *Handbook Series in Zoonoses, Section C: Parasitic Zoonoses*, CRC Press, Boca Raton, Florid
9. Barros DM, Lorini ML, Persson VG. 1990. Diectophymosis in the little grison (*Galictis cuja*). *Journal of Wildlife Discovery* 26(4):538-9 [Online] https://meridian.allenpress.com/jwd/article-pdf/26/4/538/2334640/0090-3558-26_4_538.pdf
10. Basualdo JA, Coto C, de Torres R. 1996. *Microbiología Biomédica*. Editorial Atlante. 1087. [Online] <http://worldcat.org/isbn/9789509539303>

11. Beaver PC, Khamboonruang C. 1984. *Diectophyma*-like larval nematode in a subcutaneous nodule from man in Northern Thailand. Am J Trop Med Hyg. 1984; 33: 1032-4. [Online] <https://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.1984.33.1032>
12. Beaver PC y Theis JH. 1979. Diectophymatid larval nematode in a subcutaneous nodule from man in California. Am J Trop Med Hyg. Mar; 28(2):206-12. [Online] <https://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.1979.28.206>
13. Beltrán EL. 2014. Tesis: Comunidades de invertebrados acuáticos de mallines de Patagonia, bajo distintos niveles de Antropización. [Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34197>
14. Bellini E, Ferreira C. 2001. *Diectophyma renale* en el perro. Primer hallazgo en Uruguay. Veterinaria, (Montevideo) 36(142): 21-24 [Online] <http://revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/413>
15. Blaxter M y Koutsovoulos G. 2014. The evolution of parasitism in Nematoda. Institute of Evolutionary Biology, The University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3JT UK. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24963797/>
16. Boch J y Superer R. 1976. Parasitología em Medicina Veterinária. Editorial Hemisfério Sur S. A. [Online] <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IisScript=FVL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000783>
17. Brinkhurst RO y Gelder SR. 1991. Annelida: Oligochaeta and Branchiobdellida, In Ecology and Classification of North American

Freshwater Invertebrates (T. H. Thorp and A. P. Covich, Eds.), Academic Press, New York. [Online]

https://www.academia.edu/3504373/Ecology_and_classification_of_North_American_Freshwater_Invertebrates

18. Brinkhurst RO y Marchese MR. 1991. Guía para la identificación de oligoquetos acuáticos continentales de Sud y Centro América. Colección Climax N° 6, 1° Ed. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral. Santa Fe, Argentina. 180pp. [Online] http://www.acnl.santafe-conicet.gov.ar/edic_cli.htm

19. Burgos L, Acosta R, Archelli S, Linzitto OR, De Bernardi A, López M, Osen B, Gamboa M, Tunez M. 2006. Diectofimosis en una zona selvática, ribereña al Río de La Plata. Congreso de Zoonosis. ABCL, suplemento – N° 3. 1-307- ISSN 0325- 2957

20. Burgos L y Radman NE. 2008. Capítulo 36: Diectophymosis de Zoonosis. Temas de Zoonosis IV. Editado por Asociación Argentina Buenos Aires 2008). [Online] <http://helminto.inta.gov.ar/Zoonosis/diectophymosis.htm>

21. Burgos L, Armendáriz L, Lasta GE, Gamboa MI, Radman NE. 2008. Investigación de *Lumbriculus variegatus* (Muller, 1774), hospedador intermediario de *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) en muestras de sedimento en un área del Partido de Ensenada. [Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/92067>

22. Burgos L, Armendáriz L, Fonrouge RD, Archelli SM, Acosta RM, Acosta WG, Acosta LA, Radman NE. 2009. Investigación experimental de

Dioctophyma renale. III Jornadas de Microbiología Clínica, Industrial y Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. Coronel Suárez, Pcia. De Buenos Aires, ISBN: 950-34-0589.

23. Burgos L, Fonrouge RD, Linzitto OR, Archelli SM, Acosta RM, Acosta WG, Osen BA, López MA, Gamboa MI, Lasta G, Radman NE. 2010. Prevalencia de un parásito zoonótico, *Dioctophyma renale* (Goeze 1782) en un área endémica de la provincia de Buenos Aires, República Argentina. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (1943 – 1910) Universidad Nacional de Córdoba. Volumen 67/ Suplemento nº 2 Pág. 63-64

24. Burgos L, Armendáriz L, Archelli SM, Gamboa MI, Lasta G, Radman NE. 2011. Investigación experimental de Naididos como hospedadores intermediarios de *Dioctophyma renale* I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes y VII Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires.

25. Burgos L, Acosta W, Garcia Miotacek MC, Acosta R, Radman NE. 2011. Investigación Ultrasonografica de dioctofimosis en caninos hembra provenientes de un área endémica. I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes y VII Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires. 2011. [Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/66515>

26. Burgos L, Armendáriz L, Archelli S, Gamboa M, Lasta G, Radman NE. 2011. Investigación experimental de Polychaeta Aeolosomatidae. *Aeolosoma* como hospedador intermediario de *Dioctophyma renale*.

Congreso Cambio Climático. La Plata. Buenos Aires. [Online]

<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/97572>

27. Burgos L, Oliva D, Archelli S, Acosta R, Gamboa M, Radman N. 2011.

Investigación de la forma renal de la diocotofimosis en humanos y equinos de un área de riesgo. I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes y VII Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires. <https://isbn.cloud/9789879703847/temas-de-zoonosis-v/>

28. Burgos L, Roberto MA, Reinaldo DF, Archelli SM, Gamboa MI, Linzitto

OR, Linzitto JP, Osen BA, Radman NE. 2014. Prevalence of a zoonotic parasite, *Diocotophyma renale* (Goeze, 1782), Among male canines in a wild riverside área of La Plata river, Province of Buenos Aires, República de Argentina. Revista Medicina Tropical Vol. 43(4) 420-426 Pag. 420-425).

[Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/58331>

29. Burgos L, Acosta RM, Archelli SM, Gamboa MI, Osen B, Butti M,

Corbalan V, Winter M, Radman NE. 2014. Diversas Observaciones acerca del Parasito Gigante del Riñón. [Online]

<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/73962>

30. Burgos L, Acosta RM, Archelli SM, Gamboa MI, Osen B, Butti M,

Paladini A, Corvalán V, Blanco M, Rube A, Barrantes S, Córdoba P, Linzitto OR, Manfredi M, Marin JC, LASTA G, Giambelluca L, Montali G, Radman N. 2015. *Diocotophyma renale*: evolución de los huevos a temperatura constante de 24°C. [Online]

http://apargentina.org.ar/wp-content/uploads/2013/02/Libro_resumenes_VIICAP.pdf

31. Burgos L, Armendáriz L, Archelli S, Linzitto O, Gamboa M, Lasta G, Fonrouge R, Butti M, Paladini A, Raimondi I, Córdoba P, Manfredi M, Rube A, Corbalán V, Montali G, Acosta R, Marin J, Correa J, Bartelemi F, Radman N. 2016. Investigación Experimental de Probables hospedadores intermediarios de *Diocotophyma renale*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl XIV [Online] <http://www.abcl.org.ar/suplementosabcl.html>
32. Burgos L, Archelli SM. 2016. Trabajos prácticos a campo de *Diocotophyma renale* en una zona endémica y ribereña del Río de la Plata. 1° Jornadas sobre las prácticas docentes en la Universidad Pública. La Plata.
33. Burgos L, Gamboa MI, Butti MJ, Nigro J, Osen B, Paladini A, Mastrantonio F, Manfredi M, Carabajal R, Monzón Fabrizi R, Corbalan V, García Alonso M, Archelli S, Espósito NM, Acosta R, Brusa M, Borreli S, Terminiolo J, Radman N. 2017. Descripción de una jornada educativo-sanitaria en un área vulnerable. Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes Vol.12. p 21- 22 [Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/90519>
34. Burgos L, Archelli SM. 2018. Trabajos prácticos a campo en Parasitología, una zona endémica y ribereña del Río de la Plata. 2° Jornadas sobre las prácticas docentes en la Universidad Pública. La Plata. p. 1756-1764 [Online] <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/81184>

35. Burgos L, Armendariz L, Linzitto O, Topa E, Barrena J, Robledo M, Rube A, Quiroga MA, Santillán GI, Archelli S, Radman NE. 2019. Ensayos para evaluar anélidos de la familia Enchytraeidae como probables hospedadores intermediarios de *Dioctophyme renale*. [Online]http://www.revargparasitologia.com.ar/pdf/RevArgParasitol_VIII_CAP.pdf
36. Butti M, Gamboa MI, Estevez MF, Terminiello J, Brusa M, Burgos L, Radman N. 2018. Mantenimiento in vitro de ejemplares adultos de *Dioctophyma renale*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl 2 [Online] <http://www.abcl.org.ar/suplementosabcl.html>
37. Butti MJ, Gamboa MI, Terminiello JD, Giorello AN, Maldonado LL, Radman NE. 2019. *Dioctophyma renale* in a domestic cat (felis catus) Renal location and nephrectomy. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 18, 100339. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31796187/>
38. Cabrera AL, Genevieve D. 1944. La Selva Marginal de Punta Lara, en la Ribera Argentina del Río de La Plata. Instituto del Museo de la Universidad Nacional de La Plata. Revista del Museo de La Plata Tomo V. Botánica N°22. pp 367-393. [Online] <https://publicaciones.fcnym.unlp.edu.ar/rmlp/article/view/1657/661>
39. Cannon R. 1887. Case of *Strongylus gigas*. The Lancet. Vol. 129, ISSUE 3310, p. 264. ISSN 0140-6736. [Online] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014067360222465>

40. Castellanos ZJA, de Los invertebrados- Eudeba Manuales. 1983
41. Coppo JA y Brem JJ.1981. Aspectos bioquímicos en dos casos de diectofimosis renal canina registrados en Resistencia (Chaco). Gac Vet Bs Aires T.XLII N° 365. [Online]
<https://www.semanticscholar.org/paper/Aspectos-bioqu%C3%ADmicos-en-dos-casos-de-diectofimosis-Coppo-Brem/05b6c447ed16ed08a1fb5a705730d39ad1a1be35>
42. Coppo JA y Brem JJ. 1983. Canino diectophymosis in the north east of Argentina. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 25(5): 259 – 262 Online]
<http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/revista/vol25/259-262.pdf>
43. Corbalán V, Gamboa MI, Butti M, Paladini A, Osen B, Archelli S, Burgos L, Zubiri K, Radman NE. 2016 Los caninos de una población vulnerable como centinela de enfermedades parasitarias zoonóticas. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Supl. XIV 2. [Online]
<http://www.abcl.org.ar/suplementosabcl.html>
44. Crichton VJ, Urban RE. 1970. *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Diectophymata) in *Manitoba mink* Canadian Journal of Zoology; 48(3):591-2. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4247344/>
45. Cochón AC, Della Penna AB, Kristoff G, Piol MN, San Martín de Viale LC, Verrengia Guerrero NR. (2007) Differential effects of paraquat on oxidative stress parameters and polyamine levels in two freshwater invertebrates. Ecotoxicol Environ Saf. 2007 Oct; 68(2):286-92. Epub 2006 Dec 29. [Online]

https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/paper/document/paper_01476513_v68_n2_p286_Cochon

46. Cooperrider DE, Robinson VB, Staton LB. 1954. *Diectophyma Renale* in a Dog, Athens, Georgia. J Am Vet Med Assoc. 124(926):381-3. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13152021/>

47. Cui Y, Zheng LL, Dai XD, Qin YH, Chen H, Chen FY. 2005. The first report of human infection with *Diectophyma renale* and epidemiological analysis in Dalian, China. Chinese Journal of Zoonoses, 21(4), 362–363. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454929/>

48. Chauhan S, Kaval S, Tewari S. 2016. Diectophymiasis: A Rare Case Report. J Clin Diagn Res. 10(2):DD01-2. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27042466/>

49. Chen HC, Liu GH. 1988. A Report of human case of *Diectophyma renale* infection. Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 6(3), 79 [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454929/>

50. Chin TH. 1964. The discovery of *Diectophyma renale* (Nematoda: Diectophymata) in *Rattus norvegicus* in Yunnan, with discussion on its identity, on its identity and biology. Acta Parasitol. Sin, 1: 69-75. Helminthol. Abstr, 37: 105 [https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-79959512633&origin=inward&txGid=6077d69f61b381383b8d39faea85ca5](https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-79959512633&origin=inward&txGid=6077d69f61b381383b8d39faea85ca56)

[6](#)

51. Da Silva Lemos L, Oliveira dos Santos AS, Freitas Rodrigues, Vieira Serodio Goulart, Almeida LG, Da Silveira LS. 2010. Lesión extra renal causada por los huevos de *Diectophyma renale* en un ciclo errático. Int J

Morphol 28 (4):1031-1034. [Online]

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-95022010000400008&script=sci_arttext&tlng=n

52. Drewes C. *Lumbriculus variegatus*. 2004. A Biology Profile. [Online]

<http://www.eeob.iastate.edu/faculty/DrewesC/htdocs/Lvgen4.htm>.

53. Eberhard ML, Ruiz-Tiben E. 2014. Case Report: Cutaneous Emergence of Eustrongylides in two persons from South Sudan. *Am J Trop Med Hyg.* 90(2):315-317pp. [Online]

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3919240/>

54. Espinosa G, Radman N, Guardis M, Fonrouge R. 1999. Enteroparasitosis zoonótica y no zoonóticas en 100 caninos de una zona selvática ribereña al Río de La Plata, Provincia de Buenos Aires.

55. Estevez MF, Mastrantonio F, Manfredi M, Monzón R, Carabajal R, Raimondi I, Butti MJ, Paladini A, Osen BA, Burgos L, Gamboa MI, Radman NE. 2017. Prevalencia *Dioctophyme renale* en un área vulnerable de la Provincia de Buenos Aires. XVIII Simposio Internacional Sobre Enfermedades Desatendidas. [Online]

<https://es.scribd.com/document/452894995/libro-resumenes-2017-ok-6>

56. Fernando SS, 1983. The giant kidney worm (*Dioctophyma renale*) infection in man in Australia. *American Journal of Surgical Pathology.* Apr; 7(3):281-284. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6220617/>

57. Fiorentini JO y Negro PS. 2007. Dioctofimosis en perros de la ciudad de Santa Fe, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria* Vol. 86 N°6 (240-242).

58. Figueroa R, Palma A, Ruiz V, Niell X. 2007. Análisis comparativo de índices bióticos utilizados en la evaluación de la calidad de las aguas en un río mediterráneo de Chile: Río Chillán, VIII Región. *Mediterraneo Revista Chilena de Historia Natural* 80: 225-242. [Online] https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2007000200008
59. Florez AA, Russo J, Uribe N. 2018. First report of *Diectophyma renale* (Nematoda, Diectophymatidae) in Colombia. *Biomédica* 2018; 38; 13-8 [Online] https://www.researchgate.net/publication/327332425_First_report_of_Diectophyma_renale_Nematoda_Diectophymatidae_in_Colombia
60. Fugassa MH, Gonzalez Olivera EA, Petrigh RS. 2013. First palaeoparasitological record of a diectophymatid egg in an archaeological sample from Patagonia. *Acta tropica* 128.1.175-177. [Online] https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X13001484?casa_token=2OCj2cgcWekAAAAA:J5dARmBXp4fuVyGcjF1-ihzWQNC-RLBCwJQdC2r1mKDmOxMHyT0Ana3RthT-1yO-ATRO182fq2o
61. Foucault M. 1968. Las palabras y las cosas. Una Arqueología de las ciencias humanas. Capítulo II La prosa del mundo. La escritura de las cosas, pág. 47. Siglo XXI Editores argentinos. A, de C.V. Traducción de Elsa Cecilia Frost
62. Gau Li G, Liu C, Li F, Zhou M, Liu X, Yuangie Niu. 2010, Fatal Bilateral Diectophymatosis. *Journal of Parasitology* 96(6), 1152-1154 [Online]

<https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-96/issue-6/GE-2132.1/Fatal-Bilateral-Dioctophymatosis/10.1645/GE-2132.1.short>

63. Goldman L, Zeo G y Perez Tort G. 2008. Primera comunicación argentina de un caso de pluriparasitismo por *Diocotophyma renale* (Goeze 1782) en una gata. Revista de la Asociación de Medicina Felina: Anuario de AMEFE, 2008 72-77 10.

64. Gonçalves HV, Ricciardi Dalmao LS. 2015 tesis Relevamiento de *Diocotophyme renale* en caninos de las ciudades de Salto y Paysandú, Montevideo, Uruguay [Online]

<https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/handle/123456789/2010>

65. Gong JG. 1992. A human case of dioctophymiasis. Fujian Medical Journal. 14(1), 26. (In Chinese). [Online]

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454929/>

66. Gonzalez CA, Milano F Y Lunaschi L. 2013. Nuevos hallazgos de helmintos parásitos en *Chrysocyon Brachyurus* (Carnivora canidae). En Argentina, Neotrop. Helminthol., 7(2), 2013 Asociación Peruana de Helmintología e Invertebrados Afines (APHIA) ISSN: 2218-6425 impreso / ISSN: 1995-1043 on line) [Online]

<https://www.researchgate.net/publication/274718166>

67. Gu Y, Li G, Zhang J y Zhang Y. 2012. *Diocotophyma renale* infection masquerading as a Malignancy. Kidney International 82, 1342. [Online]

[https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(15\)55492-6/fulltext](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(15)55492-6/fulltext)

68. Gualdoni, C. M., & Oberto, A. M. (2012). Estructura de la comunidad de macroinvertebrados del arroyo Achiras (Córdoba, Argentina): análisis previo a la construcción de una presa. *Iheringia. Série Zoologia*, 102(2), 177-186. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0073-47212012000200010&script=sci_arttext
69. Guerrero, E. L., Jorge, D., & Tonni, E. P. (2018). La Selva Marginal de Punta Lara, ¿relictos o colonización reciente? *Revista del museo de La Plata. Volumen 3, Número 2: 348-367* <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/83511>
70. Gutierrez Y, Cohen M y Machicao CN. 1989. Dioctophyme larva in the subcutaneous Tissues of a woman in Ohio. *American Journal of Surgical Pathology*, vol. 13, pp.800-802. <https://europepmc.org/article/med/2764226>
71. Hallberg CW. *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) 1953. A Study of the Migration Routes to the Kidneys of Mammals and Resultant Pathology *Transactions of the American Microscopical Society*, Vol. 72, No. 4., pp. 351-363 [Online] <http://dx.doi.org/10.2307/3223483>
72. Hallowell. 1856. Proceedings of the Academi of Natural Sciences of Philadelphia. Vol.8. pp 5 - 59 esees para hallowell
73. Hanjani AA, Sadeghian A, Nikakhtar B, Arfaa F. 1968. The first report of human infection with *Dioctophyma renale* in Iran. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* Vol. 62. No. 5: 647-8. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19692900863>

74. Hatfield C y Jones WG. 1964. Giant Kidney Worm in Canine Abdomen.

Can Vet J. 5(10):276-7.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1695850/>

75. Heredia, Matías, Chiarlo, Mónica; Espejo, Lucas; Casado, Miguel Ángel; Roldan Raúl; Anuch Cabiche, Esteban; Arguello, Fernando; GILL, Mariana. 2018. Primer caso de diectophymatosis humana en Argentina.

Hospital San Roque, Córdoba. Argentina (no publicado)

76. Hye Young Park, Jung Wook Seo, Byun Hoon Lee, Ji Young Lee, Su Young Kim, Soon Joo Cha, Yong Hoon Kim, Yoon Joon H Wang, Usted Sung Kim. 2013, Aparición simultánea de histiocitoma fibroso maligno del

ureter y *Diectophyma renale* infección. Reporte de un caso: pISSN 1738 -

2637 J Korean Soc Radiol; 68(5): 411 - 415.

<http://.doi.org/103348/jksr.2013.68.5.411>

77. Hoffman V, Nolan TJ, Schoelkopf R. 2004. First report of the giant kidney worm (*Diectophyme renale*) in a harbor seal (*Phoca vitulina*). J

Parasitol. Jun, 90 (3): 659- 60. [Online]

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15270120>

78. Hu Sh. 1993. A child case of diectophymiasis. Sichuan Medical Journal, 14(7), 454. (in Chinese)

79. Ignjatovic IS, Cedo K, Tasic S. 2003. Giant kidney worm (*Diectophyma renale*) infection mimicking retroperitoneal neoplasm. Urologia Internationalis; 70:70-73

<https://www.karger.com/article/Abstract/67695>

80. Ishizaki MN, Imbeloni AA, Pereira Carneiro Muniz JA, Rocha de Azevedo Scalercio SR, Moraes Benigno RN, Assunção Pereira WL, Cunha Lacreata AC. 2010. *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) in the abdominal cavity of a capuchin monkey (*Cebus apella*), Brazil. Vet. Parasitol. [Online] https://www.academia.edu/29234780/Diectophyma_renale_Goeze_1782_in_the_abdominal_cavity_of_a_capuchin_monkey_Cebus_apella_Brazil
81. Jin ZY, CAI SH, Sun XC. 2005. A caso concomitant gonococcal urethritis and *Diectophyma renale expelled* in urine. Chinese Journal of Dermato venereology, 19(9), 562. (In 562. Chinese
82. Karmanova EM. 1960. The life cycle of the nematode *Diectophyme renale* (Goeze 1782). A parasite in the kidneys of carnivora and of man. Translated from Doklady Akademii Nauk SSSR, Vol 132, N°5, 1219-120. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19610800317>
83. Karmanova, EM. (1962). Development of *Diectophyme renale* in the intermediate and final hosts. *Trudy Gel'mintologicheskoi Laboratorii. Akademiya Nauk SSSR*, 12, 27-36. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19680802309>
84. Katafigiotis I, Fragkiadis E, Pournaras C, Nonni A, Stravodimos KG. 2013. A rare case of a 39 year old male with a parasite called *Diectophyma renale* mimicking renal cancer at the computed tomography of the right kidney. A case reports. Parasitol Int. 2013 Oct; 62(5):459-60. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23811203/>

85. Kelsey L. Parasa, Liane Millerb, Guilherme G. Verocaia. 2018. Ectopic infection by *Diectophyme renale* in a dog from Georgia, USA, and a review of cases of ectopic diectophymosis in companion animals in the Americas. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/vprsr
86. Koehler AVA, Hoberg EP, Torres-Pérez F, Cook JA. 2009. A Molecular View of the Superfamily Diectophymatoidea (Nematoda). The Helminthological Society of Washington. Comparative Parasitology, 76(1):100-104. [Online] <https://www.bioone.org/doi/full/10.1654/4366.1>
87. Kristoff G, Guerrero NV, de D'Angelo AM, Cochón AC. 2006. Inhibition of cholinesterase activity by azinphos-methyl in two freshwater invertebrates: *Biomphalaria glabrata* and *Lumbriculus variegatus*. 15; 222(3):185-94. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16597480/>
88. Kuehn J, Lombardo L, Janda WM, Hollowell CMP. 2016. Giant kidney worms in a patient with renal cell carcinoma. BMJ Case Rep bcr2015212118 [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26952087/>
89. Kumar V, Vercruysse J, Vandesteene R. 1972. Studies on two cases of *Diectophyma renale* (Goeze. 1782) infection in *Chrysocyon brachyurus* (Illiger) Acta Zool Pathol Antverrp.56:83-98
<https://europepmc.org/article/med/4271846>
90. Lapage G, 1974. Parasitología Veterinaria 2° reimpresión. Compañía Editorial Continental. México. Página 211 - 212
91. Leite, L. C., Círio, S. M., Diniz, J. M. F., Luz, E., Navarro-Silva, M. A., Silva, A. W. C., & Pereira, C. C. (2005). Lesões anatomopatológicas presentes na infecção por *diectophyma renale* (goeze, 1782) em cães

domésticos (*canis familiaris*,) linnaeus, 1758. *Archives of Veterinary Science*, 10(1).

<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/viewFile/4091/3318>

92. Le Bailly M, Leuzinger U, Bouchet F .2003. Diocotophymidae eggs in coprolite from Neolithic site of Arbon- Bleiche 3 (Switzerland) *J Parasitol* 89(5):1073-6

<https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-89/issue-5/GE-3202RN/Diocotophymidae-Eggs-in-Coprolites-From-Neolithic-Site-of-ArbonBleiche-3/10.1645/GE-3202RN.short>

93. Lei B, Pang YQ, Kong BQ. 2002. Report one a case of *Diocotophyma renale* infection. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 20(3), 151. (In Chinese).

94. Lentini - Rocca MC. Mirando al sur rural de la región La Plata, Berisso, Ensenada. Instituto de Planeamiento Físico y Protección Ambiental.

94. Lentini - Rocca MC. Centro de educación ambiental 1981-2004. Cátedra libre de Alejandro Korn.

95. Lisboa A. 1945. Estrongilose renal humana. *Brasil-Médico*, NS 11 12 13

96. Liu DX. 2001. The first findings of human infection with *Diocotophyma renale* from Heilongjiang Province, China. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Disease control*, 14(1), 80.

97. Luna JL, Melgar Vera J, Tunes M del L, Liso G, Orellana JS, Radman NE, Linzitto OR, Linzitto JP. 2003. Detección de *Diocotophyma renale* : (Goeze, 1782) en caninos y su potencial zoonótico. *ABCL Supl*

98. Mace TF, Anderson RC. 1975. Development of the giant kidney worm *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Diectophymatoidea). *Can J Zool* 53 (11): 1552-6[Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/127653/>
- 99 .Mace TF. 1976. Lesions in mink (*Mustela Vison*) infected with giant kidney worm (*Diectophyma renale*) *J wildl Dis*: 12 (1):88-92. [Online] http://scholar.google.com.ar/scholar_url?url=https://bioone.org/journals/Journal-of-Wildlife-Diseases/volume-12/issue-1/0090-3558-12.1.88/LESIONS-IN-MINK-Mustela-vison-INFECTED-WITH-GIANT-KIDNEY-WORM/10.7589/0090-3558-12.1.88.pdf&hl=es&sa=X&ei=rwEjYMC-FPGTy9YPw6K-mAQ&scisig=AAGBfm3PReillLQbY3_36XY27y8v_5xSbw&nossl=1&oi=scholar
100. Marchese M, Reis dos Santos M, Lima J, Pamplin P. 2015. First record of intr. oduced species *Lumbriculus variegatus* Müller, 1774 (Lumbriculidae, Clitellata) in Brazil. *BiolInvasions Records*. Volume 4, Issue 2: 81–85. [Online] https://www.researchgate.net/publication/279166164_First_record_of_intr_duced_species_Lumbriculus_variegatus_Muller_1774_Lumbriculidae_Clitellata_in_Brazil
101. Martínez EA. 1984. Oligoquetos Dulceacuícolas de Galicia: Catálogo y diversos aspectos Ecológicos. *Lirnetica* 1: 31 1-320 (1984) Asociación Española de Limnología, Madrid. Spain. <https://www.limnetica.com/documentos/limnetica/limnetica-1-1-p-311.pdf>

102. Mascaro LA.1974. Parasitología y Entomología Sanitaria Sistemáticas y comparadas. Editorial Albatros.
103. Mascarenhas Carolina Silveira.2015. Tese, Helmintos de *Trachemys dorbigni* (Duméril Bibron 1835). Pelotas, Brasil.Mascarenhas Carolina Silveira.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30427518/>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24830883/>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31027596/>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27925066/>
<http://revistas.unfv.edu.pe/index.php/NH/article/view/978>
104. Mascarenhas Carolina Silveira 1, Julia Veiga Pereira, Gertrud Müller. 2018. Novo hospedeiro de larvas de *Diocotophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) no extremo sul do Brasil, Occurrence of *Diocotophyme renale* larvae (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in a new host from southern Brazil. www.cbpv.org.br/rbpv Braz. J. Vet. Parasitol. Jaboticabal, Ahead of Print, 2018 Doi: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180060>
105. Measures LN, Anderson RC. 1985. Centrarchid fish as paratenic hosts of the giant kidney worm, *Diocotophyma renale* in Ontario, Canada. Journal of Wildlife Discovery. 21(1):11-9.<https://meridian.allenpress.com/jwd/article/21/1/11/117794>
106. Mech, L. David, and Shawn P. Tracy. 2001. Prevalence of giant kidney worm (*Diocotophyma renale*) in wild mink (*Mustela vison*) in Minnesota. American Midland Naturalist 145(1):206-209.
<https://bioone.org/journals/The-American-Midland-Naturalist/volume->

[145/issue-1/0003-0031\(2001\)145\[0206:POGKWD\]2.0.CO;2/Prevalence-of-Giant-Kidney-Worm-Dioctophyma-renale-in-Wild-Mink/10.1674/0003-0031\(2001\)145\[0206:POGKWD\]2.0.CO;2.short](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2001)145[0206:POGKWD]2.0.CO;2)

107. Meyer SN, Rosso M, Maza YE. 2013. Hallazgo de *Diocotophyme renale* en la cavidad torácica de un canino. Rev. Vet. Vol. 24 N°1 Corrientes, versión online ISSN 1669-6840. <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/1166>

108. Miranda MA, Benigno RNM, Galvão GR, Oliveira SAL. 1992. *Diocotophyme renale* (Goeze, 1782): localização ectópica e alta intensidade parasitária em Canis familiaris do Pará - Brasil /Arq. bras. med. vet. zootec; 44(2):151-3. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-240127>

109. Miserendino ML y Brand C, Di Prinzio CY. 2008. Assessing Urban Impacts on Water Quality, Benthic Communities and Fish in Streams of the Andes Mountains, Patagonia. Springer Science + Business Media B.V. [Online] https://www.researchgate.net/publication/225670046_Assessing_Urban_Impacts_on_Water_Quality_Benthic_Communities_and_Fish_in_Streams_of_the_Andes_Mountains_Patagonia_Argentina

110. Morini E, Grillo Torrado C, 1975. Poliparasitismo abdominal en perros con *Diocotophyma renale*. AVEPA 1: 6-9

111. Narváez JA, Turell LP, Serra J, Hidalgo F. 1994. Hyperdense renal cystic lesions caused by *Diocotophyma renale*. AJR Am J Roentgenol. Oct; 163(4):997-8. <https://europepmc.org/article/med/8092062>

112. Norouzi R, Manochehri A, Hanifi M. 2017. A Case Report of Human Infection with *Dioctophyma Renale* from Iran. Urology journal. 14. 3043-3045. [Online] https://www.researchgate.net/publication/316060499_A_Case_Report_of_Human_Infection_with_Dioctophyma_Renale_from_Iran .
113. Ortega CF. 1969. Dioctophymosis canina: descripción de un caso clínico. Analecta Vet. La Plata. Volumen I N I. 1969.
114. Osborne CA, Stevens JB, Hanlon GF, Rosin E, Bemrick WJ. Dioctophyma renale in the dog. J Am Vet Med Assoc. 1969 Aug 15; 155(4):605-20. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4240360/>
115. Osen BA, López MA, Gamboa MI, Burgos L, Fonrouge RD, Radman NE. 2009. Investigación de huevos de *Dioctophyma renale* en tierras de un área de Dioctofimosis endémica en caninos. III Jornadas de Microbiología Clínica, Industrial y Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. Coronel Suárez, Provincia de Buenos Aires, ISBN: 950-34-0589.
116. Paladini A, Butti M, Blanco MC, Osen B, Archelli SM, Burgos L, Corbalán V, Lasta G, Radman NE. 2015. Prevalencia de *Dioctophyma renale* en zona ribereña Provincia de Buenos Aires. [Online] http://apargentina.org.ar/wp-content/uploads/2013/02/Libro_resumenes_VIICAP.pdf
117. Paras KL, Miller L, VerocaiGG. 2018 Ectopic infection by *Dioctophyme renale* in a dog from Georgia, USA, and a review of cases of ectopic dioctophymosis in companion animals in the Americas. Vet

Parasitol Reg Stud Reports. 2018 Dec; 14:111-116. [Online]

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31014715/>

118. Pave PJ, Marchese, M. 2005. Invertebrados bentónicos como indicadores de calidad del agua en ríos urbanos (Paraná-Entre Ríos, Argentina) Ecol. Austral 15 (2). [Online]

http://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia_Austral/article/view/1465

119. Pedrassani D, Estevam Guilherme Lux Hoppe, Neuri Avancini, Adjair Antonio do Nascimento. 2009. Morfologia de ovos de *Dioctophyme renale* Goeze, 1782 (Nematoda: Dioctophymatidae) e influência da temperatura no desenvolvimento de larvas de primeiro estágio nos ovos. Rev. Bras. Parasitol. Vet Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 15-19, ISSN 1984-2961 (eletrônico). [Online]

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-29612009000100003&script=sci_abstract&tlng=pt

120. Pedrassani D. 2009. Tesis. Aspectos morfológicos, imunológicos e epidemiológicos dos *Dioctophyme renale* em cães no Distrito De São Cristovao, Três Barras, Santa Catarina), Brasil. 2009. [Online]

<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/103838>

121. Pedrassani D, Pilat C, Taques Wendt SB, Machado RZ, do Nascimento AA. 2010. Diagnóstico ultrassonográfico de infecção intensa por *Dioctophyme renale* em rim esquerdo de cão - relato de caso. Clínica Veterinária, Ano XV, n. 85. [Online]

https://www.researchgate.net/publication/260390247_Diagnostico_ultrass

[onografico de infeccao intensa por Diocotophyme renale em rim esquerdo de cao - relato de caso](#)

122. Pedrassani D, Wendt H, Rennau EA, Tibes Pereira S, Taques Wendt SB. 2014. *Diocotophyma renale* Goeze, 1782 in a cat with a supernumerary kidney. Braz. J. Vet. Parasitol., Jaboticabal, v.23, n.1, p. 109-117, Jan- Mar 2014 ISSN 0103-846x(print)/ISSN 1984-2961(Electronic) [Online] http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612014000100019

123. Pedrassani D, do Nascimento AA, André MR, Machado RZ. 2015. Improvement of an enzyme immunosorbent assay for detecting antibodies against *Diocotophyma renale*, Veterinary Parasitology 212 (2015) 435–438. [Online] <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/131582?locale-attribute=en>

124. Pedrassani D, Adjair Antonio do Nascimento, Marcos Rogeiro Andre, Rosangela Zacarias Machado. 2017. *Diocotophyme renale*: prevalence and risk factors of parasitism in dog of Sao Cristovao district, Tres Barras county, Santa Catarina State, Brazil. Braz.J. Vet. Parasitol, Jaboticabal. ISSN 0103-846X (Print)/ISSN 1984-2961(Electronic).

Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/51984-29612017004>

125. Peng DS, Wang SL, Hu LY. 1992. Report on a case of diocotophymiasis. Chinese journal of Nephrology, 9(5), 295. (in Chinese).

126. Pereira BJ, Girardelli GL, Tribilin LO, Lima VR, Nunes LD, Martins IV. 2006. The occurrence of *Diocotophymosis* in dogs from Municipality of Cachoeiro do Itapemirim in the State of State of Espírito Santo, Brazil. Rev

Bras Parasitol Vet: Vet. 15 (3): 123-125.

<https://europepmc.org/article/med/16978477>

127. Pérez de Villarreal, RI, Pedrassini Laso J, Greco S. 2010. *Dioctophyma renale* en un cachorro canino de 4 meses. [Online] <https://civete.com.ar/wp-content/images/dioctophyma-renale-en-un-pitbull-de-5-meses.pdf>

128. Perez Tort G, Alvarez A, Falzoni E, Segade G.1997. Descripción de cinco casos de dioctofimosis canina. Pet's Vol.13/N°70

129. Phillips R. Dales.1967. Reader in Zoology at Bedford College University of London, Hutchinson University Library London.

130. Qiu HL, Yang HQ, Xie Q.1998. Clinical analysis of two cases of human infection with *Dioctophyma renale*. Chinese journal of Zoonoses, 14(1), 52. (In Chinese).

131. Radman NE, Burgos L, Gamboa MI, Archelli, SM, Osen BA, Butti M, Paladini A, Winter M, Rodríguez E JI, Kozubsky LE, Costas ME, Acosta RM, Corbalán V, Giorello N, Rube A, Blanco M, Espósito N, Barrantes S, Marsili R; Manfredi M; Córdoba P Gutiérrez C, Bianchi K, Sacramone G. 2015. Parasitosis zoonóticas en un asentamiento a orillas del Río de La Plata.". Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes. 2015. Vol.10 Pag 19-20. ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493 <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/92918>

132. Radman NE, Gamboa MI, Butti MJ, Blanco M, Rube A, Terminiello J, Osen BA, Burgos L, Corbalán V, Paladini A, Acosta RM, Rodríguez Eugui JI, Borrelli S, Brusa M, Martino P. 2017. Occurrence of Diectophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. Vol 10 pp 43-50
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939016303008?casa_token=mWRFtL_DVdMAAAAAA:I9UtwiiQMEJME4RJJ-eMUnnmmAWm94V2yApi89U_ybQqEIgWGuCd0AJrUTuHAtmZ6CxR_NIywZA
133. Radman N, Burgos L, Gamboa MI, Butti M. 2017. Proteómica y genómica, y otras ciencias auxiliares de la parasitología. XXIV Jornada, sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Reemergentes. XXII Jornada sobre Cambio Global y Desarrollo Sostenible Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes vol.12, p 14
<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/90374>
134. Ribeiro CT, Verocai GG, Tavares LE. 2009. *Diectophyme renale* (Nematoda, Diectophymatidae) infection in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Brazil. *J Wildl Dis*. 45(1):248-50. pp. 248–250. [Online]
<https://bioone.org/journals/journal-of-wildlife-diseases/volume-45/issue-1/0090-3558-45.1.248/Diectophyme-renale-Nematoda-Diectophymatidae-Infection-in-the-Crab-eating-Fox/10.7589/0090-3558-45.1.248.pdf>

135. Rodrigues CA, Tangorra M, Ocon CS. 2001. Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. Springer; Aquatic Ecology; 35; 2; 12-2001; 109-119. [Online] <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/33087>
136. Rube A, Olguin S, Rios S, Barrena J, Rodríguez R. 2013. Diectophymosis, presentación de un caso de localización ectópica. XIII Congreso Nacional de AVEACA- Bs As. <https://aveaca.org.ar/wp-content/uploads/2019/04/CN-2013-Proceeding.pdf>
137. Ruiz MF, Zimmermann RN, Aguirre FO, Bertero N, Forti MS. 2013. Diectofimosis un caso clínico. Libro de resúmenes https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/20932/CONICET_Digital_Nro.23981.pdf?sequence=1&isAllowed=y
138. Sacco SC, Kruger V, Aparicio A, De Gennaro M, Bono MF, Aghemo A, Sánchez A, Marini MR. 2017. Migración errática de *D. renale* en cavidad torácica de un canino: reporte de un caso en la ciudad de Santa Fe. https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=43558&congresos=yes
139. Sapin, C. D. F. (2016). *Patologias do sistema urinário de cães e gatos* (Master's thesis, Universidade Federal de Pelotas). <http://www.repositorio.ufpel.edu.br/handle/prefix/3597>
140. Sardjono TW, Purnomo BB, Iskandar A, Gunawan A. 2009. Diectophymatosis renalis in humans: first case report from Indonesia. Proceeding of the third ASEAN. Congress of Tropical Medicine and

Parasitology (ACTMP3). The Windsor Suites Hotel, Bangkok, Thailand.

Parasites: a hidden threat to global health. Pag 90-93.

<https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20093189663>

141. Schacher JF y Faust EC. 1956. Occurrence Of *Diectophyma renale* in Louisiana, with remarks on the size of infertile eggs of this species. The Journal of Parasitology, Vol. 42 N° 5, pp. 533-535 <https://www.jstor.org/stable/3274456>

142. Silveira EC. 2015. Helmintos de *Trachemys dorbigni* (Duméril Bibron 1835). Pelotas, Brasil.

http://www2.ufpel.edu.br/prg/sisbi/bibct/acervo/biologia/2015/emily_silveira_2015.pdf

143. Soulsby E.J.L. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos 7° Edición. Editorial Interamericana. 343

144. Sun JR, Lu JR, Ju ZF. 1987. A case report of human infection with *Diectophyma renale* in Henan Province, China. Journal of Henan Vocational-Technical Teachers College, 15(2), 75.

145. Sun T, Turnbull A, Lieberman PH, Stenberg SS. 1986. Giant kidney worm (*Diectophyma renale*) infection mimicking retroperitoneal neoplasm. Am J Surg Pathol. 10(7): 508-12.

<https://europepmc.org/article/med/2942047>

146. Tanaka, T., Tokiwa, T., Hasegawa, H., Kadosaka, T., Itoh, M., Nagaoka, F & Shirai, N. (2020). Morphologically and Genetically Diagnosed Dermal *Diectophyma* Larva in a Chinese Man: Case Report.

SN *Comprehensive* *Clinical* *Medicine,* 1-4.

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s42399-020-00256-6.pdf>

147. Taniguchi, M., Ikenoue, S., Sumita, N., Matsui, K., & Hara, M. (1976). Discovery of *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) from a brown rat. *Bulletin of the College of Agriculture and Veterinary Medicine Nihon University*.

<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP19770151321>

148. Terminiello J, Luna MF, Osen B, Butti MJ, Blanco M, Rube A, Gamboa MI, Paladini A, Burgos L, Radman NE. 2015 Descripción de caso de dioctofimosis renal y extrarrenal en un canino. VII Congreso Argentino de Parasitología. San Carlos de Bariloche, Rio Negro. ISBN: 978-987-46069-0-7

149. Tokiwa T, Ueda W, Takatsuka S, Okawa K, Onodera M, Ohta N, Akao N. 2014. The first genetically confirmed case of *Diectophyme renale* (Nematoda: Diectophymatida) in a patient with a subcutaneous nodule. *Parasitology International* 63 (2014) 143–147. [Online]

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576913001578>

150. Tokiwa T, Ueda W, Takatsuka S, Okawa K, Onodera M, Ohta N, Akao N. 2011. *Diectophyma renale* (Nematoda: Diectophymatoidea) in the abdominal cavity of *Rattus norvegicus* in Japan. *Parasitology International*, volume 60, Issue 3. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21419863/>

151. Trumbull J. 1897. A case of *Eustrongylus gigas*. Valparaíso, Chile.

152. Urano H, Hasegawa T, Katsumata K, Toriyama Aoki Y. 2001. Diectophymatid nematode larvae found from human skin with creeping eruption. *The journal of parasitology*. Vol 87 N°2: 462-465

[https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-87/issue-2/0022-3395\(2001\)087\[0462:DNLFFH\]2.0.CO;2/Dioctophymatid-Nematode-Larva-Found-From-Human-Skin-with-Creeping-Eruption/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0462:DNLFFH\]2.0.CO;2.short](https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-87/issue-2/0022-3395(2001)087[0462:DNLFFH]2.0.CO;2/Dioctophymatid-Nematode-Larva-Found-From-Human-Skin-with-Creeping-Eruption/10.1645/0022-3395(2001)087[0462:DNLFFH]2.0.CO;2.short)

153. Van Velthuysen ML, Florquin S. 2000. Glomerulopathy Associated with parasitic infections. Clinical. Microbiology REVIEWS, 13(1), 55-56th. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88933/>

154. Venkatrajaiah N, Kalbande SH, Rao GV, Reddy VC, Reddy SH, Rao PR, Babu K, Keerthi A. 21014. Dioctophymatosis renalis in humans: first case report from India. J Assoc Physicians India. 2014 62(10):70-3. PMID: 25906531. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25906531/>

155. Vieira, E. G., de Araújo, G. V. B., Tolomeu, A. L. G., Cardoso, V. A. F. X., Mendes, A. L. P., & Machado, J. P. (2016). Infecção por *Diectophyma renale* com localização livre em cavidade abdominal de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*)-Relato de caso. *ANAIS SIMPAC*, 6(1).

<https://academico.univcosa.com.br/revista/index.php/RevistaSimpac/article/view/444>

156. Vladimoba MG, Lysenko A, Gorbunova IP, Avdiukhina T, Konstantinova TN, Romanenko LN. 2002. A case of dioctophymosis (*Diectophyme renale*) in a girl from Arkhangelsk. Case Reports Med Parasitol (Mosk) ;(4):48-50. <https://europepmc.org/article/med/12557591>

157. Von Linstow O. 1866. De eustrongylo gigante dies: strongylo gigante aut: in hominis rene observato.

<https://books.google.com.ar/books?id=yZAfAQAAIAAJ&pg=PA2852&lpg=>

[PA2852&dq=Von+Linstow+O.+1866.+De+eustrongylo+gigante+dies:+str
ongylo+gigante+aut:+in+hominis+rene+observato.&source=bl&ots=aw_at
BJtGA&sig=ACfU3U3NE7W7ljggfDGqHrJ5fO7vqWbR_w&hl=es&sa=X&v
ed=2ahUKEwisjPTi4bXvAhXdlrkGHeftDAwQ6AEwAHoECAMQAw](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1582852)

158. Wang H, 2008. A Case report of human infection with *Diectophyma renale*. Journal of Pathogen Biology, 3(1), 4

159. Wislock GB. 1919. Observations on *Diectophyme renale* in dogs. T
journal of Parasitology, Vol. 6. N° 2.

https://books.google.com.ar/books?id=jxI5AQAAMAAJ&pg=PA592&lpg=PA592&dq=wislock+gb.+1919+diectophyma&source=bl&ots=am7EJwxet&sig=ACfU3U2FNG_X4Dt3ZfLjpYwb41_9LqCITw&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwil3feF37XvAhUHH7kGHXzLCnkQ6AEwBnoECAUQAw

https://archive.org/stream/zoologicalrecor561919zool/zoologicalrecor561919zool_djvu.txt

160. Woodhead AE. 1945. The life-history cycle of *Diectophyma renale*, the giant kidney worm of man and many other mammals. Journal Parasitology 31 [Online] [https://www.semanticscholar.org/paper/The-life-history-cycle-of-Diectophyma-renale%2C-the-](https://www.semanticscholar.org/paper/The-life-history-cycle-of-Diectophyma-renale%2C-the-Woodhead/62ed5df9ee753ca7c9c7f27bc5eaeab0078245d2)

[Woodhead/62ed5df9ee753ca7c9c7f27bc5eaeab0078245d2](https://www.semanticscholar.org/paper/The-life-history-cycle-of-Diectophyma-renale%2C-the-Woodhead/62ed5df9ee753ca7c9c7f27bc5eaeab0078245d2)

161. Woodhead AE. 1950. Life history cycle of the giant kidney worm, *Diectophyma renale* (Nematoda), of man and many other mammals. Transactions of the American Microscopical Society, 69(1), 21-46. [Online]

<https://www.jstor.org/stable/3223344?origin=crossref&seq=1>

162. Yang YR, Lu YY. 1995. A case report of dioctophymiasis infection cured by albendazole. Chinese. Journal of Parasitology and parasitic diseases.13 (13), 192.
163. Yang F, Zhang W, Gong B, Yao L, Liu A y Ling H. 2019. A human case of *Dioctophyma renale* (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of dioctophymiasis. Parasite, 26. [Online] <http://doi.org/10.1051/parasitic2019023>
164. Yang J, Pu Li, Chuan Su, Jia- yi Zhang, Min Gu. 2016. Worms expelled with the urine from a Bosniak Cyst III of the left kidney. Urology 93: e5. [Online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27015940/>
165. Zhang SK, Zhu SH, 1981. Human dioctophymiasis. National Medical Journal of China. 61(3). 167-168.