

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EPIDEMIOLOGÍA DEL GÉNERO *ALARIA* (TREMATODA DIPLOSTOMATIDAE)
EN UN AMBIENTE PERIURBANO DEL ÁREA METROPOLITANA.**

Por

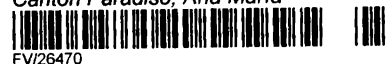
**Ana María CANTON PARADISO
Mariana FALERO VIMERCATI**



TRABAJO FINAL presentado como uno de los requisitos
para obtener el título de Doctor en Ciencias
Veterinarias (Orientaciones Medicina y
Tecnología de los alimentos)

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2005**

017 TG
Epidemiología d
Canton Paradiso, Ana María



FV126470

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de mesa:

Nombre completo y firma

Segundo miembro (tutor):

Nombre completo y firma

Tercer miembro:

Nombre completo y firma

Fecha:

Autores:

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Al Licenciado Oscar Castro por su guía y dedicación en la confección de nuestro trabajo.

A la Dra. Perla Cabrera del Departamento de Parasitología por su colaboración.

Al Dr. de Souza del Dpto. de Microbiología por su ayuda en el protocolo de investigación y por su participación en las salidas.

Al Dr. Borteiro por su ayuda en la identificación de los renacuajos.

A la Br. Dinora Capellino por brindarnos su material.

Al Pr. Oscar Correa por su ayuda.

A Andrea Delgado por su aporte.

Agradecemos además a familiares y amigos que nos han ayudado a lo largo de nuestra carrera así como en la elaboración de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
TABLA DE CONTENIDO.....	IV
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	V
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>SUMMARY</u>	2
3. <u>INTRODUCCIÓN</u>	3
3.1 OBJETIVOS.....	4
3.1.1 <u>Objetivo general</u>	4
3.1.2 <u>Objetivos específicos</u>	4
4. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	5
4.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARASITO.....	5
4.2 CICLO VITAL.....	7
4.3 POTENCIAL ZONOTICO.....	8
5. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	10
5.1 TRABAJO DE CAMPO.....	10
5.2 VISUALIZACIÓN DE RENACUAJOS.....	11
5.3 ESTUDIO DE LOS CARACOLES RECOLECTADOS.....	11
5.4 INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE LOS RENACUAJOS.....	12
5.5 INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE UN CANINO.....	12
5.6 METODOS COPROLÓGICOS UTILIZADOS.....	13
5.6.1 <u>Exámen Microscópico por enriquecimiento, flotación cualitativa,</u> <u>Método de Willis</u>	13
5.6.2 <u>Exámen Microscópico por enriquecimiento- sedimentación cualitativa</u>	13
6. <u>RESULTADOS</u>	14
7. <u>DISCUSIÓN</u>	17
8. <u>CONCLUSIONES</u>	19
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	20

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURAS

Página

I-	Alaria, adulto.....	6
II-	Extremidad cefálica de Alaria.....	7
III-	Ciclo de Alaria.....	8
IV-	Vista panorámica de la zona estudiada.....	11
V-	Mesocercarias encontradas en la necropsia de los renacuajos.....	14
VI-	Huevo obtenido por sedimentación simple en una muestra de materia fecal de canino de la zona problema.....	16

CUADROS

I-	Resultados obtenidos del examen de renacuajos colectados en el hábitat problema.....	14
II-	Presencia de furcocercarias de <i>Alaria alata</i> en caracoles (<i>Drepanotrema heloicum</i>) colectados en el hábitat problema.....	15
III-	Resultados de las necropsias de renacuajos que convivieron 7 o 14 días con un caracol que eliminaba furcocercarias, así como de renacuajos control.....	15

1- RESUMEN

El género *Alaria* es un tremátodo con potencial zoonótico, que presenta un ciclo con hospedadores intermediarios (caracoles y anfibios), paraténicos (anfibios, reptiles o mamíferos) y definitivos (cánidos). En Uruguay sólo ha sido registrado en cánidos silvestres. El objetivo del presente trabajo es comprobar la presencia del mismo en un ambiente suburbano del área metropolitana de Montevideo y realizar un estudio epidemiológico de sus hospedadores intermediarios. Durante 4 meses se muestrearon caracoles planórbidos y renacuajos en una zanja de la zona elegida, con el objetivo de buscar cercarias y mesocercarias de *Alaria*. Se recolectaron muestras de materia fecal de caninos de la zona a fin de realizar estudios coprológicos. Paralelamente, se procuró completar experimentalmente el ciclo del parásito, exponiendo renacuajos vírgenes a caracoles que liberaban furcocercarias y suministrando renacuajos naturalmente infectados a un canino. El 12,9% de los caracoles colectados (identificados como *Drepanotrema heloicum*) albergaron furcocercarias. El 49,6% de los renacuajos (pertenecientes a la especie *Hyla pulchella*) presentaron mesocercarias. Una de las muestras de materia fecal examinadas presentó huevos morfológicamente similares a los de *Alaria*. La infección experimental de renacuajos fue positiva, en tanto que la infección experimental del canino no tuvo éxito. Se confirma la presencia del parásito en un ambiente propicio para la infección de caninos domésticos y de riesgo zoonótico para el hombre.

2- SUMMARY

The *Alaria* genus is a Trematode with zoonotical potencial which presents a life cycle with paratenichs (amphibious, reptiles or mammals) and definitive (canines) hosts. In Uruguay only has been registered in wild canines. The objective of the present work is to prove the presence of *Alaria* in a Montevidean metropolitan area from a suburban environment and realize an epidemiologic study about its intermediary hosts. During four months were collected samples of tadpoles and planorbids snails in a ditch from the selected area, the objective was to search cercariae and mesocercariae of *Alaria*. It was collected fecal material sample of canines from the zone, to realize coprologic studies. Parallel, it was managed to complete by experiments the life cycle of the parasite, exposing virgin tadpoles to snails which liberated furcocercariae and providing tadpoles naturally infected to a canine. The 12, 9% of the collected snails (identified as *Drepanotrema heloicum*) sheltered furcocercariae. The 49,6% of the tadpoles (belonging to the species *Hyla pulchella*) presented mesocercariae. One of the fecal material sample examined presented eggs morphologically similar to the *Alaria*'s. The experimental infection of tadpoles was positive, while the canine experimental infection was not successful. It is confirmed the presence of the parasite in a propitious environment for the domestic canines infection and zoonotical risk for the human being.

3- INTRODUCCIÓN

El género *Alaria* (Digenea, Diplostomatidae) es un tremátodo que al estadio adulto parasita el intestino delgado de carnívoros silvestres y domésticos. Su ciclo biológico presenta la particularidad de tener dos hospedadores intermediarios (un caracol y un vertebrado, generalmente un anfibio, albergando este último el estadio de mesocercaria), un hospedador paraténico (un anfibio, un reptil o un mamífero), y un hospedador definitivo en el que se desarrollan las metacercarias (o diplostómulos) y el adulto (Olsen, 1977). El género tiene antecedentes zoonóticos en varios países, incluyendo un caso fatal en Canadá (Smyth, 1995). En nuestro país, la especie *Alaria alata* ha sido encontrada parasitando zorros de monte (*Cerdocyon thous*) (Capellino y col., 2004), en tanto que mesocercarias del género *Alaria* han sido halladas por los mismos autores en anfibios y reptiles. Observaciones del presente equipo de investigación indican que la infección con mesocercarias de *Alaria* podría ser común en renacuajos de los alrededores de Montevideo.

Dada la ubicuidad de las mesocercarias de *Alaria* en especies de la fauna silvestre que pueden formar potencialmente parte de la dieta de carnívoros domésticos en situaciones rurales y suburbanas (los perros pueden ingerir renacuajos, ranas u otros hospedadores paraténicos), parece posible que este tremátodo pueda ser encontrado parasitando al perro en tales situaciones en nuestro país, circunstancia que aún no ha sido registrada por la literatura. En Argentina, Lombardero y Santa Cruz (1970) registraron el hallazgo de *A. alata* en *Canis familiaris* de la provincia de Corrientes. Puesto que en condiciones periurbanas se maximiza el contacto del perro con ambientes en los que abundan anfibios y reptiles que actúan como hospedadores intermediarios y paraténicos de *Alaria*, se decidió escoger una zona de estas características para realizar el presente estudio.

3.1- OBJETIVOS

3.1.1- Objetivo general

Comprobación de la presencia de *Alaria alata* en un ambiente suburbano del área metropolitana mediante la realización experimental de su ciclo biológico y estudio epidemiológico de su primer y segundo hospedador intermediario.

3.1.2- Objetivos específicos

- a.- Estudio de la prevalencia e intensidad de infección en los renacuajos segundos hospedadores intermediarios.
- b.- Completar parcialmente (hasta adultos en el hospedador definitivo) el ciclo biológico de *Alaria alata* partiendo de furcocercarias liberadas por caracoles que conviven con renacuajos que albergan las supuestas mesocercarias del parásito.
- c.- Identificación del caracol primer hospedador intermediario y estudio de la prevalencia de infección del mismo con formas larvales del parásito.
- d.- Estudio coprológico de materia fecal de caninos de la zona



4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Alaria alata

Clase Trematode
Subclase Digenea
Orden Strigeatida
Familia Diplostomatidae
Subfamilia Alarilinae
Genero *Alaria*
Especie *Alaria alata*

4.1- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARÁSITO

Alaria presenta un cuerpo con 2,4 mm a 4,32 mm de largo. El segmento anterior es piriforme, con los bordes laterales curvados ventralmente. Su extremidad cefálica se encuentra ocupada por la ventosa oral y a su lado dos pequeños tentáculos o aurículas más o menos salientes de 0,069 a 0,150 mm de largo.

El segmento posterior es ovoide separado del segmento anterior por una constricción transversal. Las medidas de ambos segmentos son de 1,5 a 3 X 0,63 a 1,95 mm para el segmento anterior en tanto el segmento posterior es de 0,56 a 2 X 0,40 a 1,71 mm.

El órgano tribocítico, de funciones adhesivas, es de contorno elíptico y está situado por detrás del acetábulo, mide 0,82 a 1,89 X 0,28 a 0,90 mm. Ventosa oral con 0,070 a 0,130 X 0,081 a 0,140 mm. Acetábulo situado en el primer quinto del segmento anterior del cuerpo, de 0,070 a 0,130 X 0,098 a 0,155.

Faringe con 0,106 a 0,150 X 0,070 a 0,135 mm.

Bolsa copuladora pequeña. Poro genital subterminal. Testículos multilobulados. Testículo anterior asimétrico, lateral y opuesto a la glándula de Melhis, testículo posterior curvado en forma de herradura. Ovario mediano, situado en la unión de los dos segmentos del cuerpo con una cara posterior dividida en dos lóbulos grandes y uno más pequeño. Folículos vitelínicos a nivel de la extremidad anterior del órgano tribocítico (Travassos *et al.*, 1969)

En cuanto a los huevos, estos son pardo amarillentos presentando opérculo y contenido granuloso. Miden de 98 a 134 por 62 a 68 micras. (Soulsby, 1987). Otros autores citan huevos de 107 a 133 por 77 a 99 micras (Olsen, 1977) o de 98 a 125 por 62 a 81 micras (Travassos *et al.*, 1969).

Además de los datos presentados previamente existen datos sobre *Alaria alata* en *Oncifelis geoffroyi* (Martínez, 1986) el cual describe las siguientes características para los parásitos encontrados: cuerpo de 4,15 a 5,67 X 1,73 a 1,86 mm cuando fijado dividido en 2 porciones, una anterior de 3,21X2,46 mm en la que se ubica una ventosa oral de 0,128 mm, faringe muscular terminando en 2 intestinos largos. Acetábulo pequeño de 0,107 mm, entre el acetábulo y el ovario se extiende el órgano tribocítico de 1,49 por 0,834 mm. Ovario arriñonado situado poco antes del fin del segmento anterior ocupado casi totalmente por los folículos de la glándula vitelógena. Segmento posterior cilíndrico de 1,86 por 1,28 mm ocupado por los testículos post uterinos que por intermedio del vaso deferente se abren en el poro genital subterminal a 0,174 a 0,214 mm de la extremidad posterior.



Figura I.- *Alaria*, adulto (Capellino et al 2004)

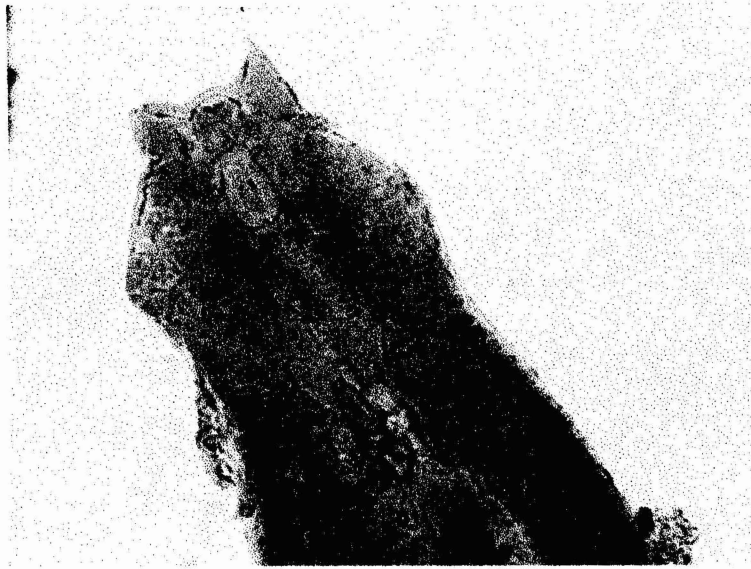


Figura II.- Extremidad cefálica de *Alaria*.(Capellino et al. 2004)

4.2- CICLO VITAL

Los huevos de *Alaria* son evacuados con las heces del hospedador definitivo, luego eclosionan como miracidios que penetran en caracoles, allí se transforman en esporocistos madres los cuales generan esporocistos hijos.

Las cercarias, que presentan la cola subdividida en dos ramas o furcas (furcocercarias), salen del esporocisto hijo y abandonan el caracol, fijándose en los renacuajos. Atraviesan su tegumento y se transforman una vez allí en mesocercarias. Estas mesocercarias persisten hasta la metamorfosis del renacuajo en rana.

Cuando las ranas o los renacuajos son ingeridos por los zorros (u otros cánidos), las mesocercarias atraviesan el intestino del mismo y se localizan en hígado y diafragma para luego dirigirse a los pulmones, donde se transforman en diplostómulos.

Los diplostómulos emigran a la tráquea y luego son deglutidos para llegar así al intestino delgado y allí completan su desarrollo hasta adultos.

Existe un segundo modo de infestación a través de un tercer huésped que sirve como reservorio de las mesocercarias. Si los renacuajos infestados son ingeridos por culebras de agua, ratones o ranas, las mesocercarias atraviesan sus intestinos y se acantonan en los tejidos sin desarrollo posterior.

En resumen el caracol actúa como 1er hospedador intermediario, el renacuajo es el 2do hospedador intermediario albergando las mesocercarias, en caso de ser ingerido por culebras o ratones estos serían hospedadores paraténicos, y el zorro es el hospedador definitivo (Olsen, 1977).

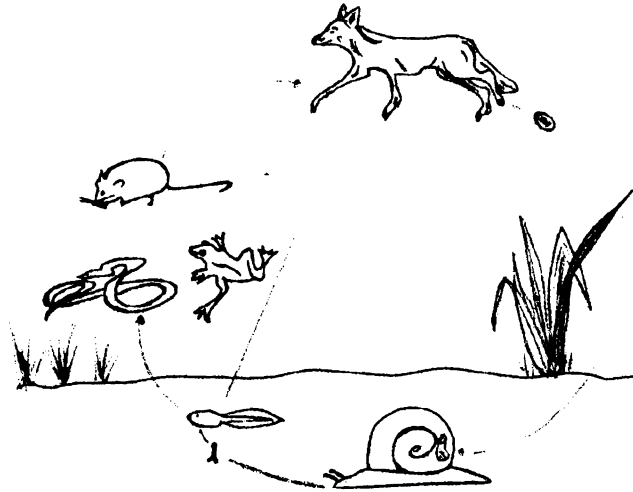


Figura III.- Ciclo de Alaria

4.3- POTENCIAL ZOONOTICO

Aunque *Alaria* es un parásito extremadamente raro en el ser humano, es potencialmente peligroso dado su alto poder invasivo en su forma de mesocercaria. Freeman et al (tomado de Smyth, 1995) reportó un caso en Canadá de un paciente que fue tratado por un cuadro de gastritis como primer síntoma, no habiendo mejoría y falleciendo unos nueve días más tarde por una infección masiva de mesocercarias. Éstas se hallaban dispersas en todo el cuerpo del individuo.

Se halló evidencia histológica de que las mesocercarias habían entrado por la mucosa estomacal para luego dispersarse por todo el cuerpo de forma directa por continuidad o por vía sanguínea.

Pudo saberse que el sujeto había salido a una caminata por la montaña y se presume que haya comido ranas mal cocidas (Smyth, 1995).

Otros casos que se conocen son menos precisos, reportándose en un caso el hallazgo de mesocercarias de *Alaria* un paciente que presentaba una inflamación intradérmica. En otro caso se halló en el ojo de un paciente, con alta evidencia de que el parásito haya entrado vía conjuntiva. Se sabe por experimentos llevados a cabo por Lester y Freeman (1975 ,1976) en animales de laboratorio que las mesocercarias y cercarias pueden penetrar en los ojos. Podemos pensar que si se extiende el uso de los anfibios como alimento humano deberíamos tener en cuenta esta clase de parásitos tan peligrosos (Smyth, 1995).

En cuanto a su presencia en caninos, un estudio realizado por Lombardero y Santa Cruz (1970) acerca del parasitismo en perros de la ciudad de Corrientes, Argentina, durante 25 años, en el cual se realizaron más de 200 necropsias a perros callejeros, cita la aparición esporádica de *Alaria alata*.

5- MATERIALES Y MÉTODOS

Se eligió una zona del Depto. de Canelones, ubicada a los márgenes de la Ruta 101 Km. 30,500, Paraje Escuela Militar de Aeronáutica, contigua a Montevideo por presentar un ambiente de tipo suburbano con casas dispersas, zanjas y terrenos inundables en los que abundan anfibios, reptiles, roedores y cánidos domésticos con y sin dueño que deambulan por el mismo. En esta zona, observaciones preliminares permitieron constatar la presencia de supuestas mesocercarias de *Alaria* en larvas de anfibios. Estas larvas fueron identificadas por el Dr. Claudio Borteiro como pertenecientes a la especie *Hyla pulchella*.

5.1- TRABAJO DE CAMPO

Se realizaron salidas mensuales a la zona de estudio durante los meses de setiembre, octubre, noviembre y diciembre. Las salidas se realizaron conjuntamente con integrantes del Departamento de Parasitología, en el marco de un proyecto financiado de investigación sobre garrapatas (*Amblyomma triste*).

La recolección se realizó por las mañanas preferentemente en días posteriores a lluvias para asegurar la presencia de los renacuajos. Los renacuajos se recolectaron por medio de calderines con un tamaño de malla de 0.5 mm, procurándose obtener una muestra de los mismos no menor a los 50 ejemplares por mes. Se colocaron en recipientes con agua del lugar para ser transportados con vida al laboratorio. Se colectaron también caracoles planórbidos presentes en el mismo hábitat, los que fueron transportados en recipientes diferentes a los de los renacuajos.

También se buscaron y colectaron materias fecales de caninos, procurando que fueran frescas y recogiendo sólo la parte superior, que no haya estado en contacto con el sustrato. Éstas se colocaron por separado en bolsas de nylon y se anotó la fecha de recolección y otras observaciones pertinentes.

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, donde fueron procesadas y estudiadas como se detalla en los siguientes puntos.

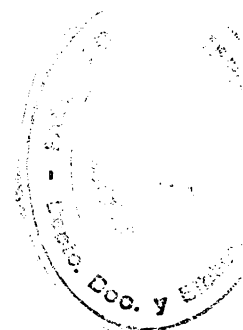




Figura IV.- Vista panorámica de la zona estudiada.

5.2- VISUALIZACIÓN DE RENACUAJOS

Previo a su sacrificio, los renacuajos fueron anestesiados agregándole unas gotas de alcohol 95° al agua donde se encontraban, esperándose luego unos 10 minutos hasta observar su aletargamiento. Tras esto se colocaron en otro recipiente con formol 10, donde se produce su muerte.

Una vez sacrificados, los renacuajos fueron tomados uno por uno, medidos y aplastados entre dos portaobjetos para la visualización de sus órganos internos. Esto último se realizó por medio de un microscopio marca Olympus, propiedad del Departamento de Parasitología, utilizándose un aumento de 100 X e inspeccionándose todo el aplastado mediante la técnica de lectura en guarda griega.

Las mesocercarias encontradas fueron identificadas según la bibliografía (Olsen, 1977) y los ejemplares presentes en la colección del Departamento de Parasitología. Cuando fue posible se procedió a su cuantificación, y se tomaron medidas de algunos ejemplares mediante una reglilla ocular incorporada al microscopio. Se determinó la prevalencia (número de casos dividido el número de examinados por cien), intensidad (número de parásitos encontrados dividido el número de hospedadores parasitados) y abundancia (en caso de haber sido posible la cuantificación) como número de parásitos encontrados dividido número de animales examinados. Definiciones dadas por Bush et al (1997).

5.3- ESTUDIOS DE CARACOLES RECOLECTADOS

En el laboratorio, los caracoles fueron identificados a nivel específico de acuerdo con Paraense (1975). Luego fueron medidos con una precisión de décima de milímetro y aplastados individualmente entre dos portaobjetos con una gota de agua para ser observados al microscopio en busca de formas larvales de trematodos.

5.4- INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE LOS RENACUAJOS

Se tomaron 16 renacuajos colectados de un ambiente en el cual no existían caracoles posibles de albergar furcocercarias.

Estos renacuajos se dividieron en 2 grupos, uno control y otro experimental, de 8 renacuajos cada uno. Los renacuajos del grupo control se colocaron en un ambiente adecuado para su vida, sin presencia de caracoles de ningún tipo.

Por su parte, los renacuajos del grupo experimental fueron mantenidos en las mismas condiciones que los anteriores, con la salvedad de que se agregó a su ambiente un caracol colectado en el hábitat problema y que previamente se había comprobado, bajo lupa binocular, que liberaba furcocercarias con morfología compatible con las del género *Alaria*.

A los 7 y a los 14 días, la mitad de los caracoles control y de los caracoles experimentales fueron procesados por medio de la técnica ya descrita.

5.5- INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE UN CANINO

Se eligió un canino al cual se le suministraron vía oral un total de 11 renacuajos infestados (siete chicos y cuatro grandes). Estos fueron recolectados en el sitio del estudio seis días antes. Quince días antes se desparasitó al canino con Drontal plus (praziquantel, pirantel emboato y febantel).

Luego se tomaron muestras de materia fecal del animal, comenzando a los siete días de la infección experimental y con una periodicidad semanal, a fin de realizar análisis coprológicos (métodos de flotación de Willis y sedimentación simple) para determinar si y en qué momento comenzaba a emitir huevos del parásito.

Los huevos de *Alaria* serían identificados en base a las descripciones de la bibliografía y a los ejemplares de *A. alata* conteniendo huevos en su útero, procedentes de zorros, presentes en la colección del Depto. de Parasitología.

Los huevos de *Alaria* ya identificados serían medidos y fotografiados.

Alcanzada la patencia, se trataría al animal con bromhidrato de arecolina, a fin de intentar obtener formas adultas del parásito, las que se compararían con los ejemplares de *A. alata* colectados en zorros, disponibles en la Colección del Depto. de Parasitología.

5.6- METODOS COPROLÓGICOS UTILIZADOS

5.6.1- Exámen microscópico por enriquecimiento. flotación cualitativa- Método de Willis.

Se utilizó una solución saturada de cloruro de sodio (NaCl) con una densidad de 1,2.

Se observó al microscopio con un aumento de 100 X, examinándose en guarda griega la totalidad de la superficie cubierta por el portaobjeto.

5.6.2- Exámen microscópico por enriquecimiento- Sedimentación Cualitativa

Se realizó sedimentación cualitativa en copa de sedimentación durante un tiempo decreciente de 15 a 5 minutos. Se examinaron 2 gotas de sedimento al microscopio con un aumento de 100 X, examinándose en guarda griega la totalidad de la superficie cubierta por el portaobjeto. (Guía de Trabajos prácticos, Cátedra de Parasitología, 2002)

6- RESULTADOS

Se realizaron cuatro salidas en los meses previstos. En noviembre había muy pocos renacuajos en el hábitat y no fue posible recolectar la muestra de 50 ejemplares, mientras que en el mes de diciembre el hábitat estaba totalmente seco, por lo que no se pudieron recolectar renacuajos ni caracoles.

Se comprobó la presencia de mesocercarias de *Alaria* en los renacuajos, segundos hospedadores intermediarios. Los detalles de prevalencia, intensidad y abundancia de infección, así como los tamaños promedios de los renacuajos, se presentan en el Cuadro I.

Cuadro I.- Incidencia de *Alaria* spp en renacuajos colectados en el hábitat problema.

Mes	Nº renacuajos	Tamaño promedio (mm)	Nº positivos	Prevalencia (%)	Intensidad media	Abundancia media
Setiembre	50	9,3	34	68	1,97	1,34
Octubre	50	17,3	10	20	1,7	0,34
Noviembre	17	16,7	14	82	*	*
Diciembre	0	0	0	0	0	0
Totales	117		58	49,6		

* Debido a la cantidad de mesocercarias y a su agrupamiento no pudieron ser cuantificadas con precisión, pero se estimó un número de 20 a 30 mesocercarias por renacuajo.

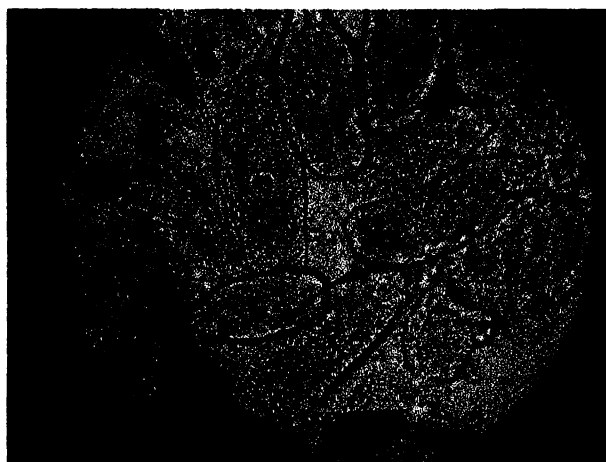


Figura V.- Mesocercarias encontradas en la necropsia de los renacuajos

La única especie de molusco acuático presente en el hábitat estudiado fue un planorbido que se identificó como correspondiente a la especie *Drepanotrema heloicum*. La misma se encontró infectada por distintos tipos de cercarias, uno de los cuales (el de furcocercarias) presentó características morfológicas muy similares a las que menciona la bibliografía (Olsen, 1977) para el género *Alaria*; también las formas madres (esporocistos) eran similares. La correspondencia de estas furcocercarias con las mesocercarias presentes en los renacuajos se comprobó experimentalmente con los resultados de la infección experimental de larvas de anfibios que se describe más abajo.

La prevalencia mensual y global de infección con furcocercarias de los caracoles colectados se indica en el Cuadro II.

Cuadro II.- Presencia de furcocercarias de *Alaria alata* en caracoles (*Drepanotrema heloicum*) colectados en el hábitat problema.

Mes	Número de Caracoles	Caracoles positivos	Prevalencia (%)
Setiembre	20	4	20.0
Octubre	20	4	20.0
Noviembre	30	1	3.3
Totales	70	9	12.9

La infección experimental de los renacuajos se realizó con éxito ya que la mayoría (el 75 %) de los renacuajos que convivieron con el caracol que liberaba furcocercarias fueron positivos a la presencia de mesocercarias (las cuales eran muy abundantes), en tanto que todos los renacuajos control resultaron negativos (Cuadro III). Las mesocercarias presentadas por los renacuajos infectados experimentalmente eran morfológicamente idénticas a las observadas en renacuajos naturalmente infectados.

Cuadro III.- Resultados de las necropsias de renacuajos que convivieron 7 o 14 días con un caracol que eliminaba furcocercarias, así como de renacuajos control.

7 días con el caracol	Tamaño (cm)	Presencia de mesocercarias	14 días con el caracol	Tamaño (cm)	Presencia de mesocercarias
1	2.1	+	1	1.7	+
2	1.4	-	2	1.5	+
3	2.2	+	3	2.0	-
4	2.4	+	4	1.8	+
Controles			Controles		
1	2.0	-	1	1.9	-
2	2.1	-	2	2.2	-
3	1.5	-	3	*	
4	2.1	-	4	*	

* murieron a poco de comenzar el experimento

Con respecto a las materias fecales de caninos de la zona de estudio, se colectaron 11 muestras. Cada muestra fue procesada por medio de las técnicas de Willis y sedimentación simple. Con esta última técnica, en una de las muestras se pudieron observar huevos que poseían las características típicas de los huevos de tremátodos (opérculo, cáscara fina, color amarillo y contenido granular; ver foto). Las medidas de estos huevos ($n = 4$) fueron las siguientes: $121 \times 71 \mu$, $118.4 \times 76.3 \mu$, $131.5 \times 78.9 \mu$ y $161.7 \times 77.6 \mu$. Otras cuatro muestras fueron positivas a otros parásitos, tres de ellas a *Trichuris vulpis* y la restante a *Ancylostoma caninum*.

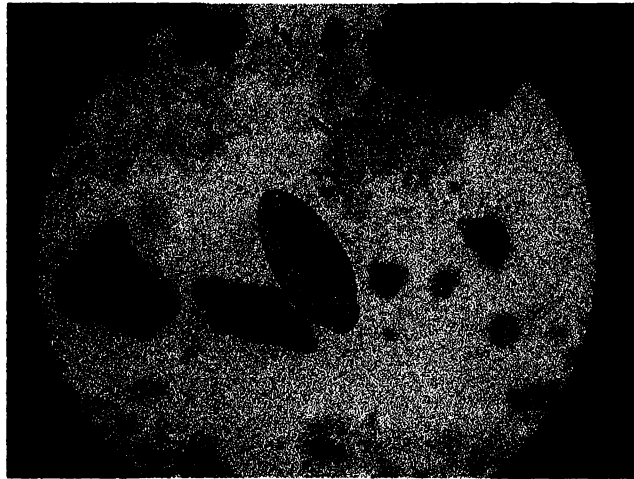


Figura VI.- Huevo obtenido por sedimentación simple en una muestra de materia fecal de canino de la zona problema.

Con respecto a la infección experimental del canino, se realizaron toma de muestras de heces a los 8, 16, 22, 24, 30, 37, 38, 45, 53 y 60 días postinfección resultando todas negativas al Willis y a la Sedimentación, incluso para otros parásitos.

7- DISCUSIÓN

La presencia de mesocercarias de *Alaria* en los renacuajos colectados en el área de estudio se comprobó en los tres meses en que se pudieron recolectar larvas de anfibios (setiembre, octubre y noviembre).

La prevalencia global de infección de los renacuajos fue casi del 50 %, con un pico del 82 % en el mes de noviembre. La intensidad y abundancia de infección sólo se pudieron determinar con precisión en los dos primeros meses de colecta; en noviembre, aunque no se pudieron cuantificar con exactitud, el número de mesocercarias por renacuajo fue elevado, resultado que podría estar relacionado con que los renacuajos y caracoles, debido a la sequedad progresiva del hábitat, estaban concentrados en un muy pequeño volumen de agua, lo que podría maximizar la tasa de transmisión del parásito entre el primer y el segundo hospedador intermediario.

Es de resaltar que se haya logrado la identificación de los caracoles que actúan como primeros hospedadores intermediarios del parásito en la zona estudiada (*Drepanotrema heloicum*), pues, hasta lo que sabemos, no existen referencias a este respecto en los países de la región. La prevalencia global de infección de estos moluscos con furcocercarias de *Alaria* fue significativa (12.9 %). En cuanto a la prevalencia mensual de infección, los resultados son escasos como para sacar alguna conclusión, aunque parece haber, en general, poca correlación con los niveles de infección por mesocercarias observados en los renacuajos.

Aunque las muestras de materia fecal de caninos de la zona no fueron las ideales (ni en calidad, pues sólo se pudieron encontrar pocas materias recientes, ni en cantidad) para el estudio, igualmente se pudieron hallar en una de ellas huevos que, por su morfología y dimensiones, podrían corresponder al género *Alaria*. Aunque esta identificación no es, en ningún modo, concluyente, la misma se refuerza si consideramos la presencia de estadios del parásito en caracoles y renacuajos de la misma área. Podemos pensar entonces que ocurre efectivamente una transmisión del parásito hasta el canino.

Es importante notar que dichos huevos fueron obtenidos mediante la técnica de sedimentación, y que la misma muestra fue negativa al realizarse el método de flotación de Willis. Este resultado es útil a la hora de plantearse futuras búsquedas de este parásito en carnívoros domésticos. También es relevante en el sentido de plantear la conveniencia de realizar rutinariamente técnicas coprológicas de

sedimentación, y no sólo de flotación, cuando se trata de carnívoros procedentes de zonas suburbanas o rurales.

El ciclo biológico del parásito se pudo completar hasta la infección de los renacuajos con cercarias emitidas por un caracol infectado, pero lamentablemente no se pudo cumplir por completo ya que el canino al cual se le suministraron los renacuajos conteniendo mesocercarias no dio resultados positivos en los análisis coprológicos.

La infección experimental de los renacuajos fue clave en el sentido de señalar la correspondencia entre las furcocercarias liberadas por los caracoles y las mesocercarias presentes en los renacuajos. Este resultado es el que permitió asignar, sin lugar a dudas, al género *Alaria* las furcocercias liberadas por los *D. heloicum* colectados en el hábitat problema, permitiendo así la identificación del caracol primer hospedador intermediario. Al ser el lote control totalmente negativo, se confirma que las mesocercarias de los renacuajos experimentales sólo podían provenir del caracol. Además la gran cantidad de mesocercarias por individuo presentes en los renacuajos experimentales demuestra la alta tasa de liberación de cercarias que presentan los caracoles.

En el caso del canino experimentalmente infectado debemos tener en cuenta que fue un solo ejemplar y que la dosis infectante pudo no ser suficiente para lograr el éxito. Tampoco podemos descartar que las mesocercarias presentes en los renacuajos fueran inmaduras, ya que las mismas eran de menor tamaño y presentaban menos coloreadas sus glándulas de penetración que las observadas en anfibios adultos y en reptiles. Aunque esto no lo menciona la bibliografía, cabe preguntarse si, para ser infectivas para el hospedador definitivo, las mesocercarias no tendrán que esperar la metamorfosis del renacuajo que las alberga, o su predación por un hospedador paraténico. En este último caso, cabe la posibilidad de que la infección del canino no fuera realmente negativa, sino que las mesocercarias no hayan tomado la vía de diferenciación hacia el estadio adulto, sino que permanezcan acantonadas como tales en los tejidos del perro, el cual se estaría comportando, entonces, como un hospedador paraténico. Ya que no se pudieron obtener adultos del parásito, no se pudo comprobar que las mesocercarias correspondieran efectivamente a la especie *A. alata*.

8- CONCLUSIONES



Como primera conclusión se puede afirmar que el género *Alaria* está presente en el área estudiada, dado que se comprobó la existencia del parásito en sus hospedadores intermediarios. Por tanto, es de inferir que ocurre el ciclo completo de este parásito en dicha zona, aunque con los presentes datos no se puede confirmar que el huésped definitivo en este caso sea el perro. No es de descartar que existan carnívoros silvestres en la zona de estudio que puedan estar actuando como hospedadores definitivos.

Los índices de infección de los hospedadores intermediarios (caracoles y renacuajos) con las correspondientes formas evolutivas del parásito fueron significativos.

Se completó experimentalmente la parte del ciclo del parásito que va del primer al segundo hospedador intermediario, lo cual permitió la identificación específica del caracol que actúa como primer hospedador intermediario (*Drepanotrema heloicum*).

Aunque no se puede afirmar en forma concluyente, los resultados coprológicos de materias fecales de caninos de la zona presentan cierta evidencia de la presencia del parásito adulto en los mismos. También indican que la técnica coprológica de elección sería la de sedimentación simple.

En cuanto a la infección experimental del canino, al no tener resultados positivos y no haberse podido obtener adultos, no se pudo completar el ciclo en el perro doméstico y no se puede confirmar que las mesocercarias correspondan a la especie *Alaria alata*. Habría que realizar estudios con mayor número de animales y mayor dosis infectantes, así como con mesocercarias procedentes de hospedadores paraténicos, para clarificar estos aspectos.

Dado los presentes hallazgos, es recomendable realizar más estudios con respecto al tema ya que se trata de una zoonosis latente en nuestro país, presente en zonas con una relativamente alta densidad de población humana, y que, en el caso de comprobarse la ocurrencia del parásito en caninos domésticos, debe encararse la desparasitación de los mismos con drogas eficaces contra el parásito que nos ocupa.

9- BIBLIOGRAFÍA

Bush, A D, Lafferty, K D, Lotz, J M , Shostak, A W, (1997). Parasitology meets ecology and its own terms : Margolis et al. revisited. J. Parasitol., 83:575-583

Capellino, D.; Morgades, D.; Castro, O.; Casas, L.; Venzal, J. & González, E.M. Dos nuevos registros de helmintos con potencial zoonótico en cánidos silvestres del Uruguay. Seminario Trabajos de Investigación en parasitología. Salto. 2004

Departamento de Parasitología, varios autores, (2002), Guía de Trabajos prácticos 9:33-34, 16:51-52

Lombardero, O.; Santa Cruz. (1970). Alaria alata (Goeze, 1782) nuevo parásito del perro y carnívoros silvestres para la Argentina (Trematoda, Strigeoidea). 5ªs Jornadas Internacionales Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata.

Martínez, F A (1986). Helmintofauna en Mamíferos Silvestres, Veterinaria Argentina Vol III, Nº Nº 26 544-551

Olsen, O W (1977). Parasitología Animal. Tomo II. Platelminetos, Acantocéfalos y Nematelmintos. Ed. Aedos, España, 719 pp.

Paraense, W L (1975). Estado Atual da Sistemática dos Planorbídeos Brasileiros. Archivo Museo Nacional de Río de Janeiro Vol 55, 105-128

Smyth, J D (1995). Rare, New and Emerging Zoonoses. Advances in Parasitology, 36: 1-45.

Soulsby, E J L (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7ª Edición.

Travassos, L J F Teixeira de Freitas & A Khon. (1969). Trematódeos do Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 67 (fascículo único): 1-886.