



Asociación
Parasitológica
Argentina

Volumen 12. Nro. 2

(Rev. Arg. Parasitol.)

Órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina



Revista Argentina de Parasitología

ISSN: 2313-9862

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

ISSN 2313-9862

Volumen 12 Nro. 2

E-mail: revargparasitologia@gmail.com**Patrocinado por****Asociación Parasitológica Argentina****Editora Responsable****Julia Inés Díaz**

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores,
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas
y Técnicas, Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - jidiaz@cepave.edu.ar

Editora Asistente**María Celina Digiani**

División Zoología Invertebrados, Museo de La Plata,
Universidad Nacional de La Plata - Argentina -
mdigiani@fcnym.unlp.edu.ar

Editores de Estilo

Diseño web y diagramación: Rocío Vega - Laboratorio
de Parasitología, Instituto de Investigaciones en
Biodiversidad y Medioambiente, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional del Comahue - Argentina -
rociovega@gmail.com

Revisión de idioma inglés: Regina Draghi - División
Zoología Invertebrados, Museo de La Plata,
Universidad Nacional de La Plata - Argentina -
rdraghi@fcnym.unlp.edu.ar

Lucas E. Garbin - Centro de Estudios Parasitológicos y
de Vectores y Universidad Nacional Arturo Jaureche -
Argentina - lucasegarbin@gmail.com

Editores Asociados

Nathalia Arredondo - Instituto de Biodiversidad y
Biología Experimental y Aplicada, Universidad de
Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas - Argentina -
paranatha@gmail.com

Claudio Barbeito - Cátedra de Histología y Embriología
y Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - barbeito@fcv.unlp.edu.ar

Fabiana Drago - División Zoología Invertebrados,
Museo de La Plata Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - fdrago@fcnym.unlp.edu.ar

Jorge Etchegoin - Departamento de Biología, Facultad
de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad
Nacional de Mar del Plata - Argentina -
jetchecho@mdp.edu.ar

María Cecilia Ezquiaga - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina - cecilia@cepave.edu.ar

Leonora Kozubsky - Departamento de Ciencias
Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
kozubsky@biol.unlp.edu.ar

Graciela T. Navone - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
gnavone@cepave.edu.ar

Carlos Rauque - Laboratorio de Parasitología,
Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y
Medioambiente, Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas, Universidad Nacional del
Comahue - Argentina -
carlosalejandrorauque@gmail.com

María del Rosario Robles - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
rosario@cepave.edu.ar

Daniel Tanzola - Laboratorio de Parasitología de
Organismos Acuáticos, Departamento de Biología,
Bioquímica y Farmacia Universidad Nacional del Sur
e Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del
Sur, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y
Técnicas - Argentina - rtanzola@criba.edu.ar

Juan Manuel Unzaga - Laboratorio de
Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - junzaga2003@yahoo.es

María Lorena Zonta - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata- Argentina -
lorenzonta@cepave.edu.ar

Comité de Expertos o Asesores

Scott Lyell Gardner
University of Nebraska - USA

Daniel Brooks
University of Toronto - Canadá

Agustín Jimenez
University of Carbondale - USA

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

Ana Flisser
Universidad Nacional Autónoma de México - México

Oscar Jensen
Departamento Investigación en Salud - Argentina

Federico Kaufer
Hospital Alemán - Argentina

Alberto A. Guglielmono
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria -
Argentina

Juan A. Basualdo Farjat
Universidad Nacional de La Plata - Argentina

José M. Venzal Bianchi
Universidad de la República - Uruguay

Katharina Dittmar
Department of Biological Sciences - USA

Santiago Nava
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria -
Argentina

Pedro Marcos Linardi
Universidade Federal de Minas Gerais - Brasil

Esteban Serra
Universidad Nacional de Rosario - Argentina

Revista Argentina de Parasitología

Rev. Arg. Parasitol.

Órgano oficial de difusión científica de la
Asociación Parasitológica Argentina
ISSN: 2313-9862


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

Imagen de Portada

Aedes aegypti. Autora: María Laura Morote

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

EL EFECTO WARHOL EN LAS ENFERMEDADES EMERGENTES

En las últimas décadas, algunas enfermedades infecciosas cuyos patógenos son transmitidos por vectores y que afectan al ser humano, han tenido un aumento muy preocupante en cuanto al número de casos registrados en nuestro país. Tal vez, el caso más notable lo constituye el dengue, una enfermedad viral transmitida principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*. Desde el primer brote ocurrido en 1998 en Salta, las epidemias de dengue en Argentina han sido cada vez más frecuentes y con un impacto cada vez mayor por el número de casos y por la circulación extendida de los diferentes serotipos en el área de distribución del vector. Podemos visualizarlo en datos comprobables publicados en los Boletines Epidemiológicos del Ministerio de Salud de la Nación; en 2009, 2016, 2020 y 2023 la enfermedad se extendió, circularon distintos serotipos y los casos reportados se incrementaron en proporciones preocupantes para la salud pública.

Sin embargo, a pesar de la tendencia ascendente, la inquietud de la población por esa enfermedad no solamente parece haber decaído, sino que las dos últimas epidemias parecen haber pasado casi inadvertidas. Ello podría explicarse, al menos en parte, debido a la simultaneidad en 2020 con la pandemia de COVID19, con lo cual obviamente la atención estuvo puesta en esta última. En su momento, incluso, se habló del “dengue: una epidemia silenciosa”. En este escenario, una enfermedad de magnitud catastrófica provocó que otras resulten desatendidas, generando un gran desafío para los sistemas de salud pública. Es el efecto Andy Warhol, una situación que muchos epidemiólogos observan con una frecuencia cada vez mayor. Una de las frases más icónicas del fundador del *pop-art* fue “*En el futuro, todos van a ser mundialmente famosos por 15 minutos*”; en el caso de las enfermedades emergentes y reemergentes, la dinámica de las situaciones epidemiológicas plantea nuevos retos a las disciplinas científicas relacionadas con los vectores y los patógenos que transmiten. ¿Los brotes, epidemias y pandemias tendrán un breve momento de “fama” y se reemplazarán a un ritmo sin precedentes? Por supuesto, la dimensión de la pandemia por COVID19 justificó la poca repercusión del dengue, pero ¿cómo explicar la desatención de esa virosis por el conocimiento público en 2023? Es evidente que estamos viviendo una época en la cual todo cambia a un ritmo inusitado, lo efímero prepondera, lo desechable reemplaza a lo inmanente, lo breve desplaza a lo duradero, y todo eso repercute en los modos del pensamiento.

Existen otros ejemplos de arbovirus reemergentes en el mundo, transmitidos por el mismo vector, *A. aegypti*, que nuevamente en el centro del interés, esparce otras enfermedades. Tal es el caso del virus Zika que emergió en 1947 en el bosque del mismo nombre en Uganda como una zoonosis entre monos, luego se dispersó en África entre humanos para finalmente tener una distribución global con el ingreso en 2014 en Brasil. En 2016 la OMS declaró una emergencia de salud pública de importancia internacional (ESPII) en relación con el virus de Zika y sus consecuencias en la salud. Vimos algo parecido en el caso del virus Chikungunya, que es originario de África y Asia y emergió en 2013 en América, cuando la OMS y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) recibieron la confirmación de los primeros casos de transmisión autóctona de Chikungunya en islas de la región del Caribe. En 2014, se confirmó la transmisión local en 43 países de América (Morrison, 2014). Una y otra vez observamos cómo estos desplazamientos entre patógenos, hospedadores, movimientos humanos, y ciclos zoonóticos se entrelazan y nos dejan una huella certera: las enfermedades y el impacto en la salud. Un ejemplo cercano a este virus es Mayaro, que circula en zonas selváticas de América entre monos y especies de mosquitos selváticos pero que puede infectar a *A. aegypti*, por lo cual un salto de escenario tal vez sea esperable (Esposito *et al.*, 2017). Las causas de estas expansiones son conocidas y se relacionan con cambios genéticos en los patógenos y con factores intervinientes en la interacción entre patógenos y hospedadores (demografía, clima, comportamiento y otros), procesos que redundan en alteraciones en las vías de exposición a los agentes causales de enfermedades (Woolhouse, 2002). Pero hay consenso en la comunidad científica al atribuir un mayor impacto sobre las emergencias y reemergencias a los elementos antropogénicos, como los viajes internacionales, el comercio, el crecimiento no planificado de los conglomerados humanos, los cambios en el uso de la tierra, o



el ingreso de personas a ambientes silvestres para incrementar la explotación de recursos naturales. El calentamiento global también es invocado como un fenómeno que contribuye a un contexto donde surgen patógenos nuevos, o viejos, pero que estaban espacialmente restringidos. El abordaje de estas problemáticas impulsó la transformación de un enfoque fragmentado en varias disciplinas, hacia otro en el cual se integran las ciencias para

encarar conjuntamente la salud del humano, de los animales y del entorno, esa visión determina el concepto *Una Salud* introducido por el médico veterinario Calvin Schwabe (Schwabe, 1964), y promovido por organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, la Oficina Internacional de Epizootias, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y la OMS (OMS, 2023).

¿Es posible predecir cuál será el próximo brote, o la próxima epidemia o pandemia? Seguramente no en términos absolutos, aunque sí se puede afirmar que se tratará de una zoonosis, probablemente de un virus ARN (que poseen una alta tasa de mutaciones) transmitido por un artrópodo vector (Woolhouse, 2002). Este fenómeno ha ocurrido recientemente muchas veces, como lo evidencian los ejemplos que mencionamos anteriormente. En estas irrupciones que hacen peligrar la salud pública confluyen mecanismos biológicos, ecológicos y evolutivos que los científicos han estudiado asiduamente, intentando desentrañar los mecanismos subyacentes. Las especies invasivas suelen ser una amenaza para la biodiversidad de las áreas donde se establecen, pero además las invasiones adquieren una relevancia insoslayable cuando involucran especies adaptadas a los hábitos humanos, y más aún cuando son vectores. Ya conocemos el caso de *A. aegypti* (de origen africano y establecido en todos los continentes excepto Antártida); un reciente descubrimiento de Gloria-Soria y colaboradores (2016), quienes analizando la diversidad de las poblaciones de *A. aegypti* a escala mundial, encontraron que las poblaciones de Argentina tienen un perfil genético peculiar con una ancestría africana. Hasta el momento se desconoce el origen de dicho perfil genético híbrido y más aún las consecuencias de este hallazgo sobre la propagación de enfermedades y sobre su capacidad invasiva. Otros mosquitos invasores y vectores son *Aedes albopictus* (de origen asiático, actualmente distribuido en los trópicos y subtrópicos) y *Aedes japonicus* (de origen japonés e introducido en América del Norte y Europa Central), sólo por mencionar unos pocos.

Más sorprendente y controversial es la postulación de los mosquitos como vectores de enfermedades cuyos agentes etiológicos son bacterias. Esa familia de dípteros está vinculada con la transmisión de virus (como el de la fiebre amarilla, los de las encefalitis, los de la fiebre Zika y Chikungunya ya mencionados, además de una larga lista), protistas (como el plasmodio de la malaria) y filarias (como la que causa elefantiasis); pero en los textos de entomología médica no se incluyen a las bacterias entre los patógenos vehiculizados por aquellos. Recientemente, algunas investigaciones postularon que algunos mosquitos podrían intervenir en la transmisión mecánica de *Mycobacterium ulcerans*, causante de la úlcera Buruli, una enfermedad que afecta severamente la piel y provoca lesiones destructivas y estigmatizantes en el humano (Muleta *et al.*, 2021).

Otro caso notable es el de *Rickettsia felis*, patógeno de la rickettsiosis humana. Es una bacteria cosmopolita cuyo vector confirmado es la pulga *Ctenocephalides felis*, un ectoparásito muy común de perros y gatos. No obstante, recientemente se reunió evidencia firme de que mosquitos del género *Anopheles* pueden participar en la transmisión de la rickettsiosis humana; existen pruebas de laboratorio que lo demostraron en condiciones experimentales (Dieme *et al.*, 2015) y otras investigaciones en condiciones de campo sostienen que *Anopheles gambiae* puede tener un rol en la transmisión al hombre (Angelakis *et al.*, 2016), e incluso algunos autores van más allá sugiriendo que el próximo patógeno transmitido por mosquitos de especies de *Aedes* con impacto global sería *R. felis* (Parola *et al.*, 2016).

Creemos que para postular que algunos mosquitos son vectores de bacterias de importancia médica se requieren estudios más profundos de campo y de laboratorio, puesto que por ahora los casos detectados son puntuales. No obstante, es importante tener en cuenta y observar aquellos hallazgos que aunque parezcan excepcionales, deben alertarnos sobre eventos en la naturaleza que pueden tener impacto en la salud. La prevención y los avances en el conocimiento son fundamentales para afrontar enfermedades emergentes y reemergentes. En estos pilares se asienta la capacidad de respuesta en donde adquiere una relevancia vital el rol de los epidemiólogos, los parasitólogos, los entomólogos, los médicos, los veterinarios, los expertos en ómicas y todos los profesionales que puedan con su trabajo hacer aportes para desentrañar la interacción entre vectores, patógenos, animales y humanos. Sabemos los que trabajamos en ciencia, que ningún detalle es irrelevante, que ningún estudio está desconectado de una realidad que no siempre podemos visualizar en el corto plazo y que, a veces, en eso se encuentra la puerta hacia el futuro. Podríamos resumirlo en otras palabras, también dichas tiempo atrás por Andy Warhol: “Necesitas dejar que las pequeñas cosas que normalmente te aburrirían, de repente te emocionen”. Así sea.

Arnaldo Maciá

Cátedra de Artrópodos de Interés Médico y Veterinario,
Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP

María Victoria Micieli

Cátedra de Artrópodos de Interés Médico y Veterinario,
Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP;
Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE)
(CONICET-UNLP) La Plata, Argentina

Agradecimientos: a María Laura Morote por la elaboración de la figura.

Referencias:

- Angelakis, E. *et al.* (2016). *Rickettsia felis*: the complex journey of an emergent human pathogen. *Trends in Parasitology*, 32, 554-564.
- Esposito, D. L. A. *et al.* (2017). Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21, 540-544.
- Dieme, C. *et al.* (2015). Transmission potential of *Rickettsia felis* infection by *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 8088-8093.
- Gloria-Soria, A. *et al.* (2016). Global genetic diversity of *Aedes aegypti*. *Molecular ecology* 25, 5377-5395.
- Morrison, T. E. (2014). Reemergence of chikungunya virus. *Journal of virology*, 88(20), 11644-11647.
- Muleta, A. J. *et al.* (2021). Understanding the transmission of *Mycobacterium ulcerans*: A step towards controlling Buruli ulcer. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15, e0009678.
- OMS (2023). El grupo tripartito y el PNUMA respaldan la definición de «Una sola salud» proporcionada por el Cuadro de Expertos de Alto Nivel para el Enfoque de «Una sola salud». Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/01-12-2021-tripartite-and-uneep-support-ohhlep-s-definition-of-one-health>. Último acceso: 4/10/2023.
- Parola, P. *et al.* (2016). *Rickettsia felis*: the next mosquito-borne outbreak? *The Lancet Infectious Diseases*, 16, 1112-1113.
- Schwabe, C. (1964). *Veterinary medicine and human health*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Woolhouse, M. E. (2002). Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in microbiology*, 10, s3-s7.

Adaptación del ensayo colorimétrico del MTT para la evaluación de la actividad frente a *Giardia duodenalis*

Adaptation of the colorimetric MTT assay for evaluating activity against *Giardia duodenalis*

Arroyo Díaz Jaime E.^{1*}, Gómez Muñoz María T.², Martínez-Díaz Rafael A.³, González-Coloma Azucena⁴

RESUMEN: *Giardia duodenalis* es un parásito protozoario flagelado cosmopolita con un amplio rango de hospedadores, incluyendo tanto animales domésticos como salvajes, así como al ser humano. Se reproduce en el intestino delgado ocasionando giardiosis, enfermedad caracterizada por producir diarrea, cólicos abdominales, pérdida de peso y malabsorción. El presente trabajo tiene como objetivo la estandarización del método colorimétrico del MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) para la realización de ensayos de actividad in vitro frente a trofozoítos de *G. duodenalis*. El MTT ha demostrado ser útil en la determinación de productos activos frente a diversos biomodelos y un buen sustituto del recuento microscópico en la determinación de la viabilidad de los parásitos. Para adaptar este método a *G. duodenalis* se realizaron una serie de ensayos a fin de optimizar la prueba, empezando con la realización de curvas de crecimiento para observar el comportamiento de los cultivos de este protozoario. Además, se realizaron otros ensayos modificando ciertas variables como el inóculo inicial, la fase del cultivo o las concentraciones de reactivos, dando como resultado un protocolo efectivo estandarizado. Los resultados de este estudio pueden ser de gran utilidad para identificar compuestos con actividad frente a *G. duodenalis*.

Palabras clave: bioensayo, cultivo axénico, giardiosis, parásitos, trofozoítos.

ABSTRACT: *Giardia duodenalis* is a cosmopolitan flagellated protozoan parasite with a wide range of hosts, including both domestic and wild animals, as well as humans. It reproduces in the small intestine causing giardiosis, a disease characterized by diarrhea, abdominal cramps, weight loss, and malabsorption. The aim of this study is to standardize the colorimetric MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) method for in vitro assays against *G. duodenalis* trophozoites. The MTT has been shown to be useful in determining active products against various biomodels and a good substitute for microscopic counting in determining parasite viability. To adapt this method to *G. duodenalis*, a series of assays were performed to optimize the test, starting with growth curves to observe the behavior of the protozoan cultures. Multiple assays were then performed, modifying certain variables such as initial inoculum, culture phase, or reagent concentrations, resulting in an effective standardized protocol. The results of this study can be of great utility in identifying compounds with activity against *G. duodenalis*.

Keywords: axenic culture, biological assay, giardiosis, parasites, trophozoites.

INTRODUCCIÓN

El protozoo *Giardia duodenalis* (syn. *G. intestinalis*, *G. lamblia*) es uno de los parásitos intestinales más comunes en los humanos. Generalmente causa una enfermedad autolimitante caracterizada por diarrea, cólicos abdominales, pérdida de peso y malabsorción. Diversas especies del género *Giardia* afectan frecuentemente a animales domésticos, incluyendo ganado, perros y gatos además de animales silvestres.

Sin embargo, la especie *G. duodenalis*, causa giardiosis en humanos y en la mayoría de los mamíferos, por lo cual la giardiosis es considerada una enfermedad zoonótica (Cama y Mathison, 2015; Dixon, 2021).

Giardia duodenalis es un parásito de distribución mundial, aunque especialmente prevalente en áreas con deficientes condiciones sanitarias. La mayor parte de las infecciones se adquieren a través de la ingesta de agua o alimentos contaminados con quistes, o por

¹ Departamento de Enfermedades Transmisibles y Salud Pública, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Panamá, Panamá. Ciudad Universitaria, Estafeta Universitaria, Apartado 3366, Panamá 4, Panamá.

² Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

³ Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, y Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.

⁴ Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC, Madrid, España.

transmisión fecal-oral. Los quistes son excretados en las heces y pueden sobrevivir en ambientes húmedos durante períodos prolongados. Tras la ingestión los quistes dan lugar a trofozoítos que se adhieren a la mucosa intestinal generando una disrupción del borde en cepillo e interfieren con la actividad enzimática, estimulan la respuesta inflamatoria y producen la secreción de fluidos y electrolitos y el daño de los enterocitos (Hernández Torres *et al.*, 2018). En parasitosis intensas, gran parte de la mucosa del intestino delgado está tapizada por los trofozoítos produciendo atrofia de las microvellosidades y un proceso de malabsorción que da lugar a uno de los síntomas más característicos de la giardiosis que es la esteatorrea y la intolerancia a la lactosa secundaria a este efecto (Minetti, 2016; Rojas-López, 2022).

La parasitosis crónica resulta en deficiencia de vitamina A, vitamina B12 y ácido fólico. La alteración del transporte y la disfunción de la barrera epitelial son los posibles mecanismos responsables. (Bartelt y Sartor, 2015).

El diagnóstico de esta especie parásita, se realiza habitualmente mediante la observación microscópica de quistes en las heces, ya sea muestras frescas o teñidas con solución de Lugol pudiendo ser optimizada por métodos de concentración como flotación o sedimentación por centrifugación, así como realizar otras tinciones. Para aumentar la sensibilidad diagnóstica pueden efectuarse recolecciones seriadas sobre un conservante. Esta técnica tiene ciertos beneficios como bajo coste, detección simultánea de distintos parásitos y su facilidad de implementación. También se han descrito técnicas inmunológicas (ELISA) y moleculares (PCR) (Silva *et al.*, 2016).

A pesar del reconocimiento de *G. duodenalis* como un importante patógeno del humano, se han utilizado relativamente pocos agentes en la terapia. Los derivados de nitroimidazol, como el metronidazol, tinidazol y el secnidazol, han demostrado ser altamente efectivos y de bajo costo. El desarrollo de cepas de *G. duodenalis* resistentes a nitroimidazol podría ser motivo de preocupación (Argüello-García *et al.*, 2020).

Para medir la viabilidad *in vitro* de los trofozoítos de *G. duodenalis* en ensayos de actividad frente a nuevos compuestos es común realizar el recuento microscópico de trofozoítos viables utilizando la tinción de azul tripán. Este método se basa en la capacidad de la tinción de penetrar en las células no viables, mientras que las células viables permanecen sin teñir o con un tinte menos intenso (Strober, 1997). Esta técnica tiene la desventaja de requerir de tiempo para realizar el recuento de cada muestra.

El ensayo del MTT fue descrito por primera vez en 1983 por Mosmann y está basado en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-

2,5-difeniltetrazolio (MTT) dando lugar a la formación de cristales de formazán, mediante la actividad mitocondrial de las células. Debido a que, para la mayoría de las poblaciones celulares, la actividad mitocondrial total es directamente proporcional al número de células viables, este ensayo se utiliza para medir los efectos citotóxicos *in vitro* de drogas en líneas celulares o en cultivos celulares primarios (Mosmann, 1983; Tolosa *et al.*, 2015). Inicialmente fue diseñado para evaluar la viabilidad de células de mamíferos, sin embargo, fue optimizado por Ellis *et al.* (1993) para su uso en protozoarios, mediante ensayos con tripomastigotes de *Trypanosoma congolense* y *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Desde aquel entonces ha aumentado la popularidad de este ensayo para evaluar la actividad de compuestos contra parásitos protozoarios.

Este ensayo se ha optimizado para diversos tipos celulares y protozoarios mediante la incorporación de sustancias como el PMS (metosulfato de fenazina), que actúa como un aceptor de electrones, y la menadiona, que desempeña el papel de agente de acoplamiento de electrones (Muelas-Serrano, 2000; Tarín Tera, 2016). En el caso específico de *G. duodenalis*, al no poseer mitocondria, no se conoce con exactitud qué enzimas pueden ser las responsables de la reducción del MTT, entre las cuales se han sugerido la piruvato ferredoxina oxidoreductasa, la α -cetobutirato oxidoreductasa y la ferredoxina NAD oxidoreductasa (Bénére *et al.*, 2007).

Este estudio tiene como objetivo la estandarización del ensayo del MTT en trofozoítos de *Giardia duodenalis* para medir su viabilidad de manera precisa y reproducible con el propósito de evaluar la actividad *in vitro* de sustancias que podrían ser candidatas para el desarrollo de nuevos fármacos contra este parásito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizó la cepa *Giardia duodenalis* ATCC® 30957, que es la cepa WB aislada por Gillin en 1979 a partir de aspirado duodenal proveniente de un hombre de 27 años que presentó síntomas de giardiosis durante dos años y medio y se ha mantenido cultivando continuamente desde entonces (Gillin, 1987). Se utilizó el medio de Keister (1983) modificado para el cultivo de trofozoítos de *G. duodenalis in vitro* (Tabla 1).

Soluciones, colorantes y reactivos

PBS (solución salina fosfatada)

- ClNa 8,00 g
- PO₄HNa₂ 1,21 g
- PO₄H₂K 0,34 g
- Agua destilada 1000 ml

Tabla 1. Composición del medio Keister modificado para el cultivo de trofozoítos de *Giardia duodenalis* in vitro.

Componente	Cantidad	Concentración final
Fosfato potásico monohidrato	1 g	4,4 mM
Fosfato monopotásico	0,6 g	4,4 mM
Tripticasa (Peptona caseína)	20 g	
Extracto de levadura	10 g	
D-glucosa	10 g	56 mM
NaCl	2 g	34 mM
Cisteína-HCl	2 g	16,5 mM
Ácido ascórbico	0,2 g	1,1 mM
Citrato férrico	0,0228 g	
Bilis Bovina	0,5 g	
Suero fetal Bovino	100 ml	10%
Vitaminas 100x GIBCO	10 ml	
NaOH	Hasta pH 7,0-7,2	
Agua destilada	c.s.p. 1.0 l	

Fuente: Modificado de Keister (1983).

Solución de SDS

- SDS (Duchefa Biochemie)..... 10 g
- HCl 31,5 µl
- Agua destilada 100 ml

Durante la estandarización del método, se ensayó con múltiples soluciones compuestas por distintas concentraciones de MTT (Bromuro de 3-(4,5 dimetilazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio), además de la adición de distintas concentraciones de PMS (metosulfato de fenazina) o menadiona (Tabla 2).

Los cultivos de *G. duodenalis* se mantuvieron a 37 °C en tubos cónicos de polipropileno, los cuales permiten su adherencia a las paredes, que es fundamental para el crecimiento de los trofozoítos.

El cultivo está formado por una fracción adherida y otra no adherida, la fracción adherida está compuesta en su totalidad por trofozoítos viables, mientras que la

no adherida está compuesta por trofozoítos en división y trofozoítos muertos, los cuales precipitan. Para despegar la fracción adherida de la superficie del tubo, se coloca entre 0 y 4 °C por 30 a 60 minutos, pudiendo observarse al microscopio la separación completa de la superficie.

Los recambios de medio se realizan cada 48 a 72 horas, y en el caso de observarse una monocapa completa de trofozoítos en la superficie del tubo se procede a despegar los trofozoítos y a reducir su concentración a la mitad, para mantenerlos en fase de crecimiento exponencial y evitar la sobrepoblación y muerte.

Curvas de crecimiento de *Giardia duodenalis*

Para la realización de las curvas de crecimiento se partió de tres inóculos iniciales distintos:

- Grupo A – Inóculo inicial de 10.000 trofozoítos/ml
- Grupo B – Inóculo inicial de 50.000 trofozoítos/ml
- Grupo C – Inóculo inicial de 100.000 trofozoítos/ml

Los inóculos fueron cultivados a 37°C en 1 ml de medio, realizando recuentos de trofozoítos adheridos y no adheridos por separado a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas y por triplicado. Los recuentos fueron realizados en cámara de Neubauer, para ello se prepararon soluciones de 100 µl de cultivo, 100 µl de azul tripán y 10 µl de formol al 10%.

Elección de reactivos a utilizar

Con el objetivo de determinar los reactivos a utilizar se ensayaron las siguientes soluciones:

- 1,25 mg/ml MTT + 0,4 mg/ml PMS
- 2,5 mg/ml MTT + 0,4 mg/ml PMS
- 5,0 mg/ml MTT + 0,4 mg/ml PMS
- 2,5 mg/ml MTT
- 2,5 mg/ml MTT + 0,16 mg/ml menadiona

Se partió de un cultivo en fase exponencial, inoculando en una placa de 96 pocillos, una cantidad de 150 µl por pocillo en dilución seriada 1:2, partiendo de una concentración de 1,0x10⁶ trofozoítos/ml. Se incubó por 24 horas a 37°C. Luego se retiró el medio (debido a que el medio utilizado causa una precipitación instantánea del MTT) y se agregaron 90 µl de PBS y 10 µl de la solución de MTT preparada. Se incubó por 75 minutos y se agregaron 50 µl de una

Tabla 2. Composición de soluciones de MTT utilizadas en los ensayos de actividad frente a *Giardia duodenalis*.

Componente									
PBS	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
MTT	50 mg	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg	25 mg	12,5 mg
PMS	4 mg	8 mg	6 mg	4 mg	2 mg	1 mg	0	0	4 mg
Menadiona	0	0	0	0	0	0	1,6 mg	0	0

solución de SDS para disolver los cristales formados. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 570 nm. La decisión de los reactivos a utilizar (así como la de los siguientes parámetros) se basó en la diferencia máxima de absorbancias obtenidas con relación a la absorbancia blanco, tal y como se muestra en las tablas y corroborando que hubiera correlación positiva entre los diferentes tamaños de inóculo y los valores de absorbancia obtenidos.

Determinación de momento de siembra

Con el objetivo de determinar si utilizar cultivos en fase exponencial o estacionaria, se sembró una cantidad de 150 µl por pocillo en dilución seriada 1:2 por triplicado a partir de cultivos de 24 y 72 horas respectivamente, partiendo de una concentración de 1,0x10⁶ trofozoítos/ml.

Se repitió el procedimiento descrito en el apartado anterior para el ensayo de MTT y de igual manera la decisión del momento de siembra se basó en la diferencia máxima de absorbancias obtenidas con relación a la absorbancia blanco, indicando de esta manera en qué fase los trofozoítos llevan a cabo una mayor reducción del MTT.

Tabla 3. Curvas de crecimiento de *Giardia duodenalis*.

Grupo	Horas	Adheridos (Trofozoítos/ml)	No adheridos (Trofozoítos/ml)	Total (Trofozoítos/ml)
A	0			1,00E+04
A	24	6,67E+03	5,00E+03	1,17E+04
A	48	4,60E+04	2,25E+04	6,85E+04
A	72	8,83E+04	5,50E+04	1,43E+05
A	96	2,40E+05	2,20E+05	4,60E+05
A	120	3,50E+05	1,70E+05	5,20E+05
B	0			5,00E+04
B	24	1,87E+05	4,00E+04	2,27E+05
B	48	4,80E+05	1,85E+05	6,65E+05
B	72	5,09E+05	1,90E+05	6,99E+05
B	96	5,18E+05	2,40E+05	7,58E+05
B	120	5,85E+05	2,13E+05	7,98E+05
C	0			1,00E+05
C	24	2,95E+05	1,08E+05	4,03E+05
C	48	5,98E+05	3,50E+05	9,48E+05
C	72	7,21E+05	2,48E+05	9,69E+05
C	96	7,28E+05	2,45E+05	9,73E+05
C	120	7,90E+05	2,48E+05	1,04E+06

Establecimiento de inóculo inicial y determinación de concentraciones de reactivos

Con el objetivo de determinar la concentración de trofozoítos a inocular y la concentración de MTT a utilizar, se repitió el ensayo explicado en los apartados anteriores, en este caso utilizando los siguientes inóculos iniciales: 100.000, 250.000, 500.000, 750.000 y 1.000.000 trofozoítos/ml.

Utilizando una concentración de PMS constante en todos los casos de 4,0 mg/ml y las siguientes concentraciones de MTT:

- 1,25 mg/ml MTT
- 2,5 mg/ml MTT
- 5,0 mg/ml MTT

Luego, habiendo definido la concentración de MTT e inóculo inicial, se repitió el mismo procedimiento utilizando una concentración de MTT constante de 2,5 mg/ml y las siguientes concentraciones de PMS:

- 0,1 mg/ml PMS
- 0,2 mg/ml PMS
- 0,4 mg/ml PMS
- 0,6 mg/ml PMS
- 0,8 mg/ml PMS

RESULTADOS

Curvas de crecimiento de *Giardia duodenalis*

En la Tabla 3 y Figura 1 se observan los resultados obtenidos a partir de cada uno de los inóculos iniciales y el protocolo descrito previamente.

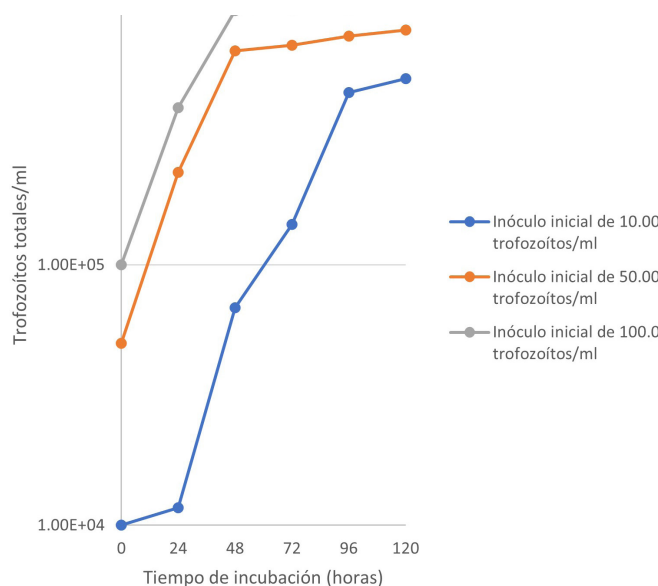


Figura 1. Curvas de crecimiento de *Giardia duodenalis* a partir de diferentes inóculos iniciales.

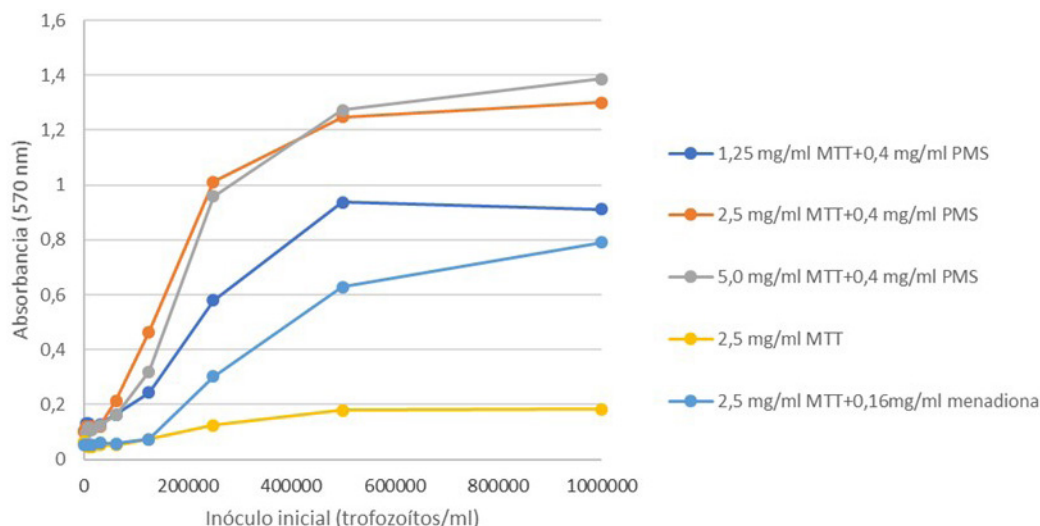


Figura 2. Absorbancias registradas con diferentes reactivos y distintas concentraciones. MTT (1,25 mg/ml, 2,5 mg/ml, 5,0 mg/ml), PMS (0.4 mg/ml), menadiona (0.16 mg/ml).

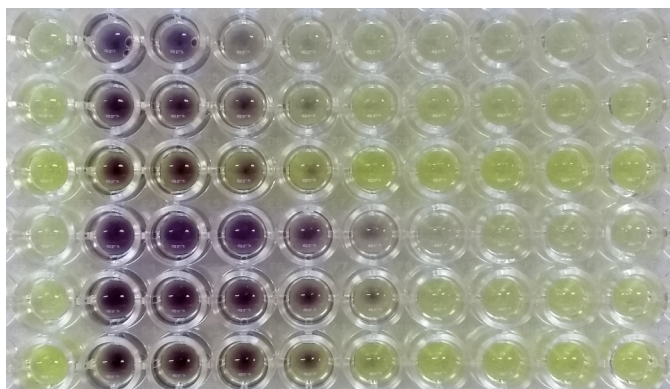


Figura 3. Ensayo del MTT con cultivos de *Giardia duodenalis* en fase estacionaria y fase exponencial. Las tres filas superiores corresponden a concentraciones crecientes de MTT (1,25 mg/ml, 2,5 mg/ml y 5,0 mg/ml de arriba hacia abajo) ensayadas en el cultivo en fase estacionaria, mientras que las tres filas inferiores corresponden a las mismas concentraciones de MTT ensayadas en el cultivo en fase exponencial. La primera columna es el blanco, las siguientes corresponden a concentraciones decrecientes del inóculo inicial en dilución 1:2 de izquierda a derecha.

Elección de reactivos a utilizar

En la figura 2 se observan los resultados de absorbancia obtenidos en cada uno de los ensayos realizados.

Determinación de momento óptimo de siembra

En la figura 3 se observan los resultados de la reacción del MTT en los ensayos realizados. En la figura 4 se observan los resultados de absorbancia obtenidos en cada uno de los ensayos realizados.

Establecimiento de inóculo inicial y determinación de concentraciones de reactivos

En la figura 5 se observan los resultados de la reacción a cada una de las concentraciones de MTT ensayadas. En las figuras 6 y 7 se observan los resultados de absorbancia obtenidos a cada una de las concentraciones de PMS ensayadas.

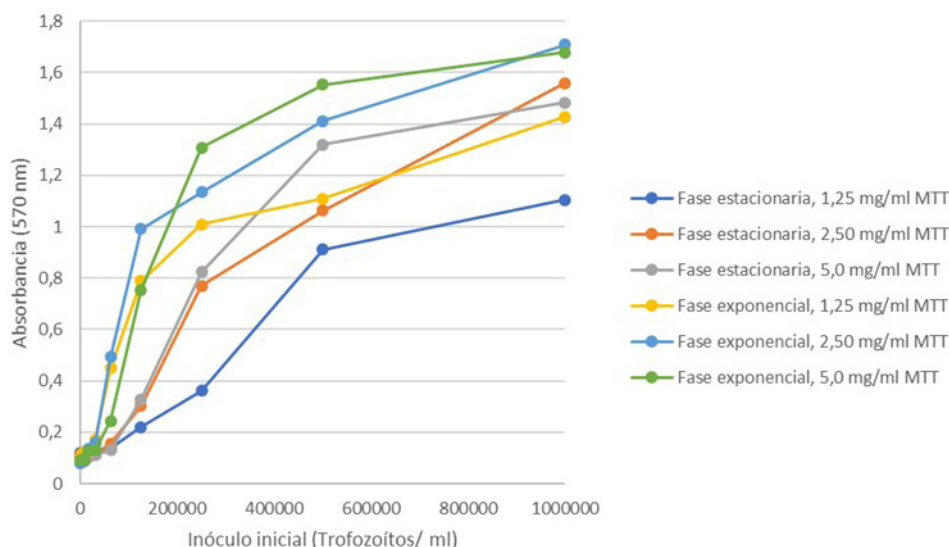


Figura 4. Absorbancias registradas con cultivos de *Giardia duodenalis* en fase estacionaria y exponencial con distintas concentraciones de MTT (1,25 mg/ml, 2,5 mg/ml, 5,0 mg/ml).

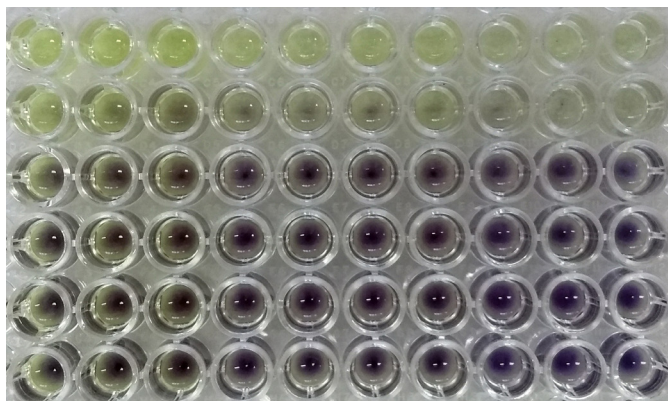


Figura 5. Ensayo con distintos inóculos iniciales de *Giardia duodenalis* y concentraciones de MTT. En las tres primeras columnas de pocillos se utilizó una concentración de 5.0 mg/ml de MTT, en las cuatro columnas siguientes se utilizó una concentración de 2.5 mg/ml de MTT y en las tres últimas columnas se utilizó una concentración de 1.25 mg/ml de MTT. Las filas corresponden a inóculos crecientes de trofozoítos (0, 100.000, 250.000, 500.000, 750.000 y 1.000.000, respectivamente)

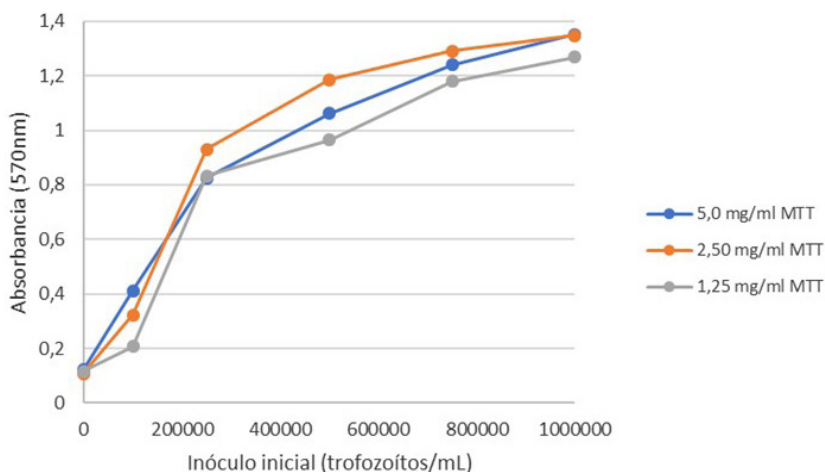


Figura 6. Absorbancias registradas a partir de inóculos de *Giardia duodenalis* y concentraciones de MTT utilizadas.

Resumen del protocolo resultante

A continuación, se expone el protocolo óptimo resultante tras las pruebas iniciales realizadas:

1. Inóculo inicial de 1.000.000 de trofozoítos/ml en 150 µl (150.000 trofozoítos totales), en fase de crecimiento exponencial (24 a 48 horas) en placa multipocillos con fondo en "U".
2. Incubar durante 24 horas a 37°C (Con fármaco a evaluar).

3. Retirar cuidadosamente el medio de cada pocillo en su totalidad.
4. Agregar 90 µl de PBS y 10 µl de solución de 2,5 mg/ml de MTT + 0,6 mg/ml de PMS en cada pocillo.
5. Incubar por 75 minutos a 37°C en oscuridad.
6. Agregar 50 µl de la solución de SDS en cada pocillo.
7. Incubar en oscuridad durante 30 minutos.
8. Lectura de absorbancias en espectrofotómetro a 570 nm.

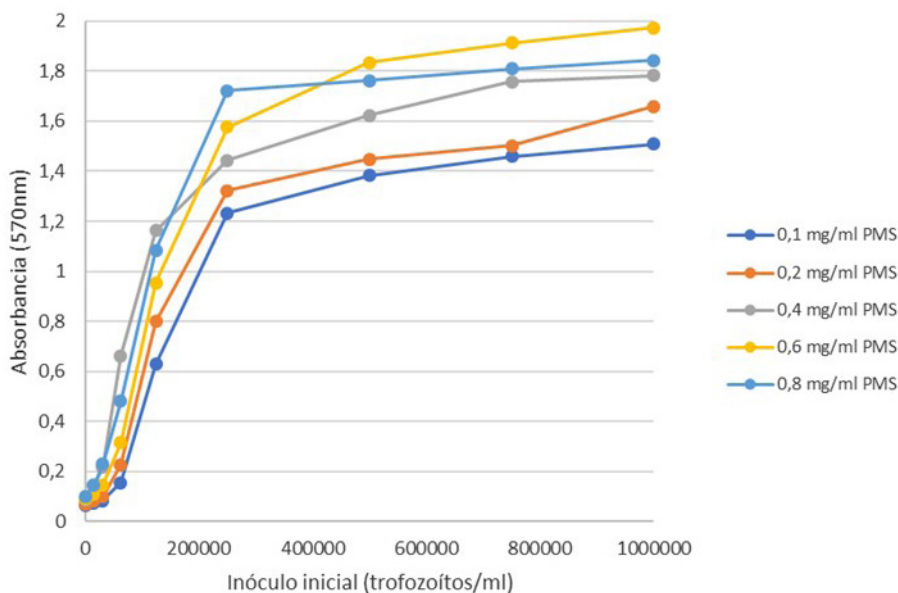


Figura 7. Absorbancias registradas a partir de diferentes inóculos iniciales de *Giardia duodenalis* y concentraciones de PMS (0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,8 mg/ml) utilizadas.

DISCUSIÓN

Puesta a punto del método de reducción del MTT para los ensayos de actividad

El método de reducción del MTT resulta más rápido, preciso y fiable que el recuento microscópico de trofozoítos viables, sin embargo, requiere de una adecuada adaptación al microorganismo en cuestión, en este caso *Giardia duodenalis*, así como una especial atención al diseño del ensayo y a la interpretación de los resultados, lo cual ha sido uno de los objetivos de este trabajo.

Curvas de crecimiento

Tras la realización de curvas de crecimiento de *G. duodenalis* se observó que la fase de crecimiento exponencial tiene una duración de 48 horas tras las cuales el cultivo entra en la fase estacionaria y crece de manera marcadamente más lenta. Estos resultados coinciden con las curvas de crecimiento realizadas por Farthing y colaboradores (1985) al estudiar el efecto de la suplementación del medio de cultivo de *G. duodenalis* con sales biliares.

Además, se observó que con tres inóculos distintos el comportamiento del cultivo es muy similar, únicamente variando en las concentraciones de trofozoítos alcanzadas.

Elección de reactivos a utilizar

Con el objetivo de decidir con qué reactivos dar inicio a los ensayos se realizó una primera prueba, con el fin de determinar principalmente si supone alguna ventaja el uso de un transportador intermediario de electrones como el PMS, que ha sido utilizado tanto en *G. duodenalis* (Carvalho *et al.*, 2014), como en *Trypanosoma cruzi* (Muelas-Serrano, 2000), la Menadiona, que mostró mejores resultados en *Phytomonas davidi* que el ya mencionado PMS (Tarín Tera, 2016), o no utilizar un transportador intermediario de electrones como también se ha visto en ensayos con *G. duodenalis* (Singh *et al.*, 2016). Como se observó en los resultados, se obtuvieron absorbancias notablemente más altas utilizando PMS, por lo que se decidió el uso de este aceptor de electrones en los ensayos siguientes, al igual que fue descrito en el protocolo empleado por Carvalho *et al.* (2014).

Determinación de momento de siembra

Con respecto al momento adecuado para transferir los cultivos en masa a la placa de microtitulación y añadir los productos a ensayar, se determinó que entre 24 y 48 horas, que corresponden a la fase de crecimiento exponencial, es cuando se observó una mayor formación de cristales de formazán por parte de los trofozoítos de *G. duodenalis*. Además, debido a que con este protocolo se busca ensayar la actividad de productos activos, es preferible que los parásitos se

encuentren en fase exponencial de crecimiento, donde mantendrán sus rutas metabólicas activas, las cuales son potenciales dianas para la acción de compuestos con actividad frente a *G. duodenalis*.

Establecimiento de inóculo inicial y determinación de concentraciones de reactivos

Se ensayó con distintos inóculos iniciales y concentraciones de MTT y PMS con el fin de optimizar al máximo la prueba y determinar con qué inóculo y concentración de reactivos se alcanzaba una mayor absorbancia en relación con el blanco, y que además presentara una correlación positiva con la cantidad de trofozoítos en el cultivo. Tomando en cuenta ambos parámetros se estableció que el inóculo inicial óptimo es de $1,0 \times 10^6$ trofozoítos/ml utilizando concentraciones de 2,5 mg/ml de MTT y 0,6 mg/ml de PMS. Sin embargo, cabe mencionar que a partir de inóculos de 500.000 se obtienen resultados similares, al igual que podrían utilizarse concentraciones de 0,2 a 0,8 mg/ml de PMS sin influir excesivamente en los resultados.

Protocolo resultante

El protocolo resultante, descrito en el apartado anterior, ha demostrado ser muy útil, como se pudo corroborar con los ensayos de actividad de aceites esenciales y productos, además de ser un ensayo bastante sencillo y una excelente alternativa al recuento microscópico de trofozoítos viables mediante el uso de azul tripán.

En el caso de *G. duodenalis*, como se pudo comprobar y está descrito por Bénéré *et al.* (2007), al agregar la solución del MTT directamente en el medio de cultivo, ocurre una conversión espontánea del MTT, por lo cual en el caso específico de *G. duodenalis*, a diferencia de otros parásitos, hay que retirar cuidadosamente el medio, reemplazándolo por una solución de PBS. Por tal razón solo se consideró la fracción adherida de trofozoítos. Esto no afectará al resultado de la prueba ya que la fracciones adherida y no adherida se intercambian continuamente durante el cultivo y se consideran una población dinámica (Ghosh *et al.*, 2001; Bénéré *et al.*, 2007).

Se recomienda realizar el mismo procedimiento de retirar el medio en los pocillos "blanco" para así contemplar cualquier conversión inespecífica del MTT que pueda ocurrir. Además, se recomienda que la solución de PBS con la que se reemplace el medio esté previamente atemperada a 37°C con el fin de evitar despegar los trofozoítos de *G. duodenalis* y de esta manera interrumpir con su actividad y retrasar la formación de cristales de formazán.

CONCLUSIONES

El ensayo colorimétrico del MTT es un método eficaz para llevar a cabo ensayos de actividad frente

a trofozoítos de *Giardia duodenalis*, ya que permite descartar de forma rápida y segura aquellos productos sin potencial interés. Esta prueba resulta ser más rápida, precisa y simple una vez estandarizada, que los tradicionales recuentos microscópicos de trofozoítos viables mediante el uso de azul tripán.

El rápido crecimiento de los cultivos de *G. duodenalis*, como fue observado en la realización de las curvas, permite llevar a cabo este ensayo de manera relativamente rápida en comparación a otros parásitos de crecimiento más lento como *T. cruzi*.

El uso del PMS como aceptor de electrones contribuye a una mayor eficacia de la prueba en el caso de *G. duodenalis*, como también se ha observado en ensayos con otros protozoos como *T. cruzi*.

LITERATURA CITADA

- Argüello-García, R., Leitsch, D., Skinner-Adams, T. y Ortega-Pierres, M. G. (2020). Drug resistance in *Giardia*: mechanisms and alternative treatments for giardiasis. *Advances in Parasitology*, 107, 201-282.
- Bartelt, L. A. y Sartor, R. B. (2015). Advances in understanding *Giardia*: determinants and mechanisms of chronic sequelae. *F1000prime reports*, 7.
- Bénére, E., da Luz, R. A. I., Vermeersch, M., Cos, P. y Maes, L. (2007). A new quantitative in vitro microculture method for *Giardia duodenalis* trophozoites. *Journal of Microbiological Methods*, 71(2), 101-106.
- Cama, V. A., y Mathison, B. A. (2015). Infections by intestinal coccidia and *Giardia duodenalis*. *Clinics in laboratory medicine*, 35(2), 423-444.
- Carvalho, T. B. D., Oliveira-Sequeira, T. C. G. y Guimarães, S. (2014). In vitro antigiardial activity of the cysteine protease inhibitor E-64. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(1), 43-47.
- Dixon, B. R. (2021). *Giardia duodenalis* in humans and animals—transmission and disease. *Research in veterinary science*, 135, 283-289.
- Ellis, J. A., Fish, W. R., Sileghem, M. y McOdimba, F. (1993). A colorimetric assay for trypanosome viability and metabolic function. *Veterinary Parasitology*, 50(1-2), 143-149.
- Farthing, M. J., Keusch, G. T. y Carey, M. C. (1985). Effects of bile salts on growth and membrane lipid uptake by *Giardia lamblia*. Possible implications for pathogenesis of intestinal disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 76(5), 1727-1732.
- Ghosh, S., Frisardi, M., Rogers, R. y Samuelson, J. (2001). How *Giardia* swim and divide. *Infection and Immunity*, 69(12), 7866-7872.
- Gillin, F. D. (1987). *Giardia lamblia*: the role of conjugated and unconjugated bile salts in killing by human milk. *Experimental Parasitology*, 63(1), 74-83.
- Hernández Torres, A., García Vázquez, E., Moral Escudero, E., Herrero Martínez, J., & Gómez Gómez, J. (2018). Parasitosis con manifestaciones clínicas gastrointestinales. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(58), 3403-3408.
- Keister, D. G. (1983). Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 77, 487-488.
- Minetti, C., Chalmers, R. M., Beeching, N. J., Probert, C., & Lamden, K. (2016). Giardiasis. *Bmj*, 355.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
- Muelas-Serrano, S., Nogal-Ruiz, J. J. y Gómez-Barrio, A. (2000). Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitology Research*, 86(12), 999-1002.
- Rojas-López, L., Marques, R. C., & Svärd, S. G. (2022). *Giardia duodenalis*. *Trends in Parasitology*.
- Silva, R. K., Pacheco, F. T., Martins, A. S., Menezes, J. F., Costa-Ribeiro Jr, H., Ribeiro, T. C., Mattos, A., Oliveira, R., Soares, N. y Teixeira, M. C. (2016). Performance of microscopy and ELISA for diagnosing *Giardia duodenalis* infection in different pediatric groups. *Parasitology International*, 65(6), 635-640.
- Singh, G., Arora, A., Mangat, S. S., Rani, S., Kaur, H., Goyal, K., Sehgal, R., Kumar Maurya, I., Tewari, R., Choquesillo-Lazarte, R., Sahoo, S. y Kaur, N. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of chalconyl blended triazole allied organosilatrane as giardicidal and trichomonocidal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 287-300.
- Strober, W. (1997). Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current protocols in immunology*, 21(1), A-3B.
- Tarín Tera, R. (2016). Adaptación del método colorimétrico del MTT a los ensayos de actividad sobre *Phytomonas sp.* (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Tolosa, L., Donato, M. T. y Gómez-Lechón, M. J. (2015). General cytotoxicity assessment by means of the MTT assay. *Protocols in in vitro hepatocyte research*, 333-348.

Recibido: 9 de junio de 2023

Aceptado: 25 de septiembre de 2023

Diversidad de cercarias emergentes de *Heleobia parchappii* (Gastropoda) en arroyos del noreste de la provincia de Buenos Aires

Diversity of cercariae emergent from *Heleobia parchappii* (Gastropoda) in streams from the northeast of Buenos Aires Province

Achiorno Cecilia L.^{1*}, Nuñez Verónica², Díaz Julia I.¹

RESUMEN: Estudiar la biodiversidad de un ambiente es importante para comprender el funcionamiento de los ecosistemas. Los ambientes dulceacuícolas de Argentina poseen una fauna variada de invertebrados, siendo los digeneos componentes muy importantes. Entre los hospedadores intermediarios de digeneos, el gasterópodo *Heleobia parchappii* se encuentra ampliamente distribuido y posee relevancia ecológica, sin embargo el conocimiento sobre su diversidad parasitaria en muchos de los ambientes que habita requiere ser ampliado. El objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de la diversidad de digeneos parasitando a *H. parchappii* en arroyos del noreste bonaerense, mediante la caracterización morfológica de las cercarias que de ellos emergen. Entre 2015 y 2022 se colectaron 11589 ejemplares de *H. parchappii* en los arroyos Martín, Carnaval y Buñirigo (La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina), los cuales se transportaron al laboratorio y se mantuvieron en acuarios. Posteriormente se expusieron a luz directa, y se evaluó la emergencia de cercarias, las cuales fueron estudiadas morfológicamente y clasificadas en morfotipos. Se calculó el índice de emergencia (número de caracoles de los que emerge el morfotipo *i*/número total de caracoles observados), así como la riqueza de morfotipos emitidos en cada arroyo. Se identificaron 12 morfotipos de cercarias que se clasificaron en diez familias. Los resultados alcanzados permiten incrementar el registro de cercarias conocidas para *H. parchappii* en los arroyos estudiados, donde se puede asumir la existencia de una fauna diversa acorde a las características del ambiente. Además, se observó que el índice de emergencia fue mayor en el arroyo Buñirigo. Este trabajo evidencia la necesidad de realizar nuevos estudios para evaluar en mayor profundidad la diversidad de larvas de digeneos y los efectos ambientales y temporales sobre su comunidad.

Palabras clave: cercarias, digeneos, estadios larvales, morfotipos, pampa húmeda.

ABSTRACT: Researching the biodiversity of an environment is important to understand the ecosystems functioning. The freshwater environments of Argentina have varied fauna, being the digeneans very important components. Among the digeneans' intermediate hosts, the gastropod *Heleobia parchappii* is widely distributed and has ecological relevance; however, knowledge about its parasitic diversity in many of the environments it inhabits needs to be expanded. The objective of this research is to contribute to the knowledge of the diversity of digeneans parasitizing *H. parchappii* in streams of northeastern Buenos Aires, through the morphological characterization of the cercariae that emerge from them. Between 2015 and 2022, 11589 specimens of *H. parchappii* were collected in the Carnaval, Martín, and Buñirigo streams (La Plata, Buenos Aires Province, Argentina), transported to the laboratory and kept in aquariums. Subsequently, they were exposed to direct light, the emergence of cercariae was evaluated, which were studied morphologically and classified according to morphotypes. The Emergence Index (number of snails from which morphotype *i* emerges/total number of snails observed) was calculated, as well as the morphotype richness for each stream. Twelve cercariae morphotypes were identified and classified into ten families. The results achieved allow increasing the record of known cercariae in *H. parchappii* in the studied streams, where the existence of a diverse fauna can be assumed according to the characteristics of the environment. In addition, it was observed that the Emergence Index was higher in Buñirigo stream. This study shows the need to carry out new studies to evaluate in greater depth the diversity of digenean larvae and the environmental and temporal effects on their community.

Keywords: cercariae, digeneans, larval stages, morphotypes, humid pampa.

¹ Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE), (CCT, CONICET-UNLP-CIC)

² División Zoología Invertebrados Museo de La Plata (FCNyM-UNLP - CIC)

INTRODUCCIÓN

Conocer la biodiversidad de un determinado ambiente es importante para entender el funcionamiento de los ecosistemas y para intervenir en su conservación. La heterogeneidad ambiental contribuye a la presencia de diversos vertebrados e invertebrados y en consecuencia favorece la proliferación de parásitos, principalmente de aquellos con ciclos de vida heteroxenos como los digeneos (Merlo *et al.*, 2022). Este es uno de los grupos de endoparásitos más diversos; su ciclo de vida incluye un primer hospedador intermediario (HI), generalmente un gasterópodo para el que son altamente específicos, al cual ingresa el miracidio de forma activa o pasiva por ingesta del huevo. En el gasterópodo se desarrollan esporocistos y/o redias, que dan origen a las cercarias. Este último estadio, de vida libre, puede seguir distintos caminos según la especie, por ejemplo, enquistarse como metacercaria en el ambiente, ingresar en un segundo HI originando una metacercaria, penetrar activamente en el hospedador definitivo (HD) o enquistarse en tejidos o cavidades en el primer HI (incluso dentro del esporocisto o la redia). El adulto se desarrolla en el HD, un vertebrado en la gran mayoría de los casos (Hechinger, 2007; Alda, 2011; Lunaschi, 2017).

Los digeneos son componentes muy importantes en los ecosistemas, participan en el flujo de biomasa, en la conectividad de la red alimentaria, actúan sobre las interacciones predador-presa y sobre la evolución de otras especies (Lafferty *et al.*, 2008; Campanini *et al.*, 2022). Estos parásitos pueden verse afectados por los cambios ambientales, que actúan directamente sobre los estadios de vida libre o indirectamente a través de sus hospedadores, alterando su distribución. La susceptibilidad demostrada por estos organismos a dichos cambios ha llevado, desde hace varios años, a proponerlos como bioindicadores (Vidal-Martínez *et al.*, 2010; Sures *et al.*, 2017; Campanini *et al.*, 2022). Sin embargo, para poder utilizar a los parásitos como bioindicadores es necesario primero tener un conocimiento acabado sobre la identidad y distribución de las especies en los ambientes de interés.

En los ambientes dulceacuícolas de Argentina habita una fauna rica de digeneos, por lo que se ha sugerido que pueden considerarse en el desarrollo de investigaciones parasitológicas (Merlo *et al.*, 2014). Si bien la mayoría de los estudios sobre digeneos larvales en la Argentina se han focalizado en especies de importancia sanitaria y/o económica (Sanero *et al.*, 2018; Soler, 2018; Mignaqui *et al.*, 2020; entre otros), muchos autores han centrado su atención en gasterópodos que son componentes habituales y conspicuos de los ecosistemas, como por ejemplo las especies del ampliamente distribuido

género *Heleobia* (d'Orbigny) (Cochliopidae) (Alda, 2011; Merlo *et al.*, 2014, 2022; Campanini *et al.*, 2022; entre otros). Dentro de este género, la especie *Heleobia parchappii* (d'Orbigny) se distribuye no sólo en Argentina sino también en Uruguay y Brasil, en donde juega un importante rol en las redes tróficas (Tietze y De Francesco, 2010; Cazzaniga, 2011a, b), configurándose en un excelente modelo para estudios ecológicos y ecotoxicológicos (Achiorno *et al.*, 2023).

En cuanto a los estudios parasitológicos, Merlo *et al.* (2022) listan 322 registros de digeneos parasitando moluscos en Argentina, de los cuales aproximadamente un tercio corresponden al género *Heleobia*, siendo *H. parchappii* la especie con más registros luego de *H. australis* (d'Orbigny). Sobre la totalidad de registros de digeneos en gasterópodos mencionados por Merlo *et al.* (2022), aproximadamente el 20% corresponde a cercarias en cuerpos de agua dulce del noreste (NE) de la provincia de Buenos Aires. Los reportes se concentran principalmente en el Río de La Plata, el río Luján, la cuenca del Riachuelo, las lagunas Los Talas y Chascomús, y cuerpos de agua en los bosques de Palermo o el zoológico de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Particularmente para el género *Heleobia*, el porcentaje de registros en el NE de la provincia de Buenos Aires desciende a menos del 10%; correspondiendo al zoológico de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires en primer lugar, el Río de La Plata en segundo lugar, a continuación la laguna Los Talas y el arroyo Los Ranchos, encontrándose en menor proporción registros en el río Luján y la laguna de Chascomús. A su vez, si se considera sólo a *H. parchappii*, el porcentaje de registros disminuye aún más. Por tanto, a pesar de los estudios realizados hasta el momento, aún es necesario incrementar el conocimiento sobre la diversidad parasitaria de esta especie de gasterópodo a lo largo de su distribución.

Considerando lo planteado previamente, el objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de la diversidad de digeneos parasitando a *H. parchappii* en arroyos del NE de la provincia de Buenos Aires, a partir de la caracterización morfológica de las cercarias que emergen de este gasterópodo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos de *Heleobia parchappii* entre los años 2015 y 2022 en los arroyos periurbanos Carnaval, Martín, y Buñirigo del partido de La Plata (Fig. 1). Los arroyos Carnaval y Martín se unen y vierten en la Planicie Costera y no al Río de La Plata directamente, conformando la cuenca Martín-Carnaval. En la sección alta presenta una alta predominancia del uso fruti-hortícola intensivo del suelo, en la sección media posee la mayor densidad poblacional, industrial y comercial, clasificándose como periurbana, siendo esta zona la que aporta a

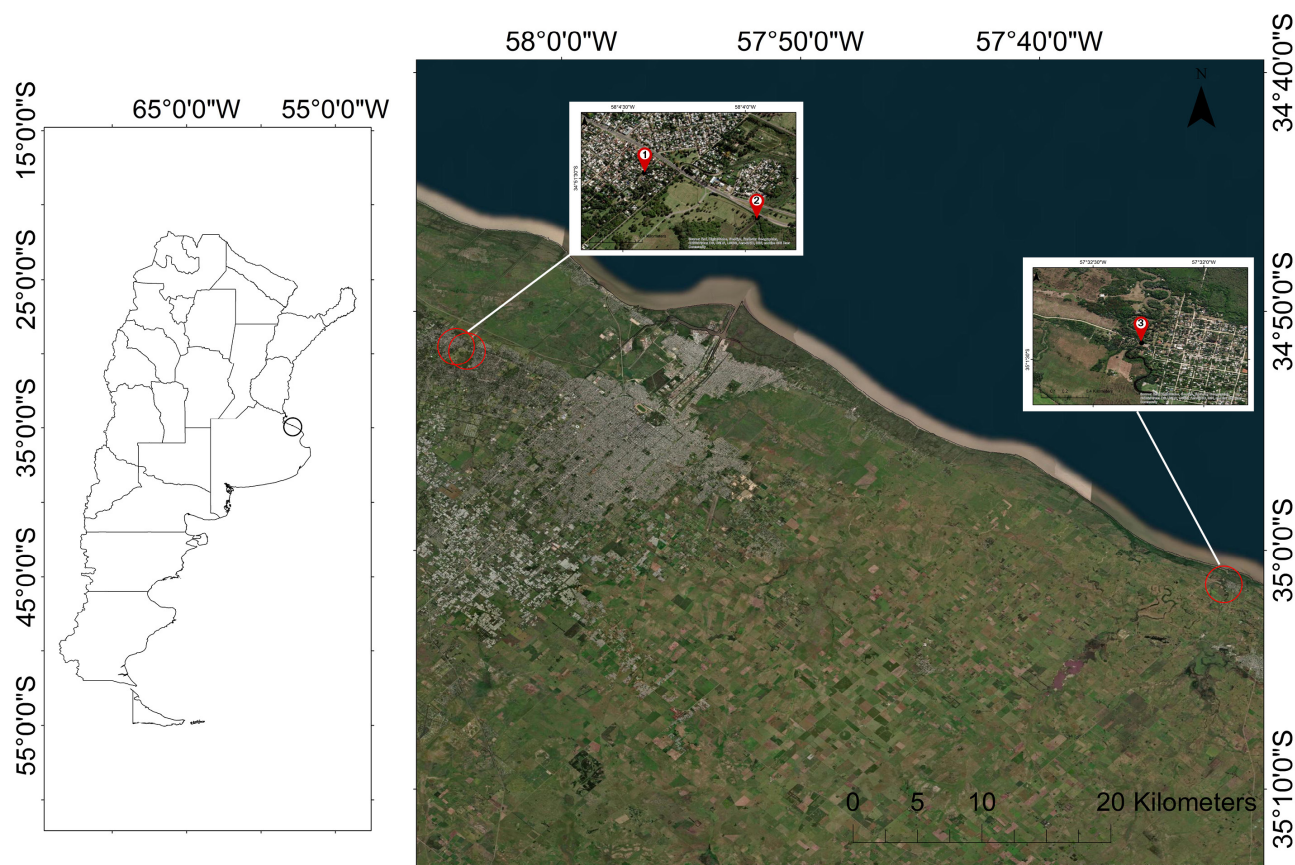


Figura 1. Sitios de muestreo en los arroyos periurbanos Carnaval (1), Martín (2), y Buñirigo (3) del partido de La Plata.

la cuenca desechos domiciliarios, basura y descargas industriales. Además, ambos arroyos son perennes y en todo su recorrido presentan numerosas especies de macrófitas. El arroyo Martín en su curso inferior, previamente a la confluencia con el Carnaval, atraviesa el Parque Ecológico de La Plata (Ferreira, 2015; Arias, 2019; Paz, 2019). El arroyo Buñirigo tiene una cuenca donde la actividad humana es predominantemente ganadera, salvo por algunos cultivos agrícolas en el tramo superior, y, en el segmento medio inferior, en las proximidades de la ciudad de Magdalena, recibe efluentes industriales (Ferreira, 2015).

Se seleccionó un sitio de muestreo por arroyo: en el arroyo Martín ($34^{\circ} 51' 39.766''\text{S}$, $58^{\circ} 3' 57.046''\text{O}$) en el tramo medio, a la vera del Camino Centenario y la entrada del Parque Ecológico de La Plata, y en el arroyo Carnaval el punto de muestreo se ubicó a una latitud similar que el sitio en el arroyo Martín ($34^{\circ} 51' 28.610''\text{S}$, $58^{\circ} 4' 24.760''\text{O}$), mientras que en el arroyo Buñirigo ($35^{\circ} 1' 25.392''\text{S}$, $57^{\circ} 32' 16.843''\text{O}$) el punto de muestreo se ubicó en el sector inferior de la cuenca, en la Ruta 11, cercano a la ciudad de Magdalena. En todos los sitios se colectaron de manera manual especímenes de *H. parchappii*, los cuales se hallaban sobre y dentro del sustrato; los mismos fueron trasladados al laboratorio en donde se colocaron en acuarios, en los que paulatinamente se reemplazó el agua del ambiente por agua corriente declorinada. La identificación de los caracoles fue confirmada por un especialista.

Para evaluar la emergencia de cercarias, tandas de aproximadamente 200 caracoles cada una se expusieron a luz directa durante dos horas, en cápsulas individuales con agua corriente declorinada. Las cápsulas se observaron bajo lupa, y las cercarias halladas se colectaron con micropipeta, colocándose entre porta y cubreobjetos para su estudio bajo microscopio óptico (Olympus BX51®). Se tomaron fotografías con una cámara digital anexa al microscopio. Este procedimiento se repitió al menos dos veces al día durante tres días.

La evaluación de digeneos mediante la observación de emergencia de larvas es útil, ya que se pueden observar cercarias en estado maduro, y de esta manera reconocer fácilmente los atributos morfológicos que permiten clasificarlas siguiendo claves y bibliografía específica (Schell, 1985; Ostrowski de Núñez, 1992, 1998, 2001; Alda, 2011; Merlo *et al.*, 2014; Quintana y Ostrowski de Núñez, 2014).

Finalmente, se calculó un descriptor cuantitativo que denominamos *Índice de emergencia* (IE) = Número de caracoles de los que emerge el morfotipo *i* / Número total de caracoles observados, expresado como porcentaje. Este descriptor se calculó para los distintos morfotipos en los tres arroyos estudiados y para la totalidad de las cercarias observadas en cada arroyo. El IE calculado para este estudio se basa en el descriptor cuantitativo prevalencia (Bush *et al.*, 1997). Además, se calculó la riqueza de morfotipos (S) por arroyo estudiado.

RESULTADOS

Se evaluó la emergencia de cercarias sobre un total de 11589 caracoles (7849 del arroyo Martín, 2892 del arroyo Carnaval y 366 del arroyo Buñirigo), a partir de la cual se reconocieron 12 morfotipos que se clasificaron dentro de 10 familias (Tabla 1). Las medidas provistas corresponden a largo y ancho.

Superfamilia Pronocephaloidea

Familia Notocotylidae

Cercaria Notocotylidae (Fig. 2a): Cuerpo oval (370 x 220 μ) con abundante pigmento y células cistógenas. Ventosa oral subterminal. Tres ocelos, el central de menor tamaño, ubicándose los laterales levemente posteriores. Vesícula excretora redondeada y pequeña, túbulos colectores unidos detrás de los ocelos. Los túbulos contienen numerosos gránulos. Cola (600 μ) larga y robusta en su base.

Superfamilia Opisthorchioidea

Familia Heterophyidae

Pleurolophocercaria (Fig. 2b): Cuerpo piriforme (80 x 80 μ). Ventosa oral esférica, con abertura subterminal. Espinas aciculares anteriores a la abertura oral. Un par de ocelos pigmentados y siete pares de glándulas de penetración dispuestas a ambos lados del cuerpo. Vesícula excretora grande, con células epiteliales bien evidentes. Cola (225 μ) levemente estriada transversalmente, con una pequeña aleta ventral que se extiende desde la base hacia la parte media de la cola disminuyendo al extremo final. Las cercarias baten enérgicamente la cola de lado a lado mientras nadan.

Cercaria Pygidiopsis (Fig. 2c): Cuerpo piriforme (170 x 120 μ), con 5 pares de glándulas de penetración ubicadas detrás de un par de ocelos pigmentados laterales y posteriores a la ventosa oral subterminal. Vesícula excretora lobulada, pudiendo ocupar la mitad del cuerpo. Cola larga (340 μ), en la que se reconoce un anillado en la mitad anterior.

Cercaria Leighia (Fig. 2d): Cuerpo ovoide (70 x 70 μ). Ventosa oral subterminal, protruyente, con una hilera de espinas anterior. Dieciséis glándulas de penetración posteriores y dos ocelos laterales a la ventosa oral. Vesícula excretora grande, ovoide, comprimida levemente en la zona central, tomando forma de corazón. Cola muy larga (200 μ), hasta tres veces la longitud del cuerpo, con aspecto aserrado en los bordes, salvo el extremo posterior.

Familia Cryptogonimidae

Cercaria Cryptogonimidae (Fig. 2e): Cuerpo piriforme (240 x 80 μ), con un par de ocelos pigmentados posteriores a la ventosa oral. Siete pares

de glándulas de penetración posteriores a las manchas oculares; sus conductos desembocan en el extremo anterior, dorsales a la ventosa oral. Vesícula excretora en forma de "V". Cola (340 μ) con amplia aleta dorsal que se continúa con una ventral. Las cercarias nadan enérgicamente batiendo la cola de lado a lado. En la posición de descanso el cuerpo adopta la forma de una "J".

Superfamilia Echinostomatoidea

Familia Echinostomatidae

Cercaria Echinostomatidae (Fig. 2f): Cuerpo ovoide (74 x 30 μ). Ventosa oral subterminal, en su parte anterior se distingue un collar cefálico poco desarrollado, con espinas pequeñas. Faringe muscular bien desarrollada; dos ciegos intestinales laterales a la ventosa ventral, llegando al borde posterior de ésta, que se ubica posterior a la línea media del cuerpo. Vesícula excretora redondeada. Se observan corpúsculos refringentes en canales colectores del sistema excretor. Cola corta (37 μ) y ancha. El cuerpo se alarga en el movimiento natatorio muy activo.

Familia Psilostomidae

Cercaria Psilostomidae (Fig. 3a): Cuerpo oval (340 x 180 μ), pigmentado. Ventosa oral redondeada. Se distinguen dos manchas semejantes a ocelos posteriores y laterales a la ventosa oral. Prefaringe presente, faringe con musculatura desarrollada, esófago largo, y ciegos intestinales rodeando anteriormente a la ventosa ventral y alcanzando la zona posterior del cuerpo. Ventosa ventral grande y protruyente. Vesícula excretora pequeña. Cola tan larga como el cuerpo (320 μ), con una aleta dorsal ancha que inicia dorsalmente muy cerca de la base y se extiende visiblemente rodeando la cola para terminar en la parte media ventral.

Superfamilia Apocreadioidea

Familia Apocreadiidae

Cercaria Homalometridae (Fig. 3 b): Cuerpo ovoide (180 x 110 μ) con pequeñas espinas, al menos en la parte anterior. Un par de manchas ocelares posteriores a la ventosa oral entre las que se distingue la faringe. Ventosa oral subterminal, ventosa ventral ubicada en la mitad del cuerpo. Vesícula excretora epitelio-cística, redondeada. Cola simple (150 μ) casi tan larga como el cuerpo.

Superfamilia Microphalloidea

Familia Microphallidae

Cercaria Xiphidiocercaria tipo Ubiquita (Fig. 3c): Cuerpo pequeño y ovoide (165 x 113 μ). Ventosa oral subterminal, la cual porta un estilete fino y recto. Vesícula excretora en forma de corazón, que puede expandirse y tomar forma de V al llenarse. Cola

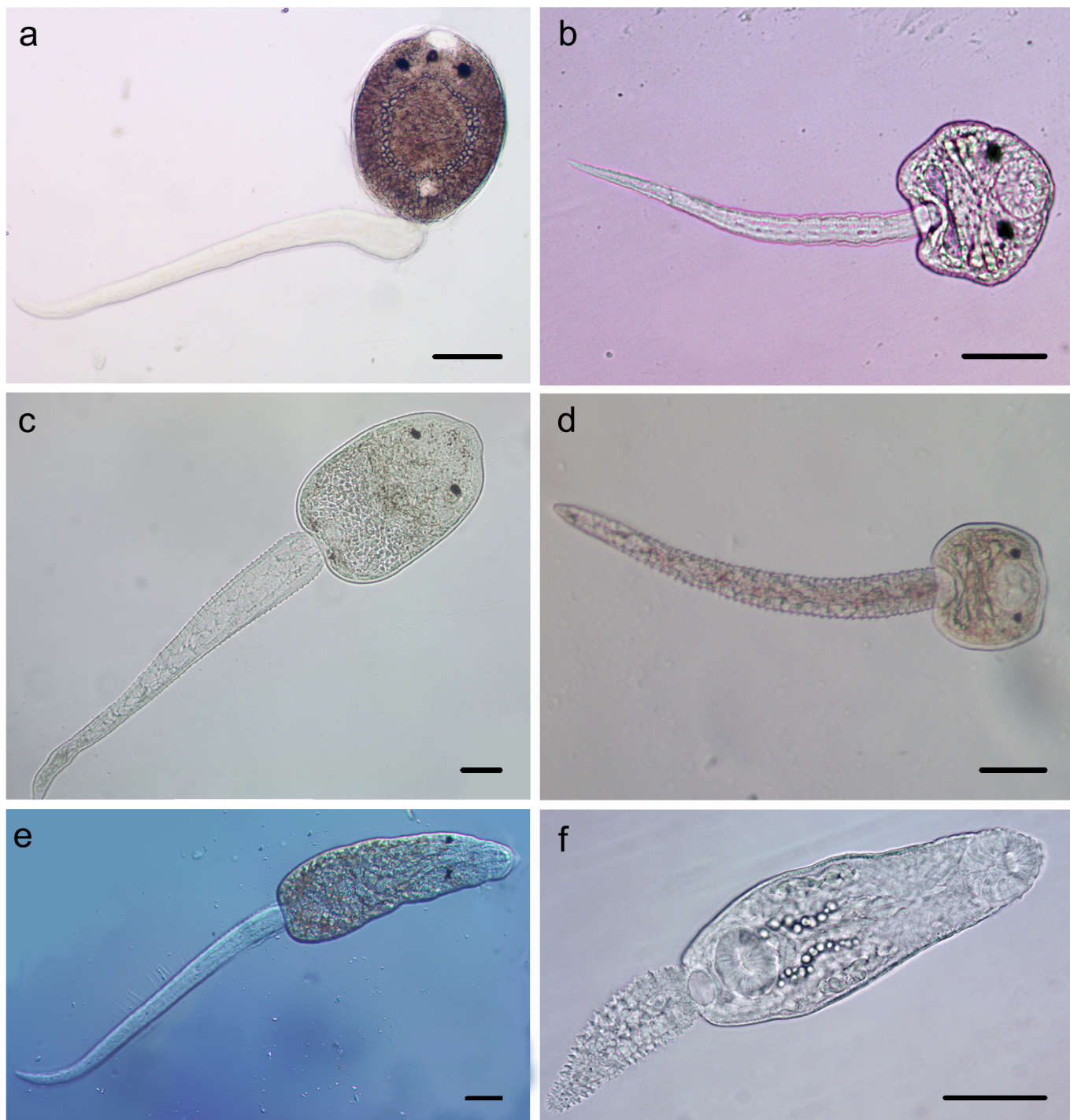


Figura 2. Morfotipos de cercarias emitidas por *Heleobia parchappii* observados vivos al microscopio óptico. a) Cercaria Notocotylidae, b) Cercaria Pleurolophocercaria, c) Cercaria *Pygidiopsis*, d) Cercaria *Leighia*, e) Cercaria Cryptogonimidae, f) Cercaria Echinostomatidae. Escalas: a=100µ; b, f=50µ; c, e=40µ; d=20µ.

estriada transversalmente (122 µ). Las cercarias se mueven activamente.

Familia Lecithodendriidae

Cercaria Xiphidocercaria tipo *Virgula* (Fig. 3d): Cuerpo pequeño y ovoide (160 x 73 µ). Ventosa oral subterminal, en la que se observa un estilete con un órgano bilobado o piriforme (vírgula) en la base. Ventosa ventral ubicada en la mitad posterior del cuerpo. Vesícula excretora en forma de “U”, que al expandirse puede tomar forma lobulada. Cola estriada (100 µ).

Superfamilia Plagiorchioidea

Familia Plagiorchiidae o Telorchiidae

Cercaria Xiphidocercaria tipo *Armata* (Fig. 3e): Cuerpo pequeño y ovoide (223 x 188 µ). Ventosa oral subterminal, en la que se observa un estilete. Ventosa ventral ubicada en la mitad posterior del cuerpo, evidentemente más pequeña que la oral. Vesícula excretora en forma de “Y” con la rama posterior muy corta. Cola estriada (176 µ).

Superfamilia Haploporoidea

Familia Haploporidae

Cercaria Haploporidae (Fig. 3f): Cuerpo ovoide (270 x 150 μ), cubierto de espinas, observándose abundantes células cistógenas. Ventosa oral oval, subterminal. Un par de ocelos pigmentados posteriores a la ventosa oral. Ventosa ventral esférica y protruyente. Vesícula excretora en forma de "Y". Cola simple (260 μ) sin engrosamientos, comienza en la zona ventrosubterminal del cuerpo. La cola se desprende rápidamente, a continuación comienza la formación

de un quiste, en el cual se pueden observar las dos ventosas y una faringe muscular desarrollada entre ambas.

En el arroyo Martín se detectaron 11 morfotipos, mientras que tanto en el arroyo Carnaval como en el Buriñigo se registraron 8 morfotipos diferentes. El mayor IE total se observó en el arroyo Buriñigo, y el menor en el arroyo Carnaval. Los morfotipos Notocotylidae, Pleurolophocercaria y Cryptogonimidae mostraron los valores más elevados de IE en los tres arroyos (Fig. 4).

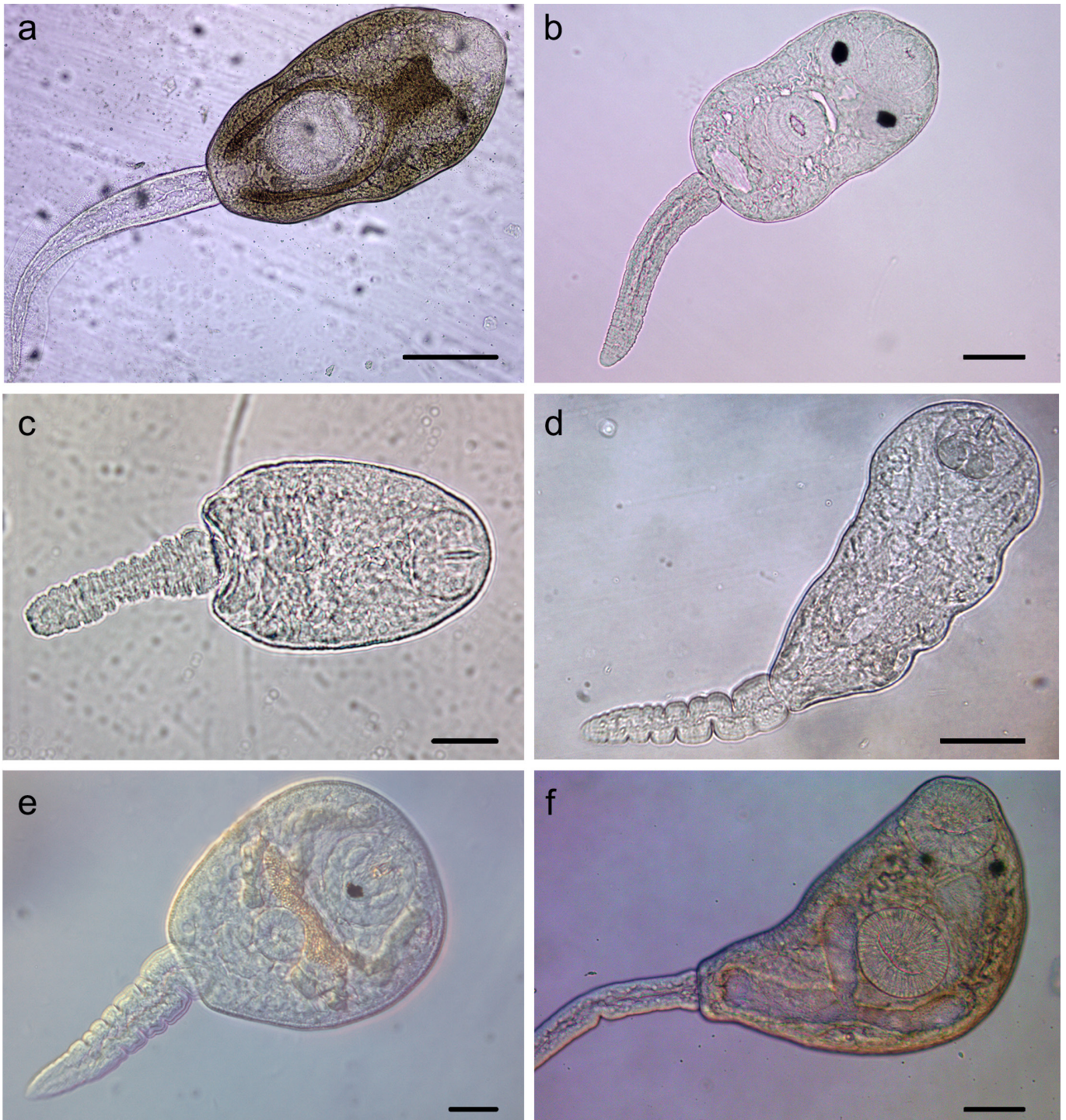


Figura 3. Morfotipos de cercarias emitidas por *Heleobia parchappii* observados vivos al microscopio óptico. a) Cercaria Psilostomidae, b) Cercaria Homalometridae c) Cercaria Xiphidiocercaria tipo Ubiquita, d) Cercaria Xiphidiocercaria tipo Virgula, e) Cercaria Xiphidiocercaria tipo Armata, f) Cercaria Haploporidae. Escalas: a=100 μ ; b, c, d, e, f=40 μ .

Tabla 1. Morfotipos de cercarias parasitando a *Heleobia parchappii* en arroyos periurbanos del NE de la provincia de Buenos Aires. Se listan los posibles segundos hospedadores intermediarios (HI) y los posibles hospedadores definitivos (HD). En la última columna se incluye bibliografía donde se registran morfotipos descriptos para Argentina similares a los hallados en este trabajo.

Familia	Morfotipo	Arroyo	Segundo HI	HD	Referencias
Notocotylidae	Cercaria Notocotylidae	Buñirigo, Carnaval, Martín	Ambiente	Aves y Mamíferos	Alda, 2011; Merlo et al., 2022
	Pleurolophocercaria	Buñirigo, Carnaval, Martín	Peces	Aves	Ostrowski de Núñez, 1993, 1996, 1998, 2001; Merlo et al., 2022
Heterophyidae	Cercaria <i>Pygidiopsis</i>	Buñirigo, Carnaval, Martín	Peces	Aves y Mamíferos	Simões et al., 2009; Merlo et al., 2022
	Cercaria <i>Leighia</i>	Buñirigo, Carnaval, Martín	Peces	Aves y Mamíferos	Ostrowski de Núñez, 1992; Merlo et al., 2022
Cryptogonimidae	Cercaria Cryptogonimidae	Buñirigo, Carnaval, Martín	Peces, raramente Anfibios	Anfibios, Peces y Reptiles	Alda, 2011; Merlo et al., 2022
Echinostomatidae	Cercaria Echinostomatidae	Buñirigo, Carnaval, Martín	Peces	Aves y Mamíferos	Martorelli, 1985; Merlo et al., 2022
Psilostomidae	Cercaria Psilostomidae	Martín	Misma especie de molusco	Aves y Mamíferos	Alda, 2011; Merlo et al., 2022
Apocreadiidae	Cercaria Homalometridae	Martín	Oligoquetos	Peces	Merlo et al., 2022
Microphallidae	Xiphidocercaria tipo Ubiquita	Buñirigo, Carnaval	Artrópodos	Aves y Mamíferos	Merlo et al., 2022
Lecithodendriidae	Xiphidocercaria tipo Virgula	Carnaval, Martín	Artrópodos	Aves y Mamíferos	Merlo et al., 2022
Plagiorchiidae o Telorchidae	Xiphidocercaria tipo Armata	Buñirigo, Martín	Artrópodos, moluscos	Anfibios, Tortugas	Merlo et al., 2022
Haploporidae	Cercaria Haploporidae	Carnaval, Martín	Artrópodos	Aves y Mamíferos	Merlo et al., 2022

DISCUSIÓN

A partir del análisis de los 12 morfotipos de cercarias hallados en este trabajo, se puede inferir la presencia de representantes de al menos diez familias de digeneos en arroyos del NE de la provincia de Buenos Aires, cuyas especies utilizan como primer hospedador intermediario a *Heleobia parchappii* (Tabla 1). Este gasterópodo es reconocido como hospedador intermediario para al menos 25 especies de digeneos en Argentina, conformando ensambles ricos en especies (Martín et al., 2019; Parietti et al., 2020; Merlo et al., 2022).

En cuanto a los cuerpos de agua del NE de la provincia de Buenos Aires, diez familias fueron registradas previamente asociadas a *H. parchappii*.

Así, Merlo et al. (2022) listan 14 especies o morfotipos: *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Cryptogonimidae), *Echinochasmus talaensis* Martorelli, 1985, *Stephanoprora uruguayense* Holcman-Spector & Olagüe, 1989 (Echinostomatidae), *Saccocoelioides octavus* Szidat, 1970 (Haploporidae), *Ascocotyle (Ascocotyle) secunda* Ostrowski de Núñez, 2001, *Ascocotyle (Ascocotyle) tertia* Ostrowski de Núñez, 2001, *Ascocotyle (Leighia) hadra* Ostrowski de Núñez, 1992, *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* Stunkard & Haviland, 1924, *Pygidiopsis crassus* Ostrowski de Núñez, 1995 (Heterophyidae), *Genarchella genarchella* Travassos, Artigas & Pereira, 1928 (Hemiuridae), *Levinseniella cruzi* Travassos, 1920, *Microphallus szidati* Martorelli, 1986 (Microphallidae), 21

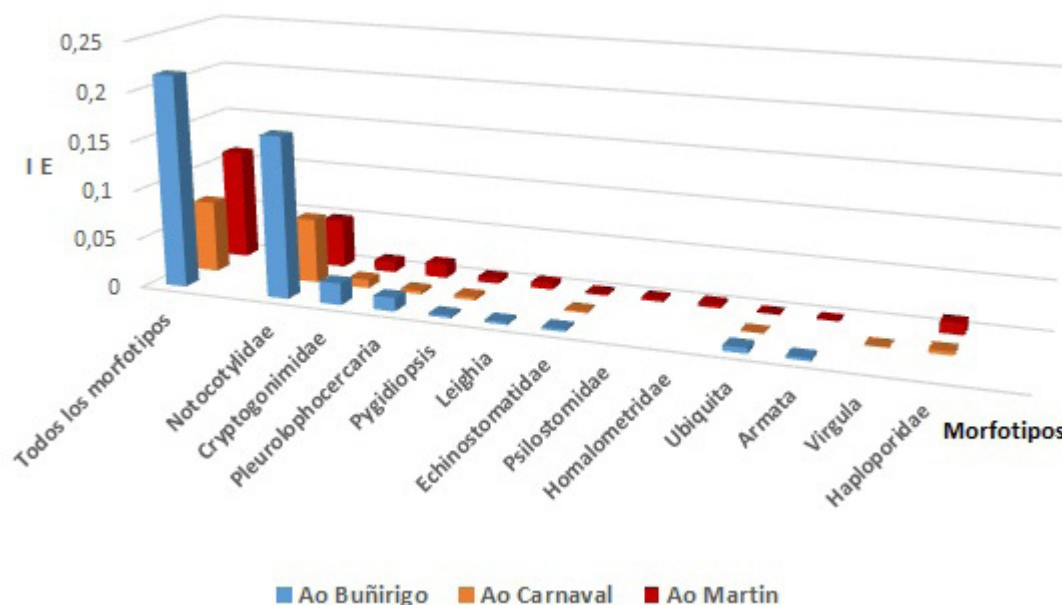


Figura 4. Índice de emergencia (IE) de cercarias parasitando a *Heleobia parchappii* en arroyos del NE de la Provincia de Buenos Aires. IE (eje Y) para todos los morfotipos y para cada morfotipo observado (eje X) en cada arroyo (Ao) estudiado.

Psilochasmus oxyurus (Creplin, 1825) (Psilostomidae) y *Cercaria chascomusi* (Schistosomatidae). Además, Martín et al. (2019) reportan en una laguna urbana del NE bonaerense representantes de las familias Notocotylidae y Apocreadiidae (citada como Homalometridae). A partir de este trabajo, salvo Hemiuriidae y Schistosomatidae, se corrobora la presencia del resto de las familias asociadas a *H. parchappii* en cuerpos de agua del NE bonaerense, a la vez que permite asumir la presencia de ejemplares de la superfamilia Plagiorchioidea Lühe, 1901 (Tabla 1).

Sobre la base de los morfotipos larvales determinados en nuestro trabajo y considerando la bibliografía disponible (Ostrowski de Núñez, 1987, 1993, 1996, 1998; entre otros) se puede inferir que al menos 12 especies de digeneos cumplen su ciclo en los arroyos estudiados. Entre los digeneos parásitos de peces, *Acanthostomum gnerii* (Cryptogonimidae), *Saccocoelioides carolae* Lunaschi, 1984 (Haploporidae), y *Homalometron pseudopallidum* Martorelli, 1986 (Apocreadiidae) se mencionan en la revisión de Ostrowski de Núñez et al. (2017) para la región. Dichas especies poseen cercarias similares a algunas de las halladas en este trabajo, por lo que se podría sugerir su correspondencia específica. Justamente *H. parchappii* fue registrada como primer HI de *A. gnerii* en Los Ranchos y su congénérica *H. castellanosa* (Gaillard) como HI de *H. pseudopallidum* en Los Talas (Merlo et al., 2022).

Entre las especies parásitas de reptiles Ostrowski de Núñez (1987) señala a *Acanthostomum brauni* Mañé Garzón & Gil, 1961 (Cryptogonimidae), cuyas cercarias son indistinguibles de las de *A. gnerii* (Ostrowski de Núñez, 1999). Además, Palumbo (2022) halló adultos

de *Telorchis* spp. (Telorchidae) parasitando a la tortuga *Hydromedusa tectifera* (Cope), conocida como tortuga de río, en el arroyo Buñirigo. Las Xiphidocercarias tipo Armata halladas en el presente estudio podrían pertenecer a alguna de las especies de este género.

Entre las especies de digeneos parásitas de aves en la zona de estudio, considerando sólo aquellas cuyas cercarias coinciden con los morfotipos encontrados en el presente trabajo, Lunaschi et al. (2007) mencionan a *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) (Notocotylidae), en tanto que Drago y Lunaschi (2015) mencionan a una especie del complejo *Echinostoma revolutum*. Dentro de Psilostomidae, se menciona a *P. oxyurus* (Lunaschi et al., 2007), en tanto que Ostrowski de Núñez (1993) describe el ciclo de vida de dos especies de Heterophyidae, *A. diminuta* y *Ascocotyle angrense* Travassos, 1916 en la región. Finalmente, entre las especies parásitas de mamíferos, Guerreiro Martins et al. (2020) citan a *Echinoparyphium scapteromae* Sutton, 1983, *Echinostoma platensis* Sutton & Lunaschi, 1994 (Echinostomatidae) y a *L. cruzi* (Microphallidae) en el área de estudio. Se sabe que *L. cruzi* utiliza a *H. parchappii* como HI en diferentes ambientes de la provincia de Buenos Aires (Merlo et al., 2022), sin embargo para *E. scapteromae* y *E. platensis* no se han registrado hasta el momento los HI en el área de estudio.

Un punto muy interesante para resaltar es el hallazgo de cercarias de la familia Lecithodendriidae. Campanini et al. (2022) señalan el hallazgo de una cercaria perteneciente a esta familia, la cual es mencionada raramente en Argentina, en la laguna Nahuel Rucá (37°37'S-57°25'O), al sureste de la llanura pampeana. Representantes de esta familia

parasitan murciélagos y ocasionalmente aves. Boero & Led (1971) citan a *Prosthodendrium conturbatum* Freitas, 1960, parasitando al murciélago *Tadarida brasiliensis* Geoffroy Saint-Hilaire, en la ciudad de La Plata. En nuestro estudio se encontró un morfotipo que clasificamos dentro de esta familia en dos de los arroyos estudiados (Tabla 1, Fig. 3e). Los murciélagos, por sus características biológicas, son particularmente susceptibles a los cambios antropogénicos (Campanini et al., 2022), aunque también habitan en las ciudades, como *Eumops bonariensis* (Peters) y *Molossops temminckii* (Burmeister), dos especies citadas para la ciudad de La Plata (Alurralde et al., 2016), por lo cual no se debe descartar la posibilidad de que el morfotipo hallado corresponda a una especie cuyos hospedadores definitivos sean murciélagos. Por consiguiente, es evidente la necesidad de realizar nuevos estudios para confirmar su identidad y su hospedador definitivo.

Con respecto a la familia Microphallidae, se observó, esporádicamente, el morfotipo Xiphidiocercaria tipo Ubiquita en los arroyos Buñirigo y Carnaval. Esto es coincidente con lo expuesto por Campanini et al. (2022), quienes también hallaron dos morfotipos de la familia Microphallidae, i.e. *Levinseniella cruzi* y *Microphallus simillimus* Martorelli, 1986, parasitando a *H. parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

Otro punto importante para destacar es que el morfotipo Notocotylidae se halló en los tres arroyos estudiados y, además, fue el único morfotipo que se halló en todos los muestreos realizados. Este hecho coincide con la marcada predominancia de la familia Notocotylidae entre los digeneos que parasitan a *H. parchappii* en lagunas de origen antrópico en el área del río Tigre, en el NE de la provincia de Buenos Aires (Martín et al., 2019). Campanini et al. (2022) también hallaron este morfotipo parasitando a *H. parchappii* en todos los muestreos que realizaron en la laguna Nahuel Rucá. En esta familia no se requiere de un segundo HI, ya que las metacercarias se enquistan en el ambiente y además el primer HI se infecta al ingerir los huevos, que por lo general son menos vulnerables a los cambios ambientales y permanecen infectantes durante períodos de tiempo largos (Esch et al., 2001; Cribb et al., 2003; Skirnisson et al., 2004). Nuestros hallazgos refuerzan la idea planteada por Campanini et al. (2022), quienes sostienen que las características del ciclo de vida de este morfotipo facilitarían el uso de hábitats con diferentes condiciones ambientales y por consiguiente una mayor prevalencia.

Al analizar la diversidad por arroyo, en el caso particular del arroyo Carnaval, morfotipos pertenecientes a tres familias, Macroderoididae, Plagiorchiidae o Telorchiidae, y Notocotylidae, fueron registrados previamente aunque parasitando al gasterópodo *Biomphalaria peregrina* (d'Orbigny) (Merlo

et al., 2022). En el presente trabajo hallamos para este arroyo un morfotipo coincidente con una cercaria monostoma de la familia Notocotylidae, además de otros 7 morfotipos que clasificamos dentro de las familias Cryptogonimidae, Heterophyidae, Echinostomatidae, Haploporidae, Lecithodendriidae y Microphallidae, lo cual expande a nueve el número de familias de digeneos presentes en este arroyo. En el caso de los arroyos Martín y Buñirigo no se conocían datos sobre larvas de digeneos (Merlo et al., 2022), siendo por consiguiente el presente estudio, el primero en dar a conocer en ellos la presencia de cercarias.

Finalmente, es importante destacar que los monitoreos a mediano y largo plazo de parásitos con ciclos de vida heteroxenos, generan información valiosa sobre la diversidad de taxones que frecuentan un ambiente, ya que pueden indicar la presencia de especies difíciles de observar, tales como aves migratorias, tortugas acuáticas, peces pequeños e invertebrados bentónicos (Hechinger et al., 2007). Los resultados aquí obtenidos fortalecen la propuesta de utilizar a las comunidades larvales en caracoles como indicadores de alteraciones ambientales así como de abundancia y presencia de invertebrados y vertebrados (Smith, 2001; Huspeni y Lafferty, 2004; Hechinger et al., 2007). Sin embargo, para utilizar a las comunidades parásitas como bioindicadoras de disturbios y/o impacto ambiental es necesario conocer la identidad y patrones de distribución de las especies que las componen, para lo cual consideramos que este trabajo realiza un importante aporte de base.

Campanini et al. (2022) señalan que el conjunto de estadios larvales de digeneos de *H. parchappii* que se han estudiado en lagunas, arroyos urbanos y periurbanos en Argentina alcanza un valor de 12-13 especies, el cual es bajo en relación a los 23 morfotipos que identificaron en su estudio en la laguna Nahuel Rucá. Dichos autores proponen que la baja riqueza específica hallada en los estudios previos se asocia principalmente con ecosistemas con fuerte impacto humano debido a la recreación y la agricultura, en tanto que la actividad antrópica es menor en la laguna que evaluaron. Los resultados del presente trabajo sustentan la propuesta de Campanini et al. (2022), ya que en el arroyo Martín, un cuerpo de agua que sufre el efecto de distintas actividades antrópicas, se encontraron 11 morfotipos, coincidiendo con valores hallados en estudios previos (Merlo et al., 2022). Para confirmar estas presunciones es prioritario realizar nuevos estudios que hagan foco en evaluar la relación entre las larvas de digeneos y las características de ambientes locales, así como en determinar el efecto que las actividades antrópicas tienen sobre la diversidad de digeneos de moluscos en los arroyos del NE de la provincia de Buenos Aires.

En resumen, nuestro estudio incrementa el número **23**

de registros de cercarias parasitando a *H. parchappii* en tres arroyos del NE de la provincia de Buenos Aires, donde se puede asumir la existencia de una fauna diversa en consonancia con las características del ambiente. Además, el presente trabajo sienta las bases para realizar nuevas investigaciones, que son necesarias tanto para confirmar la biodiversidad, como para evaluar los efectos ambientales y temporales sobre la misma, así como para fortalecer la postulación de *H. parchappii* y sus ensamblajes de digeneos como bioindicadores del estado ambiental.

AGRADECIMIENTOS

A Diego Gutiérrez Gregoric por la identificación de los caracoles. Agradecemos a los revisores anónimos por los aportes que mejoraron este trabajo.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Universidad Nacional de La Plata (N859, N996 Dir. JID).

LITERATURA CITADA

- Achiorno, C. L., Minardi, G., Schneider, M. I. y Fogel, M. (2023). Evaluación del gasterópodo sudamericano *Heleobia parchappii* como organismo diagnóstico en bioensayos de toxicidad con cadmio. *Ecología Austral*, 188-197. DOI: [10.25260/EA.23.33.1.0.2058](https://doi.org/10.25260/EA.23.33.1.0.2058)
- Alda, P. (2011). Estadios larvales de digeneos parásitos de *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) en el estuario de Bahía Blanca. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Alurralde, S. G., Sánchez, R. T., Barquez, R. M. y Díaz, M. M. (2016). New records of bats (Chiroptera, Mammalia) from Argentina. *Check List*, 12, 1873-1873.
- Arias, M. (2019). Efecto del uso de fertilizantes y pesticidas sobre organismos acuáticos en arroyos de la zona hortícola de La Plata (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Boero, J. J. y Led, J. E. (1971). El parasitismo de la fauna autóctona. V. Los parásitos de las aves argentinas. VI. Los parásitos de los ofidios argentinos. VII. Los parásitos de los murciélagos argentinos. *Analecta Veterinaria*, 3, 91-103.
- Bush A. O., Lafferty K. D., Lotz J. M. y Shostak A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al., revisited. *Journal of Parasitology*, 83, 576-583.
- Campanini, F., Merlo, M., Méndez Casariego, M. y Parietti, M. (2022). Diversity and dynamics in larval digenean assemblages parasitizing *Heleobia parchappii* in a freshwater shallow lake from the Southeastern Pampa plain, Argentina. *Parasitology*, 149, 347-355.
- Cazzaniga, N. J. (2011) a. 1. *Heleobia* Stimpson, 1865: Taxonomía. En: El género *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) en América del Sur. The genus *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) in South America. Capítulo Colectivo. Cazzaniga (ed.). *Amici Molluscarum*, Número especial, 48, 11-48. ISSN 0718- ISSN 0718-9761 (online version).
- Cazzaniga, N. J. (2011) b. 6. Notas autoecológicas sobre *Heleobia parchappii*. En: El género *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) en América del Sur. The genus *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) in South America. Capítulo Colectivo. Cazzaniga (Ed.). *Amici Molluscarum*, Número especial: 26-28. ISSN 0718- ISSN 0718-9761 (online version).
- Cribb T. H., Bray R. A., Olson P. D., y Littlewood, T.D. J. (2003). Life Cycle Evolution in the Digenea: a New Perspective from Phylogeny. *Advances in Parasitology*, 54, 197-254.
- Drago, F. B. y Lunaschi, L. I. (2015). Update of checklist of digenean parasites of wild birds from Argentina, with comments about the extent of their inventory. *Neotropical Helminthology*, 9, 325-350.
- Esch, G.W., Curtis L.A. y Barger M. A. (2001). A perspective on the ecology of trematode communities in snails. *Parasitology*, 123, S57-S75.
- Ferreira, A. C. (2015). Respuestas poblacionales de macroinvertebrados a distintas calidades de agua en cuerpos lóticos de la llanura pampeana (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Guerreiro Martins, N. B., Robles, M. D. R., Diaz, J. I., Panisse, G. y Navone, G. T. (2020). Digenean parasites of Sigmodontinae rodents from Argentina: a list of species, new host, and geographical records. *Acta Parasitologica*, 65, 97-107.
- Hechinger, R.F. (2007). Annotated key to the trematode species infecting *Batillaria attramentaria* (Prosobranchia: Batillariidae) as a first intermediate host. *Parasitology International*, 56, 287-296.
- Huspeni, T.C. y Lafferty, K. D. (2004). Using larval trematodes that parasitize snails to evaluate a saltmarsh restoration project. *Ecological Application*, 14, 795-804.
- Lafferty, K. D., Allesina, S., Arim, M., et al. (2008). Parasites in food webs: the ultimate missing links. *Ecology Letters*, 11, 533-546.
- Lunaschi, I. L., Cremonese, F. y Drago, F. B. (2007). Checklist of digenean parasites of birds from Argentina. *Zootaxa*, 1403, 1-36.
- Lunaschi, L. I. (2017). Capítulo 4. Clase Trematoda. Macroparásitos: diversidad y biología, 43 - 67. En F. B. Drago (Eds). *Macroparásitos. Series: Libros de Cátedra*.
- Martín, S. M., Núñez, V., Gutiérrez Gregoric, D. E. y Rumi, A. (2019). Urban ponds as a potential risk in the transmission of parasites. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 21, 59-68.
- Martorelli, S. (1985). Estudios parasitológicos en biotopos lenticos de la República Argentina I: El ciclo biológico de *Echinochasmus talaensis* sp. nov. (Digenea) parásita de *Pitangus sulphuratus bolivianus* (Aves: Furnariidae). *Neotropica*, 31, 187-200.
- Merlo, M. J., Parietti, M. y Etchegoin, J. A. (2014). Digeneos larvales de *Heleobia parchappii* y de *Heleobia australis* en ambientes dulceacuicolas y estuariales de la

- provincia de Buenos Aires (Argentina). Revista Argentina de Parasitología, 2, 14-21.
- Merlo, M. J., Parietti, M., Fernández, M. V., Flores, V. y Davies, D. (2022). A checklist of larval Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) in molluscs from inland waters of Argentina: one hundred years of research. Journal of Helminthology, 96, e32, 1-28.
- Mignaqui, A. C., Alvarez, L. P., Soler, P. y Larroza, M. P. (2020). Development of a duplex PCR for the identification of *Fasciola hepatica* in lymnaeid snails. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 46, 347-351.
- Ostrowski de Núñez, M. (1987). The life history of *Acanthostomum brauni* Mañé Garzón & Gil, 1961 (Trematoda, Acanthostomatidae). Der Entwicklungszyklus von *Acanthostomum brauni* Mañé Garzón und Gil, 1961 (Trematoda, Acanthostomatidae). Zoologischer Anzeiger, 218, 5, 273-286.
- Ostrowski de Núñez, M. (1992). Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical region: *Ascocotyle (Leighia) hadra* sp. n. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 87, 539-543.
- Ostrowski de Núñez, M. (1993). Life-history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical Region: *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* (Stunkard & Haviland, 1924) and *A. (P.) angrense* Travassos, 1916. Systematic Parasitology, 24, 191-199.
- Ostrowski de Núñez, M. (1998). Life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) angeloi* (Digenea: Heterophyidae) in the Neotropical Region. Folia Parasitologica, 45, 199-204.
- Ostrowski de Núñez, M. (1999). Fishes as definitive or intermediate hosts of Opisthorchioid trematodes in South America. Annals of Parasitology, 45, 329-336.
- Ostrowski de Núñez, M. (2001). Life cycles of two new sibling species of *Ascocotyle (Ascocotyle)* (Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. Acta Parasitologica, 46, 119-129.
- Ostrowski de Núñez, M., Arredondo, N. J. y Gil de Perterra A. A. (2017). Adult Trematodes (Platyhelminthes) of freshwater fishes from Argentina: a checklist. Revue suisse de Zoologie, 124, 91-113.
- Palumbo, E. O. (2022). Parasitofauna en tortugas dulceacuícolas de Argentina: interpretación de las asociaciones parásito-hospedador-ambiente (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Paz, L. E. (2019). El rol de las macrófitas y los invertebrados para el diagnóstico y la rehabilitación de los sistemas lóticos pampeanos (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Parietti, M., Merlo, M. J. y Etchegoin, J. A. (2020). Spatio-temporal variations in larval digenean assemblages of *Heleobia parchappii* (Mollusca: Cochliopidae) inhabiting four human-impacted streams. Journal of Helminthology, 94, 1-8.
- Quintana, M. G. y Ostrowski de Núñez, M. (2014). The life cycle of *Pseudosella cotylalutzi* (Digenea: Cryptogonimidae), in *Aylacostoma chloroticum* (Prosobranchia: Thiaridae), and *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae). Journal of Parasitology, 100, 805-811.
- Sanero, E., Hechem, V., Saunders, D. N., Boquet, M., Assef, Y. A., Pardo, C. A., Villegas, V. y Sánchez Thevenet, P. (2018). Insights on the presence and economic impact of water related trematodes in natural environments from Patagonia, southern Argentina. Journal Water Technology and Treatment Methods, 1, 1-6.
- Schell, S. C. (1985). Handbook of trematodes of North America north of Mexico. University press of Idaho.
- Simões, S. B. E., Barbosa, H. S., y Santos, C. P. (2009). The life history of *Pygidiopsis macrostomum* Travassos, 1928 (Digenea: Heterophyidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 104, 106-111.
- Smith, N. F. (2001). Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. Oecologia, 127, 115-122.
- Skirnisson, K., Galaktionov, K. V., y Kozminsky E. V. (2004). Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mud snail (*Hydrobia ventrosa*) population inhabiting salt marsh ponds in Iceland. Journal of Parasitology, 90, 50-59.
- Soler, P. (2018). Diagnóstico de infestación por *Fasciola hepatica* (Trematoda) en caracoles lymnaeidos mediante técnicas moleculares (Tesis Doctoral), Universidad Nacional del Comahue, Argentina.
- Sures, B., Nachev, M., Selbach, C. y Marcogliese, D. J. (2017). Parasite responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. Parasites & Vectors, 10, 1-19.
- Tietze, E. y De Francesco, C.G. (2010). Environmental significance of freshwater mollusks in the Southern Pampas, Argentina: to what detail can local environments be inferred from mollusk composition? Hydrobiologia, 641, 133-143.
- Vidal-Martínez, V. M., Pech, D., Sures, B., Purucker, S. T. y Poulin, R. (2010). Can parasites really reveal environmental impact? Trends in Parasitology, 26, 44-51.

Recibido: 26 de junio de 2023
Aceptado: 3 de agosto de 2023

Copépodos parásitos de peces de agua dulce del extremo sur de la región Neotropical

María Agustina Waicheim (agustinaw@gmail.com)

Título Obtenido: Doctora en Biología

Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue

Fecha de defensa: 6 de junio de 2023

Directores: Dr. Gustavo Viozzi (INIBIOMA, CONICET-UNCo) y Dr. Carlos Rauque (INIBIOMA, CONICET-UNCo)

Miembros del Tribunal Evaluador: Dra. Marcela Lareschi (CEPAVE, CONICET-UNLP), Dra. Nuria Natalia Vazquez (IBIOMAR, CENPAT) y Dr. Emiliano Hernán Ocampo (IIMYC, CONICET-UNMDP)

RESUMEN: Más de 300 especies de copépodos han adoptado el parasitismo como forma de vida. En Argentina se ha reportado la presencia de cuatro especies de *Ergasilus*, y dos especies de *Lernaea*. En esta tesis se describió la diversidad de copépodos parásitos de los géneros *Ergasilus* y *Lernaea* del extremo sur de la región Neotropical y se analizaron los patrones de infección en Patagonia. Los objetivos específicos para *Ergasilus* fueron: recopilar reportes de infecciones en la región Neotropical; describir las especies de Patagonia y de la región Pampeana; analizar su distribución en Patagonia; evaluar los factores que determinan su ocurrencia y comparar el estatus de los hospedadores. También, describir los estadios tempranos del ciclo de vida y evaluar su estacionalidad. Para *Lernaea* los objetivos fueron: recopilar reportes de infecciones en la región Neotropical y determinar la identidad específica de *Lernaea* en Patagonia. Asimismo, actualizar su distribución en Patagonia comparando el estatus de los hospedadores y evaluar el proceso de invasión mediante entrevistas. Se tomaron muestras de peces que se revisaron en busca de copépodos, los cuales fueron colectados, fijados con alcohol (96%), procesados y estudiados morfológicamente utilizando microscopía electrónica de barrido. Además, fragmentos de la región 18S ADN de *Ergasilus* spp. y *Lernaea* spp. fueron amplificados. Para analizar los factores que afectan la distribución de *Ergasilus* spp. se evaluaron las características ambientales y la presencia de las especies hospedadoras *Percichthys trucha*, *Odontesthes hatcheri*, *Galaxias maculatus* y *Oncorhynchus mykiss*. Para describir los estadios de *Ergasilus* spp. se incubaron los sacos ovígeros. Para estudiar la morfología de las especies de copépodos se trabajó con ejemplares aislados de peces provenientes de la región pampeana y de ambientes de Patagonia y con ejemplares depositados en el Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia de las especies: *Ergasilus sieboldi* var. *patagonicus* depositados por Szidat (1956) y con un lernéido depositado por Brian (1944).

Se registraron 41 especies de *Ergasilus* en la región Neotropical, la mayor diversidad de ergasíidos se observó en Brasil. En el presente trabajo se describió a *Ergasilus yandemontei*, una nueva especie de Patagonia, y se estudió la morfología de tres especies nuevas de *Ergasilus* y una de *Tiddergasilus* de la región pampeana. En Patagonia, la presencia de *E. yandemontei* fue registrada en 13 ambientes, siendo *O. hatcheri* y *P. trucha* los hospedadores principales para este copépodo. Se determinó que uno de los factores que afectó la ocurrencia de *E. yandemontei* fue la presencia de *O. hatcheri*. Las especies hospedadoras que mostraron los niveles de infección más altos fueron *O. hatcheri*, seguida por *P. trucha*. Los valores máximos de prevalencia de *E. yandemontei*, se observaron en otoño, primavera y verano, y las hembras grávidas se registraron en primavera y verano. *Ergasilus yandemontei* en el lago Morenito, presentó un ciclo de vida estacional con reclutamiento en otoño, mantenimiento de hembras en invierno y producción de huevos en primavera y verano. En el Lago Pellegrini, la estacionalidad no fue tan marcada, probablemente debido a las mayores temperaturas del agua durante el año. A partir de la incubación de los sacos ovígeros, se obtuvieron y describieron los estadios de nauplius I de *E. yandemontei*.

Por otra parte, se registraron 6 especies del género *Lernaea* en la región Neotropical. Se corroboró mediante los estudios de ADN la identidad de *Lernaea cyprinacea* en Patagonia, cuya distribución es amplia en la Argentina y en Patagonia particularmente. Se registraron hembras grávidas en todas las especies de peces analizadas, con la excepción de *Cyprinus carpio*. Sin embargo, las prevalencias e intensidades más altas de copepoditos fueron registradas en *C. carpio*. La presencia de copepoditos y hembras adultas grávidas en peces pequeños indicarían que estos hospedadores cumplen un rol importante en la dispersión del parásito, en particular, *C. carpio* parece tener un rol central en dispersar al parásito y potenciar su ciclo de vida. A partir de entrevistas realizadas a los pobladores, se puede inferir que en el río Negro la aparición de *L. cyprinacea* fue previa a la invasión de las carpas y se mencionan a las percas y a los pejerreyes como las especies más afectadas. En Patagonia, la represa de Arroyito sobre el río Limay parece estar actuando como barrera para la dispersión de la carpa y de *L. cyprinacea* aguas arriba del río. En cambio, en el río Neuquén la carpa ha superado barreras como el dique Ballester, ingresando al lago Pellegrini. Otros peces brasílicos lograron sortear estos obstáculos y habrían co-introducido el parásito en nuevos ambientes. Las localidades estudiadas del río Limay y aguas arriba de la ciudad de Choele Choel en el río Negro, y los sitios del río Neuquén representan nuevas localidades para *L. cyprinacea*. Las especies *C. carpio* y *Jenynsia lineata* son nuevos hospedadores en Patagonia. Es de esperar que el parásito logre infectar a otras especies de peces y aumente su rango de distribución.

Enterobius vermicularis (Nematoda: Rhabditida) at a rural school in the Córdoba province, Argentina: diagnosis and perception of parasitism

Enterobius vermicularis (Nematoda: Rhabditida) en una escuela rural de la provincia de Córdoba, Argentina: diagnóstico y percepción de parasitismo

Cagnolo Susana Raquel^{1*}, Licera Cecilia¹, Peschiutta María Laura^{2,3}

ABSTRACT: *Enterobius vermicularis* is the causal agent of enterobiasis, a parasitic infection that primarily affects school-age children. This study aimed to achieve the following objectives due to the limited knowledge about prevalence of parasitic infections in the Córdoba region: to determine the prevalence of *E. vermicularis* in male and female students attending a rural primary school located in Sierras Chicas, Córdoba province, analyzing perianal and subungual samples; to investigate the correlation between the parasite presence and factors such as sex, age, and classroom; and, to assess the perception of parasitism based on symptoms, signs, and hygienic habits. Perianal samples were collected using the Graham method from a total of 37 students aged between 4 and 11 years old. Additionally, samples of the subungual region contents from both hands were also collected. A survey was conducted to gather information on both hygiene habits and symptoms from each school participant. The prevalence of *E. vermicularis* on perianal samples was 48.6%. However, no helminth eggs were detected in subungual samples. A correlation was observed between both the parasitic infection and children age. On the other hand, no significant association was observed between hygiene habits, symptoms reported by the students, and the parasitosis presence at the school population.

Keywords: Córdoba, elementary school, enterobiasis, pinworm, preschool.

RESUMEN: *Enterobius vermicularis* causa enterobiasis, una parasitosis que afecta a la población infantil en edad escolar. Ante el escaso conocimiento sobre la prevalencia de parasitismo en Córdoba, se plantearon los siguientes objetivos: determinar la prevalencia de *E. vermicularis* en alumnos y alumnas de una escuela rural de nivel primario de Sierras Chicas (Córdoba) mediante el análisis de muestras de la región perianal y subungueal; relacionar la presencia del parásito con el sexo, la edad y el aula, así como la percepción del parasitismo por síntomas y/o signos y hábitos higiénicos manifestados. Las muestras de la región perianal fueron tomadas siguiendo el método de Graham a alumnos y alumnas de 4 a 11 años de edad (n= 37). Además, se tomaron muestras del contenido de la región subungueal de ambas manos. Se realizó una encuesta para relevar datos sobre hábitos de higiene y síntomas de cada escolar. La prevalencia de *E. vermicularis* en las muestras perianales fue del 48,6%. No se hallaron huevos del helminto en las muestras de la región subungueal. Se encontró relación entre el parasitismo y la edad de los niños, sin embargo, no se observó relación entre los hábitos de higiene y los síntomas de cada escolar con la parasitosis.

Palabras clave: Córdoba, enterobiasis, oxiuros, preescolar, primaria.

Intestinal parasitic diseases are an increasing globally public health concern, particularly affecting impoverished and rural communities in developing countries. In Argentina, efforts have been made to develop and to implement prevention and control programs targeting parasitic diseases. Despite these advancements, parasitic diseases continue to be a significant concern for the public health system (Pezzani *et al.*, 2009; Cociancic *et al.*, 2020). Enterobiasis

or oxyuriasis produced by the pinworm nematode *Enterobius vermicularis* have been mentioned among the most frequent intestinal parasitosis in the world (Merad *et al.*, 2018).

The highest *E. vermicularis* prevalence has been observed in communities of a great population density, as well as institutional settings such as mental health facilities, hospitals, orphanages, and boarding schools. Preschool children rank as second as a vulnerable

¹ Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (FCEfyN), Universidad Nacional de Córdoba, Av. Vélez Sársfield 299 X5000JJC, Córdoba, Argentina.

² Cátedra de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (FCEfyN), Universidad Nacional de Córdoba, Av. Vélez Sársfield 1611, X5016GCA, Córdoba, Argentina.

³ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET), X5016GCA, Córdoba, Argentina.

group of infection risk followed by mothers who care for parasitized children (Requena *et al.*, 2007). An extensive research has revealed that the infection rate of *E. vermicularis* is influenced by numerous factors. These include the dietary habits of individuals under study, personal hygiene practices, and environmental conditions. These variables play a significant role in determining the variation of infection rates among different populations (Muliawati *et al.*, 2020). The primary mode of *E. vermicularis* transmission is a direct contact between both infected and uninfected individuals typically through transferring pinworm eggs from anus to fingers leading to the ingestion of eggs. Moreover, the disease can easily spread among family members through contaminated hands, objects (i.e. fomites), and even inhalation of eggs (Merad *et al.*, 2018). Children attending school regularly engage on collective activities which create favorable conditions for this endoparasite transmission. Furthermore, their inadequate hygiene practices and behavioral patterns contribute to the infection spread (Merad *et al.*, 2018; Muliawati *et al.*, 2020).

Pinworms typically attach themselves to the mucosal layer and primarily reside in the cecal region, vermiform appendix, and distal intestine. While many cases of pinworm infection are asymptomatic, children with heavy infestations may experience symptoms such as irritability, appetite lack, bed-wetting, nightmares, nausea, insomnia, teeth grinding, diarrhea, anal itching (pruritus ani), inflammation of mucous membranes (catarrhal inflammation), vulva itching (pruritus vulvae), recurrent cellulitis, and endometritis (Khadka and Maharjan, 2018).

The prevalence of enteroparasites has been taken as an indicator of the population health status (Pezzani *et al.*, 2009), such as the prevalence of pinworms in developed countries is relatively low at about 10%. The pinworm prevalence in both kindergartens and primary schools was observed to be below 20% in Taiwan, Korea, China, Turkey, and Venezuela. However, the prevalence in countries such as Sri Lanka, Thailand, Malaysia, and Argentina was observed to be around 40% (Guignard *et al.*, 2000; Rivero *et al.*, 2022). The climatic and socioeconomic variability in Argentina influences the parasitosis frequency showing a decreasing trend from north to south, and from east to west (Navone *et al.*, 2017). The Córdoba province in Argentina lacks comprehensive statistical information regarding to the parasitism prevalence within its population despite of being an endemic region for several parasitic infections (Bracciaforte *et al.*, 2010). Furthermore, few studies that have been conducted in the Córdoba province regarding to parasitic infections often lack a strict standardization for identification methods of parasites. Additionally, some studies have even neglected to

results further hindering our understanding to the parasitism extent in the region (Guignard *et al.*, 2000).

It is crucial to establish monitoring systems and reassess data regarding to the status of *E. vermicularis* in communities due to the aforementioned symptoms and lack of information on pinworm prevalences. Therefore, the objective of this study was to determine the prevalence of pinworm infection among students attending both kindergarten and primary school from the Río Ceballos town located in the Córdoba province, Argentina. Additionally, we aimed to investigate potential associations between both the infection prevalence in these school-age children and factors such as age, sex, exhibited symptoms and/or signs, and hygienic habits.

The study was conducted on both sex children attending a rural kindergarten and elementary school from the Río Ceballos town located at the foot of Sierras Chicas Mountains. The school follows a rural modality and implements a multi-grade system. Either preschool or kindergarten students are situated in one classroom comprising 4 and 5 year old students. There are first, second, and third-grade students at two other classrooms whereas the fourth, fifth, and sixth-grade students are accommodated in another classroom. For simplicity, these classrooms will be referred as classrooms 1, 2, and 3, respectively. This research includes more than 45% from the total student population who voluntarily participated in the study (n= 37).

Informative talks were conducted to inform the population about *E. vermicularis* and to emphasize the significance of routine analyses for its detection before sampling. These talks were organized for both students and parents, and illustrative brochures were distributed throughout the school staff. In addition, educational games, hands-on observation under a stereoscopic magnifying glass, and several activities promoting prevention and hygiene were carried out at the school. The objective of these initiatives was to enhance awareness and encourage proactive measures against pinworm infections.

Questionnaires were given to the students' parents to assess both risk factors and clinical manifestations associated with enterobiosis. Questionnaires collected personal data of students such as name, age, and sex, as well as information about their families. Additionally, forms included questions regarding to symptoms and/or signs commonly associated with enterobiosis such as anal itching, nervousness, irritability, insomnia, bruxism (teeth grinding), and school distraction.

Furthermore, questionnaires aimed to investigate children hygienic behaviors which might contribute to the transmission of pinworm eggs. These included factors such as onychophagia (nail-biting), finger sucking, and handwashing frequency. These inquiries were conducted to gather comprehensive data of potential risk factors and clinical manifestations associated with

enterobiosis in the study population.

Information about the use of antiparasitic drugs was collected excluding students who had received such medication within one month either prior to or during the study period to ensure accurate results. Parent-teacher meetings were held at the school to inform the participants about the study objectives and sample collection methods which were involved using the Graham method. Those who chose to participate were provided with three slides equipped with transparent adhesive tapes for sampling the perianal region. These samples were collected over three consecutive days, preferably on the early morning before defecation and prior to washing the perianal area. Subsequently, anal adhesive slides were transported to the Parasitology Laboratory of the National University of Córdoba where they were examined within 48 hours from collection. The examination was conducted using a light microscope with magnifications ranging from 10X to 40X to identify the presence of *E. vermicularis* eggs.

Samples were collected from the subungual area in order to investigate the potential transmission of parasites through nails. Each morning the students refrained from washing their hands before going to school. The collection method involved firmly pressing the end of each finger, particularly the nearest area to the inner side of nails onto an adhesive tape with a sticky surface facing upwards. The tape was then attached to a slide allowing the material from the subungual area from all fingers to be collected on the same slide. This process allowed to examine the presence of parasites in the subungual region and explore the possibility of parasite transport through nails.

The statistical analysis was performed using the SPSS 20 software for Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). The Fisher's Exact Test was used to assess the association between each studied variable (i.e. sex, symptoms, hygiene habits, and classrooms), and the frequency of students infected with *E. vermicularis*. A p-value lower than 0.05 was considered statistically significant. The relationship between both parasitism and the age of individuals was evaluated using a Student's t-test.

The study was conducted with a maximum respect to

the physical, mental, and moral integrity of participants. The authorization was obtained from the principal school and students' parents who voluntarily agreed to participate. Numerical codes were used to identify the participants on databases to protect confidentiality. Laboratory studies were conducted free of charge, and results were delivered to parents in sealed envelopes.

The prevalence of *E. vermicularis* eggs in analyzed samples from students at the rural school was 48.65%. This prevalence is higher compared to findings from other studies conducted in Argentina, and numerous Latin American countries. For instance, the oxyuriasis prevalence (pinworm infection) in children was reported to be 19.4% in Venezuela (Moosazadeh et al., 2017). In Argentina, different studies provided prevalences of *Enterobius* in some Argentinian provinces: e.g. Salta (13.6%), Formosa (20.4%), Corrientes (20.0%), Chubut (21.7%), Mendoza (24.8%), Buenos Aires (34.7% y 37.7%), Entre Ríos (39.2%), Misiones (42.9%), and La Pampa (50.9%) (Navone et al., 2017; Cociancic et al., 2020; Rivero et al., 2022). Two studies were carried out in a residence for orphaned and homeless children in the Unquillo town (P= 43.4%) (Guignard et al., 2000), and a peri-urban town from the Santa María department (P=54.0%), Córdoba province (Bracciaforte et al., 2010). The oxyuriasis prevalence rates were also variable although they were generally high (Requena et al., 2007).

Sample means of parasitized and non-parasitized students suggest that infected children with *E. vermicularis* have a higher average age than non-infected ones with significant differences observed between ages of both parasitized (8.65 ± 0.45) and non-parasitized children (6.84 ± 0.46) (t = -2.72, df = 36, p = 0.01). The highest prevalence rate was found in ages between 10-14, followed by those of 6-9, and 4-5 years old. It was observed that boys presented a higher percentage of positive samples than girls when the analysis was carried out by sex (Table 1), but differences were not significant (p = 1). Table 1 also shows that the highest percentage of parasitized children was found in classroom 3 - a group of fourth, fifth, and sixth-grade students- although no significant differences were found between the groups of students at the three analyzed

Table 1. Prevalence of *Enterobius vermicularis* according to both classroom number and sex of Córdoba province's students.

Classroom	Females			Males			Total		
	N	Parasitized		N	Parasitized		N	Parasitized	
		n	%		n	%		n	%
1	3	1	33.33	7	3	42.86	10	4	40.00
2	10	5	50.00	7	3	42.86	17	8	47.06
3	4	2	50.00	6	4	66.67	10	6	60.00
Total	17	8	47.06	20	10	50.00	37	18	48.65

classrooms ($p = 0.77$). Our findings are similar to those reported by Stoyanova *et al.* (2020), who found a higher prevalence in ages between 7-13 years old related to younger children. This phenomenon could be attributed to the fact that kindergartens or preschools typically have more effective prevention systems in place. Younger children in these settings are often closely supervised and guided in their hygiene practices which helps reducing the enterobiosis risk. On the other hand, older children begin to develop more independence on their hygiene routines, and may not have fully formed habits yet, particularly those in a school-age range. This may contribute to a higher enterobiosis prevalence in school-age children compared to preschoolers. Furthermore, other studies conducted by various authors have also reported a higher prevalence of intestinal parasites including enterobiosis in school-age children between 6 and 10 years old compared to those in the preschool-age group. This age range may be more susceptible to infection due to several factors such as increased social interactions and exposure to contaminated environments (Feroli *et al.*, 2020). Other studies have demonstrated no significant inter-sex differences on infection prevalences in agreement with the present results (Moosazadeh *et al.*, 2017; Navone *et al.*, 2017; Stoyanova *et al.*, 2020). It has been pointed out that in the early childhood there is no differences between sexes. But, after the pubertal age infection rates remain in boys, and decrease in girls because the latter usually follow hygiene rules earlier than boys (Atias, 1999).

The parasitosis perception by families who agreed to the study was also analyzed in this work. From 37 students' parents who completed the questionnaire, 89.19% indicated that their children had symptoms. About a half of them (51.52%) were parasitized. Almost the remaining half (48.48%) said they had symptoms but they were not parasitized. Another remarkable fact is that the 25% of students, whose parents stated that they had no symptoms, were parasitized. Anal itching, nervousness, sleep talking, and bruxism were the most mentioned symptoms by parents of parasitized students (Table 2). However, the test has not showed significant differences between symptoms and/or signs reported by children with parasitosis ($p > 0.05$). No significant differences were found between parasitized and non-parasitized students regarding to hygienic habits and/or behaviors manifested by parents (handwashing frequency before eating food), and onychophagia. Significant differences were found between both (parasitized or not) groups of students on the finger-sucking habit ($p = 0.01$) (Table 2).

Regarding to hygienic habits reported by the analyzed students' parents, they were not related to parasitoses, and significant differences were only found on the habit of toys or finger- sucking. However, this habit has not

et al. (2020) observed a similar phenomenon. By contrast, other studies showed that finger-sucking habits, fingernail-biting, toy or pencil sucking could be determinant factors of *E. vermicularis* infections especially in younger age children (Merad *et al.*, 2018).

No *E. vermicularis* eggs were found in any of 37 analyzed samples from the subungual region. Despite

Table 2. Symptoms and hygienic habits and/or behaviors manifested by parents of the parasitized students with *Enterobius vermicularis* in the Córdoba province, Argentina.

Variable	No. Examined	No. Positive	Prevalence (%)	p-value
Anal itching				
Yes	21	12	57.14	0.33
No	16	6	37.50	
Nervousness / Irritability				
Yes	21	9	42.86	0.52
No	16	9	56.25	
School distraction				
Yes	5	4	80.00	0.18
No	32	14	43.75	
Insomnia				
Yes	4	1	25.00	0.60
No	33	17	51.52	
Skin spots				
Yes	3	2	66.67	0.60
No	34	16	47.06	
Asleep talk				
Yes	17	7	41.18	0.52
No	20	11	55.00	
Bruxism				
Yes	17	7	41.18	0.52
No	20	11	55.00	
Handwashing before eating				
Yes	12	5	41.67	0.73
No	0	0	0	
Sometimes	25	13	52.00	
Onychophagia				
Yes	7	3	42.86	1.00
No	30	15	50.00	
Finger or toy sucking				
Yes	10	1	10.00	0.01
No	27	17	62.96	

the high prevalence of *E. vermicularis* on the Graham method, this finding is consistent with those who showed no cases of helminths diagnosed in the subungual deposit. Usually, the main contamination source is the transfer of eggs from hands to mouth after scratching the anal canal and perianal area by self-inoculation/ autoinfection (Rawla and Sharma, 2020; Ahmed, 2023). The observation of parasites in the subungual bed is not always possible since it does not depend exclusively on the parasite load but it does depend on hygienic habits of children and their parents (Requena et al., 2007). The absence of parasites in nail samples can be attributed to the action of parents and teachers who, fearing the study, washed children's hands while denying having to do that.

Signs and/or symptoms of parasitism are usually confusing and although the irritability, school distraction, nervousness, skin spots, even anal itching are manifestations of *E. vermicularis* parasitism, and they can also have other multiple causes.

In conclusion, the *E. vermicularis* prevalence in both kindergarten and elementary school students from the Córdoba province was high. However, no relationship could be established between the presence of these helminthes in anal samples and subungual area because no parasite eggs were found in student nails. Therefore, schools would not be a source of spillover although they are the place to carry out informative/preventive actions.

Current data highlight the importance of deploying educational programs to reduce the infection incidence and the attention to the personal hygiene in rural kindergarten and elementary schools. Intestinal parasites can be prevented by avoiding symptoms of parasitized children. In Argentina, both the enteroparasitosis prevalence and the spectrum of predominant species vary considerably from one locality to another. In addition, large-scale studies are required to establish the infection extent in other rural regions from the country.

LITERATURA CITADA

- Ahmed, M. (2023). Intestinal Parasitic Infections in 2023. *Gastroenterology Research*, 16, 127.
- Atias, A. (1999). Enterobiosis u Oxiuriasis. *Parasitología Médica*. Santiago de Chile, Chile, Publicaciones Técnicas Mediterráneo.
- Bracciaforte, R., Díaz, M.F., Vottero Pivetta, V., Burstein, V., Varengo, H. y Orsilles, M.Á. (2010). Enteroparásitos en niños y adolescentes de una comuna periurbana de la provincia de Córdoba. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 44, 353-358.
- Cociancic, P., Torrusio, S.E., Zonta, M.L. and Navone, G.T. (2020). Risk factors for intestinal parasitoses among children and youth of Buenos Aires, Argentina. *One Health*, 9, 100116.
- Feroli, S., Perazzo, J.M. and Paulin, P. (2020). Prevalencia de parásitos intestinales en muestras de pacientes atendidos en el Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Argentina, 2018-2019. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 54, 455-460.
- Guignard, S., Arienti, H., Freyre, L., Lujan, H. and Rubinstein, H. (2000). Prevalence of enteroparasites in a residence for children in the Cordoba Province, Argentina. *European Journal of Epidemiology*, 16, 287-293.
- Khadka, K. and Maharjan, M. (2018). Pinworm (*Enterobius vermicularis*) infection among primary level government school children of Chhampi, Lalitpur District, Nepal. *National Journal of Health Sciences*, 3, 46-50.
- Merad, Y., Merbouh, A., Benallal, K., Belfodel, S. and Adjmi-Hamoudi, H. (2018). Prevalence of enterobiasis among urban school children in Sidi-bel-Abbes, Algeria. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 24, 453-458.
- Moosazadeh, M., Abedi, G., Afshari, M., Mahdavi, S.A., Farshidi, F. and Kheradmand, E. (2017). Prevalence of *Enterobius vermicularis* among children in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 8, 108.
- Muliawati, R., Mushidah, M. and Musyarofah, S. (2020). Personal hygiene and anthelmintic consumption in prevention of enterobiasis among primary school children. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 8, 265-274.
- Navone, G.T., Zonta, M.L., Cociancic, P., Garraza, M., Gamboa, M.I., Giambelluca, L.A., Dahinten, S. and Oyhenart, E.E. (2017). Estudio transversal de las parasitosis intestinales en poblaciones infantiles de Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 41, e24.
- Pezzani, B.C., Minvielle, M.C., Ciarmela, M.L., Apezteguía, M.C. and Basualdo, J.A. (2009). Participación comunitaria en el control de las parasitosis intestinales en una localidad rural de Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 26, 471-477.
- Rawla, P. and Sharma, S. (2020). *Enterobius vermicularis*. StatPearls Publishing, [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536974/].
- Requena, I., Jiménez, Y., Rodríguez, N., Sandoval, M., Alcalá, F., Blanco, Y. and Devera, R. (2007). *Enterobius vermicularis* en pré-escolares de un área suburbana en San Félix, estado Bolívar, Venezuela. *Investigación Clínica*, 48, 277-286.
- Rivero, M.R., De Angelo, C., Feliziani, C., Liang, S., Tiranti, K., Salas, M.M. and Salomon, O.D. (2022). Enterobiasis and its risk factors in urban, rural and indigenous children of subtropical Argentina. *Parasitology*, 149, 396-406.
- Stoyanova, K., Pavlov, S., Cvetkova, T. and Paunov, T. (2020). Prevalence and age distribution of enterobiasis in North-Eastern Bulgaria. *Helminthologia*, 57, 100.

Recibido: 15 de octubre de 2022

Aceptado: 7 de julio de 2023

CONVERSATORIOS DE TRICHINELLOSIS: UN ESPACIO DE CONSTRUCCIÓN COLECTIVA DESDE LA ASOCIACIÓN PARASITOLÓGICA ARGENTINA

La Trichinellosis es una zoonosis parasitaria cosmopolita, que en Argentina es endémica y genera un fuerte impacto en la salud pública y en la sanidad animal. La preocupante situación epidemiológica en Argentina se asocia frecuentemente a patrones culturales y carencias en los sistemas de prevención y control. Para un abordaje integral de esta zoonosis resulta imprescindible la interacción transdisciplinaria e interinstitucional.

Entre los años 2020 y 2022, y a partir del contexto de pandemia, desde la Asociación Parasitológica Argentina (APA) se organizaron conversatorios virtuales sobre Trichinellosis cuyo principal objetivo fue lograr la vinculación e intercambio de experiencias y conocimientos acerca de la zoonosis, entre los diferentes grupos de trabajo que abordan esta temática en Argentina.

Las actividades, se llevaron a cabo a través de la plataforma de APA y fueron transmitidas por Youtube, quedando disponibles los videos en la página de la Asociación. Junto al Med. Vet. Gustavo Montali organizamos y coordinamos cada uno de los encuentros, contando además con la colaboración del Dr. Matias Merlo quien realizó los flyers de difusión y participó en la transmisión de cada uno de los eventos.

La propuesta de temas a tratar fue consensuada en base a encuestas previas realizadas a través de la Asociación. El lema de los encuentros fue lograr una **“construcción colectiva desde diferentes líneas de trabajo, en búsqueda de una solución integral y desde el enfoque de una Única Salud”**.

En total se llevaron a cabo 12 conversatorios, en los que se abordaron diferentes temáticas tratando de identificar los problemas que de alguna manera condicionan la situación actual: sanidad animal, salud humana, herramientas de cambio en el productor porcino y elaborador porcino, unificación de criterios en diagnóstico parasitológico animal, vigilancia epidemiológica y notificación de casos, investigación y saneamiento, abordaje de brotes humanos, diagnóstico clínico, serológico y tratamiento, diagnóstico bromatológico, actualización de la distribución de *Trichinella* spp. en Sudamérica, presencia de las diferentes especies de *Trichinella* en Argentina, trichinellosis en animales silvestres,



Asociación Parasitológica Argentina

PARASITOLOGÍA EN LA NUBE

I CONVERSATORIO SOBRE ABORDAJE INTEGRAL DE LA TRICHINELLOSIS

CONSTRUCCIÓN COLECTIVA DESDE DIFERENTES LÍNEAS DE TRABAJO, EN BÚSQUEDA DE UNA SOLUCIÓN DESDE EL ENFOQUE DE UNA ÚNICA SALUD

La Trichinellosis es una zoonosis parasitaria cosmopolita, endémica en Argentina, la cual representa un problema tanto para la salud pública como para la sanidad animal y se asocia íntimamente a una realidad socio-cultural. Este primer conversatorio tiene como objetivo el acercamiento y conocimiento de las personas que estudian y aplican esta temática en Argentina. Su principal propósito es lograr la integración entre las vastas investigaciones de nuestros científicos y científicas y la tarea diaria de los sistemas sanitarios privados y públicos en todos sus niveles, la producción porcina y de alimentos, el cuidado del medio ambiente y el conocimiento de otras especies silvestres susceptibles a esta zoonosis; tratando de fortalecer, coordinar y unificar criterios en la vigilancia sanitaria proactiva de la cadena porcina, y en la vigilancia epidemiológica activa de los casos animales y humanos, alimentadas por denuncias oportunas a partir de metodologías de diagnóstico reconocidas y criterios clínicos unificados por los organismos sanitarios.



COORDINADORES: DRA VIVIANA RANDAZZO - MED. VET. GUSTAVO MONTALI

EL 5 DE NOVIEMBRE A LAS 17:30.

Link a la charla

<https://meet.jit.si/AsociacionParasitologicaArgentina>

Descubre más en apargentina.org.ar

<http://apargentina.org.ar/conversatorio-sobre-abordaje-integral-de-la-trichinellosis/>

vigilancia sanitaria eficaz de la cadena porcina para administrar el riesgo de trichinellosis y la potencial implementación de un Modelo de Riesgo (que actualmente se encuentra en desarrollo por la Red de Seguridad Alimentaria de CONICET).

En cada uno de los encuentros compartieron conocimientos y experiencias investigadores/as de universidades nacionales (UBA, UNS, UNLP, UNLPAM, UNR, UNNE, UNL, etc.) y de organismos e institutos de ciencia y tecnología (ANLIS MALBRAN, CONICET, CIC), profesionales de instituciones públicas (SENASA, INTA, INAL), privadas, referentes de organismos nacionales, provinciales, y municipales y actores sociales relacionados con el tema.

En los conversatorios participaron más de 1200 personas de todo el país, y de países limítrofes, con más de 2000 vistas de los videos, evidenciando mucho interés por la temática.

Como soporte de los encuentros virtuales, se constituyó una red interdisciplinaria y federal sobre abordaje integral de Trichinellosis, que cuenta con 250 participantes, y se ocupa de diversas problemáticas como: discusión acerca de unificación de criterios diagnósticos, envío de muestras a laboratorios referentes, asesoramiento para creación de nuevos laboratorios, difusión de bibliografía, etc., sirviendo como herramienta de consulta permanente en tiempo real en casos de brotes, focos, etc.

La virtualidad permitió la interacción con los principales referentes científicos y sus grupos, los representantes de las instituciones involucradas en la temática, los profesionales que abordan y trabajan cotidianamente en trichinellosis, desde los distintos ámbitos y en todo el país.

El contenido de los conversatorios sigue siendo material de consulta permanente para quien trabaja en el tema y los encuentros lograron visibilizar y sociabilizar la problemática de la zoonosis a través de acciones concretas en diferentes ámbitos académicos y gubernamentales.

En Argentina existe un amplio conocimiento académico y líneas de investigación en trichinellosis con reconocimiento internacional, por lo que resulta imprescindible garantizar que el mismo logre aplicarse en los escenarios de riesgo.

En este sentido, y pensando en la Trichinellosis como una zoonosis multifactorial en la que convergen al momento de abordarla distintas piezas cual rompecabezas para una única solución, y con la premisa de que esa solución se alcanza con un trabajo transdisciplinario y una mirada integral del tema, los Conversatorios organizados por la Asociación Parasitológica Argentina contribuyeron significativamente, permitiendo un intercambio de conocimiento dinámico, en espiral e interdisciplinario, en la búsqueda de soluciones integrales.

Junto a Gustavo Montali agradecemos a la Asociación Parasitológica Argentina por el apoyo incondicional y el interés para llevar a cabo la propuesta, extendiendo además el agradecimiento a cada uno/ a de los/as participantes de los Conversatorios por la construcción colectiva, en pos de un objetivo común.

Dra Viviana Randazzo

Cátedra de Microbiología y Parasitología,
Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia.
Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca
viviana.randazzo@uns.edu.ar

El equipo editorial de la Revista Argentina de Parasitología agradece a los expertos que revisaron manuscritos por su generosa contribución a la calidad científica de los artículos.

A continuación, el listado de Evaluadores que actuaron en los últimos dos números de la revista.

Claudia Menghi. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

Dora Davies. Instituto para el Estudio de la Biodiversidad de Invertebrados Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

Juliana P. Sánchez. Centro de Bioinvestigaciones, Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA - CONICET), Argentina.

Evelina Tarragona. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (CCT Santa Fe), Santa Fe, Argentina.

Graciela T. Navone. Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Leonora Kozubzky. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Matías Merlo. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Mar del Plata, Argentina.

Mariela Garraza. Laboratorio de Investigaciones en Ontogenia y Adaptación, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Nuria Vázquez. Instituto de Biología de Organismos Marinos, Centro Nacional Patagónico, Puerto Madryn, Argentina.

Asimismo el cuerpo editorial agradece a todos los autores por considerar a la Revista Argentina de Parasitología como vehículo para sus publicaciones.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

REVISTA ARGENTINA DE PARASITOLOGIA

(Órgano de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina)

ISSN 2313-9862

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

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

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

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

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

1. CONTENIDO

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

2. ASPECTOS GENERALES

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

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

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

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

No se aceptarán notas al pie de página.

3. ESTRUCTURA DE LOS MANUSCRITOS

Primera página

Deberá contener:

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

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

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

Título abreviado en inglés: se incluirá salteando un renglón.

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

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

Segunda página y siguientes:

-RESUMEN/ABSTRACT

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

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

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

-Cuerpo del texto

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

Artículos originales

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

Artículos de revisión

Las revisiones corresponden a actualizaciones o consensos de grupos de trabajo acerca de temas de interés parasitológico en el ámbito regional o internacional. Sus autores deben ser especialistas en la temática y el texto debe incluir una revisión bibliográfica amplia y actualizada. No podrán exceder

las 15000 palabras, y podrán incluir hasta 8 tablas o figuras y no más de 100 citas bibliográficas.

Casos clínicos/reportes de casos

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

Notas cortas

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

-AGRADECIMIENTOS

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

-FUENTES DE FINANCIAMIENTO

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

-CONFLICTOS DE INTERÉS

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

-LITERATURA CITADA

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

-En el texto:

Un autor: (Ostrowski de Nuñez, 1994)

Dos autores: (Price y Gram, 1997)

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

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

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

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

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

-En las referencias bibliográficas:

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

-Artículos:

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

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

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

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

-Libros:

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

Capítulos de libros:

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

-Tesis:

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

-Páginas web:

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

-TABLAS Y FIGURAS

Las tablas y las figuras deben indicarse en el texto,

entre paréntesis, del siguiente modo (Fig.) o (Figs.) y (Tabla) o (Tablas), respectivamente. Las leyendas deben ser autoexplicativas. Todas deben estar numeradas en formato arábigo de manera consecutiva. Tanto las leyendas de las figuras como la de las Tablas deben ser incluidas al final del cuerpo principal del manuscrito. Las abreviaturas o símbolos utilizados deben ser explicados en la leyenda correspondiente.

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

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

4. OTROS CONTENIDOS

Reseñas de libros y/o eventos científicos

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

Resúmenes de Tesis

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

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

Cartas al Editor

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

Otros tipos de manuscritos

Sólo serán publicados por invitación del/la Editor/a Responsable de la RAP y del Comité Editorial.

Editoriales

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

5. EVALUACIÓN Y REVISIÓN

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

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

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

6. ENVÍO Y CONSULTAS SOBRE MANUSCRITOS

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

7. PUBLICACIÓN

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

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

8. ASPECTOS ÉTICOS

En aquellas investigaciones que así lo requieran, deberá adjuntarse la aprobación por el Comité de Bioética y/o Comité de Ética de Investigación de la Institución o Dependencia donde fue realizado el

estudio, respetando las normas éticas para el trabajo con animales de laboratorio y los Principios de la Declaración de Helsinki, promulgada por la Asociación Médica Mundial (WMA). La documentación, a la que Argentina ha adherido y ha generado en temas de Bioética, puede obtenerse en LEGISALUD, área dependiente del Ministerio de Salud de la Nación Argentina: www.legislaud.gov.ar

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

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

Editorial	4
Adaptación del ensayo colorimétrico del MTT para la evaluación de la actividad frente a <i>Giardia duodenalis</i>	7
Adaptation of the colorimetric MTT assay for evaluating activity against <i>Giardia duodenalis</i>	
Arroyo Díaz Jaime Eduardo, Gómez Muñoz María Teresa, Martínez-Díaz Rafael Alberto, González-Coloma Azucena	
Diversidad de cercarias emergentes de <i>Heleobia parchappii</i> (Gastropoda) en arroyos del noreste de la provincia de Buenos Aires	15
Diversity of cercariae emergent from <i>Heleobia parchappii</i> (Gastropoda) in streams from the northeast of Buenos Aires Province	
Achiorno Cecilia L., Nuñez Verónica, Diaz Julia I.	
Resumen de tesis: Copépodos parásitos de peces de agua dulce del extremo sur de la región Neotropical	26
Waicheim María Agustina	
<i>Enterobius vermicularis</i> (Nematoda: Rhabditida) at a rural school in the Córdoba province, Argentina: diagnosis and perception of parasitism	27
<i>Enterobius vermicularis</i> (Nematoda: Rhabditida) en una escuela rural de la provincia de Córdoba, Argentina: diagnóstico y percepción de parasitismo	
Cagnolo Susana Raquel, Licera Cecilia, Peschiutta María Laura	
Reseña de los Conversatorios virtuales sobre Trichinellosis	32
Randazzo Viviana	
Agradecimientos	34
Instrucciones para los autores	35