Especialidad Salud Pública Veterinaria

Estudio Epidemiológico de la Difilbotriosis en perros de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi

Med. Vet. Diego Roth

Agosto 2017

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

Especialidad Salud Pública Veterinaria

Estudio Epidemiológico de la Difilbotriosis en perros de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi

Autor: Med. Vet. Diego Andrés Roth[1]

Director: Dr. Gustavo Viozzi[2]

Co-Director: Dra. Verónica Flores[2]

San Carlos de Bariloche, Agosto 2017

[1] Residente de Salud Pública Veterinaria de la Unidad Regional de Salud Ambiental, Bariloche, Ministerio de Salud de la Provincia de Río Negro.

[2] Laboratorio de Parasitología, INIBIOMA (Univ. Nac. Del Comahue-CONICET), Bariloche

ÍNDICE 3
RESUMEN 5
INTRODUCCIÓN 6
Agente causal 7
Morfología 8
Sintomatología 10
Tratamiento y prevención 10
Historia de la difilobotriosis 11
Hipótesis de trabajo 13
Objetivo general 13
Objetivos específicos 13
MATERIALES Y MÉTODOS 14
Recolección de muestras 14
Estimación de perros sueltos 15
Procesamiento de las muestras 15
Obtención de gusanos adultos 16
Extracción de ADN 16
Reacción de PCR 17
Secuenciación 17
Encuesta a clínicas veterinarias 18
Análisis de los datos 18
RESULTADOS 18
Cuantificación de la infección por huevos en heces caninas recolectadas en distintos barrios de Bariloche y en Dina Huapi 18
Determinación de las especies presentes mediante análisis morfológicos de los huevos y análisis moleculares de los huevos y de gusanos adultos 20
Relación de los porcentajes de infección con las variables ambientales 23
Encuesta a clínicas veterinarias 23
DISCUSION 25

Identificación 25
Epidemiología 26
Análisis de encuestas 28
CONCLUSIONES 30
BIBLIOGRAFÍA 31
Anexo I 35
Anexo II 36
Anexo III 37
Anexo IV 40
Anexo V 41

RESUMEN

La difilobotriosis es una infección parasitaria causada por cestodes del género *Diphyllobothrium*, cuyos adultos se desarrollan tanto en mamíferos como en aves. La infección humana y canina se adquiere por la ingestión de larvas plerocercoides presentes en la carne y vísceras de pescado infectado, al ser consumido crudo o con insuficiente cocción. En la Patagonia argentina las dos especies registradas son *Diphyllobothrium latum* y *D. dendriticum* que fueron introducidos desde el Hemisferio Norte, de donde son endémicos. El objetivo de este trabajo es describir la epidemiología de la difilobotriosis en perros de distintos barrios de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi, determinándose morfológica y molecularmente qué especies de *Diphyllobothriun* están presentes, qué relación hay entre los valores de infección en los perros y distintos aspectos como el nivel socioeconómico de los barrios, su cercanía a cuerpos de agua y la cantidad de perros sueltos. Además se realizó una encuesta a clínicas veterinarias privadas para obtener información sobre la detección y tratamiento de la enfermedad en perros. Se presenta también un caso humano reportado durante la realización de este trabajo. Los resultados de este trabajo permitieron obtener las siguientes conclusiones: Tanto los perros como los humanos están parasitados con *D. latum*. La difilobotriosis en perros es una parasitosis frecuente y ampliamente distribuida en la ciudad. El porcentaje de heces positivas para *Diphyllobothrium* sp. se relaciona en forma directa con la cantidad de perros sueltos en el barrio y con los altos porcentajes de Necesidades Básicas Insatisfechas. Esta enfermedad es conocida por los veterinarios locales, aunque el diagnóstico de la enfermedad es bajo en relación con el porcentaje de infección encontrado en este trabajo.

INTRODUCCIÓN

La difilobotriosis es una infección parasitaria causada por cestodes del género *Diphyllobothrium*, cuyos adultos se desarrollan tanto en mamíferos como en aves. El hombre es uno de los hospedadores definitivos, mientras que los estadios larvales se establecen en copépodos (larva procercoide) y en peces (larva plerocercoide) (Dick, 2007) (Figura 1). La infección en humanos y en perros se adquiere por la ingestión de plerocercoides presentes en la carne y vísceras de pescado infectado, al ser consumido crudo o con insuficiente cocción (Abuin et al., 2012). Las infecciones son más frecuentes en personas adultas del sexo masculino. El aumento de la demanda de alimentos preparados con pescado crudo ha incrementado la infección en distintos países (Torres, 2013).

Los huevos del parásito son eliminados con las heces del hospedador definitivo, que en la región andino-patagónica, según los registros, pueden ser humanos, gaviotas y perros (Semenas, 2006; Semenas et al., 2014). En el medio acuático el huevo desarrolla el coracidio que eclosiona y es ingerido por un copépodo del plancton, que es el primer hospedador intermediario, en donde se desarrolla el procercoide. Los peces que se alimentan del plancton son los segundos hospedadores intermediarios y en la región de los lagos andino patagónicos pueden ser principalmente truchas o puyenes chicos, que se infectan al ingerir al copépodo parasitado, desarrollando en sus vísceras o musculatura los gusanos pleroceroides. Peces ictiófagos como la trucha y la perca también pueden infectarse al ingerir un pez parasitado, denominándose hospedadores paraténicos. Los hospedadores definitivos se infectan al consumir peces (Semenas 2006; Dick, 2007; Torres, 2013).

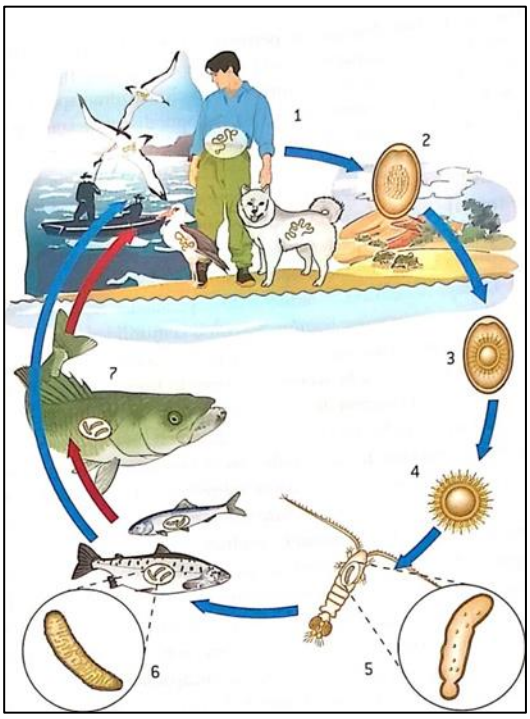


Figura 1. Ciclo de vida de *Diphyllobothrium* sp. 1: hospedador definitivo (hombre, perro y gaviota). 2: huevo. 3: desarrollo del coracidio dentro del huevo. 4: coracidio libre en medio acuático. 5: hospedador intermediario del plancton (copépodo) con larva procercoide. 6: hospedador intermediario pez chico con larva plerocercoide. 7: hospedador intermediario/paraténico pez grande con larva plerocercoide. Fuente: Torres, 2013.

Agente causal

Actualmente se reconocen alrededor de ochenta especies de *Diphyllobothrium* distribuidas en distintas regiones del mundo (Abuin et al., 2012), aunque sólo unas 14 especies han sido descriptas como capaces de causar difilobotriosis (Torres, 2013). Las infecciones humanas son generalmente producidas por *D. latum*, que junto con *D. nihonkaisense* son las especies más patogénicas para el hombre (Kuchta et al., 2013). *Diphyllobothrium nihonkaisense* se encuentra distribuida en el Hemisferio Norte, especialmente en Alaska y Japón (Semenas, 2013). *Diphyllobothrium latum* y *D. dendriticum* se distribuyen principalmente en ambientes de agua dulce en el Hemisferio Norte y fueron introducidos en América del Sur en la región Patagónica. *Adenocephalus pacificum* (=*Diphyllobothrium pacificum*) es autóctono de América del Sur, su ciclo ocurre

en el mar y produce los casos de difilobotriosis en la costa del Pacífico (Ecuador, Perú, Chile). En la Argentina, todos los casos humanos de difilobotriosis han sido asociados a *D. latum*. (Seijo, 2015).

Morfología

El nombre de este género deriva del griego *di*, 'dos' y *bothrium*, 'botrias o hendiduras', aludiendo a las 2 estructuras de sujeción que presenta este helminto en la zona lateral y apical del escólex que tiene forma de espátula y mide entre 1 y 4 mm. El gusano adulto es hermafrodita, blanquecino, aplanado y largo, pudiendo medir más de 25 m, con un ancho máximo entre 1,5 y 2 cm (Figura 2). El estróbilo (conjunto de proglótidos) contiene alrededor de 800 proglótidos que en su mayoría son más anchos que largos, cuya maduración aumenta a medida que se alejan del cuello. Los proglótidos presentan un poro genital y un poro uterino en la zona media de la cara ventral (Figura 3A). El útero, cuya abertura se ubica en la línea media y posterior al poro genital, se caracteriza por su parte anterior con 4 a 7 asas a ambos lados de la línea media (útero en roseta) y una parte posterior fuertemente enroscada (Figura 3B) (Semenas, 2006).

Los gusanos pueden producir hasta 36000 huevos por día, que se caracterizan por presentar una cáscara gruesa, un opérculo en un extremo y un pequeño mamelón en el otro. Recientemente se ha demostrado que el tamaño de los huevos puede servir como carácter para diferenciar especies (Lestinová et al., 2016). Existen variaciones de las medidas del huevo entre las distintas especies que actúan como hospedadores definitivos. En los perros los huevos de *D. latum* miden 61-68 μm de largo (media: 65) por 44-48 μm de ancho (media: 45), mientras que el de *D. dendriticum* mide 57-63 μm de largo (media: 60) por 38-45 μm de ancho (media: 40) (Lestinová et al., 2016).

Figura 2: Proglótidos de un ejemplar de *Diphyllobothrium latum* de un paciente humano

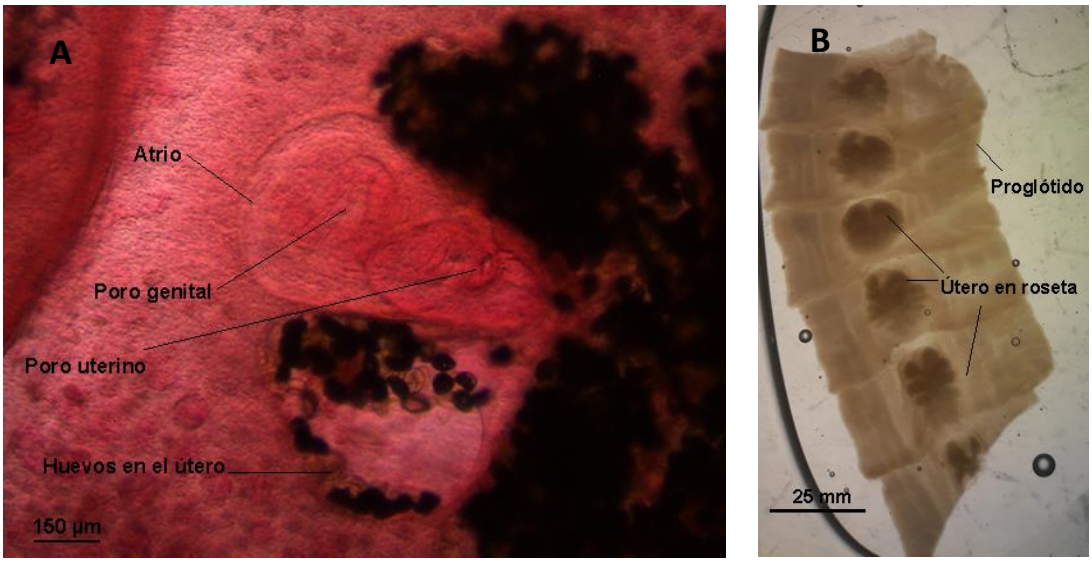


Figura 3. A: detalle de poro uterino y genital de *Diphyllobothrium* sp. B: útero en roseta de un conjunto de proglótidos de *Diphyllobothrium* sp.

Sintomatología

Se estima que en la actualidad unas 20 millones de personas están infectadas en el mundo con parásitos de este género, presentando principalmente una distribución circumpolar y boreal, aunque recientemente unos “puntos calientes” se han registrado en Sudamérica como consecuencia de la expansión de la acuicultura y la globalización de costumbres de alimentación, como la de comer pescado poco cocido o crudo (Cabello, 2007; Dick et al., 2007, Kuchta et al., 2013).

El patrón general de la infección encontrado en los casos registrados incluye a menudo ausencia de sintomatología e infecciones de carácter simple, es decir con un solo individuo parásito. Ocasionalmente pueden aparecer síntomas como anorexia, disminución del peso, náuseas, vómitos y diarrea. En algunos casos pueden observarse alteraciones nerviosas. La presencia de anemia megaloblástica solamente puede detectarse por análisis de sangre y aparece en infecciones de larga duración. El diagnóstico específico de esta zoonosis se realiza por reconocimiento de huevos y de proglótidos en análisis de materia fecal. Un signo frecuente es la eliminación pasiva esporádica de trozos de estróbilo con las heces, lo que motiva al paciente a acudir al médico. La consulta al paciente sobre hábitos de consumo de pescado puede ayudar como orientación en el diagnóstico. La infección en el hombre puede durar más de 20 años y el gusano puede alcanzar más de 25 metros de longitud (Semenas, 2006; Torres, 2013).

Tratamiento y prevención

Actualmente el tratamiento de elección es el uso de Niclosamida vía oral en una sola dosis de 1000 a 1500 mg en niños repartidos en dos administraciones con intervalo de una hora y de 2000 mg en adultos. En Argentina la droga que se utiliza es el Prazicuantel y también se usa en una sola dosis vía oral de 25 mg/kg de peso en niños y 600 a 800 mg en adultos (Torres, 2013). Una o dos horas después, todo tratamiento antiparasitario específico debe ser acompañado por un purgante salino y controlar que en las deposiciones se elimine

el escólex porque su persistencia reinicia la actividad reproductiva del parásito. En el caso de presentarse anemia se debe suplementar la dieta con vitamina B12, asociada con hierro y ácido fólico hasta la recuperación hematológica (Torres, 2013).

La educación sanitaria de la población es un factor importante en la prevención de la difilobotriosis. El consumo de carne de peces ahumados o crudos (cebiche, sushi, sashimi, etc.) constituye el principal factor de riesgo de infección humana. La cocción completa de la carne de pescado (mayor a 60°C durante más de 5 minutos), así como también congelar a -18°C por 24hs, inactiva al parásito. Por otro lado, los pescadores deben enterrar o quemar las vísceras y restos de pescados para no contribuir a la diseminación de la parasitosis. No se debe alimentar mascotas con vísceras o carne de pescado cruda. Además se sugiere desparasitar periódicamente a perros y a gatos. Evitar el vertido de aguas servidas a cuerpos de agua como ríos y lagos contribuye a interrumpir el ciclo de vida del parásito (Atias, 1991; Semenas, 2006; Abuin et al., 2012).

Historia de la difilobotriosis

El primer registro arqueológico de difilobotriosis se realizó en una momia encontrada en Prusia (Szidat, 1949) y posteriormente fue registrada en restos humanos de sitios del Viejo y Nuevo Mundo con dataciones de hasta 8000 A.C. (Dick, 2007).

En Chile los primeros registros de casos humanos ocurrieron en 1950, posteriormente en los años 70 encontraron un 0,3% de personas infectadas en un estudio epidemiológico (Dick, 2007). El primer caso de difilobotriosis humana en Argentina se registró en 1911, pero recién en 1982 se detecta el primer caso autóctono (Semenas, 2006). Hasta la fecha se han registrado 25 casos humanos autóctonos atribuidos a *D. latum*, en pacientes que residen principalmente en Bariloche y en San Martín de los Andes (Semenas, 2006; Abuin et al., 2012).

Los primeros casos de huevos de *Diphyllobothrium* en perros de Sudamérica se registraron en Chile en los años 50, encontrándose 7 perros parasitados de los 38 analizados

(18,4%) y 2 gatos de los 3 analizados, aunque la fertilidad de los huevos de perros es mucho menor a la de los humanos (Negmhe y Bertín 1951).

En Argentina, en los años 50, se han reportado casos de perros infectados con especies de *Diphyllobothrium* en la provincia de Buenos Aires y se realizaron infecciones experimentales con plerocercoides de truchas provenientes del Parque Nacional Nahuel Huapi (Bacigalupo y D'Alessandro Bacigalupo, 1952). En la ciudad de Corrientes, se registró un 4,7% de heces caninas positivas para huevos asignados a la familia Diphyllobothriidae (Milano y Oscherov, 2005). También se hallaron huevos de *Diphyllobothrium* sp. en heces de carnívoros de la región Noreste (Martínez et al., 2000). En Patagonia se registraron huevos de *Diphyllobothrium* sp. en heces caninas de ciudades de las provincias de Neuquén y Chubut con prevalencias que fluctúan entre 0,10% y el 3,3%. **(**Zunino et al., 2000; Soriano et al., 2010, Juárez y Rajal et al., 2013).

En el área del Parque Nacional Nahuel Huapi se han realizado principalmente estudios de la infección en peces, humanos y gaviotas y todos los casos de difilobotriosis humana han sido asociados a *D. latum*, mientras que los de aves fueron determinados como *D. dendriticum* (Semenas 2006; Casalins et al., 2015). En los peces se han registrado plerocercoides de ambas especies (Semenas 2006). Recientemente en un estudio parasitológico de heces caninas realizado en 5 barrios de la ciudad de San Carlos de Bariloche, se registró la presencia de huevos en 3 barrios con prevalencias entre 11 y 33% (Semenas et al., 2014). En este trabajo se propone estudiar la epidemiología de la enfermedad en perros de la ciudad de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi a fin de responder las siguientes preguntas:

- ¿Qué especies de *Diphyllobothrium* parasitan a los perros en S. C. de Bariloche y Dina Huapi?
- ¿La presencia de difilobotriosis en perros está distribuida en distintos barrios, o los datos previos son casos aislados?
- ¿Hay diferencias en los porcentajes de heces infectadas entre barrios con distinta cantidad de perros sueltos?
- ¿Hay diferencias en los porcentajes de heces infectadas entre barrios con distintos NBI%?

- ¿Hay diferencias en los porcentajes de heces infectadas entre barrios cercanos a cuerpos de agua respecto de aquellos alejados de los mismos?
- ¿Las clínicas veterinarias detectan casos de difilobotriosis en mascotas?

Hipótesis de trabajo:

Se trabajó bajo los siguientes supuestos: La especie que se encuentra parasitando a perros es *D. latum* y está ampliamente distribuida en numerosos barrios de la ciudad. Se plantea que la probabilidad de encontrar heces infectadas está relacionada con la cantidad de perros sueltos en el barrio y es mayor en barrios con altos NBI%. Dado que en ríos y lagos de la ciudad de la región se practica la pesca deportiva y de subsistencia, esta última sobre todo en barrios con alto NBI%, se plantea que los barrios cercanos a cuerpos de agua presentan los mayores porcentajes de heces infectadas. Por otro lado se plantea que clínicas veterinarias no detectan la infección por *Diphyllobothrium* sp.

Objetivo general:

Describir la epidemiología de la difilobotriosis en perros de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi.

Objetivos específicos:

- Cuantificar la infección por huevos en heces caninas recolectadas en distintos barrios de Bariloche y en Dina Huapi.
- Determinar las especies presentes mediante análisis morfológicos de los huevos y análisis moleculares de los huevos y de gusanos adultos.
- Relacionar los porcentajes de infección con la cantidad de perros sueltos (con o sin dueño) en la vía pública.
- Relacionar los porcentajes de infección con el NBI% de los barrios.

- Relacionar los porcentajes de infección con la cercanía del barrio a cuerpos de agua.
- Obtener información sobre la detección y tratamiento de la enfermedad en clínicas veterinarias locales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

En la Tabla 1 se detallan los barrios (Figura 4), el porcentaje de necesidades básicas insatisfechas (NBI%), cantidad de habitantes (Plan de Ordenamiento Territorial, 2011) y el número de muestras recolectadas.

Tabla 1: Información de los barrios a relevar.

Barrios	Porcentajes de necesidades básicas insatisfechas*		Habitantes estimados*	Cantidades de heces caninas recolectadas
	Mín.	Máx.		
Trampa Ñireco	18	34	500	6
INTA	34	50	250	6
San Francisco I			600	10
San Cayetanito	50	100	400	6
Pilar 1	34	50	255	6
Don Orione	18	34	600	6
Jamaica	34	49	800	6
Vivero	50	100	1000	6
La Cascada	0	7	4000	6
Malvinas	50	100	4000	20
Nahuel Hue	50	100	4000	20
Los Coihues	7	18	2520	10
Dina Huapi	0	7	3500	10

***Fuente: Plan de Ordenamiento Territorial, 2011. Municipio de San Carlos de Bariloche.**

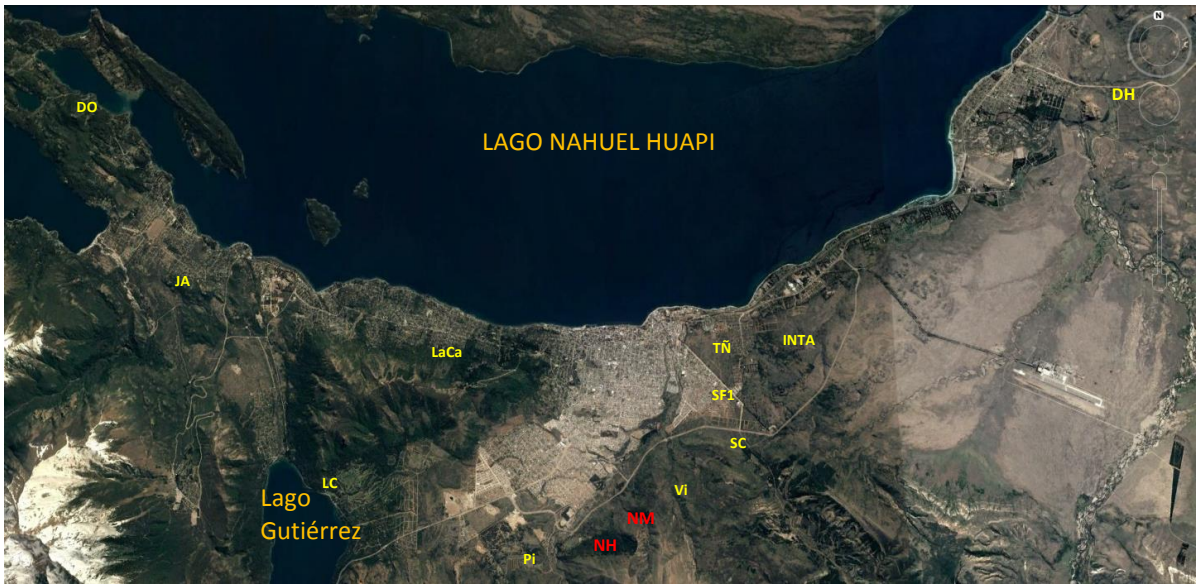


Figura 4. Distribución de los barrios a relevar en la ciudad de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi. DO: Don Orione, JA: Jamaica, LC: Los Coihues, LaCa: La Cascada, PI: Pilar 1, Vi: Vivero, TÑ: Trampa Ñireco, SF1: San Francisco primero, SC: San Cayetanito, INTA: INTA, DH: Dina Huapi, NM: Nuestras Malvinas*, NH: Nahuel Hue*. Los barrios en rojo se procesaron sólo por flotación (Sheater).
Fuente: Google maps.

Estimación de perros sueltos

Se estimó la población de perros sueltos en cada uno de los barrios elegidos mediante avistaje de perros callejeros. Se recorrieron caminando 10 cuadras por muestreo, contando los perros sueltos avistados. Se entiende por perros sueltos a aquellos animales que vagan sin ningún tipo de control y/o restricción ya sea que tengan o no dueño (con o sin collar) (Molina et al., 2006).

Procesamiento de las muestras

Las muestras se inactivaron a -70 ºC durante al menos 7 días previos al procesamiento. En el Laboratorio de Parasitología de la UNCo se procesaron las muestras por métodos de concentración, por sedimentación (Telemann modificado) y por flotación en azúcar (Sheather). Posteriormente se observaron al microscópio óptico dos preparados por

cada método y por muestra. Adicionalmente se determinaron, registraron y contabilizaron todas las formas parasitarias observadas (Thienepont et al., 1979; Blagburn, 2010). Para el caso de los barrios Nahuel Hue y Nuestras Malvinas se utilizaron muestras del proyecto de Voluntariado Universitario "Perros y Zoonosis en Bariloche" y se las procesó únicamente para *Diphyllobothrium* y sólo por el método de Sheater.

Los huevos de *Diphyllobotrium* sp. fueron medidos (largo y ancho) mediante ocular graduado. Se midieron hasta 10 huevos por muestra positiva. Las medidas fueron expresadas en micrones con la media y el rango entre paréntesis. Se calculó porcentaje de heces positivas.

Obtención de gusanos adultos

Los gusanos adultos de infecciones caninas se obtuvieron a partir del material llevado por particulares a la Unidad Regional de Salud Ambiental, a los centros de Salud del Hospital Zonal Bariloche o a clínicas veterinarias privadas para realizar una consulta. Estos parásitos fueron fijados en formol 5%. Adicionalmente se obtuvo un ejemplar de infección humana reportado por el Dr. Gagliardi del Hospital Privado Regional de San Carlos de Bariloche (ver Anexo III).

Extracción de ADN

Tanto las dos muestras de los cestodes adultos conservados en alcohol, como los tubos conteniendo huevos ya sea por cualquiera de los dos métodos de concentración, fueron procesadas según las recomendaciones del fabricante (Qiagen) del kit DNeasy Blood & Tissue (Cat N° 69504). Para el caso de los gusanos adultos se seccionó un trozo de unos 3mm y se dejó evaporar el alcohol a temperatura ambiente. Para los huevos, se centrifugó el tubo conteniendo unos 40 huevos y se transfirió el pellet a un nuevo tubo. Luego se sumergieron las muestras en nitrógeno líquido, y con la ayuda de bolillas metálicas y un molino Mixer Mill (Retsch) se pulverizaron. Luego se procesaron en la extracción de ADN según protocolo estándar y se resuspendieron en 100µL del buffer AE.

Reacción de PCR

El ADN recién extraído fue amplificado mediante una reacción de PCR, siguiendo un protocolo de PCR multiplex (Wicht et al., 2010) en donde es posible identificar, a partir de una sola reacción y en simultáneo, tanto a *D. latum* como *D. dendriticum*. Para ello utilizamos al cebador universal (MulRevCom, localizado en las posiciones1492 a 1512) y dos cebadores forward específicos: MulLat3 (posición 1055 a 1077) para *D. latum* y MulDen4 (posición 1174 a 1200) para *D. dendriticum*, con tamaños de bandas visiblemente diferenciables (437pb para *D. latum* y 318pb para *D. dendriticum*). Para cada una de las reacciones se utilizaron 0.3 µM de cada cebador único y de 0.5 µM del cebador común. Las reacciones fueron corridas en un ciclador térmico (ABI Applied Biosystems) con un ciclo de 94°C por 15 min seguido de 25 ciclos a 94°C por 30 s, 60°C por 1 min 30 s, 72°C por 1 min 30 s y un último ciclo de extensión a 72°C durante 10 min. Una vez finalizadas las reacciones, se corrieron inmediatamente o guardaron a 4°C. Tanto un control negativo, como dos controles positivos (uno para cada especie) fueron incluidos. La presencia del amplicón fue verificada sembrando 7 µl del producto de PCR en un gel de agarosa al 1% en buffer de Tris-acetato-EDTA (TAE) durante 20 minutos a 100V y teñido con SyberSafe (Life Technologies).

Secuenciación

Las muestras que revelaron bandas compatibles con *Diphyllobothrium* spp. fueron purificadas utilizando exo-nucleasa y fosfatasa alcalina (EXO-SAP) y enviadas a la empresa Macrogen de Corea para su secuenciación, utilizando el cebador universal MulRevCom.

Encuesta a clínicas veterinarias

Se realizaron encuestas a todas (N=22) las clínicas veterinarias registradas en el Colegio Médico Veterinario de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi en las que se indagó sobre la existencia de casos diagnosticados por veterinarios locales y las características de cada caso. La encuesta se muestra en el Anexo I. Además se entregó un folleto informativo de la parasitosis (ver Anexo II).

Análisis de los datos

El porcentaje de infección y los factores que pueden afectar a la ocurrencia de difilobotriosis, como la cantidad de perros sueltos estimados, el NBI% y la cercanía a cuerpos de agua fueron tabulados y analizados mediante rangos de correlaciones no paramétricas de Spearman (Conover, 1980).

RESULTADOS

Cuantificación de la infección por huevos en heces caninas recolectadas en distintos barrios de Bariloche y en Dina Huapi.

Se analizaron un total de 118 heces caninas, 78 por ambos métodos de concentración y 40 de ellas, correspondientes a Nuestras Malvinas y Nahuel Hue, solo por flotación. En 10 de los 11 sitios analizados por ambos métodos de concentración se encontró al menos una especie parásita, siendo Dina Huapi el único sitio en el cual no se encontraron parásitos. Se registraron en total 7 especies de parásitos: quistes de *Amoeba* sp., Coccidios, *Dyphyllobothrium* sp., *Toxascaris* sp., *Toxocara* sp., *Trichuris* sp., y *Uncinaria* sp. (Tabla 2). En el barrio La Cascada sólo se registraron Coccidios. La mayor riqueza de parásitos fue de 5 especies y se registró en el barrio Vivero. La riqueza de parásitos es mayor en barrios con altos NBI% (Figura 5).

Tabla 2. Porcentaje de infectados e intensidad media de parásitos por barrio.

Barrios	Especies parásitas y porcentaje de heces infectadas								
	Quistes *Amoeba* sp.	Coccidios	*Diphyllobothrium* sp.	*Toxascaris* sp.	*Toxocara* sp.	*Trichuris* sp.	*Uncinaria* sp.	Riqueza	Promedio de Perros Sueltos por cuadra
Trampa Ñireco					16%	33%		2	0.5
INTA			33%		33%			2	2
San Francisco I			40%		20%	40%		3	1.37
San Cayetanito	16%		16%		16%	50%		4	1.2
Pilar l				16%	16%	16%		3	0.5
Don Orione			16%		16%			2	0.75
Jamaica			33%					1	2.08
Vivero		33%	66%		33%	50%	16%	**5**	**7.2**
La Cascada		16%						1	1
Los Coihues			10%		20%	10%		3	0.91
Dina Huapi								**0**	**1**

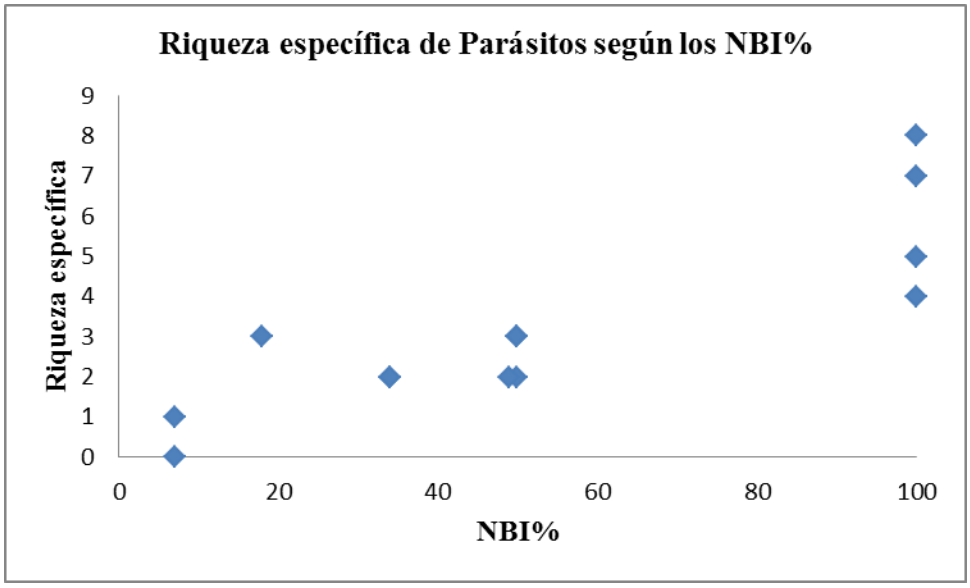


Figura 5: Riqueza específica de parásitos en heces caninas según el porcentaje de Necesidades Básicas Insatisfechas de los barrios.

De las 118 muestras, 20 resultaron positivas para huevos de *Diphyllobothrium* sp. De los 13 barrios muestreados para esta zoonosis, 9 (69,2%) resultaron positivos para *Diphyllobothrium* sp. con valores que variaron entre el 10% (Los Coihues) y el 66% (Vivero) de heces positivas. La cantidad de perros sueltos por cuadra en barrios con resultados positivos para *Diphyllobothrium* sp. varió entre 0,75 en Don Orione y 7,2 para Vivero. Los barrios La Cascada, Trampa Ñireco, Pilar y Dina Huapi resultaron negativos y los promedios de perros sueltos por cuadra variaron entre 0,5 en Pilar y 1 para La cascada y Dina Huapi (Tabla 2). En los barrios Nuestras Malvinas y Nahuel Hue se registraron valores de infección del 20% y 25%, respectivamente.

Determinación de las especies presentes mediante análisis morfológicos de los huevos y análisis moleculares de los huevos y de gusanos adultos.

Se colectaron porciones de 4 estróbilos obtenidos de perros de 3 barrios de la ciudad (San Cayetanito, Pilar y Virgen Misionera) y uno de una clínica veterinaria privada. Se obtuvo además una porción de estróbilo de un paciente humano que asistió a una consulta en una clínica privada (ver caso Anexo III). Se midieron 90 huevos recuperados de las heces caninas y 50 huevos obtenidos de proglótidos de gusanos adultos de perros y del caso humano (Tabla 3 y 4).

El largo de los huevos obtenidos de heces caninas varió entre 60 y 70 µm y el ancho entre 40 y 50 µm para los recuperados por el método de Sheater. Los huevos obtenidos por este método se encontraban generalmente colapsados (Figura 6 A). En el caso de los huevos recuperados por el método de Telemann el largo varió entre 55 y 70 µm y el ancho entre 40 y 50 µm (Figura 6 B). Los huevos recuperados de los gusanos adultos eliminados por los perros midieron entre 58 y 73 µm de largo y entre 43 y 55 µm de ancho (Figura 7). Los huevos recuperados del gusano adulto eliminado por el paciente midieron entre 68 y 73 µm de largo y entre 48 y 53 µm de ancho. Todos los huevos encontrados y medidos se corresponden con las medidas de *D. latum* (Lestinová et al., 2016), ya sean de heces caninas colectadas en los barrios (Tabla 3A y 3B) o de los huevos obtenidos de proglótidos de

gusanos provenientes de perros y del caso humano (Tabla 4). Aunque las medidas de los huevos obtenidos de gusanos adultos de perro tienen un tamaño levemente menor que los de humanos.

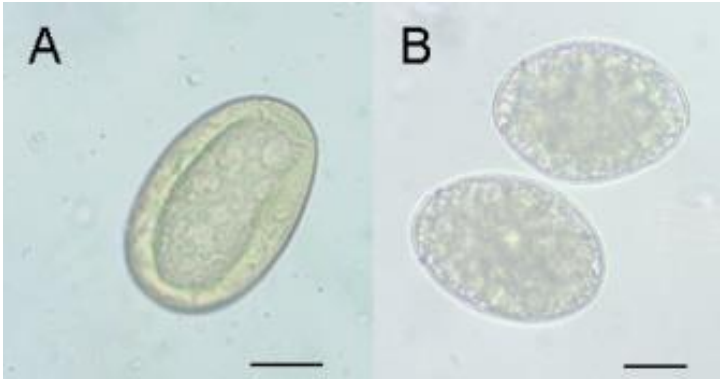


Figura 6: Microfotografías de huevos de *Diphyllobothrium* sp. obtenidas de heces caninas por A. método de flotación de Sheater y B. Sedimentación Telemann. Escala: 20µm.

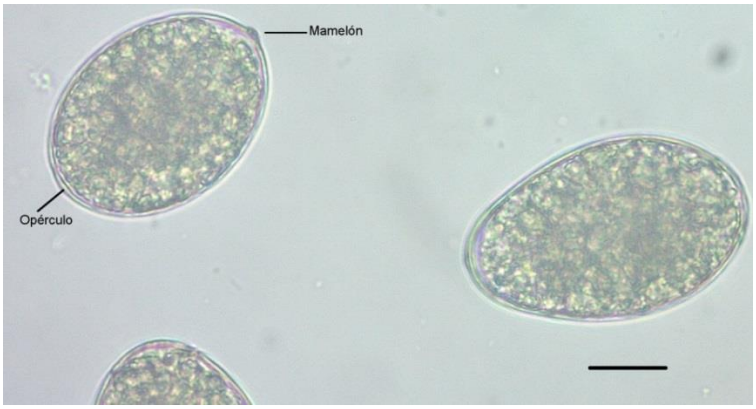


Figura 7: Microfotografía de huevos de *Diphyllobothrium* sp. obtenida de gusano adulto obtenido de un perro. Escala: 20µm.

Tabla 3 A. Medidas de los huevos obtenidos de las heces caninas de los distintos barrios, se indica cantidad de huevos medidos, por el método de Sheater, rango del largo, del ancho y el promedio.

Barrio	Identificación de la muestra	Sheater					Especie de *Diphyllobothrium*
		Cantidad de huevos medidos	Largo (µm)	Promedio (µm)	Ancho (µm)	Promedio (µm)	
Inta	6	8	63-68	65	45-45	45	*D. latum*
San Francisco	6	1	68	68	45	45	*D. latum*
San Francisco	3	10	58-73	66,5	40-53	44,8	*D. latum*
San Francisco	4						
San Cayetanito	5						
Don Orione	3	3	65-70	67,5	45-50	47,5	*D. latum*
Jamaica	4						
Jamaica	3						
Vivero	?	8	60-70	66,9	42-50	45	*D. latum*

Tabla 3B. Medidas de los huevos obtenidos de las heces caninas de los distintos barrios, se indica cantidad de huevos medidos, por el método de Telemann, rango del largo, del ancho y el promedio.

Barrio	Identificación de la muestra	Telemann					Especie de *Diphyllobothrium*
		Cantidad de huevos medidos	Largo (µm)	Promedio (µm)	Ancho (µm)	Promedio (µm)	
Inta	6	10	62-70	65,1	50-55	52,1	*D. latum*
San Francisco	6						
San Francisco	3	10	59-70	62,1	42-48	44,4	*D. latum*
San Francisco	4	6	61-62	61,5	42-48	47,6	*D. latum*
San Cayetanito	5	8	60-65	62,4	41-48	44,7	*D. latum*
Don Orione	3	1	59	59	45	45	*D. latum*
Jamaica	4	5	65-70	67,2	43-48	46,1	*D. latum*
Jamaica	3	10	55-67	62,6	46-50	46,8	*D. latum*
Vivero	?	10	60-70	66	40-50	44,8	*D. latum*

Tabla 4. Medidas de los huevos obtenidos de proglótidos de gusanos adultos de humanos y perros, se indica cantidad de huevos medidos, método de obtención, rango del largo, del ancho y el promedio.

Tipo hospedador definitivo	N	Largo (µm)		Ancho (µm)		Especie de *Diphyllobotrium*
		Rango	Promedio	Rango	Promedio	
Humano	10	68-73	69,3	48-53	50,5	*D. latum*
Perro Nicolás	10	63-73	68	45-55	50	*D. latum*
Perro Pilar	10	58-65	61,2	43-50	47,8	*D. latum*
Perro Virgen Misionera	10	58-70	65,8	45-50	47,5	*D. latum*
AMeVet	10	63-73	66,3	43-50	46,5	*D. latum*

De las extracciones realizadas, dos adultos fueron amplificados mediante PCR y resultaron con bandas de tamaños compatibles con *D. latum*. Ninguno de los tubos con huevos (provenientes de las dos técnicas de aislamiento) lograron ser amplificados. Los controles positivos y negativos mostraron una correcta amplificación del ADN y minimizan la posibilidad de contaminación cruzada. Las dos secuencias de adultos, fueron comparadas con las secuencias en bases de datos preexistentes y mostraron un 99,75% y 100% de similitud con las secuencias de *D. latum* publicadas *gene Bank*.

Relación de los porcentajes de infección con las variables ambientales

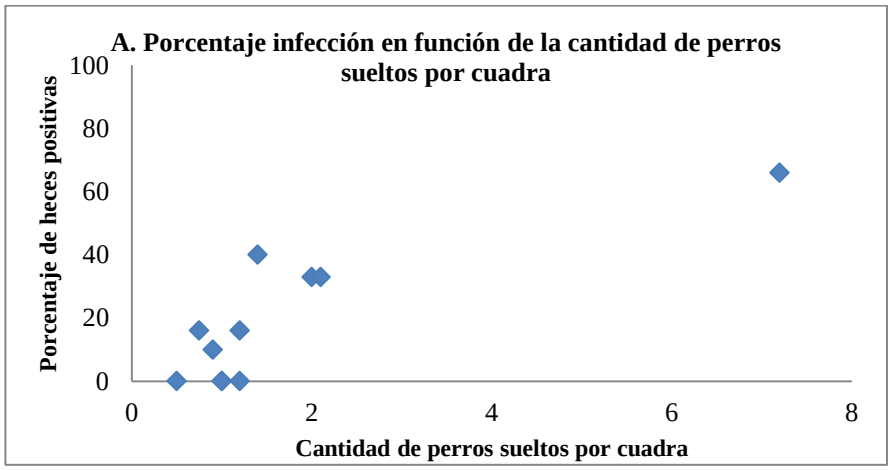
El porcentaje de infección con *Dyphillobothrium* sp. en heces caninas estuvo correlacionado positiva y significativamente con la cantidad de perros sueltos por cuadra (N= 13; R= 0,754; p= 0,0028; Figura 8 A) y con el NBI% (N= 13; R= 0,621; p= 0,0233; Figura 8 B). El porcentaje de infección no estuvo correlacionado con la distancia al cuerpo de agua más cercano (N= 13; R=-0,204; p= 0,5033; Figura 8 C).

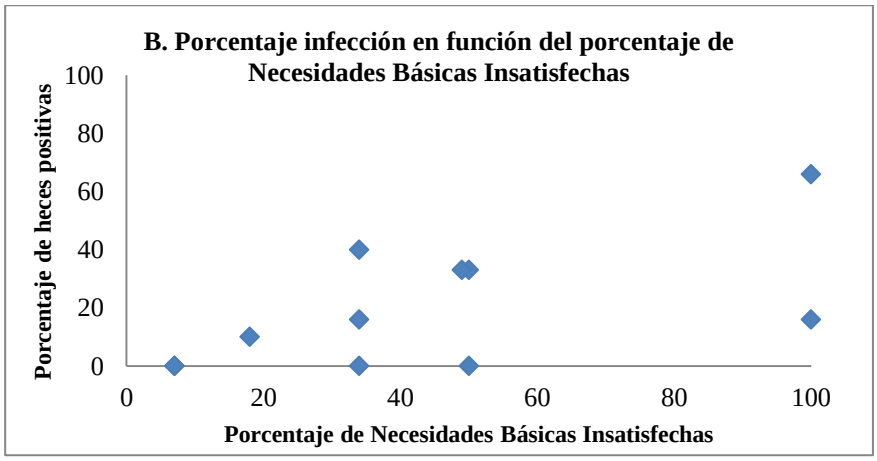
Encuesta a clínicas veterinarias

Se realizaron un total de 22 encuestas a las clínicas veterinarias registradas en el Colegio Médico Veterinario de San Carlos de Bariloche (20 encuestas) y Dina Huapi (2 encuestas). Mediante el cuestionario se indago sobre la existencia de casos diagnosticados por veterinarios locales y las características de cada caso y se entregó un folleto informativo

sobre la parasitosis (Anexos I y II). Como resultado de la misma se obtuvieron los siguientes datos:

- Cuatro veterinarios desconocían la difilobotriosis.
- Ocho veterinarios realizan análisis coproparasitológicos de rutina.





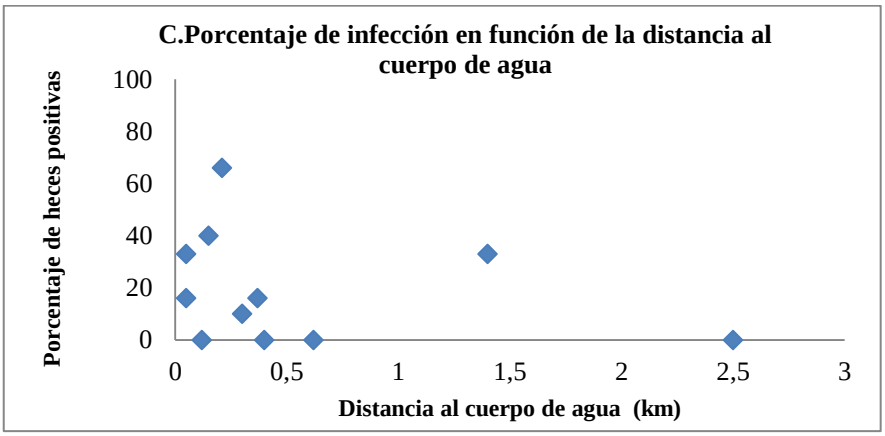


Figura 8. Porcentaje de heces positivas para *Diphyllobothrium* sp. en función de: A. la cantidad de perros sueltos por cuadra; B. el porcentaje de necesidades insatisfechas por barrio; C. distancia al cuerpo de agua.

- Cuatro veterinarios diagnosticaron difilobotriosis en perros, de los cuales dos lo detectaron por identificación de proglótidos despedidos con materia fecal y dos por identificación de huevos de *Diphyllobothrium* sp. en heces caninas.
- Tres de los cuatro perros diagnosticados con difilobotriosis presentaron síntomas gastrointestinales y uno no presentó síntomas específicos y fue diagnosticado mediante análisis coproparasitológico. Los dueños de estos cuatro animales vivían en zonas cercanas a cuerpos de agua y los perros tenían libre acceso a la calle. El tratamiento elegido en todos los casos fue praziquantel vía oral y fue efectivo en tres casos, los que no tuvieron reincidencia de la parasitosis. En el caso restante se desconoce si volvió a desarrollar la enfermedad ya que se perdió el registro del caso.
- En tres de los cuatro perros diagnosticados, el dueño no tenía relación con la pesca o el procesamiento de pescado.

DISCUSIÓN

Identificación

A partir de los resultados de las mediciones de huevos podemos señalar que los huevos encontrados tanto en heces caninas como en gusanos adultos obtenidos de perros

corresponden a *D. latum* y están dentro de los rangos dados en la bibliografía para esta especie (Lestinová et al., 2016). Los resultados moleculares de los gusanos adultos obtenidos de perros en Bariloche, confirman las observaciones de las medidas de los huevos de heces caninas. Las medidas de los huevos del gusano del caso humano (Anexo III), se corresponde con *D. latum* de humanos según Lestinová y colaboradores (2016) para otras partes del mundo.

En estudios morfológicos y moleculares de la parasitofauna de aves se encontró que las gaviotas (*Larus dominicanus*) del Parque Nacional Nahuel Huapi solamente estaban parasitadas con ejemplares de *D. dendriticum* (Kreiter y Semenas, 1997; Casalins et al., 2015). Si bien en la región, las truchas se encuentran infectadas con plerocercoides de ambas especies (Semenas, 2006) y se ha probado experimentalmente que *D. dendriticum* puede sobrevivir en mamíferos (von Bonsdorff, 1977), los resultados del presente trabajo permiten inferir que en la naturaleza existe cierta especificidad por el hospedador definitivo, por lo que los ejemplares de *D. latum* parasitan preferentemente a mamíferos, mientras que los de *D. dentriticum* parasitan a aves, principalmente gaviotas. Estudios previos sobre prevalencia e intensidad de infección por plerocercoides en truchas muestran que *D. dendriticum* es más frecuente y abundante que *D. latum*, ya sea en *Salvelinus fontinalis* (trucha de arroyo) o en *Onchorynchus mykiss* (trucha arco iris) (Revenga, 1993).

En el noroeste argentino se han registrado huevos de la familia Diphyllobothriidae en en carnívoros silvestre (Martinez et al., 2000) y también en perros urbanos (Milano y Oscherov, 2005), aunque la morfología de los huevos encontrados en estos últimos (Milano y Oscherov, 2005) no se corresponde totalmente con la de las especies de *Diphyllobothrium* (Lestinová et al., 2013), por presentar el extremo operculado en forma aguzada (Ver Figura en Anexo IV). Además, los rangos de medida de los huevos reportados tanto para perros domésticos (largo: 67,8µm ± 2,7; ancho: 35,6 µm ± 0,8) y para carnívoros silvestres del nordeste argentino (largo: 75µm ± 2,1; ancho: 46µm ± 3,4) no coinciden con las medidas reportadas por Lestinová et al. (2013) para *D. dendriticun* ni para *D. latum,* por lo que tal vez se trate de otras especies de *Diphyllobothrium* o bien de otros géneros de la familia.

Epidemiología

La difilobotriosis en perros es una parasitosis frecuente en el ejido urbano de la ciudad de San Carlos de Bariloche, dado que está presente en el 69,2% de los sitios analizados, con valores que varían entre 16% y 66% de heces caninas infectadas. Los valores observados son en general más altos que los registrados en otros sitios de Sudamérica (Ver Anexo V). Los valores en Chile y Perú varían entre 0,8 y 18,8% y en Argentina los valores registrados en heces de perros rurales de Neuquén alcanzaron el 0,2% (Ver Anexo V). En estudios previos de la ciudad de Bariloche, se registraron valores entre 0% y 33% de heces positivas para *Diphyllobothrium* sp., este último valor fue registrado en heces caninas del barrio Vivero (Semenas et al., 2014). Es interesante destacar que en el presente trabajo los valores para el barrio Vivero se duplicaron respecto del estudio previo pasando de 33% en 2013 (Semenas et al., 2014) a 66% en 2017.

Los resultados obtenidos indican que a mayor cantidad de perros sueltos en el barrio, con libre acceso a la calle, mayor será la cantidad de heces dispersas en el ambiente y mayor la probabilidad de encontrar heces parasitadas, considerando que los perros defecan dentro de en un rango de distancia de 0 a 200 m, preferiblemente a 50 m de la casa del dueño (Vaniscotte et al., 2011). El mayor valor de perros sueltos fue de 7,2 perros por cuadra (Vivero), coincidiendo con el mayor porcentaje de infección de *Diphyllobothrium* sp. en heces caninas (66%). Por lo contrario los barrios que resultaron negativos fueron aquellos que presentaron valores entre 0,5 (Pilar) y 1 perro suelto por cuadra (Cascada y Dina Huapi).

Los resultados de este trabajo indican que los barrios con altos NBI% presentan mayor porcentaje de heces infectadas ya sea con diferentes parasitosis gastrointestinales o particularmente con *Diphyllobothrium* sp. Esta tendencia ya fue registrada en un estudio previo sobre las parasitosis en heces caninas de 5 barrios de Bariloche (Semenas et al., 2014). La distribución de especies parásitas en los distintos barrios de Bariloche y su relación con los NBI% es indicativa de prácticas como la alimentación de los perros con vísceras crudas o la inadecuada disposición de éstas. Es una práctica usual la pesca furtiva invernal de subsistencia, cuando remontan los salmónidos, en barrios con altos NBI% y cercanos a los ríos Ñireco y Ñirihuau. Es en esa época que muchas personas que trabajan en

la construcción no tienen trabajo y se alimentan de truchas que pescan y dan de comer las vísceras a sus perros como fue el caso del "perro de Nicolás" (charla informal con Nicolás, habitante del Barrio San Cayetanito y dueño de un perro parasitado con *Diphyllobothrium* sp.).

Otro factor que indudablemente afecta la epidemiología de las parasitosis en general es la falta de educación sobre el rol que juegan los perros en la transmisión de enfermedades zoonóticas y la importancia de la desparasitación canina. En un estudio realizado sobre tenencia responsable en los barrios con altos NBI% como Nahuel Hue y Nuestras Malvinas, se registró que un 96,4% de los vecinos saben que los perros pueden transmitir enfermedades pero desconocen qué enfermedades pueden transmitir y cómo evitarlas (Garibotti et al., en prensa). Por otra parte en el mismo estudio se consultó sobre las prácticas de desparasitación de perros, obteniéndose que el 83% de los dueños habían desparasitado sus perros una vez en los últimos 12 meses, sin embargo lo recomendado por el Ministerio de Salud para parásitos zoonóticos es una vez cada 2 meses (Garibotti et al., en prensa).

Se observó que los barrios más cercanos a los cuerpos de agua presentaron valores de infección con *Diphyllobothrium* sp. levemente más altos, aunque el test estadístico no indicó asociación significativa entre porcentaje de infección y la distancia del cuerpo de agua. Es probable que una mejora en el muestreo, ya sea aumentando la cantidad de barrios a considerar, o aumentando la variación de la distancia a cuerpos de agua y diferentes NBI% resulten en una mejor aproximación al problema. Con los datos obtenidos se puede concluir que independientemente de la cercanía al cuerpo de agua, los altos porcentajes de NBI determinan fuertemente mayor probabilidad de encontrar perros infectados con *Diphyllobothrium* sp. En este escenario juegan un rol importante la falta de desparasitación de los perros, la pesca furtiva de subsistencia y la falta de educación respecto de prácticas higiénicas para evitar el contagio.

Análisis de encuestas

Tratándose de una enfermedad endémica llama la atención que sólo un 20% de las clínicas veterinarias diagnosticaron la parasitosis, quedando un gran porcentaje que no detecta la enfermedad ya sea por falta de conocimiento sobre la misma (18,2%) o por no realizar análisis coproparsitológicos de rutina (63,6%). También es posible que el nivel socio económico mediano-alto de las personas (NBI% bajos) que llevan sus mascota a clínicas veterinarias privadas este afectando la cantidad de perros infectados ya que estas mascotas en general ingieren alimento balanceado y se desparasitan periódicamente.

A partir de las encuestas realizadas se puede señalar que la mayoría de los veterinarios conoce la enfermedad y sabe de su presencia en la región dado, que solo 4 de ellos desconocían la presencia de *Diphyllobothrium* sp. en la zona. Es interesante destacar que sólo el 36,3% (8/22) de los veterinarios realizan análisis coproparsitológico de rutina, ya sea para diagnosticar la difilobotriosis o cualquier otra parasitosis.

Los animales centinelas pueden ser utilizados para contestar interrogantes de vigilancia epidemiológica como 1) detección de patógenos en un área nueva, 2) detección de cambios en la prevalencia o en la incidencia de un patógeno en el tiempo, 3) determinar las tasas y dirección de dispersión de un patógeno. Por lo tanto la infección de perros con *Diphyllobothrium* sp., al presentar la misma vía de infección que para los humanos, puede servir como centinela para esta zoonosis, considerando que muchos perros vagan libremente por la ciudad y están expuestos a la infección, por consumir restos de alimento de los humanos, basura y restos de peces que son abandonados (Schurer et al 2012).

Por otra parte cabe preguntarse cómo se infectan los perros con *D. latum*, considerando que en 3 de los 4 cuatro casos de perros diagnosticados por veterinarios sus dueños no tenía relación con la pesca o el procesamiento de pescado. Esto lleva a plantearse otras preguntas tales como:

- ¿Qué hacen los pescadores con las vísceras de los peces?
- Dado que esta parasitosis puede dispersarse y amplificarse en el ambiente (Schurer et al 2012). ¿Existe posibilidad de que carnívoros silvestres se infecten y diseminen la enfermedad por distintos cuerpos de agua dentro del Parque Nacional Nahuel Huapí?
- ¿Cuál es el tipo de tenencia que realizan los dueños con sus perros?

CONCLUSIONES:

- A partir de los resultados sobre la morfología de los huevos, obtenidos en este trabajo, podemos concluir que los huevos encontrados en heces caninas y en gusanos adultos procedentes de perros y de un caso humano corresponden a *D. latum* y están dentro de los rangos dados en la bibliografía para esta especie (Lestinová et al., 2016). Además los estudios moleculares del ADN del gen mitocondrial CO1, confirman esta identificación.

- La difilobotriosis en perros es una parasitosis frecuente en el ejido urbano de la ciudad de San Carlos de Bariloche dado que está presente en el 69,2% de los sitios analizados, con valores que varían entre 16 y 66% de heces caninas infectadas.
- El porcentaje de heces positivas para *Diphyllobothrium* sp. se relaciona en forma directa con la cantidad de perros sueltos en el barrio.
- Los barrios con altos NBI% presentan mayor porcentaje de heces infectadas ya sea con diferentes parasitosis gastrointestinales o particularmente con *Diphyllobothrium* sp.
- La cantidad de heces infectadas es independiente de la distancia al cuerpo de agua más cercano.
- Los altos porcentajes de NBI determinan una mayor probabilidad de encontrar perros infectados con *Diphyllobothrium* sp. En este escenario juegan un rol importante la falta de desparasitación de los perros, la pesca furtiva de subsistencia y la falta de educación respecto de prácticas higiénicas para evitar el contagio.

- La difilobotriosis es generalmente conocida por los veterinarios locales, aunque el diagnóstico de la enfermedad es bajo en relación con el porcentaje de infección encontrado en este trabajo. Es posible que el nivel socio económico mediano-alto de las personas (NBI% bajos) que llevan sus mascota a clínicas veterinarias privadas este afectando la cantidad de perros infectados. El diagnóstico se realiza tanto por análisis coproparasitológicos como por eliminación e identificación del gusano adulto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abuin, J.; Bellegarde, E.; Seijo, A.; Benetucci, J. (2012). Importancia de la difilobotriosis humana para el turismo. *Salud (i) Ciencia* 18: 713-16.
2. Bacigalupo, J.; D'Alessandro Bacigalupo, A. (1952). Difilobotriasis autóctona del perro en la Argentina. *Gaceta Veterinaria* 79: 1-7.
3. Blagburn, B. (2010). *Internal parasites of cats and dogs*. *Diagnostic manual*. Novartis Animal HealthUSA: Auburn University.
4. Casalins, L.; Arbetman, M.; Semenas, L.; Veleizán, A.; Flores, V.; Viozzi, G. (2015). *Difilobotriosis en gaviotas. Pasado y presente de está zoonosis en el Parque Naional Nahuel Huapi. Revista de Zoonosis Argentina de Enfermedades Infecciosas Emergentes* 10: 38-39.
5. Conover, J. (1980). *Practical non-parametric statistics. 2nd Edition*, New York: John Wiley & Sons.
6. Dick, T. (2007). *Diphyllobothriasis: The Diphyllobothrium latum human infection conundrum and reconciliation with a worldwide zoonosis. In: World class parasites Volume 11, – Foodborne parasitic zoonoses Fish and Plant borne parasites*: Darwin Murrell y Fried Bernard.
7. Garibotti, G.; Zacharías, D.; Flores, V.; Acuña, N.; Catriman, S.; Falconaro, A.; Fekete, E.; Gonález, T.; Kabaradjian, S.; Luque, L.; Macedo, B.; Molina, J.; Rauque, C., Soto, M.; Vázquez, G.; Vega, R.; Velázquez, C.; Viozzi, G. (2017). Dogs and human health. Epidemiological situation, Bariloche, Argentina. *Medicina*: *en prensa*.
8. Giménez Flores, T.; Chirife, C.; de Giménez, L. (2009). *Diphylobothrium latum* (Cestode: Pseudophyllidea) en gatos domésticos de zonas ribereñas al río Paraguay.

XlX Congreso Latinoamericano de Parasitología. 267. http://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/libroresumenesflap2009.pdf. (20 de abril de 2017).

9. Juárez, M. M. y Rajal, V. B. (2013). Parasitosis intestinales en Argentina: principales agentes causales encontrados en la población y en el ambiente. *Revista Argentina de Microbiología* 45:191-204.
10. Kuchta, R.; Bravec, J.; Kubácková, P.; Scholz, T. (2013). Tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) – Neglected o emerging human parasite? *Plos Neglected Tropical Diseases* 7: e2535. DOI:10.1371/journal.pntd.0002535.
11. Lestinová, K.; Soldánová, M.; Scholz, T.; Kuchta, R. (2016). Eggs as a suitable tool for species diagnosis of causative agent of human Diphyllobothriosis (Cestoda). *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10: e4721. DOI: 10.1371/Journal.pntd.0004721.
12. Martínez, F.; Troiano, J.; Gauna Añasco, L.; Duchene, A; Siscardi, A. (2000). Frecuencia de infección por *Diphyllobothrium* sp. (Cestoda: Diphyllobothriidae) en carnívoros silvestres de Argentina. *Boletín Chileno de Parasitología* 55 http://dx.doi.org/10.4067/S0365-94022000000300013.
13. Mercado, R.; Yamasaki, H.; Kato, M.; Muñóz, V.; Sagua, H.; Torres, P.; Castillo, C. (2010). Molecular identification of the *Diphyllobothrium* species causing diphyllobothriasis in Chilean patients. *Parasitology Research* 106: 995-1000.
14. Milano, A.; Oscherov, E. B. (2005). Diphyllobothriidae en cánidos de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* Vol. VI, Nº 6. ISSN 1695-7504 http://www.veterinaria.org/revistas/redvet.
15. Mocetti, N.; Ulloa, F.; Peña, P.; Santos, D.; Fernández, C.; Anchante, H.; Terashima, A. (2011). Parasitosis zoonóticas en mascotas caninas y felinas de niños de educación primaria del cono norte de Lima, Perú. Una Salud. *Revista Sapuvet de Salud Pública* 2: 15-24.
16. Molina, J.; Faigenbaum, A.; Castro, J.; Gastrel, H.; Ruggia, R. (2006). *Estimación de la población de caninos vagabundos en la ciudad de Buenos Aires octubre-noviembre 2006, Trabajo original del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur*.

17. Neghme, A.; Bertín, V. (1951). Estado actual de las investigaciones sobre *Dyphillobothrium latum* en Chile. *Revista Chilena de Higiene y Medicina Preventiva* 13: 8-l1.
18. Revenga, J. (1993). *Diphyllobothrium dendritucum and Diphyllobothrium latum* in fishes from Southern Argentina: association, abundance, distribution, pathological effects, and risks of human infection. *Journal of Parasitology* 79: 379-383.
19. Seijo, A. C. (2015). *Atlas de zoonosis y enfermedades emergentes. Argentina*: Editorial Fundación Mundo Sano.
20. Semenas, L. (2006). *Diphyllobothrium* spp. Cap 131. pags: 1269-1274. En Microbiología biomédica 2da edición. Basualdo Juan, Coto Celia y Torres Ramón (editores). Editorial Atlante, Buenos Aires, Argentina. 1537pp.
21. Semenas, L. (2013). Sushi y ceviche: ¿peligrosamente ricos? *Desde la Patagonia difundiendo saberes* 10: 26-33.
22. Semenas, L.; Flores, V.; Viozzi, G.; Vázquez, G.; Pérez, A.; Ritossa, L. (2014). Helmintos zoonóticos en heces caninas de barrios de Bariloche (Río Negro, Patagonia, Argentina). *Revista Argentina de Parasitología* 2: 22-27.
23. Thienpont, D.; Rochette, F.; Vanparijs, O. (1979). *Diagnóstico de las helmintiasis por medio del exámen coprológico.* Janssen Research Foundation Beerse, Bélgica.
24. Torres, P.; Hauser, M.; Santibañez, J.; Marin, F.; Gesche, W.; Montefusco, A. (1980). Búsqueda de *Diphyllobothrium* y otros parásitos intestinales en la población humana y carnívoros domésticos del sector del lago Calafquén, Chile. *Boletín Chileno de Parasitología* 35: 55-61.
25. Torres, P.; Figueroa, L.; Franjola, R. (1983). Pseudophylldea in the South of Chile lX. Types of plerocercoides in trouts from five lakes and new cases of *Diphyllobothrium latum* in man and *D. pacificum* in a dog. *International Journal of Zoonoses* 10: 15-21.
26. Torres, P.; Franjola, R.; Pérez, J.; Auad, S.; Uherek, F.; Miranda, J.; Flores, L.; Riquelme, J.; Salazar, S.; Hermosilla, C.; Rojo, R. (1989). Epidemiología de la difilobotriasis en la cuenca del río Valdivia, Chile. *Revista Saúde Pública Sao Paulo* 23: 45-57.

27. Torres, P.; Cubillos V.; Gesche W.; Rebolledo C.; MontefuscoA.; Miranda C.; Arenas J.; Mira, A.; Nilo, M.; Abello, C. (1991). Difilobotriasis en salmónidos introducidos en los lagos del sur de Chile: Aspectos patológicos, relación con infección humana, animales domésticos y aves piscívoras. *Archivos de Medicina Veterinaria* 23: 161-183.
28. Torres, P. (2013). *Difilobotriasis. Capítulo 29. En: Parasitología humana*. México DF: McGrawHill Education.
29. Schurer, J.; Hill, J. E.; Fernando, Ch.; Jenkins, E. (2012). Sentinel surveillance for zoonotic parasites in companion animals in indigenous communities of Saskatchewan. *American Journal of Tropical Medicine Hygine* 87: 495-498.
30. Vaniscotte, A.; Raoul, F.; Poulle, M.; Romig, T.; Dinkel, A.;Takahashi, K.;Guislain, M.; Moss, J.; Tiaoying, L.; Wang, Q.; Qiu, J.; Craig, P.; Uxp G. (2011). Role of dog behaviour and environmental fecal contamination in transmission of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities. *Parasitology* 138: 1316-1329.
31. Wicht, B.; Yanagida, T.; Scholz, T.; Ito, A.; Jiménez, J.; Brabec, J. (2010). Multiplex PCR for differential identification of broad tapeworms (*Cestoda*: *Diphyllobothrium*) infecting humans. *Journal of Clinical Microbiology* 48: 3111-3116.
32. Zunino, M.; De Francesco, M.; Kuruc, J.; Schweigmann, N.; Wisnivesky-Colli, C.; Jensen, O.; (2000). Contaminación por helmintos en espacios públicos de la provincia de Chubut, Argentina. *Boletín Chileno de Parasitología* 55: 78-83.

Anexo I

Encuesta a Clínicas Veterinarias

Clínica Veterinaria:…….

Fecha:…….

1. ¿Conoce usted la difilobotriosis?

2. ¿Realiza coproparasitológico de rutina?

3. ¿Diagnosticó alguna vez difilobotriosis en perros, gatos u otro animal? ¿En qué fecha?

4. ¿En base a qué se efectuó el diagnóstico?

5. ¿Qué síntomas presentaba el animal?

6. ¿De qué barrio era el animal? ¿Tiene acceso a la calle?

7. ¿Qué tratamiento utilizó?

8. ¿Hubo reincidencia de la enfermedad?

9. ¿El propietario tenía alguna actividad relacionada con la pesca o el procesamiento de pescado?

Anexo II

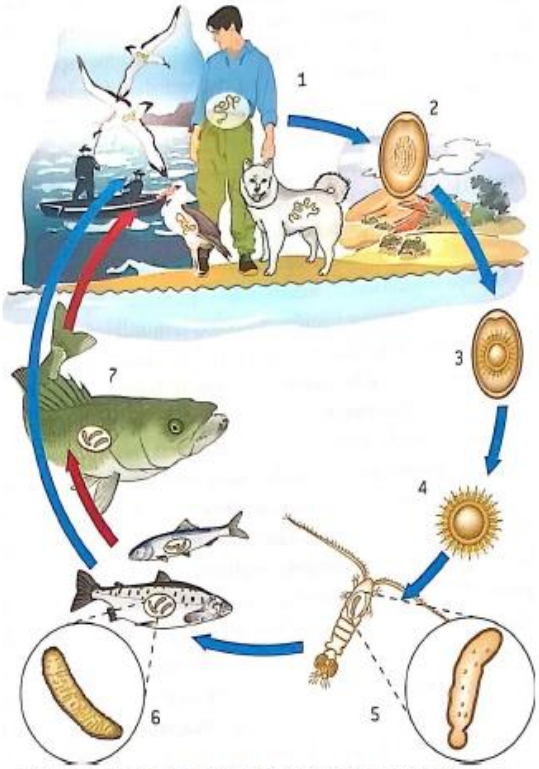


Figura N°1.- Tomado de Torres, 2013. Difilobotriasis, En: Parasitología Humana. W.Apt (Ed). Mc Graw Hill,México .

Ciclo de vida de Diphyllobothrium sp. 1: hospedador definitivo (hombre, perro y gaviota). 2: huevo. 3: desarrollo del coracidio dentro del huevo. 4: coracidio libre en medio acuático. 5: hospedador intermediario del plancton (copépodo) con larva procercoide. 6: hospedador intermediario pez chico con larva plerocercoide. 7: hospedador intermediario/paraténico pez grande con larva plero-

DIFILOBOTRIOSIS

¿Qué es la difilobotriosis?

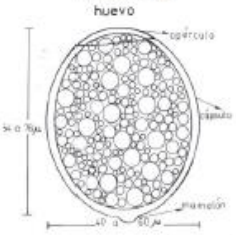
La difilobotriosis es causada por especies de cestodes del género *Diphyllobothrium*, también denominada tenia de los peces, es una enfermedad que afecta a aves y mamíferos que se alimentan de peces. El hombre y los animales se infectan por la ingesta de carne o vísceras de pescado infectado crudo o insuficientemente cocido.

¿Cómo se diagnostica?

Por la identificación de proglótidos eliminados por el hombre o el perro o bien por análisis coproparasitológico de las heces.

Gusano Adulto

Proglótido



Esquema y fotografía del huevo

¿Cómo se previene la enfermedad?

- Evitar el consumo de carne de peces ahumados o crudos (cebiche, sushi, sashimi).
- Cocinar la carne de pescado a más de 60°C durante más de 5 minutos.
- Congelar previamente a la cocción a -18°c por 24hs.
- Los pescadores deben enterrar o quemar las vísceras y restos de pescados.
- No alimentar a las mascotas con vísceras o carne de pescado cruda.
- Desparasitar periódicamente a las mascotas.

En el caso de obtener un ejemplar despedido por alguna mascota Solicitamos lo conserve en alcohol 96% y se contacte con el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Nacional del Comahue o Unidad Regional de Salud Ambiental Zona Andina.

Datos de Contacto:

- Laboratorio de Parasitología (de 9 a 16hs). Te: 0294 4423374 int 104
  Gustavo Viozzi. Cel: 0294 154356610. E-mail: gviozzi@gmail.com
  Verónica Flores. Cel: 0294 154319464. E-mail: veronicaroxanaflores@gmail.com
- Salud Ambiental (de 8:30 a 13hs). Te: 0294 4426118
  Diego Roth. Cel: 011 1562092178. E-mail: diego.andres.roth@gmail.com

Anexo III

Caso Clínico M, J.V. de 54 años:

A continuación se dan los detalles de un caso humano reportado por un médico del Hospital Privado Regional de San Carlos de Bariloche, durante el desarrollo del presente trabajo.

Informe de consulta del día 16/01/2017:

El día 16/01/17 el paciente M, J.V. (adulto, masculino) consulta por dolor abdominal tipo cólico/distención.

Refiere alteración del ritmo evacuatorio desde noviembre del 2016, dicha alteración consiste en aumento de las evacuaciones en una o dos oportunidades diarias, diarreicas y eventualmente con sangre fresca.

Atendió: Dr. Salvador Gagliardi

Solicito: Analítica de control; Parasitológico de materia fecal; Ecografía hepatobiliopancreática; Interconsulta Gastroenterólogo.

Resultado del examen coproparasitológico: Positivo para huevos de *Diphyllobothrium* sp.

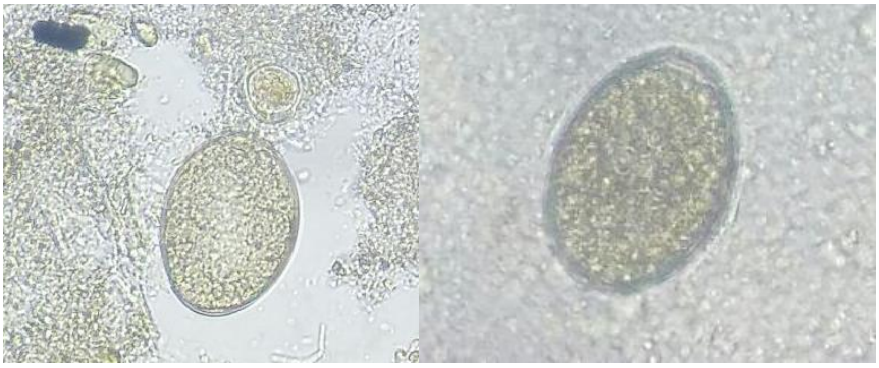


Figura 1: Huevos de Diphyllobothrium sp. encontrados en la materia fecal. Imágenes cedidas por la Dra. Stella Pordomingo del Laboratorio del Hospital Privado Regional de Bariloche.

Analítica de control:

Hematocrito: 42%	Colesterol: 244
Hemoglobina; 13,7%	Triglicéridos: 47
Glóbulos blancos: 7000	Antígeno prostático: 2
Plaquetas: 319000	Helicobacter pylori: (-)
Glucemia 106	

Ecografía hepatopancreática**:** normal

<u>Informe consulta día 07/03/17:</u>

Medicado con Prazicuantel 600 mg.

El día 24 de febrero de 2017 despide tenia.

Solicito Análisis Coproparasitológico de control para el día 03/04/17.

Atendió: Dr. Salvador Gagliardi.

Material derivado a Med. Vet. Diego Roth para identificación y análisis.

Se identificó al ejemplar como *Diphyllobothrium* sp. a partir de un estróbilo de 160 cm de largo con proglótidos maduros y sin escólex (Figura 2).

Figura 2: Ejemplar adulto de Diphyllobothrium sp. despedido por el paciente M, J.V..

Las medidas de lo huevos encontrados en proglotidos de esta tenia presentaron un rango de 67,5µm a 72,5µm en el largo y 47,5µm a 52,5µm en el ancho. Con un promedio de 69.25µ de largo por 50.5µ de ancho, siendo estas medidas compatibles con *D. latum*.

Encuesta Epidemiológica realizada 06/03/17

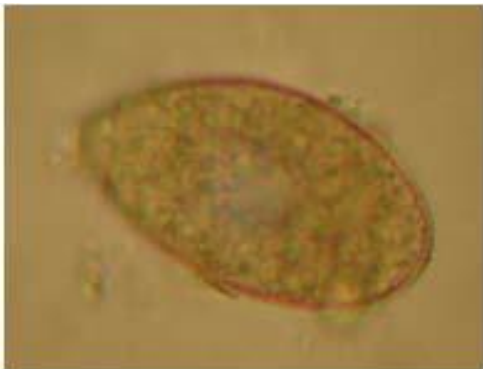
El paciente menciona los síntomas de malestar estomacal, eructo, flatulencia, diarrea acuosa esporádica, luego deposiciones diarreicas más frecuentes en los días siguientes hasta tener varias deposiciones durante el día y comenzar con dolor articular, muscular y decaimiento general. En ese momento acude a la consulta médica y le indican estudios complementarios, llegando al diagnóstico definitivo de esta parasitosis.

La actividad laboral del paciente es Artesano y practica habitualmente la pesca recreativa en lagos de la zona. Además señala que en abril del año 2016 consumió pescado crudo (Cebiche) en Valdivia, ciudad de Chile. No se descarta la posibilidad de contagio en otro momento ya que menciona consumir con anterioridad pescado ahumado en frío y sushi de elaboración propia y en restaurantes donde suele concurrir periódicamente.

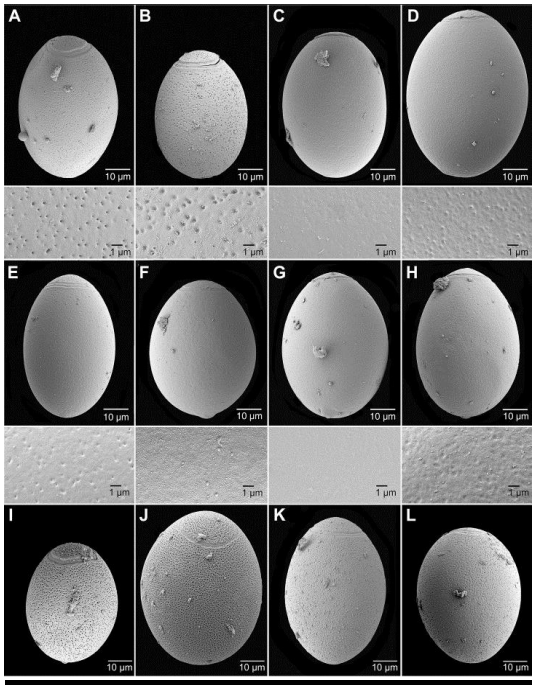
Se brindan medidas de prevención para el resto de los integrantes de la familia como así también para sus mascotas y se entrega un folleto informativo.

Encuestador: Med. Vet. Roth, Diego.

Anexo IV



Microfotografía con microscópio óptico de huevo de Diphyllobothriidae reportado para perros de la ciudad de Corrientes
Fuente: Milano y Oscherov (2005).



Fotografías con Microscópio Electrónico de Barrido de huevos de distintas especies de *Diphyllobothrium*

Fuente: Lestinová et al. (2013).

Anexo V

Comparación entre los valores de infección registrados en este trabajo y otros realizados en Sudamérica tanto en perros como en gatos.

Autor	Año	Parásito	Hospedador	N	Prevalencia	Ciudad	País
Neghme y Bertín 1951	1951	*Diphyllobothrium* sp.	perros	38	18,2%	Villarrica	Chile
Neghme y Bertín 1952	1952	*Diphyllobothrium* sp.	gatos domésticos	3	66%	Villarrica	Chile
Torres et al. 1980	1980	*Diphyllobothrium* sp.	perros	31	0%	Coñaripe y alrededores	Chile
Torres et al. 1983	1983	*D. pacificum*	perros	1			Chile
Torres et al. 1989	1989	*Diphyllobothrium* sp.	perros	105	5,8%	Riñihue	Chile
Torres et al. 1989	1989	*Diphyllobothrium* sp.	gatos domésticos	63	0%	Riñihue	Chile
Torres et al. 1991	1991	*Diphyllobothrium* sp.	perros	166	9,1-18,8%	Villarrica	Chile
Torres et al. 1992	1991	*Diphyllobothrium* sp.	gatos domésticos	53	5,3-9,1%	Villarrica	Chile
Giménez Flores 2009	2009	*D. latum*	gatos domésticos	20	15%	pueblos ribereños	Paraguay
Soriano et al. 2010	2010	*Diphyllobothrium* sp.	perros	236	0,2%	Neuquen rural	Argentina
Mocetti et al. 2011	2011	*Diphyllobothrium* sp.	perros	131	0,8%	Lima	Perú
Mocetti et al. 2011	2011	*Diphyllobothrium* sp.	gatos domésticos	49	0	Lima	Perú
Semenas et al. 2014	2014	*Diphyllobothrium* sp.	perros	27	0-33%	Bariloche	Argentina
Este trabajo	**2017**	***D. denriticum***	**perros**	**118**	**0-66%**	**Bariloche**	**Argentina**