Universidad Nacional del Sur
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Estudio de la respuesta antiparasitaria provocada por larvas de tercer estadio de *Contracaecum* sp. en *Oligosarcus jenynsii* (Günther, 1864) (Teleostei: Characidae)

Alumno: Ezequiel Cernadas Arduin
Directora: Dra. Silvia Elizabeth Guagliardo

Octubre 2022

Universidad Nacional del Sur
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Estudio de la respuesta antiparasitaria provocada por larvas de tercer estadio de *Contracaecum* sp. en *Oligosarcus jenynsii* (Günther, 1864) (Teleostei: Characidae)

Tesis de grado presentada para optar al título de Licenciado en Ciencias Biológicas.

Octubre 2022

Alumno
Ezequiel Cernadas Arduin
LU: 111500

Directora
Dra. Silvia Guagliardo

Agradecimientos

Esta tesis representa, en parte, un casi cierre para esta etapa como estudiante, algo inexplicable en pocas palabras luego de tantos años recorriendo los pasillos de la universidad. Por esto agradezco:

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, por permitirme desarrollar y transitar esta carrera, realizar la tesis de grado y permitirme acceder a una movilidad estudiantil a nivel nacional a la Universidad Nacional de Tucumán.

Al proyecto "Sistemas parásito-hospedador como herramientas de monitoreo de calidad ambiental en ambientes de agua dulce del sudoeste bonaerense" del Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos PGI UNS 24/B293 (2019-2022), dirigido por el Dr. Tanzola y codirigido por la Dra. Guagliardo que subvencionó el plan de tesis de grado.

A Silvia, la directora de tesis, por acompañar en el transcurso de este plan de tesis de grado, aportar sus conocimientos y despejar las dudas que surgieron.

A Daniel, por tomarse el tiempo para aportar al desarrollo de esta tesis y permitirme el uso del Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos.

A Nora, mi profe consejera, por ayudarme a organizarme y guiarme en la tesis de grado y el final de la carrera.

A Gabriela Gigola y Liliana Albornoz, por su predisposición en realizar parte de las técnicas histológicas.

A Fede y Juli, mis amigos de la escuela que estuvieron todos estos años, en las buenas y en las malas, los quiero mucho y gracias por estar.

A los Bichólogos y demás gente que se me cruzó por la carrera (Agus, Titi, Martin, Jere, Ayli, Estefi, Anto, Mari N., Mari P., Pau V., Pau M., Jessi, Gabi, Ainho, Eve, Lu, Jona, Ger, Fran, Esteban…) por las juntadas, los cumpleaños, las recibidas, viajes, los mates, las risas, las catarsis que hicieron que la carrera se hiciera más amena. Los quiero, les agradezco un montón.

A los scout (Gonza, Fede, Valen, Mila, Juli, Marti, Vicky, Ivan, Feli) que estuvieron alegrando todos estos años con juntadas, cumpleaños, viajes, campamentos, recitales. Los quiero mucho.

A la familia, Abuelos, Tios, Primos que estuvieron acompañando con palabras de aliento.

A Cielo, la mejor sister, que siempre estuvo compartiendo muchos momentos y charlas que siempre acompañaron desde el corazón, TE QUIERO INFINITAMENTE.

A mis papás, Claudia y Edgardo, que me permitieron poder realizar esta carrera; eternamente agradecido por todo su esfuerzo para que sus hijos estudien. Gracias por el apoyo en cada situación difícil. LOS QUIERO MUCHO!!

ÍNDICE

Resumen……..1

Introducción…….....2

Objetivos…….....4

Materiales y métodos…….....5

Área de estudio…….....5

Muestreo de peces…….....5

Aislamiento e identificación parasitaria……...6

Estudios histopatológicos…….....6

Resultados…….....7

Caracteres diagnósticos…….....7

Morfometría……..…….....9

Descripción histopatológica……..11

Discusión…….....14

Conclusiones……..…….....17

Bibliografía……..…18

RESUMEN

Las larvas de nematodes *Contracaecum* están ampliamente distribuidas en peces marinos y de agua dulce, como el dientudo *Oligosarcus jenynsii*. El impacto de los parásitos sobre su hospedador permite extrapolar resultados a las poblaciones y comunidades del ecosistema. El objetivo de este trabajo fue describir larvas de tercer estadio de *Contracaecum* sp. presentes en el dientudo e interpretar, a nivel tisular, la interacción parásito-hospedador. El área de muestreo fue la Laguna Sauce Grande (38º57'S, 61º24'O) y el arte de pesca, líneas de anzuelos. Se extrajeron las larvas encapsuladas en la cavidad celómica. Se tomaron medidas morfométricas utilizadas para la identificación parasitaria. Se utilizaron técnicas histológicas de rutina. Las coloraciones empleadas fueron Hematoxilina y Eosina, Tricrómico de Masson y Azul de Toluidina. La mayoría de las larvas estaban vivas al ser desencapsuladas en cajas de Petri. Las imágenes histológicas mostraron reacciones granulomatosas sin destrucción parcial o total del parásito. Las cápsulas reactivas que rodearon a las larvas se estructuraron según un infiltrado interno, compuesto mayormente por células epitelioides y en menor medida linfocitos. Se evidenció como estrato más externo una delgada capa de fibras y fibroblastos. En adyacencia a ambos estratos, la imagen histológica se completó con células granulares eosinofílicas (confirmadas a través de la coloración de Azul de Toluidina) y linfocitos. La presente constituye la primera descripción de la respuesta histopatológica por parte del dientudo en lagunas del Sudoeste de la Provincia de Buenos Aires. Si bien se observó una fuerte respuesta por parte del hospedador la misma mantuvo intacta y viable la microanatomía parasitaria. No se observaron melanizaciones ni áreas necróticas. Por lo se puede inferir que el dientudo es un hospedador adecuado, ya que si bien encapsula no impide el acceso del parásito al estado adulto en su hospedador definitivo.

INTRODUCCIÓN

Los parásitos de peces del sudoeste bonaerense han sido escasamente estudiados. Sin embargo, la evidencia disponible menciona una significativa diversidad de helmintos parásitos (monogeneos, digeneos, cestodes, nematodes y acantocéfalos) (Tanzola et al., 2009; Guagliardo & Tanzola, 2016; Tanzola et al., 2019; Tanzola et al. 2020). Los parásitos heteroxenos involucran más de un tipo de organismo para el cumplimiento de su ciclo de vida, existiendo factores aleatorios, tanto bióticos como abióticos, que intervienen para que el parásito logre exitosamente llegar a su fase adulta.

Las larvas de nematodes Anisákidos del género *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912, están ampliamente distribuidas tanto en peces marinos como de agua dulce, ya sea en estado salvaje como en cautiverio (Moravec et al., 1997; Zdzitowiecki, 2001; Timi et al., 2001; Martins et al., 2005; Mancini et al., 2008; Tanzola et al., 2009). Los adultos de *Contracaecum* cierran su ciclo de vida en aves piscívoras y mamíferos (Anderson, 2000). Los peces (huéspedes intermediarios) se infectan al comer crustáceos (primer huésped intermediario) con estadios larvales L2 y/o peces que contienen estadios larvales L3, cumpliendo en este último caso, un rol de huésped paraténico, ya que se infectan y mantienen el mismo estadio larval (Fig. 1). Se han localizado larvas libres o encapsuladas en paredes del estómago, hígado, cavidad abdominal, mesonefros y mesenterios en peces del Río Paraná (Moravec et al., 1993). Las aves piscívoras y pinnípedos (huéspedes definitivos) se alimentan de estos peces parasitados y en estos se desarrolla el estadio larval L4 y adultos (Anderson, 2000; Drago et al., 2020). Es así, que se han reportado adultos de *Contracaecum jorgei* Sardella, Mancini, Salinas, Simões & Luque, 2020 en el intestino y proventrículo de *Nannopterum brasilianus,* biguá (Gmelin, 1789) (syn. *Phalacrocorax brasilianus*) en la provincia de Córdoba; y de *Contracaecum australe* en *Phalacrocorax gaimardi,* cormorán gris en las costas del Atlántico Sudoccidental (Garbin et al., 2011).

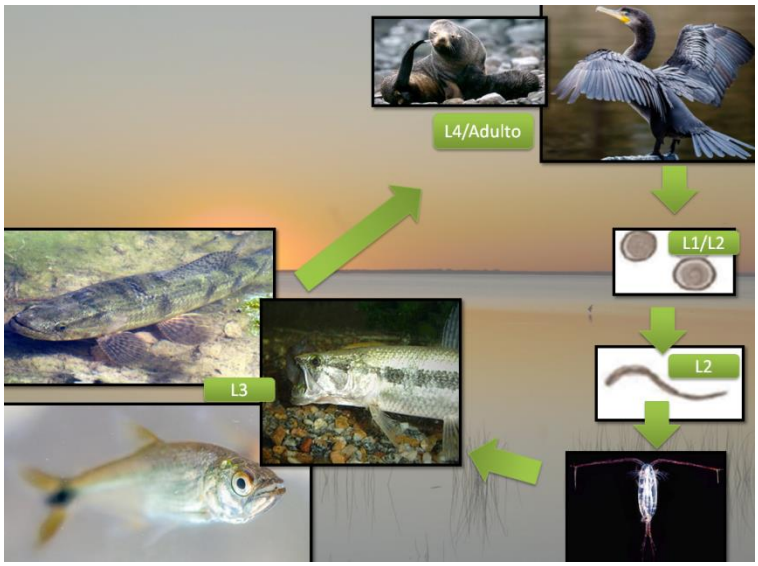

Fig. 1: Ciclo biológico conceptual de *Contracaecum.*

Contracaecum presenta una distribución cosmopolita con registros en Argentina en las provincias de San Juan (Ramallo & Cancino, 2021), La Rioja, Mendoza, San Luis (Mancini et al., 2014), Córdoba (Biolé et al. 2012; Mancini et al., 2014; Sardella et al., 2020), Santiago del Estero (Ramallo & Torres, 1995), Catamarca (Ramallo & Padilla Bortayro, 2011), Buenos Aires (Tanzola et al., 2009; Mancini et al., 2014) y Santa Cruz (Garbin et al., 2014).

Respecto del hospedador, *Oligosarcus jenynsii* (Teleostei: Characidae) presenta una distribución geográfica desde el sur de Brasil y Uruguay, hasta el Río Colorado en Argentina. En el sureste de la llanura pampeana en la Provincia de Buenos Aires se reporta una diversidad de 25 especies de parásitos en el dientudo (Digeneos, Cestodes, Nematodes, Monogeneos, Acantocéfalos, Copépodos y Mixosporidios) incluido el género *Contracaecum* (Rossin et al., 2019).

La inmunidad en peces puede ser innata (inespecífica), o adquirida (específica), siendo de mayor importancia la primera (Swain et al., 2007). La inmunidad innata, brinda una primera forma de defensa, al disparar procesos inflamatorios, donde se reclutan neutrófilos y fibroblastos, incrementándose la fagocitosis y disminuyendo la fibrinólisis. También incluye células granulares eosinofílicas y basófilas, que participan amplificando la inflamación, al verter el contenido de sus gránulos citoplasmáticos al medios extracelular. A su vez, presentan un elemento humoral importante, el sistema del complemento, que se puede activar por tres vías: la clásica, la alterna y la de la lectina (Vega-Ramirez et al., 2010). La inflamación en peces es similar a la que ocurre en otros vertebrados, siendo un proceso estereotipado de protección importante, en el que se diferencian dos tipos, aguda y crónica. La inflamación aguda se destaca por procesos vasculares y de exudación durante un periodo de 3 a 10 días, donde pueden eliminar al patógeno. La respuesta inflamatoria crónica ocurre cuando el estímulo persiste. Aquí predominan los macrófagos, que proporcionan actividad fagocítica, linfocitos y células plasmáticas. Dentro de esta respuesta, la fibroplasia es un proceso muy común en las encapsulaciones ante nematodes. En peces, la inflamación granulomatosa es la más común y consiste, en la presencia de macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y fibroblastos en el lugar de la lesión. Si este tipo de respuesta inflamatoria elimina al patógeno, el tejido sanará y si no, la respuesta inflamatoria crónica quedará por el resto de la vida (Mumford et al., 2007).

A pesar de pertenecer a la familia Anisakidae, dentro de la cual la larva L3 del género *Anisakis* es la encargada del 95% de la anisakidosis en humanos, el género *Contracaecum* es un agente etiológico casual, siendo el humano un hospedador accidental (Rivera Mauricio & Rosales Rodriguez, 2008; Tanzola & Guagliardo, 2008).

Respecto a las lesiones, éstas pueden pasar inadvertidas, como ocurre en la mayoría de los casos (Robert, 1981), o bien desencadenar procesos patológicos que pueden llevar a la muerte del hospedador (Kinkelin et al., 1991). Ante la presencia del parásito suelen dispararse procesos de inactivación o eliminación a través de respuestas celulares y humorales, que van desde la inflamación aguda o crónica, hasta la necrosis severa (Feist & Longshaw, 2008; Mitchell et al., 2009). Si perduran

durante el tiempo suficiente, cualquier etapa de desarrollo en la que los helmintos migren a través de los tejidos del hospedador, puede producir una respuesta celular. La efectividad de la misma puede depender de la especie hospedadora (Feist & Longshaw, 2008).

Por otro lado, los efectos de los parásitos en sus hospedadores pueden alterar las variables que se utilizan habitualmente en estudios de ecología, que van desde el nivel individual de peces (por ejemplo, factores de condición); poblacional (por ejemplo, estimaciones de mortalidad y éxito reproductivo), o de comunidades (por ejemplo, medidas de competencia interespecífica) (Timi & Poulin, 2020). Es por ello, que conocer el impacto de los parásitos sobre su hospedador a nivel de individuo, permitiría extrapolar los resultados a las poblaciones y comunidades del ecosistema.

En este estudio se procuró, como **Objetivo General**, abordar la interacción parásito-hospedador a nivel tisular en el dientudo (*Oligosarcus jenynsii*), una especie muy común en la laguna Sauce Grande, para interpretar su significación e inferir su repercusión dentro de las tramas tróficas del ecosistema.

Los **Objetivos Específicos** fueron:

1) Describir el estadio larval de *Contracaecum* sp. presente en *O. jenynsii*.

2) Evaluar la respuesta inmune celular provocada por larvas de tercer estadio de *Contracaecum* sp.

Materiales y Métodos

Área de estudio

La laguna Sauce Grande (38º 57’ S - 61º 24’ O) está ubicada en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Fig. 2). Desde el oeste, el río Sauce Grande ingresa a la laguna y sale de la misma por el este (Cony et al., 2014). Presenta un área de 21,55 km^2, con un perímetro de 28,5 km (Fornerón et al., 2010). Pertenece al grupo de las denominadas lagunas oligosalinas, con una salinidad baja (1,20 g/L), precipitaciones anuales de entre 600 mm y 700 mm, y valores de temperatura de entre los 14ºC y 20ºC, siendo el clima de la región templado (Campo de Ferreras et al., 2004). La disponibilidad de zooplancton es buena (Remes Lenicov & Colautti, 2003). Respecto de la ictiofauna, la riqueza de especies está conformada por *Odontesthes bonariensis* (pejerrey); *O. jenynsii* (dientudo); *Cyphocharax voga* (sabalito); *Rhamdia sapo* (Syn *R. quelen*) (bagre negro); *Astyanax* (Syn *Psalidodon*) sp. (mojarra) y *Bryconamericus iheringi* (mojarra). La comunidad de peces estaría bien estructurada por su comunidad, siendo el pejerrey la especie dominante (Remes Lenicov & Colautti, 2003).

Fig. 2: Imagen satelital del Sudoeste de la provincia de Buenos Aires. a: Ciudad de Bahía Blanca; b: Laguna Sauce Grande; c: Ciudad de Monte Hermoso.

Muestreo de peces

Se colectaron cinco dientudos mediante línea de anzuelos, cuyos promedios y rangos de peso (g) y longitud total (mm) fueron 71.03 [53,38-90,56] y 170,80 [115-195], respectivamente. Los ejemplares fueron eutanasiados por sobredosis narcótica con solución alcohólica de eugenol (1 mL en 30 ML de etanol 96°) y se mantuvieron a 4 °C hasta su evisceración. Se expuso la cavidad celómica

por medio de una incisión ventral, para la visualización y posterior prospección parasitaria. Se retiraron y contabilizaron los nematodes presentes en las vísceras. Tanto la musculatura epiaxial como la hipoaxial fueron examinadas para determinar la posible migración parasitaria. Los *Contracaecum* se obtuvieron de la cavidad celómica entre los mesenterios.

Aislamiento e identificación parasitaria

Las prospecciones parasitológicas se llevaron a cabo bajo lupa binocular. Se procedió a la extracción de los nematodes y su posterior desencapsulación. Los mismo se fijaron en alcohol-glicerina (1:1, en caliente por flameado) (Tanzola & Guagliardo, 2004; Tanzola *et al*, 2009), se diafanizaron en alcohol-glicerina o lactofenol de Amman y se conservaron en alcohol 70°. Para la identificación de los nematodes se utilizaron las claves descritas por Moravec et al. (1993); Abollo et al. (2001); Martins et al. (2005); Pardo et al. (2008); Sardella et al. (2020) y Braicovich et al. (2022) teniendo en cuenta: longitud total (LT); diámetro total (DT); longitud del esófago (LE); ancho del esófago (AE); Ancho máximo a nivel del ventrículo (AV); longitud del apéndice ventricular (LAV); longitud del ciego intestinal (LCI); longitud del ano a extremo caudal (LC) y longitud del extremo oral al anillo nervioso (BA).

Estudios histopatológicos

Para describir las lesiones anatomopatológicas se emplearon técnicas histológicas de rutina: fijación (líquido de Bouin alcohólico o formalina 10%), deshidratación, inclusión en parafina y cortes de 5 µm de espesor. Las técnicas de coloración utilizadas fueron: Hematoxilina-Eosina (H-E), la cual nos permite ver la microanatomía tanto de *Contracaecum* como de los tejidos del hospedador; tricrómica de Masson, que nos permite identificar de color azul la presencia de fibras colágenas y azul de Toluidina, que permite un diagnóstico diferencial entre células granulares eosinofílicas y células basofílicas.

Resultados

Descripción general del parásito

Caracteres diagnósticos

Los ejemplares presentaban tres esbozos labiales, un diente larval típico y un poro excretor en la base del esbozo labial ventral (Fig. 3). El divertículo esofágico o apéndice ventricular es más corto que el ciego intestinal (Figs. 4 a y b). Extremo posterior presenta cola cónica y anillada. Fásmido está presente (Fig. 5). El corte histológico a la altura del intestino del parásito evidencia caracteres diagnósticos del género, al presentar forma y tamaño típicos de los cordones hipodérmicos laterales y de las estriaciones longitudinales de la cutícula de *Contracaecum* (Fig. 6).

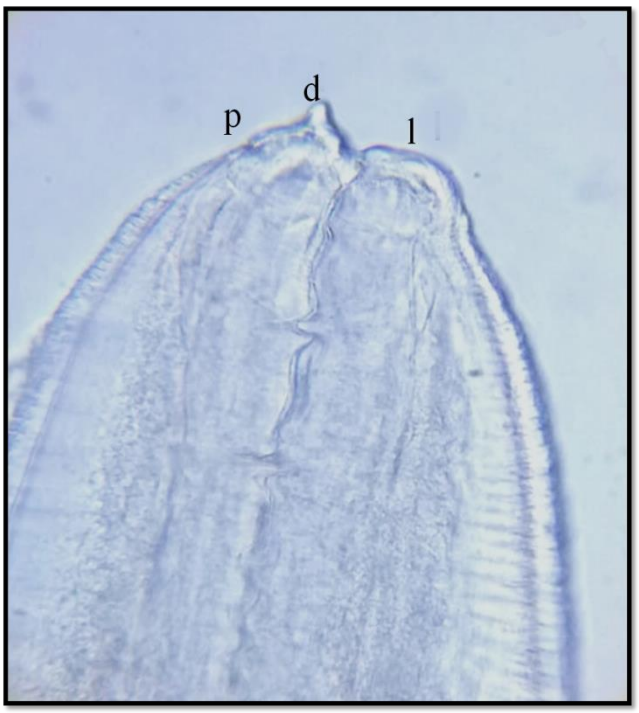

Fig. 3: Extremo anterior de las larvas de *Contracaecum* sp. encontradas en la cavidad celómica de *Oligosarcus jenynsii*. Referencias d: Diente ventral; l: labio; p: poro excretor. Magnificación 1000X.

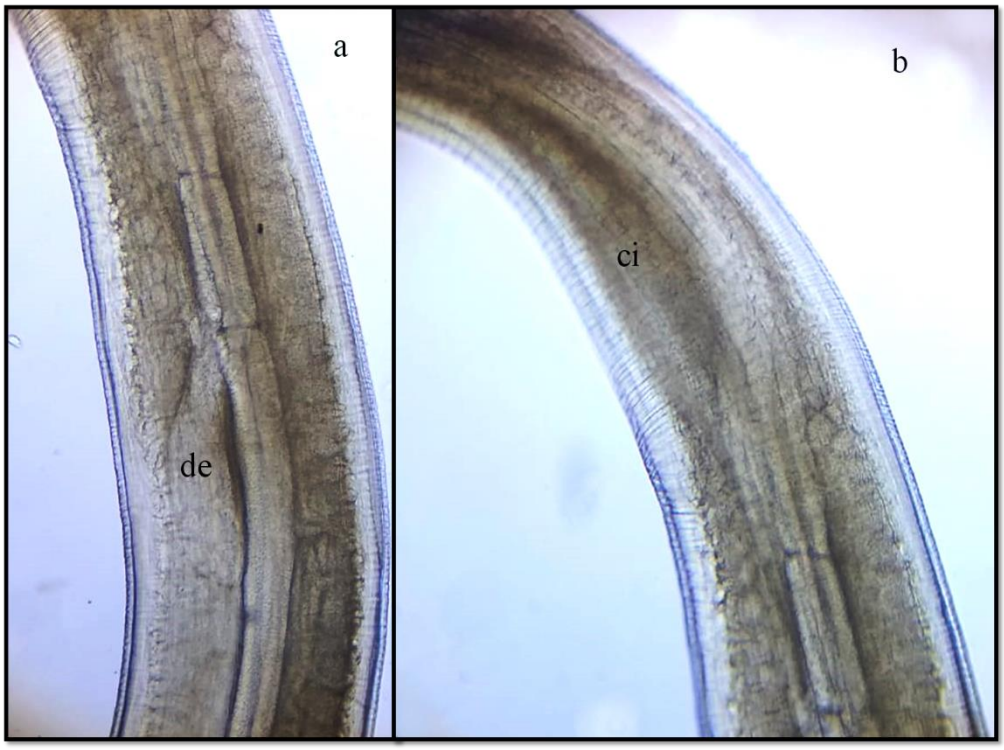

Fig. 4: Detalle del tubo digestivo de las larvas de *Contracaecum* sp. encontradas en la cavidad celómica de Oligosarcus jenynsii, en el que se visualizan el divertículo esofágico (a) y el ciego intestinal (b). Referencias de: Divertículo esofágico; ci: Ciego intestinal. Magnificación 1000X.

Fig. 5: Extremo posterior cónico de las larvas de *Contracaecum* sp. encontradas en la cavidad celómica de *Oligosarcus jenynsii*. Referencias: a: ano; f: fásmido. Magnificación 1000X.

Fig. 6: Corte histológico transversal de la larva L3 de *Contracaecum* sp. en cavidad celómica de dientudo. Referencias: c: cutícula; e: gl excretora; h: cordones hipodérmicos laterales; i: intestino; m: células musculares; r: reacción de encapsulación. Tinción: H-E. Magnificación 400X.

Morfometría

Los valores morfométricos obtenidos de las larvas de *Contracaecum* sp. se muestran en la tabla 1, así como la comparación con los valores registrados en la bibliografía.

Tabla 1 Comparación de los datos morfometrícos de larvas de *Contracaecum* sp. del presente estudio respecto de los reportes bibliográficos para el género.

	Moravec et al., (1993), Tipo 2	Martins et al., (2005), Tipo 2	Pardo et al., (2008)	Sardella et al., (2020) *C. jorgei*	Presente estudio
Longitud total (mm)	15,70-25,70	12,00–34,50	18,00±2,59	11,56 [11,10-12,25]	[7,62-10,82]
Ancho máximo (mm) a nivel del ventrículo	0,449-0,843	0,60–1,03	0,66±0,28	0,29 [0,24-0,39]	0,325
Longitud del esófago (mm)	1,970–2,110	1,87–2,61	1,55±0,64	1,76 [1,63-1,89]	1,53 [1,5-1,56]
Anillo nervioso (mm) distancia a extremo oral	0,313–0,381	0,18–0,37	0,30±0,02	0,25 [0,18-0,28]	0,22
Longitud del ciego intestinal (mm)	1,500–1,580	1,20–2,15	1,48±0,19	1,08 [0,98-1,30]	1,53 [1,5-1,56]
Longitud del apéndice ventricular (mm)	0,462–0,503	0,40–0,72	0,47±0,08	0,34 [0,30-0,37]	0,4
Cola (mm)	0,095	0,10–0,22	0,13±0,04	0,13 [0,11-0,13]	0,1
Relación Ciego intestinal/apéndice ventricular	1:0,30	1:0,22–1:0,41	1:0,30±0,5	1:0,314	1:0,38

Esta descripción coincide con larvas L_3 de *Contracaecum* sp. Familia Anisakidae.

Descripción histopatológica

En la cavidad celómica del hospedador la respuesta por parte del mismo consistió en una gradación desde infiltrados inflamatorios leves (Fig. 7), hasta granulomas bien consolidados. En ambos casos, las células presentes fueron: fibroblastos, macrófagos, linfocitos, células epitelioides, y células granulares eosinofílicas, siendo estas dos últimas las predominantes en la reacción granulomatosa (Figs. 8 y 9).

Se confirmo la presencia de células granulares eosinofílicas a partir de la técnica histoquímica de azul de Toluidina (Figs. 10).

La figura 11 muestra la presencia de detritos celulares de origen macrofágico en el espacio interno del granuloma, resultado de la degradación macrofágica (*lipofucsina like*).

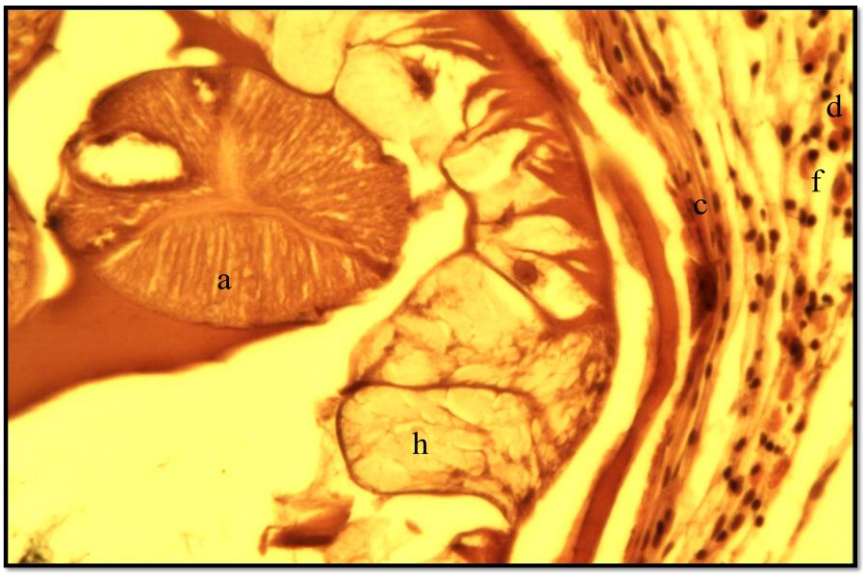

Fig. 7: Corte transversal de larva L3 de *Contracaecum* sp. a nivel del esófago hallada en cavidad celómica de *Oligosarcus jenynsii*, mostrando una respuesta inflamatoria leve. Referencias: a: esófago; h: cordón hipodérmico lateral; c: fibroblastos; d: macrófagos, f: células granulares eosinofílicas. Tinción: H-E. Magnificación: 400X.

Fig. 8: Respuesta de inflamación crónica en la cavidad celómica de Oligosarcus jenynsii alrededor de una larva L3 de *Contracaecum* sp. definida por el predominio de células epitelioides (b) y células granulares eosinofílicas (f). Tinción: H-E. Magnificación: 400X.

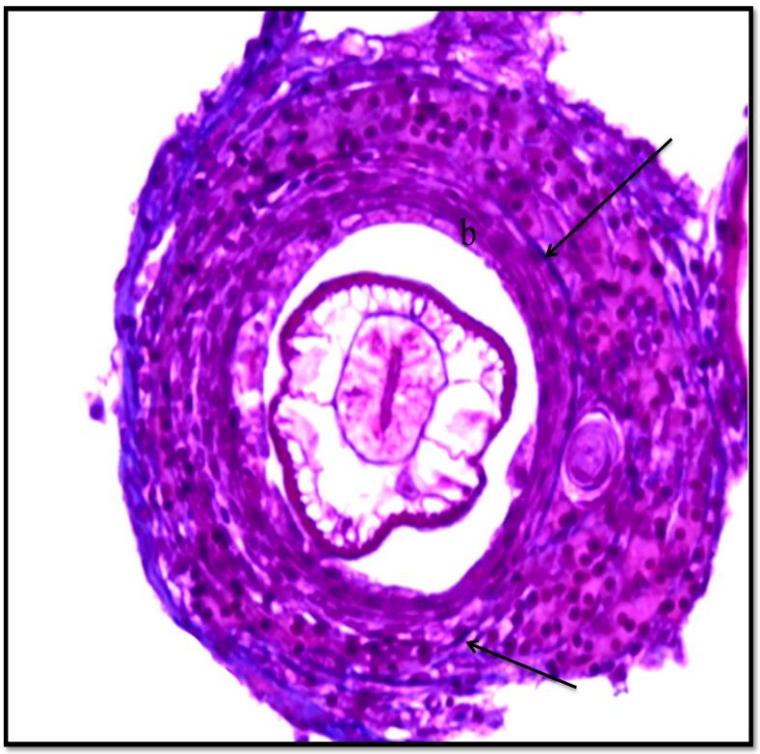

Fig. 9: Respuesta crónica granuloma con predominio de células epitelioides (b) y fibra (flechas) en la cavidad celómica de *Oligasarcus jenynsii* alrededor de una larvar L3 de *Contracaecum* sp. Tinción Tricrómica de Masson. Magnificación: 400X.

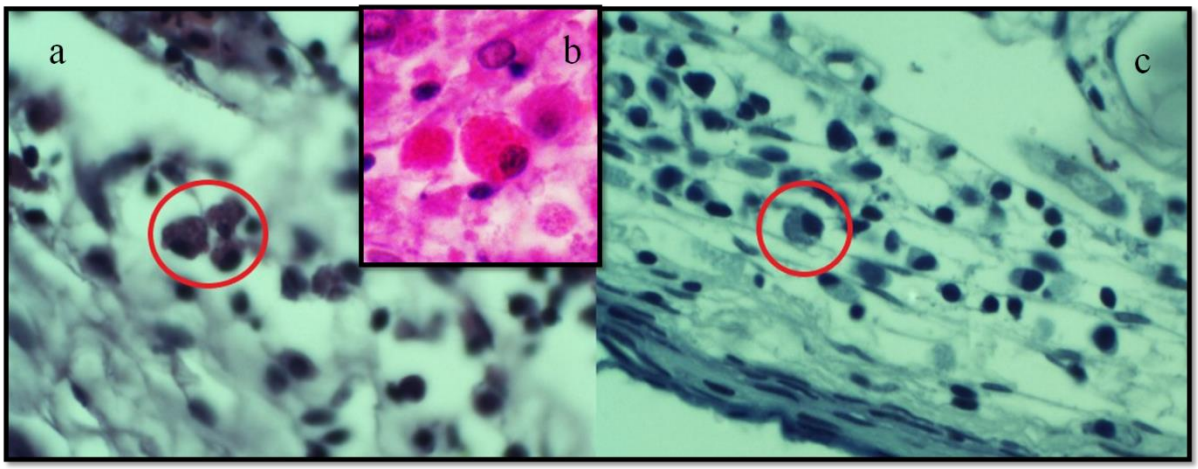

Fig. 10: Infiltrado inflamatorio crónico en cavida celómica de *Oligosarcus jenynsii*. Células granulares eosinofílicas (H-E) (a y b) confirmadas con azul de Toluidina (c). Magnificaciones: a y c 400x y b 1000X.

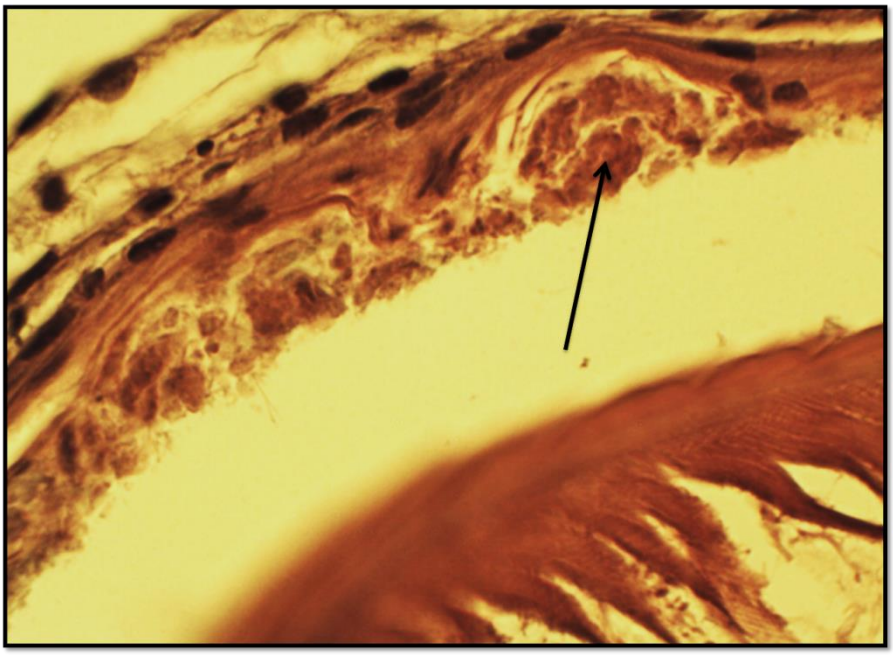

Fig. 11: Detalle de la respuesta inflamatoria crónica en la cavidad celómica de *Oligosarcus jenynsii* alrededor de la larva L3 de *Contracaecum* sp. Notese la presencia de detritos celulares de origen macrofágico en el espacio interno del granuloma (flecha). Tinción: H-E. Magnificación 1000X.

Discusión

Los peces, tanto marinos como de agua dulce, representan para el género *Contracaecum* vías de transmisión parasitaria particulares para cada ecosistema, dependiendo de las tramas tróficas de cada ambiente. Los adultos parasitan el estómago de aves y de mamíferos piscívoros tanto de aguas dulces, salobres, como marinas. Cuando no se alimentan de material digerido por el hospedador, se adhieren a la mucosa pudiendo horadarla y provocar úlceras (Anderson, 2000). Los huevos completan su desarrollo en el ambiente acuático y de ellos eclosiona una L2 envainada, con un esbozo de apéndice ventricular. Según las distintas especies, los copépodos pueden ser transportadores paraténicos de larvas hacia los peces (por ej. *C. multipapillatum*, *C. rudolphi* y posiblemente *C. osculatum*) o bien la L2 muda a L3 en el hemocele, constituyendo entonces verdaderos hospedadores intermediarios, tal es el caso de *C. micropapillatum* (Huizinga, 1971; Semenova, 1979). Sin embargo, se ha demostrado que el desarrollo del ciego digestivo y del apéndice ventricular se completa en los peces. Asimismo, se conoce la transmisión serial de pez a pez en varias especies (Anderson, 2000).

La presencia de diente cefálico, en el nematode, demuestra que es una larva de tercer estadio. Por otra parte, la relación del ciego intestinal con el divertículo esofágico, siendo este último entre un tercio a dos tercios más corto respecto al ciego intestinal, coincide con *Contracaecum* tipo II (Moraveck et al., 1993). Estas mediciones también concuerdan con las calculadas por Martins et al. (2005), quien también considera a sus ejemplares de Maranhão, Brasil como *Contracaecum* tipo II.

Las diferencias encontradas en la longitud total respecto a las registradas por otros autores pueden deberse a que los ejemplares de *Contracaecum* reportados en la bibliografía fueron obtenidos de peces más grandes que *O. jenynsii*, como son *Hoplias malabaricus*, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Martins et al., 2005) y *Hoplias argentinensis* (Sardella et al., 2020). Los ejemplares de dientudo midieron, en promedio, 170,80 mm, mientras que los de *H. malabaricus* 223 mm y los de *H. unitaeniatus* 181 mm (Martins et al., 2005). Este mayor tamaño, sumado a sus hábitos alimenticios piscívoros, los pone en eslabones mayores de la cadena alimenticia, lo cual provoca que al comportarse como huéspedes paraténicos, el parásito pueda crecer tanto en el pez presa, como el paraténico, aumentando así su tamaño sin cambiar su estadio larval.

Salvo la longitud total, los restantes valores morfométricos registrados en este estudio guardan similitud con *C. jorgei* (Sardella et al., 2020). Sin embargo, Braicovich et al. (2022), recomiendan la necesidad de recurrir a técnicas moleculares, utilizando para la determinación específica dos marcadores, (Cox-2 y RRNS). A partir de análisis filogenéticos de la secuencia obtenida, los citados autores, pudieron tipificar a *C. jorgei* en *Odontesthes bonariensis* y *O. jenynsii*. Se propone, en el presente estudio, la necesidad de continuar con estudios moleculares que permitan confirmar la especie para dientudos del Sur de la Provincia de Buenos Aires.

Según Roberts (1981) la mayoría de los peces, tanto en estado salvaje como en cautiverio, se encuentran infestados por parásitos cuyas lesiones pasan inadvertidas en la mayoría de los casos; sin embargo, en ocasiones son instaurados procesos patológicos que pueden causar la muerte del parásito.

Generalmente las especies celozoicas no generan respuestas significativas en el hospedador, salvo en etapas donde realizan migraciones por el tejido del huésped, en las cuales pueden producir respuestas de tipo celular (Feist & Longshaw, 2008). La respuesta inflamatoria aquí estudiada, es de tipo crónica, debido a la presencia de infiltrado de macrófagos, linfocitos, células eosinofílicas, fibroblastos y células epitelioides, comenzando como encapsulaciones y culminando en la formación de verdaderos granulomas. Este hecho coincide con las respuestas inflamatorias crónicas de los peces que menciona Mumford et al. (2007), así como también mencionan Torres y Cubillos (1987) en la porción anterior del intestino de *Salmo trutta* en Chile. En dichos estudios, las larvas se encontraron rodeadas por elementos fibroblásticos y células inflamatorias del tipo linfoplasmocitario y macrofágicas, aunque no se observaron elementos eosinofílicos. Este tipo de respuesta inflamatoria contiene al parásito en la región donde se encuentra, en este estudio la cavidad celómica, lugar que coincide con los *Contracaecum* encontrados en pescadilla de red, *Cynoscion guatucupa,* y en pejerrey, *O. bonariensis* y *Odontesthes argentinensis* (Galeano, 2017). Sin embargo, como se vio en este estudio, las larvas encapsuladas se observaron viables y móviles una vez desencapsuladas, lo que permitiría continuar el ciclo parasitario en caso de que el dientudo sea consumido por otro potencial hospedador. Desde el hospedador se considera una respuesta efectiva ya que no compromete los órganos del dientudo, salvo que el individuo presente una alta carga parasitaria.

El tipo de respuesta a la parasitosis de *Contracaecum* en el presente estudio fue similar a la registrada en otros géneros de la misma familia Anisakidae. Dentro de los géneros de la familia se encuentra un continuo de respuesta. En el caso de *Hysterothylacium* la literatura reporta desde reacciones fibrosas sin infiltrado hasta reacciones granulomatosas (Vázquez Nuñez et al., 2004), o bien con la presencia de células granulares eosinofílicas (Miyazaki et al., 1988). A su vez, se registraron reacciones inflamatorias granulomatosas con infiltrado de eosinófilos y macrófagos en otros géneros de la misma familia, como son *Anisakis* y *Pseudoterranova* (Rodriguez et al., 2019). Larvas de nematodes de otras familias, como *Brevimulticaecum* sp., también generan reacciones inflamatorias granulomatosas en peces y tiburones (Borucinska & Heger, 1999; Dezfulli et al., 2016).

La tinción de azul de toluidina permitió confirmar a las células granulares eosinofílicas, ya que evidenció la característica metacromática de estas células (Reite & Evensen, 2005; Megías et al., 2018). Estas células, frecuentes en reacciones inflamatorias de peces teleósteos, realizan funciones similares a los mastocitos en mamíferos (Reite & Evensen, 2005; Mumford et al., 2007). Es frecuente que los peces reaccionen de manera inespecífica frente a nematodes generando granulomas (Mumford et al., 2007). Sin embargo, si no existen necrosis o momificaciones, las larvas permanecen viables, siendo ésta la forma en que los peces pueden transmitirlas. El hecho de que sean encapsuladas no determina que pierdan la capacidad vital para llegar al estado adulto en el hospedador adecuado.

La presencia de una sustancia ceroide o detritos celulares en la cara interna de las

encapsulaciones también fue citada como respuesta frente a otras infestaciones por anisákidos: *Pseudoterranova decipiens* (Ramakrishna & Burt, 1991), *Terranova galeocerdonis* (Tanzola, 2004) e *Hysterothylacium* sp. (Guagliardo, 2003). La misma podría tratarse de depósito ceroide, como la lipofucsina, pigmento asociado con la acumulación visceral de macrófagos, producido por la oxidación de lípidos de membrana y la destrucción celular (Wolke et al., 1985). Se sugiere para futuros estudios la confirmación con la coloración de PAS (Ácido Periódico-Reactivo de Schiff).

El dientudo se encuentra en el ambiente pelágico de lagunas, ríos y arroyos. Tiene un importante rol en la regulación de las presas, alimentándose de crustáceos, larvas y adultos de insectos, y pequeños peces (Colautti et al., 2019). Los crustáceos constituyen el primer hospedador intermediario del ciclo biológico de *Contracaecum*, lo que nos permite inferir que el dientudo *O. jenynsii* funcionaría como segundo hospedador intermediario, pudiendo no ser la única especie para cumplir con el ciclo parasitario. A su vez, al alimentarse de otros pequeños peces, si estos consumen crustáceos y son parasitados por *Contracaecum*, el dientudo cumplirá el rol de hospedador paraténico.

En cuanto a los posibles hospedadores definitivos, hay registros de *Contracaecum* en diferentes aves piscívoras (Drago et al., 2020). De las aves registradas por estos autores, como hospedadores definitivos y según el área de distribución reportadas para ellas por Narosky & Yzurieta (2010), en la laguna Sauce Grande, el ciclo de *Contracaecum* podría terminar en el biguá, *Nannopterum brasilianus*; la garza blanca, *Ardea alba egretta*; la garza mora, *Ardea cocoi*; la garza bruja, *Nycticorax nycticorax*; la garcita bueyera, *Bubulcus ibis ibis*; la garcita blanca, *Egretta thula thula*; el macá común, *Rollandia rolland* o la gaviota cocinera, *Larus dominicanus*. Estas especies conforman el ecosistema palustre de la Laguna Sauce Grande posibilitando a la especie de nematode estudiada la culminación de su ciclo vital.

Conclusiones

- Según Ramallo & Ailán-Choke (2022) dos especies de *Contracaecum* se han registrado en peces de agua dulce en la Argentina, *C. jorgei* y *C. rudolphii*. Dado que los ejemplares encontrados entran en el rango morfométrico de *C. jorgei* y dadas las referencias diagnósticas, tanto morfológicas como moleculares, de la bibliografía específica, junto al registro de esta especie de *Contracaecum* en *O. jenynsi* (Sardella et al., 2020; Braicovich et al., 2022), se propone que los ejemplares de este estudio corresponden a la especie *C. jorgei*. Sin embargo, se plantea la necesidad de continuar con estudios moleculares que permitan confirmar esta especie. En el caso de que así suceda, este estudio constituye una ampliación de distribución geográfica para la especie hacia el sudoeste de la provincia de Buenos Aires.

- La respuesta inflamatoria fue de tipo crónica, marcada por la presencia de verdaderos granulomas con infiltrado de macrófagos, linfocitos, células eosinofílicas, fibroblastos y células epitelioides. Esta se considera, una respuesta efectiva, ya que no compromete los órganos del dientudo, salvo que el mismo presente una alta carga parasitaria.

- Si bien se observó una fuerte respuesta por parte del hospedador, la microanatomía parasitaria se mantuvo intacta, sin melanizaciones ni áreas necróticas. Una vez liberadas, las larvas eran viables, lo que posiciona al dientudo como un excelente hospedador intermediario y/o paraténico, que facilita la prosecución exitosa del ciclo parasitario hacia aves piscívoras en el ecosistema de la Laguna Sauce Grande.

El presente estudio fue financiado PGI UNS 24/B293

Bibliografía

Abollo, E., Gestal, C. & Pascual, S. (2001). Anisakid infection in the European shag *Phalacrocorax aristotelis*. *Journal of Helminthology*. 75, 209-214.

Anderson, R.C. (2000). Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. London: Centro de Biociencia Agrícola Internacional, 2, 650.

Biolé, F.G., Guagliardo, S.E., Mancini, M.A., Tanzola, R.D., Salinas, V. & Morra, G. (2012). Primer registro de *Contracaecum australe* (Nematoda: Anisakidae) en *Phalacrocorax brasilianus* (Aves: Phalacrocoracidae) de la región central de Argentina. *BioScriba*, 5 (1), 1-11.

Borucinska, J. D. & Heger, K. (1999). Disseminated granulomas associated with nematode larvae in a shortfin mako shark. *Journal of wildlife diseases*, 35 (1), 98-100.

Braicovich, P.E., Levy, E., Canel, D., Cantatore, D.M.P., Alarcos, A.J., Taglioretti, V., Rossin, M.A., Lanfranchi, A.L., Irigoitia, M.M. & Timi, J.T. (2022). Diversidad oculta de larvas de *Contracaecum* spp. en peces marinos y dulceacuícolas de Argentina. IX Congreso argentino de parasitología. (p.246). Salta, Argentina.

Campo de Ferreras, A., Capelli de Steffens, A. & Diez, P. (2004). El clima del Sudoeste Bonaerense. Universidad Nacional del Sur, Departamento de Geografía y Turismo, 99.

Colautti, D.C., Garcia, J.R., & Baigún, C.R.M. (2019). Los peces de las lagunas de la ecorregión Pampeana. Universidad Nacional del Centro de la Provincia Buenos Aires. 180-198.

Cony N.L., Ferrer N.C. & Cáceres E.J. (2014). Evolución del estado trófico y estructura del fitoplancton de un lago somero de la región pampeana: Laguna Sauce Grande (Pcia. de Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática*, 30, 79-91.

Dezfuli, B.S., Fernandes, C.E., Galindo, G.M., Castaldelli, G., Manera, M., DePasquale, A.J., Lorenzoni, M., Bertin, S. & Giari, L. (2016). Nematode infection in liver of the fish *Gymnotus inaequilabiatus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) from the Pantanal Region in Brazil: pathobiology and inflammatory response. *Parasites & Vectors*, 9 (473), 1-10.

Drago, F.B., Núñez, V., & Diaz, M.D. (2020). Checklist of the nematode parasites of wild birds of Argentina. *Revue suisse de Zoologie*, 127 (1), 43-61.

Feist, S. & Longshaw, M. (2008). Histopatología de las infecciones por parásitos de los peces: importancia para las poblaciones. *Revista de biología de peces, 73* (9), 2143-2160.

Fornerón C.F., Piccolo M.C. & Carbone M.E. (2010). Análisis morfométrico de la laguna Sauce

Grande (Argentina). *Huellas*, Nº 14,11-30.

Galeano, N.A. (2017) Evaluación del potencial zoonótico de *Contracaecum* spp. (Nematoda: Anisakidae) e *Hysterothylacium* spp. (Nematoda: Raphidascarididae) como agentes de anisakidosis humana [Tesis de Doctorado en Biología, Universidad Nacional del Sur]. 1-176.

Garbin, L., Mattiucci, S., Paoletti, M., Gonzalez-Acuña, D., Nascetti, G. (2011). Genetic and morphological evidences for the existence of a new species of *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) parasite of *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) from Chile and its genetic relationships with congeners from fish-eating birds. *Journal of Parasitology,* 97, 476-492.

Garbin, L., Capasso, S., Diaz, J.I., Morgenthaler, A., Millones, A. & Navone, G. (2014). Nuevo hospedador y registro geográfico de *Contracaecum australe* (Nematoda, Anisakidae) parasitando a *Phalacrocorax gaimardi* (Aves, Phalacrocoracidae) en costas del Atlántico Sudoccidental. *Revista Argentina Parasitologica*, 2 (3), 6-11.

Guagliardo S.E. (2003). *Estudio sistemático, biológico y ecológico de los cestodes tripanorrincos (Eucestoda; Trypanorhyncha) parásitos de peces marinos en el área de Bahía Blanca*. [Tesis de Doctorado en Biología, Universidad Nacional del Sur]. 357.

Guagliardo, S. & Tanzola, D. (2016). Lerneosis en *Cnesterodon decemmaculatus* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) y observaciones sobre el efecto letal en especies de hospedadores de pequeño tamaño. *Helmintología neotropical*, *10* (2), 275-280.

Huizinga, H. W. (1971). Contracaeciasis in pelicaniform birds. *Journal of Wildlife Diseases*, 7 (3), 198-204.

Kinkelin, P., Michel, C. & Ghittino, P. (1991). *Tratado de las enfermedades de los peces*. Zaragoza, España: Acribia S.A.

Mancini, M., Bucco, C., Salinas, V., Larriestra, A., Tanzola, R. & Guagliardo, S. (2008). Variación estacional del parasitismo en pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes, Atherinopsidae) del embalse La Viña (Córdoba, Argentina). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *17*, 28-32.

Mancini, M.A, Biolé, F.G, Salinas, V.H, Guagliardo, S.E, Tanzola, E.D & Morra, G. (2014). Prevalencia, intensidad y aspectos ecológicos de *Contracaecum* sp. (nematode: anisakidae) en peces de agua dulce de Argentina. *Neotropical Helminthology,* 8 (1), 111-122.

Martins, M., Onaka, E. & Fenerick Jr, J. (2005). Larva de *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) en *Hoplias malabaricus* y *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) de importancia económica en las marismas occidentales de Maranhão, Brasil. *Parasitología veterinaria*, *127* (1), 51-59.

Megías, M., Molist, P. & Pombal, M.A. (2018). Mastocitos. En: Atlas de histología vegetal y animal. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Universidad de Vigo: LATEX. 1-5

Mitchell, A., Overstreet R., & Goodwin, A. (2009). *Eustrongylides ignotus* infecting commercial bass, *Morone chrysops* female × *Morone saxatilis* male, and other fish in the southeastern USA. *Journal of Fish Diseases*, 32, 795–799.

Miyazaki, T., Rogers, W.A. & Semmens, K.J. (1988). Gastro-intestinal histopathology of paddlefish, *Polyodon spathula* (Walbaum), infected with larval *Hysterothylacium* dollfusi Schmidt, Leiby & Kritsky, 1974. *Journal of Fish Diseases*, 11, 245-250.

Moravec, F., Kohn, A. & Fernandes, B.M.M. (1993). Nematode parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part 2. Seuratoidea, Ascaridoidea, Habronematoidea and Acuarioidea. *Folia parasitologica*, 40,115-134.

Moravec, F., Prouza, A. & Royero, R. (1997). Some nematodes of freshwater fishes in Venezuela. *Folia Parasitologica*, 44, 44-45.

Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., & Blazer, V. (2007). General Histopathology and Neoplasia. En: Fish histology and histopathology United States: US Fish and Wildlife National Conservation Training Center. 1-94.

Narosky, T. & Yzurieta, D. (2010). Aves de Argentina y Uruguay - Birds of Argentina & Uruguay: guía de identificación edición total - a field guide total edition. Buenos Aires: Vázquez Mazzini Editores. 1-427.

Pardo, S.C., Zumaque, M.A., Noble, H.C. & Suárez, M.H. (2008). *Contracaecum* sp. (Anisakidae) en el pez *Hoplias malabaricus*, capturado en la ciénaga grande de Lorica, Córdoba. *Revista MVZ Córdoba*, 13 (2), 1304-1314.

Ramakrishna N.R. & Burt M.D. (1991). Tissue response of fish to invasion by larval *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda; Ascaridoidea). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 1623-1628.

Ramallo, G. & Ailán-Choke, L. (2022). A checklist of the parasitic nematodes of freshwater fishes from Argentina. *Revue suisse de Zoologie*, 129 (1), 64-677.

Ramallo, G. & Cancino, F. (2021). First records of parasitic nematodes in two species of river fish, San Juan Province, Argentina. *Annals of Parasitology*, 67 (3), 543-547.

Ramallo, G. & Torres, P. (1995). Infección por larvas de *Contracaecum* sp. (Nematoda, Anisakidae) en *Salminus maxillosus* (Pisces, Characidae) en el embalse de Termas de Río Hondo, Argentina.

Boletin Chileno de Parasitologia, 50, 21-23.

Ramallo, G. & Padilla Bortayro, G. (2011). Nematodos parásitos de peces dulceacuícolas de la provincia de Catamarca, Argentina. *Acta zoológica lilloana*, 55 (2), 261-263.

Reite, O.B. & Evensen, Ø. (2005). Células inflamatorias de peces teleósteos: una revisión centrada en mastocitos/células granulares eosinofílicas y células rodlet. *Inmunología de pescados y mariscos*, 20, 192-208.

Remes Lenicov, M., & Colautti, D. (2003). *Laguna Sauce Grande, partidos de Monte Hermoso*. Dirección de desarrollo pesquero, Subsecretaría de actividades pesqueras, ministerio de asuntos agrarios. Informe No. 55, 1-20.

Rivera Mauricio, I.S. & Rosales Rodríguez, Ma.C.J., (2008). Caracterización parasitológica del lenguado (*Cyclopsetta panamensis* y *C. querna*) en la pesca industrial de peneidos en El Salvador. Tesis para optar el grado de Licenciada en medicina veterinaria y zootecnia. Universidad de El Salvador. 1-66.

Roberts, R.J. (1981). Patología de los peces. Mundi prensa, Madrid, España. *Clasificación biblioteca El Cerrillo: SH*, *171*, R62. 372.

Rodriguez, N.E.R., Sanchez, V.V., Gómez de Anda, F.R., García Reyna, P.B., González de la Rosa, L. & Zepeda-Velázquez, A.P. (2019). Species of Anisakidae nematodes and *Clinostomum* spp. infecting lisa *Mugil curema* (Mugilidae) intended for human consumption in Mexico. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 29 (1), 1-8.

Rossin, M.A., Taglioretti, V., Levy, E. & Timi, J.T. (2019). Estudio de las comunidades parasitarias del dientudo (*Oligosarcus jenynsii*) en tres lagos someros de la provincia de Buenos Aires. *Encuentro de saberes para la gestión responsable de ecosistemas acuáticos pampeanos*, 1, 278-280.

Sardella, C.J., Mancini, M., Salinas, V., Simões, R.O. & Luque, J.L. (2020). A new species of *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) found parasitizing *Nannopterum brasilianus* (Suliformes: Phalacrocoracidae) and *Hoplias argentinensis* (Characiformes: Erythrinidae) in South America: morphological and molecular characterization of larval and adult stages. *Journal of Helminthology*, 94, 1-11.

Semenova, M. K. (1979). The Role of Copepods in the Life Cycle of *Contracaecum micropapillatum* Ascaridata, Anisakidae. *National Research Council*, 29, 126-12.

Swain, P., Dash, S., Sahoo, P., Routray, P., Sahoo, S. & Gupta, S. (2007). Non-specific immune parameters of brood indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. *Fish & Shellfish Immunology*, 22, 38-43.

Tanzola R.D. (2004). *Aspectos sistemáticos, biológicos y patológicos de Terranova* sp. *(Nematoda; Anisakidae) en la provincia Zoogeográfica Argentina*. [Tesis doctoral] Universidad Nacional del Sur. 288.

Tanzola, D. & Guagliardo, S. (2004). Nematodes Anisákidos presentes en peces del área de Bahía Blanca y el riesgo potencial de Anisakidosis humana. *Revista de la Asociación Médica de Bahía Blanca*, 14 (3), 67-73.

Tanzola, D.R, & Guagliardo S.E. (2008). Anisakidosis. En Parasitosis Regionales. Universidad Nacional del Sur Bahía Blanca- Argentina: Ediuns. 273- 278.

Tanzola R., Guagliardo S., Romero A., Schwerdt C., Schwerdt M. & Galeano N. (2009). Diversidad parasitaria en peces de agua dulce del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (en Ambientes y recursos naturales del sudoeste bonaerense: Producción, contaminación y conservación). (*Actas de las V Jornadas Interdisciplinarias del Sudoeste Bonaerense*) ISBN: 978-987-655-021-5; 381-394.

Tanzola, D; Guagliardo, S. & Schwerdt, C. (2019) Malformaciones esqueléticas en mojarras del Río Sauce Chico. Actas de las *I Jornadas del Agua del Sudoeste Bonaerense*. 28 de Noviembre. Bahía Blanca. 141-144.

Tanzola R; Guagliardo S; Poggi C; Angeletti, B & Schwerdt, C (2020). On the life cycle of *Cucullanus pinnaipinnai* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928) (Nematoda: Cucullanidae) parasite of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes) from its southern localities. *Neotropical Helminthology* 14 (2), 217-225.

Timi, J., & Poulin, R. (2020). Why ignoring parasites in fish ecology is a mistake. *International Journal for Parasitology*, *50* (10-11), 755-761.

Timi, J., Sardella, N. & Navone, G. (2001) Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et Marini, 1935 (Pisces, Engraulidae) of the Argentine and Uruguay and coasts South West Atlantic. *Acta Parasitologica* 46 (3), 186–193.

Torres, P. & Cubillos, V. (1987). Infección por larvas de *Contracaecum* (Nematoda, Anisakidae) en salmónidos introducidos en Chile. *Journal of Veterinary Medicine*, 34 177-182.

Vázquez Nuñez, R., Lezama Ramirez, J., Osorio Sarabi, D., Chávez Soriano, L.A. & Constantino Casas, F. (2004). Lesiones causadas por helmintos del aparato digestivo en peces estuarinos de la Laguna Tres Palos, Guerrero, México. *Veterinaria. México*, 35 (4), 369-378.

Vega-Ramirez, M.T., Moreno-Lafont, M.C., García-Flores, V. & Lopez-Santiago, R. (2010). Respuesta inmune en peces. *Inmunología veterinaria. México: El Manual Moderno.* 309-314.

Wolke R.E, George C.J. & Blazer V.S. (1985). Pigmented macrophage accumulations (MMC; PMB): Possible Monitors of Fish Health. En: William J. Hargis Jr. (Ed.) *Parasitology and Pathology of Marine Organisms of the World Ocean*. NOAA Technical Report NMFS 25, 93-98.

Zdzitowiecki, K., (2001). Occurrence of endoparasitic worms in a fish *Parachaenichthys charcoti* (Bathydraconidae), of the South Shetland Islands (Antártica). *Acta Parasitológica*, 46 (1), 18–23.