

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

Análisis morfológico y molecular de *Alaria* sp. (Trematoda, Diplostomidae) de carnívoros silvestres de Uruguay

Tesis de Maestría en Salud Animal

FEDERICO GOLIN SALVERAGLIO

URUGUAY
2025

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**Análisis morfológico y molecular de *Alaria* sp. (Trematoda,
Diplostomidae) de carnívoros silvestres de Uruguay**

Federico Golin Salveraglio



**José Manuel Venzal
Director de Tesis**

2025

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

Dra. Teresa Armúa

**Unidad de Parasitología Veterinaria, Departamento de Patobiología
Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay**

Dr. Alejandro Perretta

**Unidad de Acuicultura
Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.**

Dr. Jaime Sanchís

**Departamento de Ciencias Veterinarias y Agrarias
CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Uruguay**

ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE MAESTRÍA

Materia: 10002 TESIS DE MAESTRÍA DICIEMBRE 2025	Orientación: Salud Animal. Período: Fecha evaluación: 12 de DICIEMBRE	Hora: 16:00	Lugar: aula 103
--	--	-------------	-----------------

Tribunal:

Presidente: - Dra. Teresa Armúa

2° Integrante: Dr. Alejandro Perreta

3^{er} Integrante: Dr. Jaime Sanchís

C.I	Nombre	Concepto	Nota
4745901 - 4	Federico Sebastián Golin Salvegario	Excelente	E

Nota: La calificación mínima para aprobar la defensa es Aceptable (A)

El tribunal evaluador considera que el trabajo titulado "Análisis morfológico y molecular de Alaria sp. (Trematoda, Diplostomidae) de carnívoros silvestres de Uruguay" posee una elevada relevancia para el campo de la parasitología y la salud veterinaria. Da cumplimiento pleno a los objetivos propuestos y aporta información original de carácter morfológico y molecular sobre un parásito escasamente estudiado en la región. El estudio ha sido concebido, diseñado y ejecutado con rigor metodológico. El documento escrito se caracteriza por su claridad expositiva y adecuada organización. Asimismo, la presentación y defensa oral se desarrollaron de manera satisfactoria y con solvencia académica, destacándose la receptividad del estudiante y su dominio de la temática abordada.

TRIBUNAL

FIRMA

Alejandro Perreta

Dra. Teresa Armúa

JAIME SANCHIS

Jaime Sanchis
JAIME SANCHIS
C.I. 3.653906.1-

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer al Lic. Oscar Castro por contagiarme el gusto por la parasitología y ser una fuente incansable de referencia en ello, así como de otros tópicos igual de interesantes.

Al Dr. José Manuel Venzal por acompañarme en este camino y sus aportes acertados para el crecimiento de este trabajo.

A la Dra. María Laura Félix por sus aportes y enseñanzas en la metodología molecular desarrollada.

A mis compañeros y amigos, de FVet y de la vida por su apoyo en todas estas etapas de formación en donde siempre se necesita un empujón para seguir.

A Sofía por siempre estar, a toda hora y en todo lugar, en cualquier ocurrencia que pueda aparecer, sin ella nada de esto podría ser tangible.

Por último, a Carl Nilsson Linnaeus y Charles Robert Darwin.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	8
RESUMEN.....	9
SUMMARY	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Phylum Platyelminthes, Clase Trematoda, Orden Digenea.....	12
1.2. Clase Trematoda, Rudolphi, 1808	13
1.3. Subclase Digenea Carus, 1863	13
1.4. Trematodos digeneos con potencial zoonótico en el mundo y la región.....	14
1.5. Orden Strigeiformes LaRue, 1926	14
1.6. Ubicación taxonómica y características del género <i>Alaria</i>	17
1.7. El género <i>Alaria</i> como causante de zoonosis	19
1.8. Especies dentro del género <i>Alaria</i> : distribución y hospedadores	21
1.9. El género <i>Alaria</i> en América del Sur	26
1.10. Presencia de <i>Alaria</i> sp. en Uruguay	27
1.11. Estudios moleculares en el género <i>Alaria</i>	28
2. HIPÓTESIS.....	30
3. OBJETIVOS.....	30
3.1. Objetivo general	30
3.2. Objetivos específicos.....	30
4. MATERIALES Y MÉTODOS	31
4.1. Obtención y procesamiento del material	31
4.2. Análisis coprológicos	31
4.3. Montaje, estudio morfológico y morfométrico de ejemplares.....	32
4.4. Obtención de secuencias de ADN de <i>Alaria</i> sp. mediante PCR (Reacción en cadena de polimerasa).....	32
4.4.1. Extracción de ADN	32
4.4.2. Amplificación del ADN de los marcadores moleculares COI e ITS2 mediante PCR.....	33
4.4.3. Obtención de secuencias, identidad y análisis filogenéticos.....	33
5. RESULTADOS.....	35
5.1. Carnívoros silvestres obtenidos y necropsias parasitarias.....	35
5.2. Análisis morfológico y morfométrico de los ejemplares de <i>Alaria</i> sp.	37
5.3. Morfología de los huevos de <i>Alaria</i> sp.....	40
5.4. Ubicación de <i>Alaria</i> sp. con relación al tracto digestivo de los hospedadores... En todos los casos analizados, los ejemplares de <i>Alaria</i> sp. fueron hallados.....	41
5.5. Análisis moleculares.....	41
5.5.1 Amplificación y obtención de secuencias para COI e ITS2.....	41

5.6. Identidad de secuencias	43
5.6.1 Secuencias del marcador COI.....	43
5.6.2. Secuencias del espaciador ITS2	48
5.7. Análisis de los árboles filogenéticos	50
5.7.1. Árbol filogenético con secuencias del marcador COI.....	50
5.7.2. Árbol filogenético con secuencias del espaciador ITS2	52
5.7.3. Hospedadores de <i>Alaria</i> spp. en Uruguay y la región.....	54
6. Discusión	56
7. Conclusiones	63
8. Bibliografía.....	64

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Cebadores utilizados en este estudio.	33
Tabla 2. Resultados de necropsias parasitarias, incluyendo datos de colecta de hospedadores.	36
Tabla 3. Prevalencia, intensidad, abundancia media y rango de intensidad de <i>Alaria</i> sp. según hospedador.	37
Tabla 4. Medidas de ejemplares de <i>Alaria</i> spp. obtenidos en este estudio.	38
Tabla 5. Muestras de ADN amplificadas para COI e ITS2.	42
Tabla 6. Identidad de secuencias obtenidas comparadas con secuencias disponibles en GenBank para el marcador COI.	44
Tabla 7. Identidad de las secuencias (%) obtenidas para el marcador COI en este estudio.	47
Tabla 8. Identidad de secuencias obtenidas comparadas con secuencias disponibles en GenBank para el espaciador ITS2.	49
Tabla 9. Etapas del ciclo de <i>Alaria</i> spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Uruguay.	54
Tabla 10. Etapas del ciclo de <i>Alaria</i> spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Argentina.	55
Tabla 11. Etapas del ciclo de <i>Alaria</i> spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Brasil.	55
Tabla 12. Prevalencia, intensidad y abundancia media de la infección de <i>Alaria</i> en cánidos silvestres (zorros) de la región.	56
Tabla 13. Medidas de <i>Alaria</i> spp. con variación según hospederos de ejemplares de este estudio.	59
Tabla 14. Medidas comparativas de especies de <i>Alaria</i> spp. con presencia de aurículas salientes.	60
Figura 1. (A) Ejemplar adulto de <i>Alaria</i> sp. ilustrado mostrando los órganos en comparación con (B) un ejemplar teñido y montado.	39
Figura 2. (A) Otro ejemplar adulto montado y teñido de <i>Alaria</i> sp. (B) Detalle de la extremidad anterior de <i>Alaria</i> sp.	40
Figura 3.(A) Extremidad posterior de <i>Alaria</i> sp. con huevos en el útero. (B) Huevo de <i>Alaria</i> sp. obtenido de una sedimentación simple.	41
Figura 4. Gel de la corrida de electroforesis de la PCR para el marcador COI.	42
Figura 5. Gel de la corrida de electroforesis de la PCR para el espaciador ITS2	43
Figura 6. Árbol filogenético construido con secuencias parciales del marcador COI. .	51
Figura 7. Árbol filogenético construido con secuencias parciales del espaciador ITS2	53

RESUMEN

Alaria es un género de trematodos de la subclase Digenea cuyas formas adultas parasitan el intestino delgado de diversas especies de carnívoros. Se caracteriza por poseer un ciclo de vida heteroxeno en donde requiere de un primer hospedador que es un molusco dulceacuícola y un segundo que en general es un anfibio, desde donde las formas infectantes (mesocercarias) alcanzan a su hospedador definitivo. El ciclo también puede tener hospedadores paraténicos como anfibios, reptiles o mamíferos. En el hospedador definitivo las mesocercarias se desarrollan a metacercarias y posteriormente a adultos. Es considerada una zoonosis, con casos humanos documentados. Para Sudamérica y en particular nuestra región, se ha determinado mediante morfología que la especie presente es *Alaria alata*, habiendo escasa evidencia molecular que lo apoye. Con el objetivo de caracterizar mediante morfología y análisis moleculares basados en identidad de secuencias y estudios filogenéticos, se realizaron 22 necropsias parasitarias de mamíferos silvestres del Orden Carnívora encontrados muertos en diferentes rutas del país. El 77,3 % (17/22) de los animales: *Cerdocyon thous* (7/7), *Lycalopex gymnocercus* (7/7), *Procyon cancrivorus* (2/6), *Leopardus geoffroyi* (1/1) y *Galictis cuja* (0/1), estaban parasitados con helmintos compatibles morfológicamente con el género *Alaria* y similares a *A. alata*. A un ejemplar representativo de *Alaria* de cada hospedador se le realizó extracción de ADN y se amplificaron dos fragmentos de ADN, uno para el marcador mitocondrial citocromo c oxidasa I (COI) y otro nuclear para la región del espaciador transcrito interno (ITS2). Los análisis morfológicos de los ejemplares examinados (n°=73) demostraron que, si bien se hallaron diferencias morfométricas entre los helmintos obtenidos de diferentes hospedadores, no fue posible diferenciarlos entre ellos, así como tampoco de *A. alata*. En cambio, la identidad de las secuencias obtenidas fue de entre 98,27 % y 100 % con *Alaria* sp. obtenidas de carnívoros en Argentina para COI y de 99,13 % con *Alaria* sp. obtenida en anuros en EE. UU. para ITS2, siendo muy diferentes a las secuencias halladas para *A. alata* de Europa, que fueron entre 90,97 % y 92 % de identidad para COI y 98,52 % para ITS2. Los análisis filogenéticos basados en secuencias COI demuestran que los ejemplares de Uruguay forman un clado de alto soporte con secuencias obtenidas de diferentes muestras de carnívoros de Argentina y se separan del resto de las especies de *Alaria*. Si bien el número de secuencias disponibles para ITS2 es menor, también se observa que las secuencias de Uruguay no se relacionan a *A. alata*. En base a la evidencia obtenida en este estudio, se puede aseverar que los ejemplares pertenecientes al género *Alaria* hallados en carnívoros silvestres de diferentes departamentos del país pertenecen a un mismo taxón y que difieren genéticamente de *A. alata*. Incluso se puede inferir que *A. alata* no estaría representada en el país y probablemente la región, y que se trate de un caso de especies crípticas.

SUMMARY

Alaria is a genera of trematodes in the subclass digenea whose adult stages parasitize the small intestine of carnivorous species. It exhibits a heteroxenous life cycle involving a freshwater snail as the first intermediate host and typically an amphibian as second intermediate host. Infective forms (mesocercariae) can also accumulate in paratenic hosts, including amphibians, reptiles or mammals, before reaching the definitive host, where they develop into metacercariae and then adults. *Alaria* is considered a zoonotic agent, with documented human infections. In South America, and specifically in our region, the species *Alaria alata* has been identified based on morphology, although molecular evidence remains scarce. This study aimed to characterize *Alaria* specimens from wild carnivores through morphological and molecular analyses, including sequence identity and phylogenetic reconstruction. A total of 22 wild mammals of the order Carnivora that were found dead along roads throughout the country were necropsied. Helminths morphologically compatible with *Alaria* were recovered from 77.3% (17/22) of the animals: *Cerdocyon thous* (7/7), *Lycalopex gymnocercus* (7/7), *Procyon cancrivorus* (2/6), *Leopardus geoffroyi* (1/1), and *Galictis cuja* (0/1). DNA was extracted from representative specimens of each host species, and two genetic markers were amplified: mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) and nuclear internal transcribed spacer 2 (ITS2). Morphological analysis of 73 helminth specimens revealed host-related morphometric variation, but no diagnostic differences were found between specimens or with *A. alata*. In contrast, COI sequences showed 98.27–100% identity with *Alaria* sp. from Argentine carnivores, and ITS2 sequences showed 99.13% identity with *Alaria* sp. from anurans in the United States. These sequences were clearly distinct from *A. alata* (COI: 90.97–92% and ITS2: 98.52%) from Europe. Phylogenetic analyses of COI confirmed that Uruguayan specimens form a well-supported clade with Argentine samples, distinct from other *Alaria* species. ITS2 results, although based on fewer sequences, corroborated these findings. Overall, the evidence supports that the *Alaria* specimens found in wild carnivores across Uruguay belong to a single taxon genetically distinct from *A. alata*. These findings suggest that *A. alata* may not be present in the country, or the region, and that this could represent a case of cryptic species.

1. INTRODUCCIÓN

De las diferentes formas que tienen los organismos para relacionarse interespecíficamente entre sí, el parasitismo ha sido una de las formas más exitosas dentro del reino animal, tan exitosa que ha evolucionado independientemente a lo largo de cada Phylum de animales (Roberts y Janovy, 2000). Esta forma de simbiosis es una relación que involucra un parásito y un hospedador, en donde el parásito habita sobre o dentro del hospedador, del que obtiene todo lo que necesita, perjudicándolo o solamente viviendo a expensas de éste sin matarlo, prolongándose dicha relación hasta la muerte de uno de los dos (Tolosa Palacios y col., 2006). Así, podemos definir al parasitismo como una asociación negativa, que puede ser permanente o temporal, externa o interna con un beneficio unilateral de carácter fisiológico (Berenguer, 2007). El parásito va depender metabólica y evolutivamente del hospedador ya que vive a sus expensas, provocando algún tipo de alteración o modificación de su equilibrio homeostático, acarreando acciones patógenas o respuestas de su sistema inmune (Del Campillo, 2006).

Las maneras que tienen los parásitos para relacionarse con sus hospedadores pueden incluir diversas adaptaciones, y pueden diferenciarse distintos tipos de ciclos de vida parasitarios dependiendo el rol que toma el hospedador en éste (Roberts y Janovy, 2000).

Definimos como hospedero definitivo a aquél en donde el parásito alcanza su madurez sexual, mientras que un hospedero intermediario es el cual el parásito necesita para desarrollarse, pero en el que no alcanzará su estadio adulto (Fernández y Del Campillo, 2002).

Cuando hablamos de ciclos de vida directos o monoxenos nos referimos a ciclos en donde el parásito necesita de un solo hospedador para completar su ciclo de vida (Mora y Vázquez, 2006), mientras que nos referimos a parásitos con un ciclo heteroxeno o indirecto, a aquellos que necesitan dos o más hospedadores diferentes para su desarrollo completo (Berenguer, 2007).

En los ciclos de vida parasitarios, podemos encontrar también el concepto de paratenésis, que es un patrón en donde hay un organismo que alberga temporalmente a un parásito, pero no es esencial para el ciclo de vida del mismo y meramente sirve de transporte a hospedadores adecuados; en el hospedador paraténico el parásito no sufre cambios morfológicos ni reproductivos. Este término nos habla de la capacidad del parásito para persistir en el tiempo y espacio, utilizando a este hospedero paraténico como un puente ecológico entre hospederos intermediarios y definitivos o entre etapas de vida libre y hospederos adecuados para madurar y reproducirse (Shoop y Corkum, 1987).

Cuando hablamos de parasitosis, es imperioso hablar de la relación que guarda el ser humano con éstos, tanto sean parásitos exclusivamente humanos, es decir, aquellos en donde actuamos como único hospedador, como aquellos que pueden ser transmitidos por vectores o en cuyos ciclos el ser humano se vea involucrado, tanto como hospedador intermediario, paraténico o definitivo. Las parasitosis en humanos se conocen desde épocas remotas, habiendo incluso

registros en momias originarias del antiguo Egipto (Espinosa y col., 2011; Botero y Restrepo, 2012).

Se estima que las infecciones parasitarias por protozoos y helmintos, afectan alrededor de 3500 millones de personas en todo el mundo y son causa de patología clínica en 450 millones, habiendo estudios que han demostrado que la pobreza y las limitantes en las condiciones higiénicas se asocian con una alta frecuencia e intensidad en estas infecciones (Espinosa y col., 2011). La población infantil es la más susceptible a estas infecciones debido a su inmadurez inmunológica y a un escaso desarrollo de hábitos higiénicos, estimándose que en las Américas un 20 a 30 % de la población sufre de una o más helmintiasis (Marcano y col., 2013).

El concepto de zoonosis es definido por la OMS en 1956 y refiere a cualquier enfermedad que pueda ser transmitida al hombre por parte de los animales vertebrados de forma natural, modificándose en 1959 para denominar de esta manera a las enfermedades que transmiten los animales al hombre, de esta manera el término obtuvo un sentido más amplio (Cintra y col., 2006; Naquira, 2010).

Estas infecciones zoonóticas pueden clasificarse como sinantrópicas cuando tienen un ciclo urbano, en donde los animales de compañía jugarían un rol importante, o exantrópicas cuando el ciclo se da en ambientes naturales, existiendo algunas zoonosis que pueden presentar ambos (Dabanch, 2003).

Recientemente se ha observado una emergencia y re emergencia de algunas zoonosis, fenómeno que se relaciona de manera importante con varios factores como ser los cambios ecológicos, climáticos y socioculturales que hacen que el hombre o sus animales domésticos entren en contacto más frecuentemente con especies silvestres (Dabanch, 2003; Silva y col., 2017).

1.1. Phylum Platyelminthes, Clase Trematoda, Subclase Digenea

De entre las 1,5 millones de especies que integran el Reino Animalia (Nuñez-García y Meraz, 2009), el Phylum Platyelminthes, también conocidos como gusanos planos incluye aquellos metazoos aplanados en el plano dorsoventral, sin cavidad celómica, en su mayor parte hermafroditas con fecundación cruzada, pudiendo encontrarse representantes de vida libre como las planarias, así como también parásitos de múltiples grupos animales (García-Prieto y col., 2014). Usualmente presentan formas ovales o foliares, aunque algunos representantes de este Phylum pueden ser elongados y de gran tamaño. Poseen una simetría bilateral con una porción anterior en donde se encuentran elementos sensitivos y elementos de fijación (Roberts y Janovy, 2000).

1.2. Clase Trematoda, Rudolphi, 1808

Dentro de este Phylum, la Clase Trematoda comprende helmintos que poseen una gran variedad en tamaño, forma y anatomía interna, pero que en general son aplanados dorsoventralmente, con una forma corporal foliácea, lanceolada, conoide, ovoide, cilindroide o filiforme, sin segmentos. El cuerpo como en todos los platelmintos, no posee cavidades corporales o celoma y los órganos se encuentran en el parénquima. Presentan normalmente como órganos de fijación dos ventosas; una oral y una ventral o acetábulo, características que permiten su diagnosis, y son en su mayoría hermafroditas. Algunas especies pueden ser capaces de auto fertilizarse, en tanto que otras necesitan realizar fertilización cruzada para producir una progenie viable (Romero, 1984, Gibson y col., 2002, Saari y col., 2018).

1.3. Subclase Digenea Carus, 1863

Esta subclase comprende numerosas familias que parasitan diversas especies de vertebrados, caracterizándose por poseer ciclo de vida indirecto, incluyendo algunos de los ciclos biológicos más complejos del Reino Animal. Este ciclo heteroxeno presenta una alternancia de generaciones, en donde se dan generaciones asexuales en los moluscos que actúan como hospederos intermediarios y una generación sexual en el hospedador definitivo, que siempre es un vertebrado. Los digeneos presentan una mayor especificidad de hospedero frente a sus hospederos moluscos que a sus hospederos vertebrados, lo que sugiere que se establecieron como parásitos de moluscos en primera instancia y adicionaron un hospedero vertebrado luego en su evolución (Roberts y Janovy, 2000, Gibson y col., 2002, Diego y Orozco, 2017). A diferencia de las otras subclases de trematodos, Aspidobothrea y Monogenea, los digeneos se caracterizan por poseer dos ventosas en la superficie de su cuerpo, una ubicada cerca de la boca, que se denomina ventosa oral, y una denominada ventosa ventral o acetábulo (Manga González, 2006).

La alimentación de los digeneos varía según el hábitat que ocupen en su hospedador, pero en general, tanto las especies que poseen una faringe desarrollada o un esófago muscular se alimentan de tejido y mucosidad de la pared del órgano que afectan, así como también sangre de los capilares que allí se encuentran. Según la especie y órgano blanco estas proporciones irán variando, excepto en el caso de *Schistosoma mansoni*, que al alojarse dentro de vasos sanguíneos y alimentarse exclusivamente de sangre, sus órganos de fijación están poco desarrollados y carecen de faringe o esófago muscular (Roberts y Janovy, 2000).

En general comparten dos patrones básicos en sus ciclos; inicia con el huevo, que da lugar a un miracidio, que luego será un esporocisto, para luego pasar por las etapas de redia o esporocisto hijo (según especies), cercaria, metacercaria y finalmente adulto. De este patrón se desprenden las variaciones de las diferentes

especies, pero en general se cumple con este ciclo (Gibson y col., 2002; Saari y col., 2018).

Incluso se pueden identificar las especies de trematodos por la morfología de sus etapas en desarrollo, en los diferentes hospedadores intermediarios o paraténicos (Johnson, 1970).

1.4. Trematodos digeneos con potencial zoonótico en el mundo y la región

Es la subclase que posee mayor importancia a nivel de medicina tanto veterinaria como humana, siendo en muchos casos responsables de enfermedades zoonóticas. Los trematodos digeneos están entre los parásitos más abundantes y frecuentes, solo precedidos por los nematodos en su distribución (Schmidt y Roberts, 2000).

En el caso de enfermedades ocasionadas por helmintos en humanos, por iniciativa del parasitólogo veterinario Konstantin Ivanovic Skrjabin se utiliza el sufijo -osis añadido a la raíz del nombre genérico del parásito causante de enfermedad. A partir de esto se generalizó su uso en la nomenclatura internacional, por lo que, la enfermedad causada por una especie del género *Alaria* se denomina alariosis y así sucesivamente con el resto de las especies (Del Campillo y Fernandez, 2001).

1.5. Orden Strigeiformes LaRue, 1926

Este orden se caracteriza por cercarias con dos manchas oculares, adultos con acetábulo en medio del cuerpo. Redias sin apéndices y cercarias que se enquistan en el hospedero intermediario secundario. El ovario en general se encuentra entre los testículos (Roberts y Janovy, 2000). En este orden encontramos dos superfamilias de importancia económica y médica; Strigeoidea y Schistosomatoidea.

Superfamilia Schistosomatoidea Stiles y Hassall, 1898

Los trematodos pertenecientes a esta superfamilia son alargados, dioicos y con dimorfismo sexual, no poseen hospedero intermediario secundario y los adultos maduran en sistema vascular del hospedero definitivo en donde habitan y obtienen sus nutrientes (Gibson y col., 2002).

Familia Schistosomatidae, Stiles y Hassall, 1989

Genero *Schistosoma*, Weinland 1858

Las diversas especies de este género poseen un hospedador intermediario que es un caracol de agua dulce (*Bioamphalaria* sp, *Bulinus* sp, u *Onchomelania* sp) que liberan las cercarias al medio acuoso, estas tienen la capacidad de nadar libremente y pueden atravesar la piel intacta. Las diversas especies, seguirán diferentes caminos luego de la circulación vascular, ocasionando lesiones principalmente en forma de granulomas, en la fase crónica de la enfermedad, la

patogenia se produce por embolización de huevos en las ramas de las arterias pulmonares (Pérez-Arellano y col., 2006).

Es la segunda enfermedad parasitaria más prevalente en los trópicos luego de la malaria. A nivel intestinal puede generar cuadros de dolor, cólicos y diarrea crónica (Salas, 1962, Montané Céspedes, 2014).

También se observa un proceso inflamatorio transitorio por el paso de larvas a través de los pulmones, conocido como síndrome de Loeffler. En el síndrome de migración larvaria visceral se encuentran lesiones granulomatosas crónicas y eosinofilia periférica. La presencia de huevos de *S. mansoni* en hígado y pulmones desencadena una gran respuesta mediada por células y se forman granulomas o pseudotubérculos con un intenso infiltrado eosinofílico (Botero y Restrepo, 2012).

En América del sur podemos encontrar a *Schistosoma mansoni*, introducida en el continente durante la época de tráfico de esclavos desde África, encontrándose en Surinam, Venezuela, República Dominicana y grandes áreas de Brasil. De las especies africanas, es la única que pudo adaptarse a un molusco local como hospedero secundario (Noya y col., 2015). Si bien la enfermedad no se encuentra presente actualmente en Uruguay, si se ha detectado la presencia del molusco que actúa como hospedero intermediario (Martorelli y col., 2013).

Superfamilia Echinostomatoidea Looss, 1899

Familia Fasciolidae Railliet, 1895

Género *Fasciola* Linnaeus, 1758

Fasciola hepatica

Es un trematodo cosmopolita que afecta mamíferos herbívoros y ocasionalmente al hombre, en su ciclo los huevos eliminados por el hospedador definitivo alcanzan ambientes acuáticos en donde se desarrollan y eclosionan. Una vez eclosionado, el miracido localiza un caracol dulceacuícola, principalmente del género *Lymnaea*, en donde continuará su desarrollo hasta alcanzar el estado de cercaria que abandona el caracol y se enquista en plantas semisumergidas (Acuña y Nuri, 1996).

De esta manera son infectantes para sus hospederos definitivos que en su mayoría comprenden vertebrados herbívoros, el humano suele infectarse al ingerir berro u otras plantas semisumergidas crudas. Una vez ingeridos, su órgano blanco será el hígado provocando en el humano fiebre, hepatomegalia y eosinofilia (Venturelli y col., 2003)

La fasciolosis en Uruguay es una parasitosis de alta prevalencia en el ganado ovino y bovino, con una distribución focalizada en áreas reducidas de los establecimientos agropecuarios siendo los casos humanos esporádicos y accidentales (López-Lemes y col., 2005).

Orden Plagiorchiformes LaRue, 1957
Suborden Troglotrematata Brooks, 1985
Familia Troglotrematidae Odhner, 1914
Género *Paragonimus* Braun, 1899

Este género ocasiona la paragonimosis en humanos, localizándose las lesiones en pulmón y siendo ocasionado por la ingesta de crustáceos mal cocidos o crudos.

En su ciclo se incluyen dos hospedadores intermediarios, un caracol acuático y un crustáceo en donde penetran las cercarias y se enquistan en forma de metacercarias.

Una vez en el intestino del hospedador definitivo, las larvas atraviesan la pared y se dirigen al peritoneo en donde migran hasta el diafragma y se dirigen al espacio pleural, desarrollándose a la adultez en el parénquima pulmonar (Pérez-Arellano y col., 2005)

En América Central y del Sur encontramos seis especies dentro de este género que se localizan en México, Colombia, Ecuador, Brasil y Perú, aunque estudios recientes sugieren que todas las descripciones son especies sinónimas de *Paragonimus mexicanus* (Tongu, 2001).

Orden Opistorchiida Braun, 1901

Los tremátodos de este orden se caracterizan entre otras, por depositar huevos operculados y poseer cercarias sin estilete oral y con vasos excretores en la cola (Manga González, 2006)

Familia Heterophyidae, Odhner, 1914
Género *Ascocotyle (Phagicola)* Loos 1899
***Ascocotyle longa* Ransom, 1920**

Este género se encuentra distribuido a nivel mundial y es uno de los causantes de la heterofiosis, una zoonosis emergente transmitida por peces. Los adultos se encuentran en mamíferos y aves piscívoras, mientras que las metacercarias se encuentran en peces, principalmente en los del género *Mugil* (Simoes y col., 2010).

Se han registrado varios casos de parasitismo por esta especie en Brasil, caracterizados por manifestaciones gastroentéricas, diarrea y malestar. En este país incluso se han hallado huevos en materia fecal de perros domésticos (Chieffi y col., 1992)

Estudios en nuestro país han dado como resultado la presencia de adultos en ejemplares de *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis* (Morgades y col., 2002), así como también se han identificado metacercarias en peces costeros, principalmente del género *Mugil* (Carnevia y col., 2005; Castro y col., 2011).

1.6. Ubicación taxonómica y características del género *Alaria*

Superfamilia Diplostomoidea Poirier, 1886

De apariencia particular, los helmintos de esta superfamilia poseen el cuerpo dividido en dos porciones, una anterior con forma de cuchara o de copa, presentando una ventosa oral, con pseudoventosas o tentáculos alrededor de la misma y una ventosa ventral o acetábulo, detrás de la cual se localiza el órgano adhesivo o tribocítico. En la porción posterior se localizan en su mayor parte los órganos reproductivos (Roberts y Janovy, 2000). Los miembros de esta superfamilia se diferencian de otros grupos de trematodos por la presencia de un órgano tribocítico, que cumple tanto funciones adhesivas como digestivas (Gibson y col., 2002).

Familia Diplostomidae Poirier, 1886

Podemos encontrar integrantes de esta familia de helmintos cosmopolitas parasitando el intestino delgado de una diversidad de hospedadores tetrápodos. Aquí se encuentran dos subfamilias identificadas de acuerdo a sus hospedadores definitivos, siendo la subfamilia Diplostominae hallados principalmente en aves y la subfamilia Alariinae, con aproximadamente 13 géneros utilizando mamíferos como hospedadores definitivos (Gibson y col., 2002; Achatz y col., 2022).

Subfamilia Alariinae Hall y Wigdor, 1918

Cuerpo separado en dos partes, con una parte anterior aplanada y una parte posterior aplanada o cilíndrica. Pseudoventosas o estructuras similares presentes, con un órgano tribocítico muy desarrollado en el que pueden observarse folículos vitelinos dentro (La Rue, 1926; Gibson y col., 2002).

Género *Alaria* Schrank, 1788

Cuerpo con dos secciones bien diferenciadas, parte anterior lingüiforme mientras que la parte posterior es cilíndrica, usualmente más corta que la parte anterior. Extremidad anterior provista de pseudoventosas o aurículas salientes. Poseen una ventosa oral pequeña y un acetábulo presente. Órgano tribocítico muy desarrollado conformado por dos segmentos que sobrepasan la mitad del cuerpo. Vitelaria ubicada en la porción posterior del cuerpo o no sobrepasando al ovario que se localiza en la unión entre ambas porciones del cuerpo. Parásitos que en su fase adulta se encuentran en mamíferos (Krause, 1914; La Rue, 1926; Travassos y col., 1969; Gibson y col., 2002).

Especie tipo: *Alaria alata* (Goeze, 1782)

Según Travassos y col. (1969) y siguiendo la redescipción que brinda Krause (1914) sobre la descripción original de Goeze de 1778, *A. alata* posee un cuerpo que mide de 2,40 a 4,33 mm de largo. Con una porción anterior piriforme con los bordes laterales curvados hacia ventral. En la extremidad anterior se localiza la

ventosa oral rodeada de dos pequeños tentáculos o aurículas más o menos salientes.

La porción anterior es descrita como ovoide, y está separada de la posterior por una constricción transversal. La bolsa copuladora es pequeña con un poro genital subterminal.

Dentro del género *Alaria*, se encuentran diversas especies de características muy similares, localizándose los ejemplares adultos dentro del intestino delgado de diversas especies de carnívoros tanto silvestres como domésticos. Su ciclo de vida es complejo ya que es un ciclo heteroxeno en donde se necesitan al menos dos hospedadores intermediarios antes de alcanzar su hospedador definitivo.

Los huevos eliminados por las heces del hospedador definitivo no son embrionados, demorando aproximadamente dos semanas en desarrollarse y eclosionar. Una vez sucede esto, el miracidio se moviliza activamente hasta encontrar alguna especie de caracol planorbido, en donde va a desarrollarse un esporocisto, que dará lugar a esporocistos hijos, los cuales migran hacia las glándulas digestivas del caracol en donde maduran y comienzan a producir cercarias (Saari y col., 2018).

Las furcocercarias abandonan el caracol y nadan en la superficie del agua hasta entrar en contacto con una forma larvaria de anfibio (renacuajo), donde penetran la piel y se mantienen en sus tejidos como mesocercarias, acompañando la metamorfosis del renacuajo en un anfibio adulto.

En este estado, la larva ya es infecciosa para el hospedador definitivo. Una vez que el carnívoro ingiere el renacuajo o rana adulta, la mesocercaria se libera durante el proceso digestivo, penetra la pared del colon y se dirige hacia el diafragma y los pulmones en donde la mesocercaria se transforma en metacercaria, la cual migra hacia la tráquea y es deglutida alcanzando el intestino en donde completa su desarrollo.

Pero, como no siempre los renacuajos o ranas son accesibles para los hospedadores definitivos, cuando otro animal como serpientes u otros vertebrados ingieren estos renacuajos infectados, las mesocercarias se acumulan en sus tejidos a la espera de que este hospedador paraténico sea depredado por uno que actúe como definitivo (Roberts y Janovy, 2000).

La patogenicidad de los ejemplares adultos de *Alaria* se encuentra en debate, habiendo autores que los han indicado como bastante patógenos ocasionando enteritis severas que pueden llegar a matar al hospedero definitivo (Swift y Poetry, 2009) aunque también se ha indicado que a la necropsia de hospederos parasitados no se aprecian lesiones macroscópicas asociadas a su presencia, no considerándose un patógeno significativo en caninos aunque se han reportado casos de duodenitis catarral (Thornton y col., 1974).

La mayor patogenicidad es debida a las mesocercarias, especialmente cuando se acumulan en grandes cantidades (Freeman y col., 1976). Se ha demostrado que *Alaria marciana* (La Rue, 1917) puede transmitirse hacia un hospedero

definitivo juvenil a través de la vía galactógena (Shoop y Corkum, 1987; Foster y col., 2009).

La etapa de mesocercaria es particularmente poco específica frente a hospederos, siendo así que todas las especies de *Alaria* tienen un amplio espectro de hospederos paraténicos, y prácticamente cualquier vertebrado puede actuar como reservorio de mesocercarias (Möhl y col., 2009). En una única infección experimental llevada a cabo en una hembra de felino doméstico, 21 de sus crías a lo largo de 5 camadas fueron infectadas por vía galactógena mientras que la hembra continuaba presentando formas infectantes luego de 3 años de la infección (Swift y Poetry, 2009).

1.7. El género *Alaria* como causante de zoonosis

El género *Alaria* incluye helmintos parásitos de carnívoros, pero pueden afectar al hombre cuando éste interviene en su ciclo como hospedero paraténico, al ingerir en general otros hospederos paraténicos que acumulan mesocercarias en sus tejidos (Roberts y Janovy, 2000; Saari y col., 2018).

La alariosis, es una de las menos conocidas zoonosis de las provocadas por trematodos digeneos, si bien el adulto de *A. alata* es un helminto conocido desde hace varios siglos. De todas las especies pertenecientes a este género, únicamente se han registrado casos de alariosis en humanos en América del Norte, siendo casos atribuidos a mesocercarias de las especies que allí se localizan, en especial a *Alaria americana* Hall & Wigdor, 1918 (Freeman y col., 1976; Fernandes y col., 1976; McDonald y col., 1994; Wasiluk, 2013; Ferraz y col., 2024).

Por la naturaleza del hombre, al verse inmerso en el ciclo de vida de éstos trematodos, cumpliría la función de hospedero paraténico, por lo que las mesocercarias localizadas en tejidos de otros hospederos realizarían una migración para acantonarse en los tejidos del nuevo hospedero en este caso humano, y de esta manera se entiende lo inespecífico de su patogenicidad y la cantidad de sistemas y órganos que abarca, actuando como un caso de *larva migrans*, más estudiado en otras especies de helmintos (Möhl y col., 2009).

Los casos de alariosis, si bien poco documentados tienen una sintomatología primaria de mialgia o dolores musculares, pero en cursos severos se puede observar dificultad respiratoria, tos con sangrado, dolor a nivel torácico y abdominal, debilidad, fiebre y lesiones dermatológicas en forma de petequias. El diagnóstico clínico es complicado por los cambios multiorgánicos y sintomatología inespecífica (Wasiluk, 2013).

En humanos se ha registrado la presencia de mesocercarias en diversos tejidos, siendo la forma de infección intraocular caracterizada por una neuroretinitis subaguda que clínicamente cursa con disminución de la visión de forma unilateral (McDonald y col., 2012).

El reporte más reciente de alariosis se corresponde a un hombre de 38 años que se presentó con síntomas de espasmos bronquiales, urticaria recurrente y una

tumoración subdérmica, en donde la presencia de mesocercarias de *Alaria* fue confirmada. Esta infección fue asociada al consumo de carne de ganso silvestre mal cocida (Kramer y col., 1996).

Mientras que Mcdonald y col. (1994) reportan dos casos aislados de hombres asiáticos viviendo desde hace al menos 10 años en California, Estados Unidos, sin contacto con vida silvestre pero que consumían comida asiática con frecuencia, entre lo que se incluía mariscos, caracoles, pato silvestre y ancas de rana. Ambos hombres realizaron consultas médicas en momentos diferentes por disminución progresiva de la visión, que se correspondió con la presencia de mesocercarias de *Alaria* a nivel ocular, generando múltiples daños ente ellos, vasculitis, retinitis y edema.

Sin embargo, se detalla en la bibliografía un solo caso mortal por infección con mesocercarias de *Alaria*, presumiblemente de *A. marciana* o *A. americana* (Freeman y col., 1976). En este caso refieren a un paciente masculino de 24 años que ingresa a un hospital en Toronto, Canadá manifestando dificultad respiratoria pero que días anteriores habría manifestado dolor abdominal. En su ingreso presentaba un cuadro de disnea, temperatura de 39°C, enfisema subcutáneo extendiéndose desde la superficie anterior del tórax hasta el cuello. Al realizársele una biopsia pulmonar se evidenciaron lesiones hemorrágicas de entre 1 y 3 cm de diámetro cubriendo la superficie del pulmón, y en estas lesiones se hallaron formas inmaduras de parásitos que luego se identificaron como mesocercarias de *Alaria*.

El paciente se mantuvo internado con un tratamiento de antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides y un fármaco antihelmíntico (Bithionol). En este tiempo se mantuvo con intubación endotraqueal y con ventilación a presión positiva. Sin haber respuesta al tratamiento empezó a experimentar un cuadro de coagulación vascular diseminada y al cuarto día de hospitalización comenzó a experimentar episodios de hipotensión sin evidenciar movimientos espontáneos ni reflejos, constatándose su fallecimiento en el día seis a partir del comienzo de los síntomas.

A nivel microscópico las lesiones evidenciadas fueron varios tipos de reacciones, entre ellas hemorragia intersticial en todos los órganos, pero particularmente prominente y masiva a nivel de pulmones, tracto gastrointestinal y cerebro, presentando trombos fibrinosos en capilares a nivel de glomérulos y corazón. Áreas de necrosis focal, particularmente numerosas en el corazón, evidenciándose su origen por los trayectos de las larvas al avanzar en los tejidos. Se describieron también lesiones granulomatosas en hígado, nódulos linfáticos y estómago. Durante la autopsia, se realizaron lavados bronquiales y se examinó el líquido pericárdico recuperándose larvas móviles de helmintos identificadas tentativamente como mesocercarias de *Alaria*, que luego fueron encontradas en preparados microscópicos de todos los órganos (Freeman y col., 1976; Fernandes y col., 1976).

1.8. Especies dentro del género *Alaria*: distribución y hospedadores

La especie que da origen al género, *A. alata* se ha descrito originalmente como un parásito hallado en intestino delgado de mamíferos carnívoros en Europa y Asia. Si bien la infección humana (alariosis) ha sido descrita para *A. americana*, no se han reportado datos respecto a *A. alata* como agente zoonótico. La etapa adulta de *A. alata* fue descrita por Goeze en 1782, mientras que la etapa larvaria (mesocercaria en *Rana esculenta*) fue descubierta por Gestaldi en 1854, que hasta ese momento se consideraba un tipo diferente de parásito (Krause, 1914; Rentería-Solís y col., 2013; Johnson y col., 2017).

En los últimos años, frente a la posibilidad de una zoonosis emergente, se ha dado especial énfasis al estudio de la prevalencia de éste trematodo en especies silvestres y domesticas en Europa, así también como de las especies que forman parte de su ciclo, tanto sean hospederos intermediarios como hospederos paraténicos.

A nivel de vida silvestre en Europa el hospedero más importante es el zorro rojo *Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758, un cánido de tamaño mediano, de hábitos generalistas y considerado el carnívoro con mayor distribución en el mundo. Sus hábitos suburbanos y peridomiciliares lo hacen un eslabón importante en la propagación de *A. alata* (Harris, 1981; Larivière y col., 1996; Riehn y col., 2011). Algunos estudios indican una prevalencia este helminto de 78,7 % en *V. vulpes*, siendo el parásito encontrado más frecuentemente y únicamente en el primer segmento del intestino delgado (Karamon y col., 2020).

En trabajos de investigación esta especie ha sido registrado en zonas bajas y húmedas de Italia (Fiocchi y col., 2016), en Croacia (Rajković-Janje y col., 2002), Península Ibérica (Segovia, Torres y Miquel, 2004), Dinamarca (Saeed y col., 2006), Hungría (Széll y col., 2013), Serbia (Ilic y col., 2016), e Irlanda (Murphy y col., 2015), mientras que algunos trabajos que se enfocaron en la búsqueda de este parásito no tuvieron hallazgos en Italia central (Magi y col., 2009) ni en Eslovenia (Vergles Rataj y col., 2013).

A su vez los registros oficiales en Eurasia han descrito la presencia de *A. alata* habitando otros hospederos definitivos como *Canis lupus* Linnaeus, 1758, *Nyctereutes procyonides* Temminck, 1838 y *Canis aureus* Linnaeus, 1758 (Shimalov y Shimalov, 2000; Ilic y col., 2016; Segovia y col., 2001; Korpysa-Dzirba y col., 2021).

Mientras que en felinos silvestres se ha registrado en *Felis chaus* Schereber, 1777 en Irán (Tabaripour y col., 2018) y en *Lynx lynx* (Linnaeus, 1758), en esta especie se la ha registrado por presencia de huevos en materia fecal en Polonia con una prevalencia de 6 % (Szcześna y col., 2008), pero también se ha descrito un fenómeno particular en que se han detectado adultos en intestino delgado pero a su vez se han detectado mesocercarias en tejidos, lo que indica que esta especie puede actuar como hospedero definitivo y paraténico. Que a diferencia de otros registros en que se postulaba la posibilidad de felinos de actuar como

hospedero paraténico únicamente en el caso de hembras, en el caso de *L. lynx* se han hallado mesocercarias en ejemplares machos adultos (Shoop y Corkum, 1987; Swift y Poetry, 2009; Ozolina y col., 2020).

Se ha registrado la presencia de *A. alata* en *N. procyonides* en Corea del Sur (Lee y col., 2022), en Rusia central adultos en *V. vulpes*, *N. procyonides* y en *C. lupus*, mientras que se han encontrado numerosas especies de mustélidos como *Martes martes* (Linnaeus, 1758), *Mustela putorius* Linnaeus, 1758, *Mustela nivalis* Linnaeus, 1766, *Meles meles* (Linnaeus, 1758), *Meles leucurus* (Hodgson, 1847), *Gulo gulo* (Linnaeus 1758), *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758), actuando como hospederos de mesocercarias, principalmente en el parénquima pulmonar, tejido muscular del esófago y diafragma (Andreyanov, 2020; Maslennikova y Strelnikov, 2024).

La información respecto a carnívoros domésticos es menos abundante y más reciente, habiendo reportes más esporádicos, como ejemplo el primer caso de presencia de *A. alata* en un perro callejero en Turquía en 1998 (Umur, 1998). En el noroeste de Italia se ha registrado la presencia de huevos en materia fecal de perros con propietario, pero con acceso a paseos por el bosque (Ferroglia y col., 2012).

Otro estudio reportó en perros pastores y cazadores en el norte de Grecia, mediante muestras fecales una prevalencia de parasitismo general de un 26 % con un 2,5 % de presencia de *A. alata* (Papazahariadou y col., 2007), mientras que en una inspección en 382 perros domésticos con propietario en Serbia indicó un 62,6 % de presencia de endoparásitos en donde en un 1,6 % se hallaron huevos correspondientes a *A. alata* (Jovanovic y col., 2024). Mientras que, de 48 gatos ferales capturados en la isla de Gran Canaria, solo uno presentó huevos de *Alaria* en intestino delgado (Rodríguez-Ponce y col., 2016)

En un análisis en búsqueda de mesocercarias en anfibios (*Rana* sp. y *Pelophylax* sp.) en Francia, de 150 muestras se encontraron 59 positivas, no hallándose diferencias en la prevalencia de mesocercarias en renacuajos y adultos, demostrando que éstas no se acumulan con la edad en el hospedero anfibio, y sugieren la hipótesis de que solo los renacuajos son susceptibles a la infección con mesocercarias. Otro hallazgo de este estudio indicó que las mesocercarias tendían a acumularse alrededor de los ojos, lo que podría disminuir la visión de los mismos y hacerlos más vulnerables a los depredadores (Patrelle y col., 2015). En Alemania, estudios en adultos de rana europea común *Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771, han dado como resultado que la distribución de mesocercarias se ubica mayormente en torso y miembros posteriores (Voelkel y col., 2019).

Rentería-Solís y col. (2013), describen el hallazgo de mesocercarias correspondientes con *A. alata* en el músculo de la lengua de *Procyon lotor* (Linnaeus, 1758), un carnívoro de la familia de los prociónidos, autóctono de América del Norte pero exótico e invasor en Alemania, que habita en ambientes suburbanos y en estrecho vínculo con las urbanizaciones.

En otro estudio, se registró la presencia de mesocercarias en *Mustela lutreola* (Linnaeus 1761), un mustélido de tamaño pequeño que se alimenta de pequeños

vertebrados, en Rumania. Se encontró alrededor de las larvas una estructura muscular alterada presentando linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. En otras zonas la reacción alrededor del parásito se evidenció como nula o ausente y en algunas el tejido muscular había sido reemplazado por tejido de granulación (Tăbăran y col., 2013).

La presencia de mesocercarias de *A. alata* se ha reportado en carne de jabalíes abatidos durante jornadas de cacería en el Este de Alemania y en el Este de Francia durante chequeos de rutina frente a *Trichinella* (Portier y col., 2011; Rhiem y col., 2012). Por otro lado, en países como Polonia también se ha descrito un aumento en el registro de mesocercarias de *Alaria* en estos muestreos (Riehn y col., 2011).

A diferencia de *Trichinella*, las mesocercarias de *Alaria* demuestran una predilección por el tejido adiposo, habiéndose demostrado que luego del diafragma la ubicación más frecuente de mesocercarias de *Alaria* en suidos silvestres es en la región caudoventral de la cabeza en músculo, tejido conectivo, adiposo, glandular y linfático así también como tejido muscular de la lengua, músculos alrededor de la laringe y músculos intercostales (Dimzas y col., 2021). Respecto a estos hallazgos, en el Este de Polonia se ha detectado una prevalencia de mesocercarias de un 4,2 % en 3589 muestras obtenidas en campañas de análisis llevadas a cabo entre 2015 y 2019 (Bilska-Zajac y col., 2021), aunque otros estudios señalan hasta un 45 % de presencia de mesocercarias de *Alaria*, o como también se la conoce *Distomum musculorum suis* (DMS), en muestras musculares de jabalíes (Strokowska y col., 2021), mientras que, en el Noreste de Francia en análisis similares, se ha encontrado un 0,6 % de prevalencia (Portier y col., 2011).

Si bien no se han dado registros de alariosis en humanos en Europa, Alemania categoriza a la carne de jabalí infectada con mesocercarias como no adecuada para consumo humano (Rentería-Solís y col., 2013), tanto el consumo de la misma como de anfibios silvestres se considera de riesgo (Korpysa-Dzirba y col., 2021) y se piensa que puede haber errores en el diagnóstico humano ya que la sintomatología en humanos es similar a aquella producida por la triquinosis (Jaksic y col., 2002).

En un trabajo que se enfocó en el estudio de la sobrevivencia de las mesocercarias de *Alaria* en el tejido muscular frente a calentamiento, congelamiento, refrigeración y exposición a microondas, se encontró que las mesocercarias no sobreviven por encima de 60°C, así como también que la exposición a microondas inactiva las mesocercarias por encima de los 90 segundos de uso, pero las larvas se mostraron tolerantes a la refrigeración hasta por 13 días en temperaturas alrededor de 4°C, pero se vieron inactivadas por frío con la congelación a -13°C por el lapso de dos horas (González-Fuentes y col., 2015). Como detalle, en un estudio experimental de 1963 para *A. alata* se demostró una infección severa en *Macaca mulatta* Zimmermann 1780, probando que un hospedero que comparte hasta un 93 % de su genoma con los humanos puede verse infectado, estableciendo que no hay una razón biológica por la cual el

potencial encontrado en especies norteamericanas de *Alaria* pueda excluirse en la especie europea (Odening 1963; Tomlin, 2007).

Si bien en América del Norte aún se encuentra en debate la totalidad e identificación de las especies de *Alaria* presentes, sus hospedadores y ciclos han sido objeto de estudio por largo tiempo. Los primeros miembros del género fueron descritos por Hall y Wigdor en 1918, en Michigan, EE. UU. (Hall y Wigdor, 1918). En esa descripción diferenciaron dos especies, *A. americana* y *A. michiganiensis*, con grandes similitudes morfológicas con *A. alata* y que en principio fueron ubicadas dentro del género *Hemistomum* pero que luego fueron asignados al género *Alaria* por Raillet en 1919 (Johnson, 1970; Rhien y col., 2011).

A éstos le siguieron las descripciones de las siguientes especies:

- *Alaria marcianae* (La Rue, 1917), descrita en principio por su mesocercaria localizada en una especie de colúbrido, *Thamnophis marcianus* (Baird y Girard, 1853) y luego encontrada su forma adulta en *Mephitis mephitis* (Schreber, 1776).

- *Alaria ariseamoides* Agustine & Uribe, 1927 encontrada en *V. vulpes fulva*. Luego encontrada también en *C. lupus* en la región de Yukón, Canadá (Choquette y col., 1973).

- *Alaria mustelae* Bosma, 1931 localizada en dos especies de mustélidos, *Neovison vison* (Schreber, 1777) y *Neogale frenata noveboracensis* (Emmons, 1840).

- *Alaria nasuae* La Rue & Townsend, 1932 utilizando de hospedero el prociónido *Nasua narica* (Linnaeus, 1766).

- *Alaria oregonensis* LaRue & Barone, 1932 hallada originalmente en *Canis latrans* Say, 1823 y considerada un sinónimo de *A. arisaemoides* (Compton, 1969)

- *Alaria taxideae* Swanson & Erickson, 1946 encontrada tanto en Canadá como EE. UU. en el mustélido *Taxidea taxus* (Schreber, 1777). Y luego hallada en *Mustela erminea* (Linnaeus, 1758), *Neogale frenata* (Illiger, 1815), *Spilogale putorius* (Linnaeus, 1758), *Martes americana* (Turton, 1806) y *Mephitis mephitis* (Schreber, 1776) (Swanson y Erickson, 1946; Sekerak, 1969; Dyer, 1970, Poole y col., 1983).

- *Alaria americana*, ha sido registrada en *C. lupus*, *Ursus americanus* Pallas, 1780, *V. vulpes* y *C. latrans* (Choquette y col., 1973; Thornton y col., 1974; Addison y col., 1978).

- *Alaria ovalis* (Chandler & Rausch, 1946) y *Alaria procyonis* (Harkema, 1942) ambas especies descritas para *P. lotor* y originalmente asignadas al género *Pharyngostomoides* pero reasignadas al género *Alaria* en base a estudios moleculares (Achatz y col., 2022).

En todas las especies del género se comparte como característica la ubicación general en el primer tercio del intestino delgado, sin importar la especie de hospedador, no encontrándose lesiones patológicas asociadas a su presencia

(Hall y Wigdor, 1918; Bosma, 1934; La Rue y Barone, 1932; Thornton y col., 1974).

Algunos estudios se han enfocado en la descripción de mesocercarias y comparación de las mismas con otras especies del género (Johnson, 1970), o como lo es el caso de Pearson y Johnson (1988) en que proponen que *Alaria canis* es un sinónimo de *A. americana*, pero que en el caso de *A. americana* y *A. marciana* serían identificadas por diferencias significativas a nivel de sus respectivas mesocercarias.

En este continente estudios de prevalencia relacionados a carnívoros domésticos arrojan resultados variables, según la zona y la posible especie de *Alaria* involucrada. Es así que Johnson y col. (2017) reportan en Oklahoma, EE. UU., según diversas metodologías de estudio que incluían coprología y necropsias parasitarias, una prevalencia en animales domésticos de 9 % en gatos ferales, 1,4 % en gatos con propietario, 1,8 % en perros en refugios o rescatados y 0,2 % en perros con propietario. Mientras que por muestras de tejido encontraron un 26 % de prevalencia en cerdos silvestres en ese estado. En el estado de New Jersey, *A. canis* se ha registrado únicamente en caninos domésticos y *A. marciana* en caninos y felinos domésticos (Burrows y Lillis, 1965) mientras que, en Saskatchewan, Canadá, de un total de 3370 muestras fecales de caninos domésticos un 7 % resultó positivo para huevos con morfología correspondiente con *Alaria*, que mediante necropsia posteriormente pudieron identificar como *A. arisaemoides*. En todos los casos resaltan la ausencia de sintomatología clínica para los caninos afectados (Allen y Mills, 1971) que se corresponde con lo enunciado por Thornton y col. (1974), quienes establecen que en perros no se considera un patógeno significativo, pero se ha reportado duodenitis catarral en algunos casos.

De las diferentes especies, estudios sobre su desarrollo son variados, pero con resultados similares a aquellos estudios realizados en Europa con *A. alata*. En el caso de *A. arisaemoides* y *A. canis* mesocercarias fueron halladas entre el tejido fibro-gelatinoso entre la piel y los músculos en la cola, así también como en los músculos de la mandíbula y alrededor de los ojos de formas larvianas de diferentes especies de anfibios (Pearson, 1956).

En el estado de Louisiana, EE. UU., mesocercarias de *A. marciana* fueron halladas en la cola, cavidad peritoneal y músculos milohioideos de renacuajos de anuros. En el sitio de estudio encontraron que, de cinco especies de anfibios estudiadas, en todas se encontraron mesocercarias, mientras que se hallaron en un 87 % de los reptiles, únicamente ofidios y no albergaron mesocercarias ni lacértidos ni quelonios además de ninguna especie de pez. Durante este trabajo en dos especies de culebras semi acuáticas vivíparas, *Thamnophis proximus* (Say, 1823) y *Nerodia fasciata* (Linnaeus, 1766), grávidas, se encontraron mesocercarias en músculo de la madre, pero no en los fetos. Mientras que solo en dos especies de mamíferos fueron encontradas mesocercarias, en *P. lotor* y *Didelphis virginiana* Allen, 1900 (Shoop y Corkum, 1981).

Un estudio en Oregón, EE. UU., se encontró que en la culebra acuática, *Thamnophis sirtalis parietalis* (Say, 1823), había una acumulación de mesocercarias a nivel de la cola, causando pérdida de tejido muscular y por ende haciendo que ésta sea más frágil y propensa a la fractura, sugiriendo que tal agregación de parásitos puede ser benéfica para los mismos, ya que la pérdida del apéndice por la predación podría facilitar la transmisión de las mesocercarias (Uhrig y col., 2015).

Estudios experimentales en Norteamérica han demostrado que en el caso de *A. marciana* en felinos domésticos expuestos, aquellos ejemplares machos y hembras no lactantes actuaban como hospederos definitivos, mientras que, en el caso de las hembras lactantes, éstas actuarían como hospederos paraténicos, pudiendo infectar a sus crías via lactogénica pero no via transplacentaria (Shoop y Corkum, 1987).

En 2009, Foster y col., reportan el hallazgo de tres neonatos de *Puma concolor* Linnaeus, 1771 lactantes con presencia de mesocercarias en tejidos y diplostomulos en pulmones, presentando únicamente leche en el tracto gastrointestinal, lo que apoya la teoría de la transmisión lactogénica en el género *Alaria*.

A nivel experimental también se ha demostrado la transmisión transplacentaria de mesocercarias en primates, *Callithrix jaccus* (Linnaeus, 1758), encontrándose hembras con acúmulos de mesocercarias en los ductos de las glándulas mamarias, pero no presentando desarrollo alguno, actuando únicamente como hospedadores paraténicos (Shoop, Font y Malatesta, 1990).

1.9. El género *Alaria* en América del Sur

En el caso de *A. alata*, Krause (1914) cita como localidades conocidas Europa, El Cairo y Brasil, esta última a raíz de ejemplares de helmintos enviados a Europa por la expedición científica austríaca a Brasil llevada a cabo entre 1817 y 1835, liderada por el naturalista Johann Natterer. Estos ejemplares procedentes de *Thous azarae*, actualmente sinónimo de *Cerdocyon thous* C.E.H. Smith, 1839, se asignan morfológicamente a la especie *A. alata*. Posteriormente, *A. alata* es vuelta a ser mencionada para Brasil en intestino de *C. thous* (Travassos y col., 1969) y le siguen numerosas citas para el nordeste de Brasil, así como la región sur del estado de Rio Grande do Sul (Ruas, 2007; Lima y col., 2013; Araujo, 2020; Lignon y col., 2023). También en la misma región se ha sido registrado en otra especie de cánido silvestre, *Lycalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) y en el felino, *Leopardus munoai* (Ximénez, 1961) (Ruas y col., 2008; Gressler y col., 2016).

También en Brasil, Lutz (1933), en base a ejemplares que considera morfológicamente similares a *A. alata* obtenidos experimentalmente en felinos domésticos (“gatitos”) así como en *Thous crancrivorus* (J. E. Gray, 1869 = *C. thous*) de Minas Gerais, menciona que, en caso de tratarse de una especie nueva, tomaría el nombre de *Alaria nattereri*. Esto no es tomado en cuenta en el

trabajo "Trematódeos do Brasil" de Travassos y col. (1969), aunque, Vieira y col. (2008) en su "Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil" mencionan a *Alaria nattereri* Lutz 1933, incluyéndola como parásito de *P. cancrivorus*.

Otras especies de *Alaria* son mencionadas por Travassos y col. (1969), quien cita para Brasil a *Alaria clathrata* (Diesing, 1850) y *Alaria pseudoclathrata* (Krause, 1914), ambas halladas en intestino de *Pteronura brasiliensis* Gmelin, 1788 y con claras diferencias morfológicas que las separan de las demás especies descritas en el género.

Para el resto de los países de América del Sur los registros de *Alaria* son algo más escasos, existiendo un registro que identifica helmintos procedentes de *P. concolor* como *A. marci*, colectados en el Departamento Presidente Hayes, Paraguay (Fischthal y Martin, 1977).

Mientras que en Argentina se han registrado ejemplares identificados como *A. alata* en *Leopardus geoffroyi* (d'Orbigny & Gervais, 1844), *Lycalopex gymnocercus* y *Lycalopex culpaeus* (Molina, 1782) (Fugassa, 2020), habiendo una cita para la provincia de Chaco en *L. geoffroyi* puntualmente (Martínez, 1986). Lombardero y Santa Cruz (1986) citan como ocasional el hallazgo de trematodos en perros domésticos en la ciudad de Corrientes, mencionando el hallazgo de dos ejemplares albergando *A. alata* en más de 200 perros examinados en 25 años de estudios, e indican a este trematodo como ocasional en carnívoros silvestres como *L. geoffroyi* y *C. thous*, por lo que lo categorizan como de escasa importancia.

Mediante técnicas moleculares, Petrih y col. (2015), obtienen ADN de huevos recuperados de heces de *L. gymnocercus*, y reportan secuencias similares a *A. alata* con una identidad del 91 % con cuatro secuencias obtenidas en Europa, por lo cual, junto con su análisis morfológico, categorizaron dentro de *A. alata* a la especie hallada en Argentina.

1.10. Presencia de *Alaria* sp. en Uruguay

En nuestro país la presencia de *Alaria* se registra en el año 2003 a raíz de helmintos hallados mediante necropsia parasitaria en ejemplares de *C. thous* en los departamentos de San José y Maldonado (Capellino y col., 2003). A nivel de fauna silvestre, trabajos posteriores han logrado registrar la presencia de ejemplares adultos de *Alaria* en *L. gymnocercus* (Lena Vadora y Radcenco Alvez, 2017), mientras que en la necropsia de un lactante de *Conepatus chinga* (Molina, 1782) se encontraron especímenes adultos de *Alaria* en intestino delgado, habiendo únicamente leche en el contenido estomacal, lo que indicaría la posible transmisión vertical en esta especie (Oscar Castro com. pers.).

Respecto a la presencia de *Alaria* en nuestro país en carnívoros domésticos, en la necropsia de cuatro ejemplares de felino provenientes de Colonia Miguelete, departamento de Colonia, en un ejemplar macho adulto se encontraron cinco ejemplares adultos de *Alaria* en intestino delgado (Castro y col., 2009), mientras

que en el área suburbana de Montevideo se han localizado huevos con morfología correspondiente con aquellos pertenecientes a *Alaria* provenientes de materia fecal de caninos domésticos (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005; Castro, 2025).

Es de destacar también que Valledor y col. (2006) no obtuvieron presencia de *Alaria* en un relevamiento de helmintos intestinales en perros urbanos, suburbanos y rurales en los departamentos de Montevideo y Florida.

En otro trabajo, de un total de 294 especímenes de *Drepanotrema heloicum* (d'Orbigny, 1835) un 46,3 % se encontraban albergando formas larvianas de trematodos, siendo de éstos un 28,7 % los que se encontraban presentando furcocercarias (Capellino y col., 2003). Éstas poseen una cola que se compone de un tronco y un par de "furcas" de un largo igual o mayor que el tronco y que presentan una ventosa oral bien desarrollada y una faringe. Esta morfología los ubica dentro de las familias Strigeidae o Diplostomatidae, encontrando a su vez, una mayor abundancia de ellas en primavera e invierno (Castro y col., 2007)

Mesocercarias del género han sido halladas en formas larvianas de *Boana pulchella* (Duméril & Bibron, 1841), en áreas suburbanas de Canelones, con una prevalencia de 49,6 % (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005). Mientras que, en dos especies de colúbridos autóctonos, *Philodryas patagoniensis* (Girard, 1858) y *Lygophis anomalus* (Günther, 1858), se encontraron numerosos especímenes de mesocercarias, las cuales, por sus características morfológicas serían compatibles con género *Alaria*, confirmando la posibilidad de que dichos reptiles actúen como hospedadores paraténicos de esta especie de helminto (Capellino y col., 2003).

1.11. Estudios moleculares en el género *Alaria*

Actualmente, para la correcta determinación específica, en muchos grupos de helmintos se utilizan estudios morfológicos junto al uso de herramientas moleculares. En el caso de los diplostómidos existen varios estudios que incluso realizan análisis filogenéticos ya que es difícil la discriminación de especies por sus estados inmaduros, forma que muchas veces es la más estudiada por presentarse tanto como fuentes de infección para el hombre como por parasitar especies domésticas o de consumo (Georgieva y col., 2013; Otachi y col., 2015). En cambio, para otros representantes de esta familia como el género *Alaria*, la información es bastante más escasa, siendo más que nada la identificación a través de características morfológicas tanto de adultos como de sus mesocercarias. La identificación molecular ha estado bastante limitada habiendo algunos estudios fragmentados que basan la filogenia en segmentos parciales de la subunidad de ARN ribosomal 18S, 28S, *cox1* y fragmentos de espaciadores ITS1 e ITS2 para *A. alata*, *A. arisaemoides*, *A. marciana*, *A. mustelae* y *A. procyonis*, principalmente en Norteamérica, aunque también en Europa y Asia en menor medida (Bilska-Zajac y col., 2021, Achatz y col., 2022, Lee y col., 2022)

Para *A. alata* en Eurasia los estudios moleculares se han enfocado un poco más en la posibilidad de utilizarlos como un estudio de rutina a la hora de detectar la presencia de mesocercarias al analizar carcazas de animales de vida silvestre destinados al consumo (Dimzas y col., 2021)

Para Sudamérica solo se ha analizado en base a huevos recuperados de *L. gymnocercus* con morfología compatible con *Alaria* y con presencia de adultos en tracto digestivo; en dicho estudio se estableció la identidad como *A. alata*, habiéndose obtenido una secuencia de 450 pares de bases (pb) para el gen que codifica la subunidad 1 de la enzima citocromo oxidasa (cox1) y que mostró un 91 % de identidad con secuencias de *A. alata* secuenciadas en Europa (Pethrig y col., 2015).

2. HIPÓTESIS

Aunque en nuestro país y la región se menciona la presencia de *Alaria alata* en base a estudios morfológicos, el uso de técnicas moleculares mediante el análisis de ejemplares de diferentes hospedadores podrá confirmar o refutar esta identificación, así como también si en las diferentes especies que actúan como hospederos definitivos, la identidad de los helmintos es la misma.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Identificación morfológica y molecular de la o las especies del género *Alaria* presentes en mamíferos silvestres del Orden Carnívora de Uruguay.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar morfológica y molecularmente diferentes ejemplares de *Alaria* sp. provenientes de mamíferos silvestres del Orden Carnívora de diferentes localidades del país.
- Realizar un estudio filogenético a partir de secuencias obtenidas, así como las de *Alaria* spp. depositadas en bases de datos.
- Revisión bibliográfica de los diversos hospederos domésticos y silvestres (primer y segundo hospedero intermediario, hospederos definitivos, hospederos paraténicos) en que se han hallado fases del ciclo de vida de *Alaria* spp. en el país y la región.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Obtención y procesamiento del material

Para la obtención de trematodos adultos se realizaron necropsias parasitarias de ejemplares de carnívoros autóctonos silvestres hallados muertos y no autolíticos (frescos), en rutas del país entre 2016 y 2023, colectados por el equipo del Laboratorio de Vectores y Enfermedades Transmitidas del CENUR Litoral Norte sede Salto, así como de ejemplares remitidos por veterinarios particulares encontrados en las mismas condiciones. Los cadáveres fueron mantenidos congelados hasta el momento de su procesamiento. Las principales especies de carnívoros silvestres consideradas fueron: zorro de monte *C. thous*, zorro de campo *Lycalopex gymnocercus*, Mano pelada *P. cancrivorus*, gato montés *L. geoffroyi*, Margay *Leopardus weidii* (Schinz, 1821), gato de pajonal *L. munoai* y hurón *Galictis cuja* (Molina, 1782).

Como los ejemplares utilizados se encontraban muertos al momento de su colecta no fue necesaria la aprobación del comité de bioética.

Para el procedimiento de necropsia se tomaron datos básicos como sexo y estado de madurez aproximada del animal en caso de ser posible.

Posteriormente se procedió a separar el sistema digestivo en cinco partes: esófago y estómago, intestino delgado separado en 3 secciones de igual largo y por último ciego e intestino grueso.

Para el procesamiento de cada sección, los órganos se incidieron de forma longitudinal y se lavaron en copas de sedimentación diferentes, analizándose cada parte por separado (Castro y col., 2009).

El sedimento obtenido en cada copa de sedimentación fue sometido a lavados sucesivos para eliminar el sobrenadante y el sedimento resultante fue analizado en su totalidad mediante lupa estereoscópica binocular Olympus SZ51 (Olympus, Japón) para la búsqueda de helmintos. Una vez hallados, éstos se retiraron individualmente, se depositaron en una placa de Petri con agua destilada para eliminar partículas que pudieran encontrarse adheridas al tegumento y luego se depositaron en recipientes para su conservación en alcohol 70° así como algunos ejemplares representativos en alcohol 95° para biología molecular.

4.2. Análisis coprológicos

Con el fin de obtener huevos de trematodos digeneos como los de *Alaria* para obtener mediciones y también asegurarse de no haber pasado por alto algún ejemplar adulto en la sedimentación y dar como negativo al hospedador, se obtuvo materia fecal de los animales del recto o de la última porción del intestino grueso y se realizó la técnica de sedimentación simple (Thienpont y col., 1979). Para la identificación morfológica de los huevos presentes en la materia fecal se consultó a Soulsby (1987) y Travassos y col. (1969).

4.3. Montaje, estudio morfológico y morfométrico de ejemplares

Para su estudio morfológico y morfométrico, los ejemplares de *Alaria* sp. se mantuvieron en alcohol 70°, identificados según su hospedero y localidad. Se seleccionaron ejemplares en mejores condiciones (enteros, limpios, rectos, etc.) de diferentes lotes y se montaron de manera permanente para su posterior estudio.

El montaje se realizó siguiendo las indicaciones de Fabián-Estrada y col. (2014), el cual consistió en una coloración utilizando Carmín de Semichon, posterior a lo cual se realizó una serie de deshidrataciones en alcohol a diferentes graduaciones (80 %, 95 % y absoluto), un aclaramiento con Eugenol para finalmente realizar su montaje en Bálsamo de Canadá.

Para la clasificación morfológica primaria a nivel de familia y género se utilizaron las claves propuestas por Gibson y col. (2002). Como referencia morfológica del género *Alaria* se tomaron en cuenta los trabajos de Krause (1914) y Travassos y col. (1969), tanto para helmintos adultos como para huevos.

Las medidas de los helmintos se tomaron con un microscopio binocular Nikon E100 (Nikon, Japón) mediante el uso de un micrómetro montado en el ocular. Se tomaron registros fotográficos de los ejemplares más representativos de cada lote desde el ocular utilizando una cámara digital.

En cuanto los parámetros poblacionales parasitarios fueron calculados siguiendo a Bush y col. (1997):

- Prevalencia: porcentaje de animales parasitados.
- Intensidad media: número de parásitos sobre número de hospedadores parasitados.
- Abundancia media: número de parásitos sobre número de hospedadores examinados.

En algunos casos también se incluyeron los rangos de infección utilizando los límites mínimo y máximo de parásitos para cada especie hospedadora.

4.4. Obtención de secuencias de ADN de *Alaria* sp. mediante PCR (Reacción en cadena de polimerasa)

4.4.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de muestras de helmintos adultos en buen estado recuperados de las necropsias parasitarias e identificados por separado dependiendo de cada hospedador. Se utilizó el kit comercial GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lituania) siguiendo las especificaciones del fabricante. El ADN extraído fue cuantificado y su pureza fue evaluada mediante el uso de espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

Posteriormente para la identificación molecular de los helmintos se realizaron

dos PCR para amplificar un fragmento del marcador COI (citocromo c oxidasa) y un fragmento del ITS2 (espaciador transcrito interno 2).

4.4.2. Amplificación del ADN de los marcadores moleculares COI e ITS2 mediante PCR

La amplificación del ADN se realizó mediante PCR a tiempo final para amplificar fragmentos parciales del marcador molecular mitocondrial COI y del marcador molecular nuclear ITS2 con los cebadores se detallan en la tabla 1. Los protocolos de PCR utilizados fueron de Bilska-Zajac et al. (2021) para COI y de Ikeuchi y col. (2022) para ITS2. Como control negativo se utilizó agua de grado molecular libre de nucleasas.

Los productos resultantes de las PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %, conteniendo el intercalante GoodView Nucleic Acid Stain (Beijing SBS Genetech Co. Ltd., China), y visualizados bajo un transiluminador UV.

Tabla 1. Cebadores utilizados en este estudio.

Cebadores	Marcador / espaciador	Secuencia 5'-3'	Fragmento (pb)	Referencia
2575	COI	5' TTTTGGGGCATCCTGAGGTTTAT 3'	≈ 450	Bowles y col. (1992)
3021		5' TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG 3'		
FwAmphis	ITS2	5' TGTGTCGATGAAGAGCGCAG 3'	446 a 482	Ichikawa y col. (2013)
RvAmphis		5' TGGTTAGTTTCTTTTCCTCCGC 3'		

4.4.3. Obtención de secuencias, identidad y análisis filogenéticos.

Los amplicones del tamaño esperado fueron purificados mediante el kit comercial GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lituania) y enviados a secuenciar mediante secuenciación de Sanger a la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur).

Las secuencias obtenidas se corrigieron manualmente y se alinearon utilizando el programa MUSCLE en el software MEGA 7 (Kumar y col., 2016). La identidad de las secuencias consenso fue comparada con otras disponibles en el GenBank mediante la herramienta BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

La identidad entre las secuencias de este estudio fue calculada mediante el programa Sequence Identity and Similarity (SIAS) calculator (<http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html>).

Las relaciones filogenéticas entre las secuencias obtenidas y las especies relacionadas se realizaron mediante el software MEGA 7 (Kumar y col., 2016) utilizando el método de Máxima Verosimilitud.

5. RESULTADOS

5.1. Carnívoros silvestres obtenidos y necropsias parasitarias

En total se obtuvieron 22 ejemplares de carnívoros silvestres: *C. thous* (n=7), *L. gymnocercus* (n=7), *P. cancrivorus* (n=6), *L. geoffroyi* (n=1) y *G. cuja* (n=1). De las 22 necropsias parasitarias realizadas, en 17 de ellas se determinó la presencia de ejemplares adultos de helmintos con características morfológicas atribuibles al género *Alaria* tal como se detalla en Gibson y col. (2002): cuerpo bipartido lingüiforme con la porción anterior del cuerpo más larga que la posterior, presencia de pseudoventosas auriculares con ventosas oral y ventral pequeñas, ovario ubicado en la conjunción de las porciones anterior y posterior presentando testículos asimétricos.

En la tabla 2 se detallan los datos de los ejemplares de carnívoros silvestres estudiados y los resultados de las necropsias parasitarias y en la tabla 3 los datos de prevalencia, intensidad, abundancia media y rangos de infección.

La prevalencia general tomando en cuenta todos los carnívoros silvestres analizados fue del 77,3 %.

Todos los ejemplares de zorros, tanto *C. thous* como *L. gymnocercus* estaban parasitados con *Alaria* sp., siendo *C. thous* el hospedador con valores por encima de las otras especies en cuanto a intensidad y abundancia media de parásitos, así como rango de infección.

En el caso de *P. cancrivorus* la prevalencia fue menor, del 33,3 %, así como el resto de los valores. En cuanto a *L. geoffroyi*, se analizó un único ejemplar que, si bien estaba parasitado, los índices también fueron menores que en los zorros.

Tabla 2. Resultados de necropsias parasitarias, incluyendo datos de colecta de hospedadores.

N° de necropsia	Fecha colecta	Especie	Sexo	Categoría	Localidad	Departamento	Presencia de <i>Alaria</i> sp.	Parásitos recuperados
1	30/07/2022	<i>C. thous</i>	♀	Adulto	Ruta 31 km 91, puente Arerunguá	Salto	Si	261
2	05/07/2021	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 2, km 218	Soriano	Si	6
3	28/05/2022	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 3, km 538	Salto	Si	8
4	05/07/2021	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 3, km 463	Paysandú	Si	10
5	08/11/2022	<i>C. thous</i>	♂	Adulto	Ruta 3, km 459, próx. A° Chapicuí Chico	Paysandú	Si	888
6	06/10/2016	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 31, km 18	Salto	Si	133
7	18/06/2018	<i>C. thous</i>	♂	Adulto	Ruta 31, km 46	Salto	Si	1126
8	30/04/2017	<i>P. cancrivorus</i>	♀	Adulto	Ruta 26, km 218	Tacuarembó	Si	2
9	22/02/2019	<i>P. cancrivorus</i>	♂	Adulto	Ruta 26, km 275	Tacuarembó	Si	3
10	08/10/2018	<i>P. cancrivorus</i>	♂	Adulto	Ruta 5, km 464	Rivera	No	-
11	21/05/2018	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 26, km 74, Río Branco	Cerro Largo	Si	892
12	18/07/2017	<i>P. cancrivorus</i>	♀	Juvenil	Ruta 3, km 568	Artigas	No	-
13	10/08/2018	<i>C. thous</i>	♀	Adulto	Ruta 5, km 430	Rivera	Si	174
14	05/10/2023	<i>C. thous</i>	♀	Juvenil	Ruta 5, km 415, Bañado de Rocha	Rivera	Si	290
15	18/06/2018	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 5, km 421	Tacuarembó	Si	44
16	12/07/2019	<i>L. gymnocercus</i>	♂	Adulto	Ruta 55, km 60	Soriano	Si	15
17	19/06/2018	<i>C. thous</i>	♂	Adulto	Ruta 5, km 422	Tacuarembó	Si	589
18	22/04/2017	<i>P. cancrivorus</i>	♂	Adulto	Ruta 106, km 5, Miguelete	Colonia	No	-
19	21/05/2018	<i>C. thous</i>	♂	Adulto	Ruta 26, km 431, Arroyo Conventos, Melo	Cerro Largo	Si	1149
20	19/07/2016	<i>P. cancrivorus</i>	♀	Adulto	Ruta 3, km 424	Paysandú	No	-
21	27/09/2023	<i>L. geoffroyi</i>	♂	Adulto	Poblado Las Cañas, Cañitas	Cerro Largo	Si	13
22	11/10/2023	<i>G. cuja</i>	♂	Adulto	Ruta 8, km 26	Montevideo	No	-

Tabla 3. Prevalencia, intensidad, abundancia media y rango de intensidad de *Alaria* sp. según hospedador.

Hospedador	<i>L. gymnocercus</i>	<i>C. thous</i>	<i>P. cancrivorus</i>
N° de ejemplares	7	7	6
Prevalencia (%)	100	100	33,3
Intensidad	158,3	639,6	2,5
Abundancia	158,3	639,6	0,83
Rango de infección	6-892	174-1149	2-3

5.2. Análisis morfológico y morfométrico de los ejemplares de *Alaria* sp.

Se seleccionaron 73 especímenes que fueron montados en forma definitiva y que son representativos de todos los ejemplares de carnívoros silvestres parasitados.

En el caso de *L. geoffroyi* se midieron 8 ejemplares y para *P. cancrivorus* se midió un solo ejemplar, por encontrarse en mejor estado de conservación, almacenándose los restantes en alcohol para su posterior caracterización molecular. Los resultados de la morfometría se encuentran expresados en la tabla 4.

Desde el punto de vista morfológico los digeneos analizados presentan características compatibles con aquellas descritas para el género *Alaria* (Figs. 1A, B y 2A). Poseen un cuerpo notoriamente bipartito, con un largo total de 1,74 a 2,97 mm, la porción anterior mide 1,25 a 2,17 mm de largo por 0,50 a 1,15 mm de ancho mientras que la posterior mide 0,40 a 0,92 mm de largo por 0,25 a 0,92 mm de ancho.

En la extremidad anterior a los lados de cavidad oral, presenta dos apéndices tentaculares o aurículas salientes, presentes en todos los ejemplares analizados que miden de 0,05 a 0,15 mm de largo (Fig. 2B). Hacia caudal de la cavidad oral podemos ver una ventosa oral que mide 0,07 a 0,13 mm de largo por 0,05 a 0,11 mm de ancho. Hacia posterior de la misma se encuentra una ventosa ventral o acetábulo, que en todos los ejemplares estudiados se encuentra visible y mide 0,05 a 0,12 mm de largo por 0,04 a 0,12 mm de ancho.

El órgano tribocítico es alargado con una depresión longitudinal en el medio y se encuentra posterior al acetábulo, nunca tapándolo y mide 0,61 a 1,47 mm de largo por 0,21 a 0,55 mm de ancho.

El ovario se encuentra en la unión entre las porciones anterior y posterior del cuerpo, algo yuxtapuesto por la extremidad posterior del órgano tribocítico, con tres lóbulos.

Los testículos son lobulados y se encuentran ambos en la porción posterior, siendo el anterior más pequeño que el posterior y se encuentra próximo a la

glándula de Mehlis. Bolsa copuladora pequeña con un poro genital subterminal alargado transversalmente.

Tabla 4. Medidas de ejemplares de *Alaria* sp. obtenidos en este estudio.

	Medidas globales	<i>C. thous</i>	<i>L. gymnocercus</i>	<i>L. geoffroyi</i>	<i>P. cancrivorus</i>
	Media (máx.-mín.)	Media (máx.-mín.)	Media (máx.-mín.)	Media (máx.-mín.)	Media (máx.-mín.)
N° individuos	73	30	34	8	1
LT	2,37 (1,74–2,97)	2,11 (1,85–2,35)	2,31 (1,74–2,77)	2,69 (2,42–2,97)	2,17
LPA	1,69 (1,25–2,17)	1,54 (1,25–1,72)	1,62 (1,25–1,97)	1,93 (1,75–2,17)	1,55
APA	0,81 (0,50–1,15)	0,64 (0,50–0,75)	0,78 (0,52–1,12)	1,01 (0,76–1,15)	0,70
LPP	0,67 (0,40–0,92)	0,57 (0,40–0,67)	0,69 (0,44–0,92)	0,75 (0,67–0,85)	0,62
APP	0,51 (0,25–0,92)	0,44 (0,25–0,55)	0,54 (0,35–0,92)	0,56 (0,52–0,65)	0,42
LOT	0,96 (0,61–1,47)	0,77 (0,65–1,03)	0,85 (0,61–1,15)	1,26 (1,10–1,47)	0,92
AOT	0,35 (0,21–0,55)	0,26 (0,21–0,36)	0,33 (0,22–0,52)	0,47 (0,40–0,55)	0,30
LAu	0,08 (0,05–0,15)	0,08 (0,06–0,12)	0,08 (0,05–0,15)	0,08 (0,06–0,10)	0,08
LVO	0,11 (0,07–0,13)	0,10 (0,08–0,13)	0,11 (0,07–0,13)	0,10 (0,09–0,12)	0,08
AVO	0,08 (0,05–0,11)	0,07 (0,05–0,10)	0,07 (0,05–0,10)	0,09 (0,08–0,11)	0,06
LA	0,08 (0,05–0,12)	0,07 (0,05–0,10)	0,07 (0,05–0,10)	0,09 (0,08–0,12)	0,05
AA	0,08 (0,04–0,12)	0,07 (0,04–0,10)	0,08 (0,05–0,11)	0,10 (0,09–0,12)	0,05
DV	0,21 (0,14–0,32)	0,19 (0,17–0,22)	0,19 (0,14–0,24)	0,24 (0,14–0,32)	0,15

Referencias: LT- Largo total, LPA- Largo parte anterior, APA- Ancho parte anterior, LPP- Largo parte posterior, APP- Ancho parte posterior, LOT- Largo órgano tribocítico, AOT- Ancho órgano tribocítico, LAu- Largo aurícula, LVO- Largo ventosa oral, AVO- Ancho ventosa oral, LA- largo acetábulo, AA- Ancho acetábulo, DV- Distancia entre ventosa oral – acetábulo. Todas las medidas están expresadas en mm.

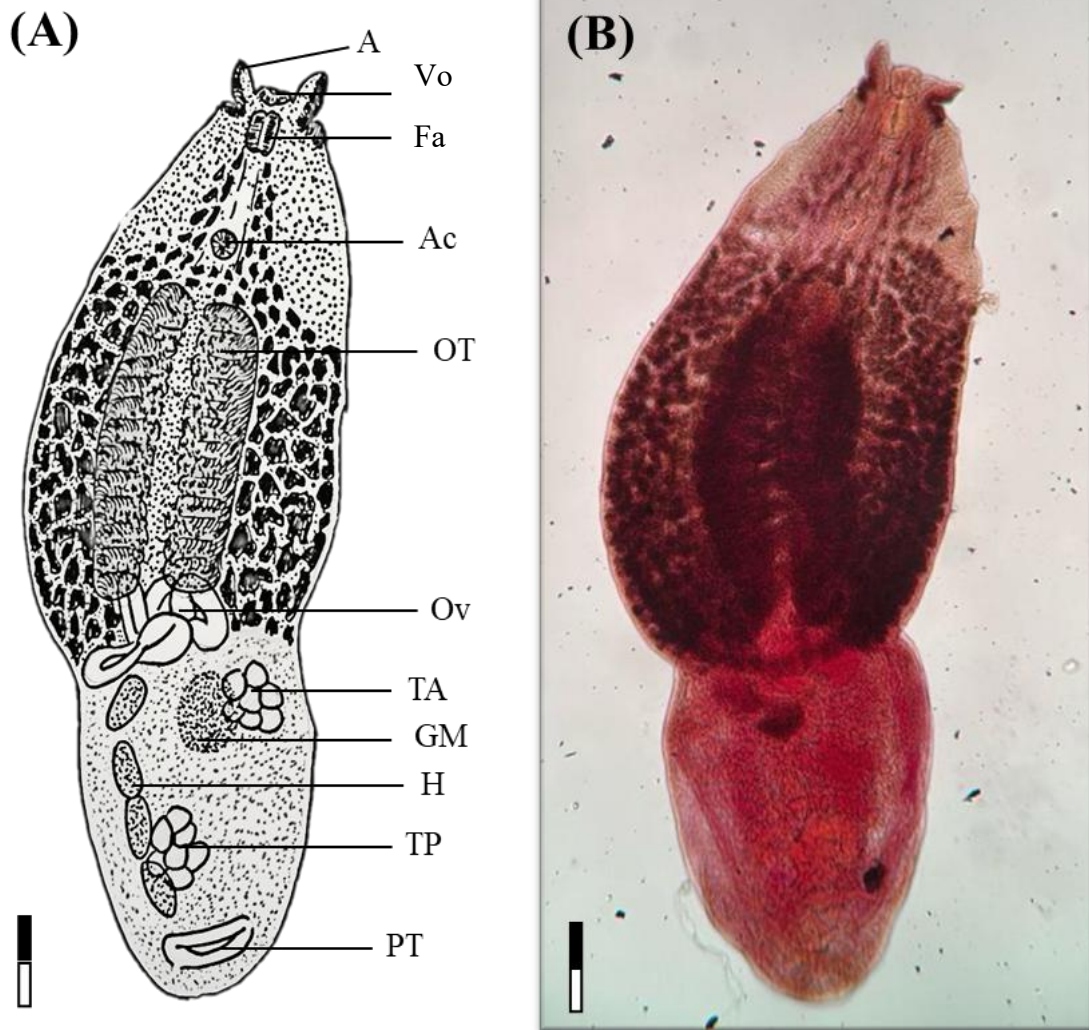


Figura 1. (A) Ejemplar adulto de *Alaria* sp. ilustrado mostrando los órganos en comparación con (B) un ejemplar teñido y montado. Escala: 0,2 mm. Referencias: A- Aurícula, Vo - Ventosa oral, Fa - faringe, Ac- Acetábulo, OT- Órgano tribocítico, Ov- Ovario, TA- Testículo anterior, GM- Glándula de Mehlis, H- Huevos en oviducto, TP- Testículo posterior, PT- Poro terminal.

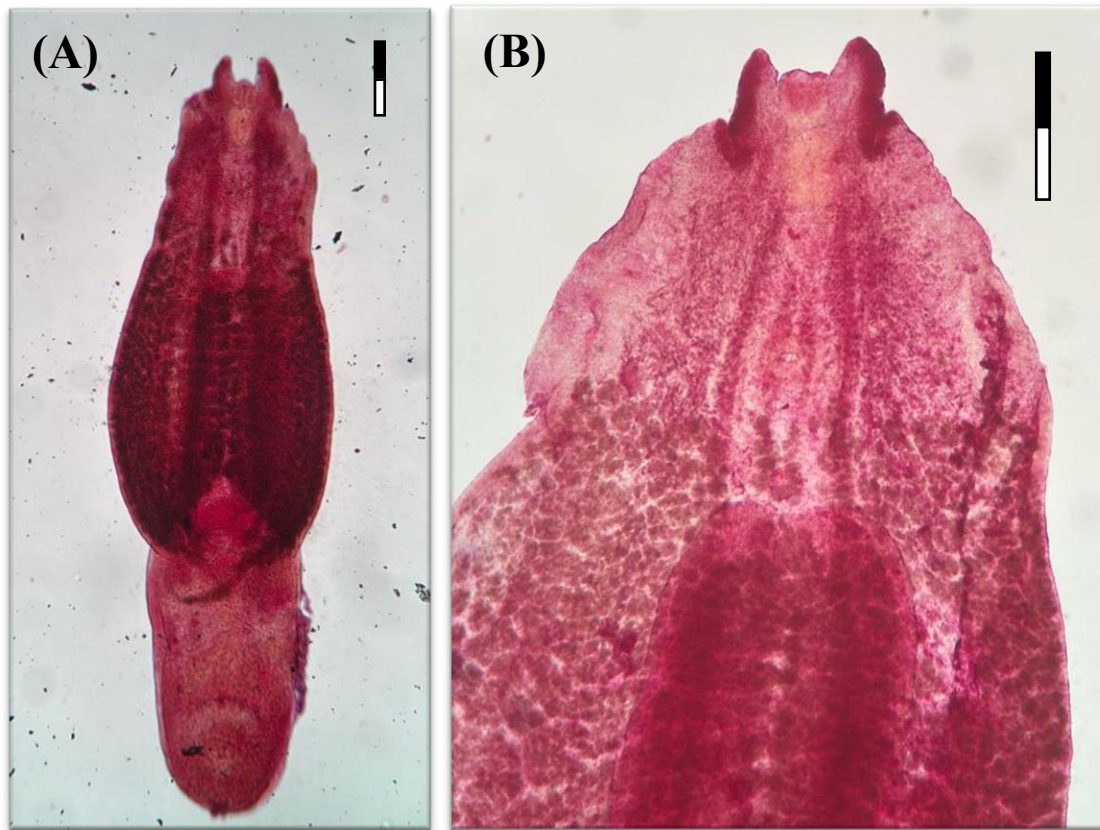


Figura 2. (A) Otro ejemplar adulto montado y teñido de *Alaria* sp. (B) Detalle de la extremidad anterior de *Alaria* sp. Escala: 0,2 mm.

En cuanto a la morfometría, las medidas obtenidas de los ejemplares de *Alaria* sp. provenientes de diferentes hospedadores (tabla 4), demuestran una gran variabilidad en tamaño, habiendo también una diferencia entre los ejemplares provenientes de diferentes hospedadores. Siendo los ejemplares con mayores medidas generales los obtenidos de *L. geoffroyi* (aunque solo se midieron 8 ejemplares), siguiendo aquellos provenientes de *L. gymnocercus*, mientras que los de *C. thous* poseen medidas en general menores a los encontrados en las dos especies anteriores. En el caso de *P. cancrivorus*, únicamente se logró medir un ejemplar, cuyas medidas coincidieron con las de los ejemplares obtenidos en *C. thous*.

5.3. Morfología de los huevos de *Alaria* sp.

Los huevos obtenidos son de forma ovalada, color amarillento y presentan un opérculo. Sus medidas, tanto en aquellos recuperados de materia fecal como los medidos en el interior del extremo posterior de los ejemplares que así los tenían, fue en promedio de 0,122 x 0,067 mm (Figura 3A, B).

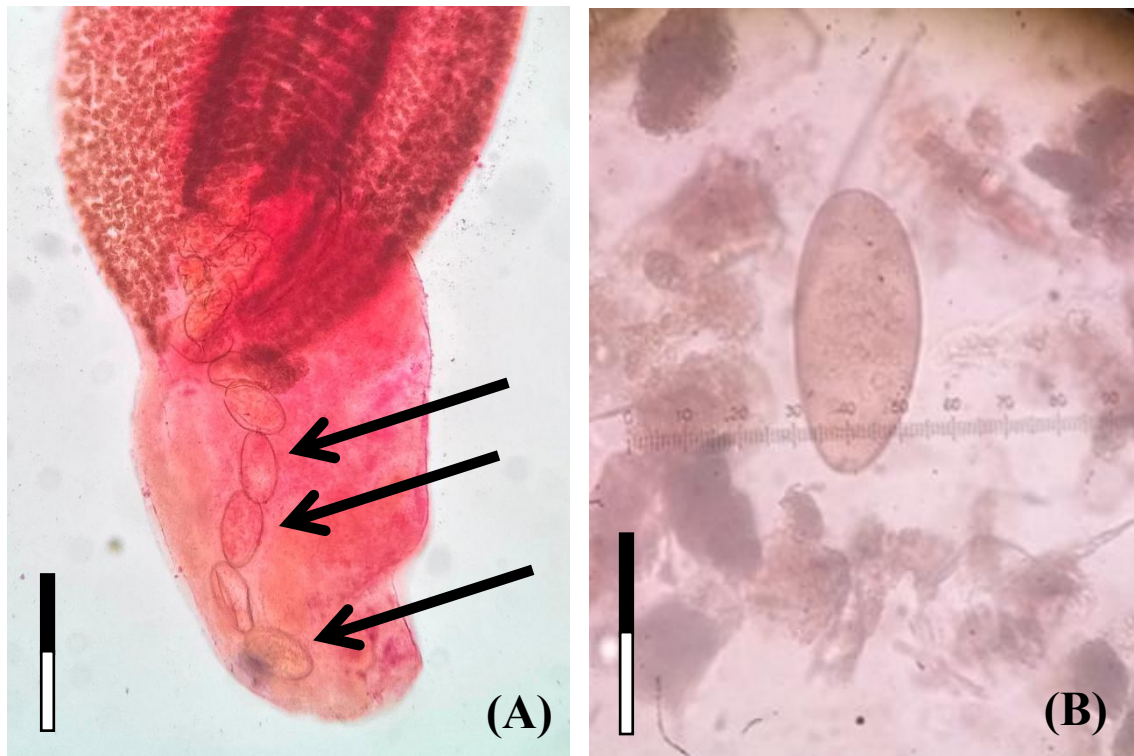


Figura 3.(A) Extremidad posterior de *Alaria* sp. con huevos en el útero. Escala: 0,2 mm. (B) Huevo de *Alaria* sp. obtenido de una sedimentación simple. Escala: 0,1 mm.

5.4. Ubicación de *Alaria* sp. con relación al tracto digestivo de los hospedadores

En todos los casos analizados, los ejemplares de *Alaria* sp. fueron hallados en el primer tercio del intestino delgado independientemente de su hospedador o el largo de su tracto digestivo.

5.5. Análisis moleculares

5.5.1 Amplificación y obtención de secuencias para COI e ITS2

A las 17 muestras provenientes de adultos de *Alaria* sp. a las que se les extrajo ADN, y cuyas concentraciones se reflejan en la tabla 5, se les realizó una primera PCR para el marcador COI. En ella se lograron amplificar el total de las muestras (tabla 5, figura 4), aunque se obtuvieron secuencias compatibles con *Alaria* para 14 de las 17 muestras. Las secuencias de las muestras Ala1.1, Ala2.1 y Ala3.1 resultaron ser inespecíficas, por lo que no fueron tomadas en cuenta. Los tamaños de las secuencias obtenidas para el marcador COI fueron de entre 353 y 432 pb (tabla 6).

Tabla 5. Muestras de ADN amplificadas para COI e ITS2.

Identificación muestra	Hospedador / N° de necropsia	ADN extraído (ng/ul)	COI 2575/3021	ITS2 Anphis F y R
Ala1.1	<i>C. thous</i> / 1	1,5	+ (tenue)	-
Ala2.1	<i>L. gymnocercus</i> / 2	1,3	+ (tenue)	-
Ala3.1	<i>L. gymnocercus</i> / 3	0,7	+ (tenue)	-
Ala4.1	<i>L. gymnocercus</i> / 4	0,9	+*	-
Ala5.1	<i>C. thous</i> / 5	3,1	+*	+*
Ala6.1	<i>L. gymnocercus</i> / 6	2,1	+*	+*
Ala7.1	<i>C. thous</i> / 7	8,4	+*	+*
Ala8.1	<i>P. cancrivorus</i> / 8	4,6	+*	-
Ala9.1	<i>P. cancrivorus</i> / 9	2,7	+*	-
Ala10.1	<i>L. gymnocercus</i> / 11	10,8	+*	+*
Ala11.1	<i>C. thous</i> / 13	3,4	+*	+*
Ala12.1	<i>C. thous</i> / 14	0,6	+*	-
Ala13.1	<i>L. gymnocercus</i> / 15	14	+*	+*
Ala14.1	<i>L. gymnocercus</i> / 16	1,5	+*	+*
Ala15.1	<i>C. thous</i> / 17	1,2	+*	+*
Ala16.1	<i>C. thous</i> / 19	3,2	+*	+*
Ala17.1	<i>L. geoffroyi</i> / 21	14,8	+*	+*

*Muestras de las que se obtuvieron secuencias compatibles con *Alaria* sp.

Nota: para las muestras Ala1.1, Ala2.1 y Ala3.1 se obtuvieron secuencias inespecíficas.

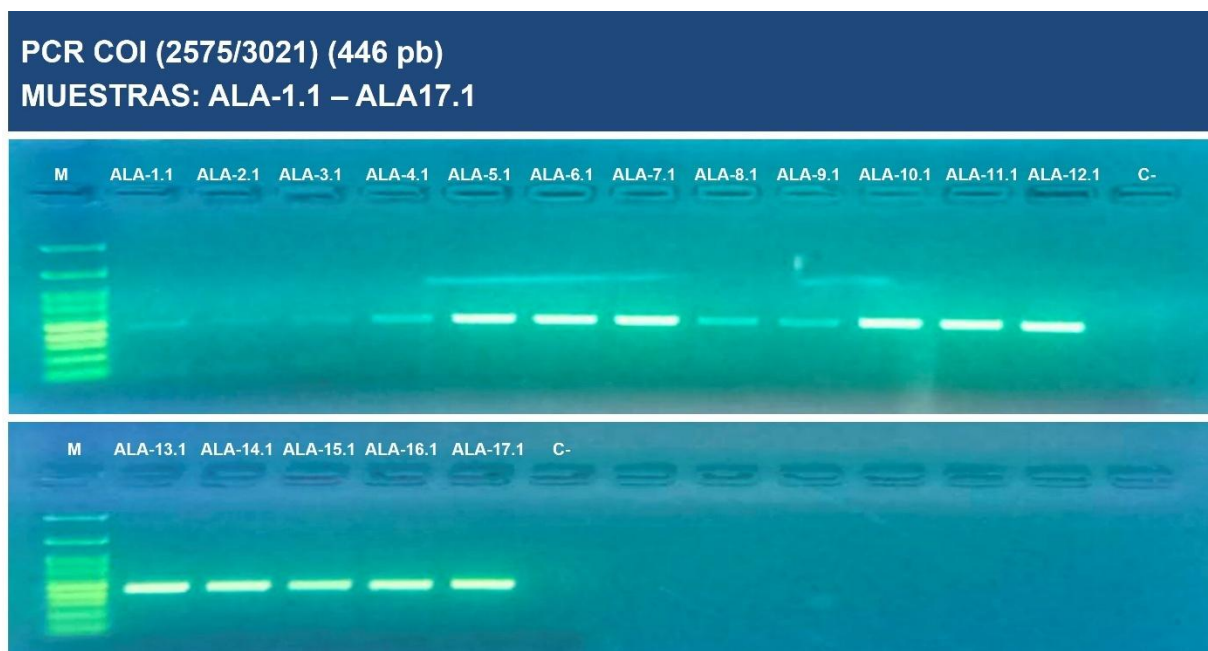


Figura 4. Gel de la corrida de electroforesis de la PCR para el marcador COI. Protocolo de Bilska-Zajac et al. (2021).

**PCR ITS2 FAMILIA Diplostomidae (ITS2 F Amphis/ ITS2 R Amphis) (446 a 482 pb)
MUESTRAS Alaria: ALA-1.1 – ALA17.1**



Figura 5. Gel de la corrida de electroforesis de la PCR para el espaciador ITS2. Protocolo de Ikeuchi y col. (2022).

En cambio, para el espaciador ITS2, solo se amplificaron 10 de las 17 muestras (tabla 5, figura 5), resultando ser todas pertenecientes al género *Alaria*. El tamaño de las secuencias consenso obtenidas luego de alinearlas y corregirlas manualmente fue de 473 pb.

5.6. Identidad de secuencias

5.6.1 Secuencias del marcador COI

Tal como se demuestra en la tabla 6, todas las secuencias obtenidas al ser comparadas mediante la herramienta BLASTn con las disponibles en el GenBank resultaron pertenecer al género *Alaria*. Y en cuanto al nivel específico la identidad fue de entre 91,44 % y 92,34 % con *A. alata* (Polonia y Países Bajos), de 91,78 % a 93,70 % con *Alaria americana* de Canadá y de 98,02 % a 100 % con secuencias de *Alaria* sp. provenientes de huevos en fecas de carnívoros, así como helmintos adultos (clasificados como *A. alata*) de *L. gymnocercus* de Argentina.

La identidad entre las secuencias obtenidas en este estudio y calculada utilizando el programa SIAS fue de entre 98,14 % y 100 % (tabla 7).

Tabla 6. Identidad de secuencias obtenidas comparadas con secuencias disponibles en GenBank para el marcador COI.

Identificación muestra	Nombre de secuencia	Tamaño secuencia	Identidad %	Organismo	Hospedador	País	N° acceso GenBank
Ala4.1	Alaria_sp_Ala4.1_L_gymnocercus_Paysandu_COI	400 pb	99,75 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,75 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,75 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,20 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,15 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			92 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala5.1	Alaria_sp_Ala5.1_C_thous_Paysandu_COI	432 pb	99,23 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			99,07 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,07 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,42 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,11 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,44 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala6.1	Alaria_sp_Ala6.1_L_gymnocercus_Salto_COI	432 pb	99,54 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,54 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,49 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			92,88%	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			92,87 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,90 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala7.1	Alaria_sp_Ala7.1_C_thous_Salto_COI	370 pb	100 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,70 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			93,42 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605232
			91,48 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Vulpes vulpes</i>	Países Bajos	KF751233
Ala8.1	Alaria_sp_Ala8.1_P_cancrivorus_Tacuareambo_COI	374 pb	100 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,70 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			93,42 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605232

			91,48 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Vulpes vulpes</i>	Países Bajos	KF751233
Ala9.1	Alaria_sp_Ala9.1_P_cancrivorus_Tacuarembó_COI	353 pb	98,27 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			98,02 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			98,02 %	<i>Alaria</i> sp. 1 RSP-2013	<i>Lycalopex gymnocercus</i>	Argentina	KF572949
			93,08 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			91,78 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			90,97 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Canis lupus</i>	Alemania	KX962472
Ala10.1	Alaria_sp_Ala10.1_L_gymnocercus_Cerro_Largo_COI	432 pb	99,31 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,31 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,31 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,15 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			92,87 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,67 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala11.1	Alaria_sp_Ala11.1_C_thous_Rivera_COI	422 pb	99,53 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,53 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,53 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,42 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,35 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,94 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala12.1	Alaria_sp_Ala12.1_thous_Tacuarembó_COI	421 pb	99,52 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,52 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,33 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			93,11 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605229
			91,45 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103220
Ala13.1	Alaria_sp_Ala13.1_L_gymnocercus_Tacuarembó_COI	431 pb	99,30 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,30 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,30 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,13 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,10 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			92,34 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala14.1	Alaria_sp_Ala14.1_L_gymnocercus_Soriano_COI	424 pb	99,29 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,29 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806

			99,29 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,15 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,11 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			92,22 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala15.1	Alaria_sp_Ala15.1_C_thous_Tacuareambo_COI	421 pb	99,74 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			99,74 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,74 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,15 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,11 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,45 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala16.1	Alaria_sp_Ala16.1_C_thous_Cerro_Largo_COI	432 pb	100 %	<i>Alaria</i> sp. F250	Fecas carnívoro	Argentina	MT328804
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			100 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			93,42 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,35 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,90 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225
Ala17.1	Alaria_sp_Ala17.1_L_geoffroyi_Cerro_Largo_COI	422 pb	99,53 %	<i>Alaria</i> sp. F263	Fecas carnívoro	Argentina	MT328805
			99,53 %	<i>Alaria</i> sp. F237	Fecas carnívoro	Argentina	MT328806
			99,53 %	<i>Alaria</i> sp. RP-2018	Fecas <i>Puma concolor</i>	Argentina	MH892076
			93,15 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605224
			93,11 %	<i>Alaria americana</i>	Zorro	Canadá	MZ605217
			91,47 %	<i>Alaria alata</i>	<i>Sus scrofa</i>	Polonia	MT103225

Tabla 7. Identidad de las secuencias (%) obtenidas para el marcador COI en este estudio.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Alaria_sp_Ala4.1_L_gymnocercus_Paysandu_COI	100%													
2	Alaria_sp_Ala5.1_C_thous_Paysandu_COI	98.76%	100%												
3	Alaria_sp_Ala6.1_L_gymnocercus_Salto_COI	99.07%	98.45%	100%											
4	Alaria_sp_Ala7.1_C_thous_Salto_COI	99.69%	99.07%	99.38%	100%										
5	Alaria_sp_Ala8.1_P_cancrivorus_Tacuarembu_COI	99.38%	98.76%	99.07%	99.69%	100%									
6	Alaria_sp_Ala9.1_P_cancrivorus_Tacuarembu_COI	98.76%	99.38%	98.45%	99.07%	98.76%	100%								
7	Alaria_sp_Ala10.1_L_gymnocercus_Cerro_Largo_COI	99.69%	98.45%	99.38%	99.38%	99.07%	98.45%	100%							
8	Alaria_sp_Ala11.1_C_thous_Rivera_COI	99.69%	99.07%	98.76%	99.38%	99.07%	98.45%	99.38%	100%						
9	Alaria_sp_Ala12.1_thous_Tacuarembu_COI	99.38%	98.76%	99.07%	99.69%	99.38%	98.76%	99.07%	99.07%	100%					
10	Alaria_sp_Ala13.1_L_gymnocercus_Tacuarembu_COI	99.38%	98.14%	99.07%	99.07%	98.76%	98.14%	99.07%	99.07%	98.76%	100%				
11	Alaria_sp_Ala14.1_L_gymnocercus_Soriano_COI	99.38%	98.14%	99.07%	99.07%	98.76%	98.14%	99.07%	99.07%	98.76%	100%	100%			
12	Alaria_sp_Ala15.1_C_thous_Tacuarembu_COI	99.38%	98.76%	99.07%	99.69%	99.38%	98.76%	99.07%	99.07%	99.38%	98.76%	98.76%	100%		
13	Alaria_sp_Ala16.1_C_thous_Cerro_Largo_COI	99.69%	99.07%	99.38%	100%	99.69%	99.07%	99.38%	99.38%	99.69%	99.07%	99.07%	99.69%	100%	
14	Alaria_sp_Ala17.1_O_geoffroyi_Cerro_Largo_COI	99.69%	99.07%	99.38%	100%	99.69%	99.07%	99.38%	99.38%	99.69%	99.07%	99.07%	99.69%	100%	100%

5.6.2. Secuencias del espaciador ITS2

A diferencia de las secuencias disponibles en GenBank para el marcador COI, para el marcador ITS2 el número de secuencias depositadas es menor. En el caso este trabajo, todas las secuencias analizadas presentaron exactamente la misma identidad, siendo un 98,52 % con *A. alata* (Francia), 98,73 % con *A. americana* (Canadá) y 99,13 % con *Alaria* sp. (EE. UU.) (tabla 8). Lamentablemente no hay secuencias de ejemplares de *Alaria* sp. de Argentina o la región a fin de ser comparadas.

La identidad entre sí de las secuencias del marcador ITS2 obtenidas fue de 100%.

Tabla 8. Identidad de secuencias obtenidas comparadas con secuencias disponibles en GenBank para el espaciador ITS2.

Identificación muestra	Nombre de secuencia	Tamaño secuencia	Identidad %	Organismo	Hospedador	País	N° acceso GenBank
Ala5.1	Alaria_sp_Ala5.1_C_thous_Paysandu ITS2						
Ala6.1	Alaria_sp_Ala6.1_L_gymnocercus_Salto ITS2						
Ala7.1	Alaria_sp_Ala5.1_C_thous_Paysandu ITS2		99,13%	<i>Alaria</i> sp. (mesocercarias)	Anuros	EE.UU.	JF769484
Ala10.1	Alaria_sp_Ala6.1_L_gymnocercus_Salto ITS2						
Ala11.1	Alaria_sp_Ala7.1_C_thous_Salto ITS2						
Ala13.1	Alaria_sp_Ala10.1_L_gymnocercus_Cerro_Largo ITS2	473 pb	98,73%	<i>Alaria</i> <i>americana</i>	<i>Vulpes vulpes</i>	Canadá	MH521246
Ala14.1	Alaria_sp_Ala11.1_C_thous_Rivera ITS2						
Ala15.1	Alaria_sp_Ala13.1_L_gymnocercus_Tacuarembó ITS2		98,52%				
Ala16.1	Alaria_sp_Ala14.1_L_gymnocercus_Soriano ITS2			<i>Alaria alata</i> (cercarias)	<i>Planorbis</i> sp.	Francia	MK168700
Ala17.1	Alaria_sp_Ala15.1_C_thous_Tacuarembó ITS2						

5.7. Análisis de los árboles filogenéticos

5.7.1. Árbol filogenético con secuencias del marcador COI

El árbol filogenético fue realizado empleando el método de máxima verosimilitud utilizando el modelo Tamura 3 parámetros. Se incorporaron las 14 secuencias parciales obtenidas para el marcador COI provenientes de muestras de *C. thous*, *L. gymnocercus*, *P. cancrivorus* y *L. geoffroyi*. Nuestras secuencias forman un clado cuyo nodo posee un soporte Bootstrap de 100 con secuencias de *Alaria* sp. obtenidas de huevos de fecas o ejemplares adultos de carnívoros silvestres de Argentina, incluida la secuencia de *Alaria* sp. obtenida de un adulto procedente de *L. gymnocercus* (N° de acceso GenBank KF572949), y clasificado morfológicamente como *A. alata*. En cambio, las secuencias de *A. alata* provenientes de Europa (MT103220, HM022222 y KP123419) forman entre ellas otro clado de alto soporte que también las diferencias del resto de secuencias de *Alaria* spp. incluidas en el árbol, como ser *A. americana* (MZ605217, MH536507 y MZ605229) y *A. procyonis* (OL439173) que proceden de América del Norte (figura 6).

COI

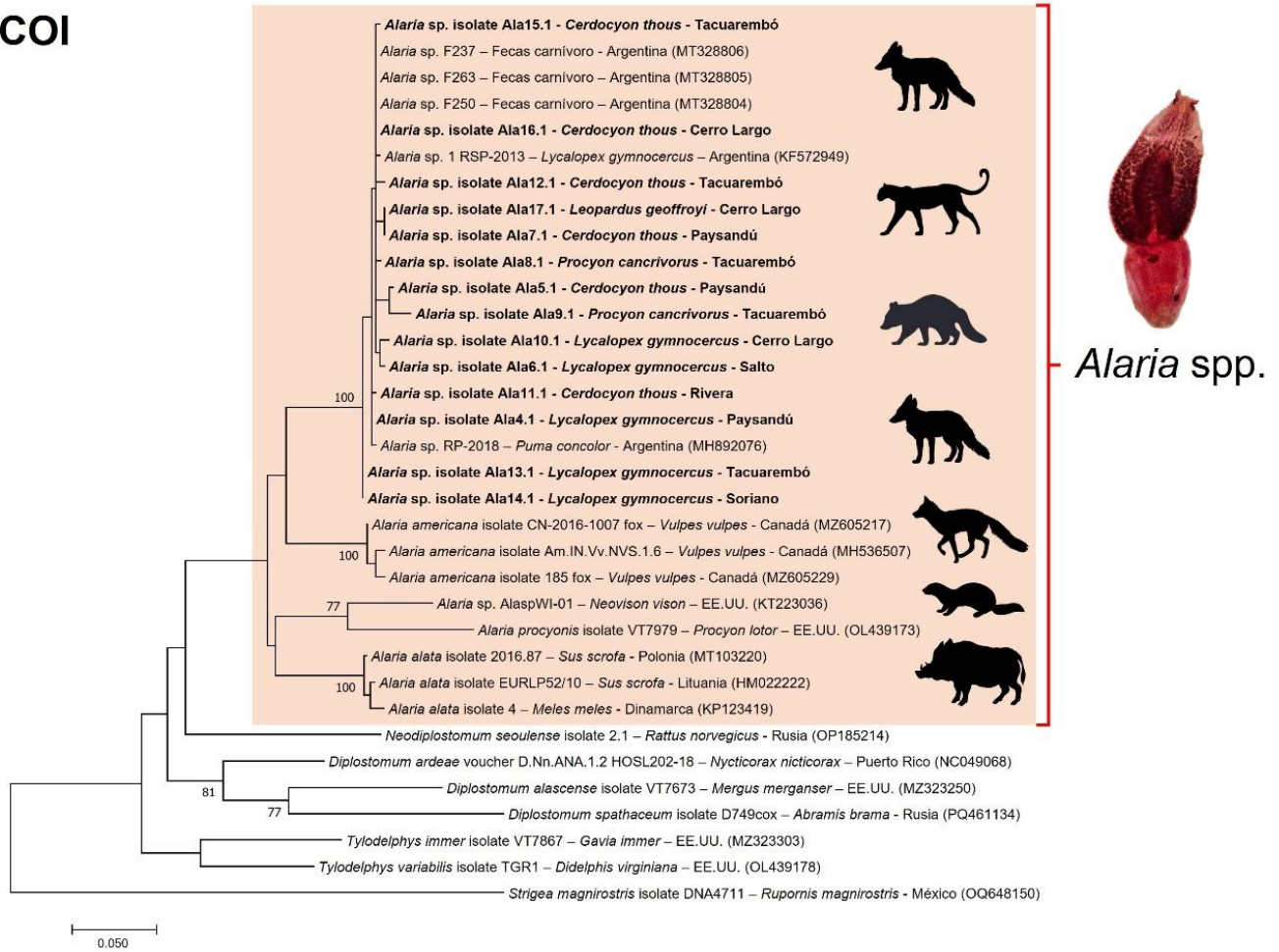


Figura 6. Árbol filogenético construido con secuencias parciales del marcador COI. Los números representan el soporte bootstrap generado a partir de 1000 réplicas, se muestra los valores >70. Las secuencias obtenidas están en negrita y los números de acceso a GenBank están entre paréntesis. *Strigea magnirostris* fue incluido como grupo externo.

5.7.2. Árbol filogenético con secuencias del espaciador ITS2

Con respecto al árbol filogenético realizado con secuencias del marcador ITS2, si bien existen menos secuencias depositadas en Genbank, la topología del mismo es similar al realizado para COI. Las secuencias correspondientes a *Alaria* conforman un mismo clado de alto soporte y se separan del resto de las secuencias de otros diplostómidos. Las secuencias de *Alaria* de este estudio se agrupan entre ellas, también con un alto soporte, sugiriendo que se tratan del mismo taxón. Además, se separan claramente del clado de secuencias de *A. alata* provenientes de Europa y Asia (MK168699, MK168700, OM630460, ON248043, ON248128) así como del resto de secuencias de especies de América como *A. americana* (MH521246) y *A. mustelae* (JF820609) (figura 7). La falta de referencias para el marcador ITS2 para el género *Alaria* provenientes de América del Sur no nos permiten evaluarla de la misma manera que lo realizado con el marcador COI.

ITS2

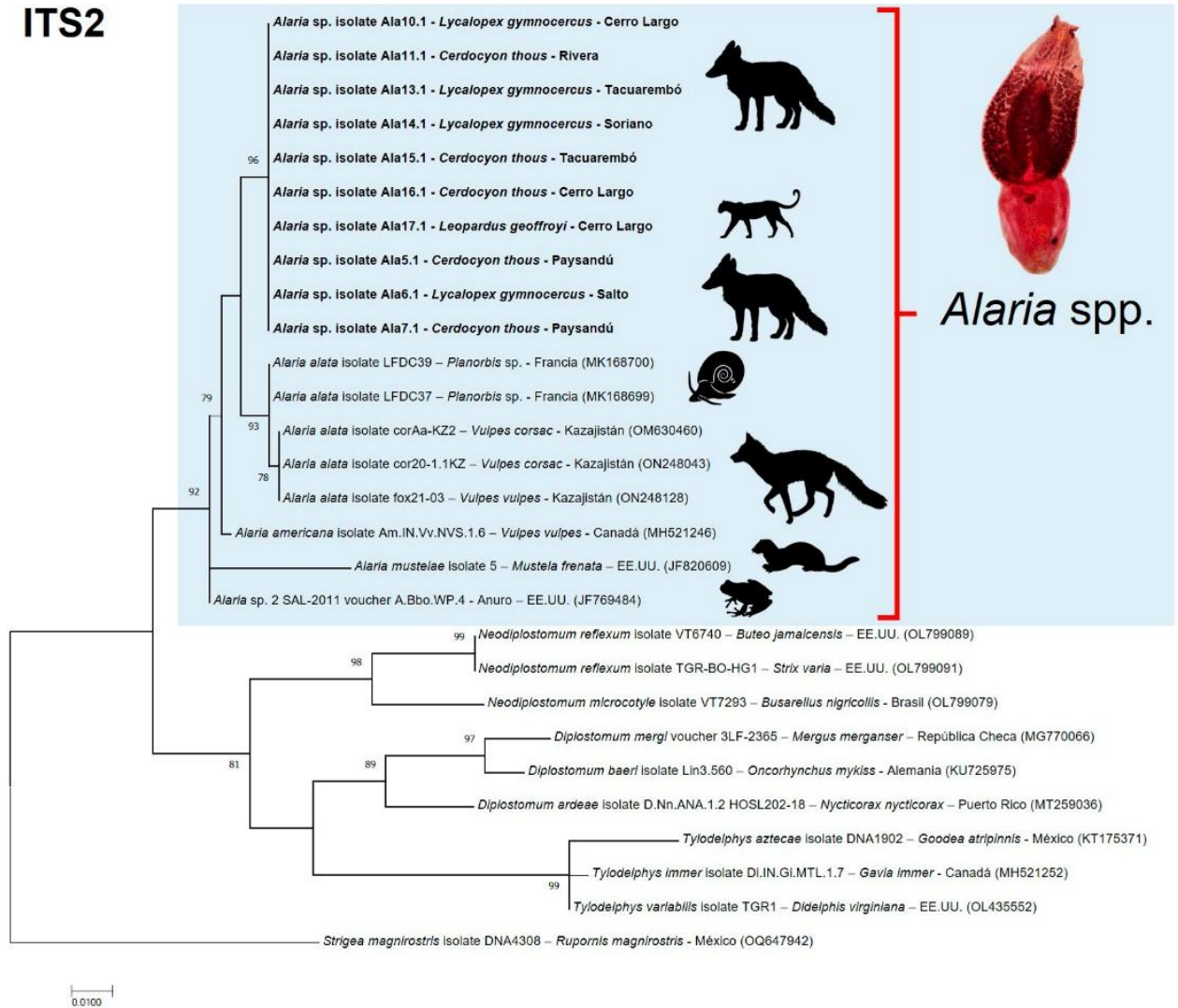


Figura 7. Árbol filogenético construido con secuencias parciales del espaciador ITS2. Los números representan el soporte bootstrap generado a partir de 1000 réplicas, se muestra los valores >70. Las secuencias obtenidas están en negrita y los números de acceso a GenBank están entre paréntesis. *Strigea magnirostris* fue incluido como grupo externo.

5.7.3. Hospedadores de *Alaria* spp. en Uruguay y la región

En la tabla 9 se indican los hospedadores para las formas adultas, así como formas larvianas (furcocercaria y mesocercaria) y huevos hallados en diferentes hospedadores e incluso fecas de Uruguay y países de la región como Argentina y Brasil.

Para nuestra región, adultos determinados como *Alaria alata* o *Alaria* sp. han sido hallados en los zorros *C. thous*, *L. gymnocercus* y *L. culpaeus*, mano pelada *P. cancrivorus* y gato montés *L. geoffroyi*, quienes actúan como hospedadores definitivos en el ciclo silvestre, así como por caninos y felinos domésticos (Ruas, 2007; Fugassa, 2020; Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005; Lena Vadora y Radcenco Alvez, 2017; Lombardero y Santa Cruz, 1986; Castro y col., 2009; Vieira y col., 2008). Además, huevos de *Alaria* sp. se han reportado en heces o fecas de perros y gatos domésticos, así como zorros y felinos silvestres como puma, ocelote y gato de pajonal (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005; Lena Vadora y Radcenco Alvez, 2017; Pethrig y col., 2015; Gressler y col., 2016; Wrublewski y col., 2018; Lignon y col., 2023; Ferraz y col., 2024).

En cuanto a sus hospedadores intermediarios, furcocercarias fueron determinadas en el caracol acuático *D. heloicum* en donde continuaría su desarrollo (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005, Castro y col., 2007). Estas furcocercarias abandonan el caracol y su desarrollo continúa al parasitar una forma larvaria de anfibio, siendo registradas mesocercarias para *B. pulchella* en Uruguay (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005). Las mesocercarias ya son infectantes para su hospedero definitivo. Además, en Uruguay se han encontrado mesocercarias en ofidios autóctonos (*P. patagoniensis* y *L. anomalus*) que officiarían como hospederos paraténicos (Capellino y col., 2003).

Tabla 9. Etapas del ciclo de *Alaria* spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Uruguay.

País	Adulto	Furcocercaria	Mesocercaria	Huevo	Referencia
Uruguay	<i>Felis catus</i>				Castro y col. (2009)
	<i>Lycalopex gymnocercus</i>				Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017), este trabajo
	<i>Cerdocyon thous</i>				Capellino y col. (2003), este trabajo
	<i>Procyon cancrivorus</i>				Este trabajo
	<i>Leopardus geoffroyi</i>				Este trabajo
	<i>Conepatus chinga</i>				Castro y col. (2011)
		<i>Drepanotrema heloicum</i>			Cantón Paradiso y Falero Vimercati (2005)
			<i>Boana pulchella</i>		Cantón Paradiso y Falero Vimercati (2005)
			<i>Philodryas patagoniensis</i>		Capellino y col. (2003)

			<i>Lygophis anomalus</i>		Capellino y col. (2003)
			<i>Salvator merianae</i>		Castro y col. (2011)
				<i>Canis familiaris</i>	Cantón Paradiso y Falero Vimercati (2005)
				<i>Lycalopex gymnocercus</i>	Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017), este trabajo
				<i>Cerdocyon thous</i>	Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017)

Tabla 10. Etapas del ciclo de *Alaria* spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Argentina.

País	Adulto	Furcocercaria	Mesocercaria	Huevo	Referencia
Argentina	<i>Lycalopex gymnocercus</i>				Fugassa (2020)
	<i>Cerdocyon thous</i>				Lombardero y Santa Cruz (1986)
	<i>Leopardus geoffroyi</i>				Lombardero y Santa Cruz (1986), Fugassa (2020)
	<i>Canis familiaris</i>				Lombardero y Santa Cruz (1986)
				<i>Lycalopex gymnocercus</i>	Pettrigh y col. (2015)
				<i>Puma concolor</i>	Pettrigh y col. (2015)

Tabla 11. Etapas del ciclo de *Alaria* spp. y sus correspondientes hospedadores registradas para Brasil.

País	Adulto	Furcocercaria	Mesocercaria	Huevo	Referencia
Brasil	<i>Cerdocyon thous</i>				Travassos y col. (1969), Ruas (2007), Vieira y col. (2008),
	<i>Lycalopex gymnocercus</i>				Ruas (2007)
	<i>Procyon cancrivorus</i>				Vieira y col. (2008)
				<i>Felis catus</i>	Ferraz y col. (2024)
				<i>Leopardus colocolo</i>	Gressler y col. (2016)
				<i>Puma concolor</i>	Wrublewski y col. (2018)
				<i>Leopardus pardalis</i>	Wrublewski y col. (2018)
				<i>Cerdocyon thous</i>	Lignon y col. (2023)

6. Discusión

De las especies de carnívoros previamente señaladas como hospederos definitivos de *A. alata* o *Alaria* sp. en Uruguay por Cantón Paradiso y Falero Vimercati (2005), Castro y col. (2009), Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017), Castro (2025) y Castro y col. (2011) se agrega para el país como hospederos a *P. cancrivorus* y *L. geoffroyi*, ambas especies pertenecientes al Orden Carnivora, familias Procyonidae y Felidae respectivamente.

En relación a los datos expuestos en las tablas 2 y 3, podemos apreciar que los hospederos dentro de la familia Canidae son los que presentan mayor prevalencia, así como mayor intensidad de infección. Esto puede deberse a los hábitos más generalistas que los canidos silvestres presentan pudiendo alimentarse de anfibios que ofician de hospederos secundarios albergando formas infectantes, así como de diversas especies de pequeños mamíferos, aves y reptiles que también actúen como hospederos paraténicos y “acumulen” mesocercarias de *Alaria* (Cravino y col., 2000; Di Bitetti y col., 2009; Faria-Corrêa, y col., 2009; González y Lanfranco, 2010; Queirolo y col., 2013; Canel y col., 2016). En contraposición de los hábitos exclusivamente carnívoros de los felinos (Manfredi y col., 2004; Lucherini y col., 2008) u omnívoros de los prociónidos (Achaval y col., 2004; Gatti y col., 2006; Quintela y col., 2014), que han representado menores prevalencias e intensidades.

Respecto a los valores de prevalencia, intensidad y abundancia calculados para los datos obtenidos en este trabajo, en la tabla 10 se comparan con resultados publicados para el país y la región.

Tabla 12. Prevalencia, intensidad y abundancia media de la infección de *Alaria* en cánidos silvestres (zorros) de la región.

Especie	Este trabajo		Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017)		Ruas (2007)		Lima y col. (2013)	
	L. <i>gymnocercus</i>	C. <i>thous</i>	L. <i>gymnocercus</i>	C. <i>thous</i>	L. <i>gymnocercus</i>	C. <i>thous</i>	L. <i>gymnocercus</i>	C. <i>thous</i>
N°	7	7	8	3	22	18	-	58
Prevalencia	100%	100%	88%	100%	36,36%	50%	-	6,89%
Intensidad	158,3	639,6	66,8	165	2	2,3	-	1,25
Abundancia	158,3	639,6	-	-	-	-	-	0,08

En esta tabla se observa que los valores de prevalencia de infección encontrados en este estudio son mayores que los informados para dos especies de zorros en la bibliografía regional, tanto para estudios previos en Uruguay (Lena Vadora y Radcenco Alvez, 2017) como en análisis similares realizados en el sur de Brasil (Ruas, 2007; Lima y col., 2013).

Este estudio mantiene la alta prevalencia de *Alaria* sp. hallada por Lena Vadora y Radcenco Alvez (2017), aunque la intensidad es mayor en ambas especies de

zorros. Pero los índices superan a los obtenidos en Brasil por Ruas (2007) y Lima y col. (2013).

Para otras especies que no sean cánidos silvestres únicamente se tienen indicadores para *C. chinga* donde se determinó *Alaria* sp. en 3 de 5 ejemplares (60 %) estudiados con una intensidad media de 4,0 (Castro y col., 2011).

Así como los resultados de este trabajo para *P. cancrivorus* y *L. geoffroyi*, en los que para *P. cancrivorus* se analizaron 6 ejemplares con una prevalencia del 33,3 % y una intensidad y abundancia media muy inferiores a la obtenidas para ambas especies de zorros (tabla 3). Si bien se analizó un solo ejemplar de *L. geoffroyi*, este estaba parasitado con 13 ejemplares de *Alaria*, por lo que se necesitan evaluar más ejemplares a fin de comparar los diferentes índices parasitarios (tabla 2).

Respecto a estudios que se han enfocado en la prevalencia e intensidad de *A. alata* en Eurasia, éstos varían desde una prevalencia del 4,7 % en *V. vulpes* en Croacia (Rajković-Janje y col., 2002) o de 5,3 % de prevalencia y 3,3 de intensidad media en Italia (Fiocchi y col., 2016). En cambio, en Hungría se hallaron valores de prevalencia del 55,2 % y 1,46 de intensidad en el estudio de Széll y col. (2013) y 78,7 % de prevalencia y 82,2 de intensidad en el de Karamon y col. (2020). Esto demuestra que estos índices varían según la región, ya que otros estudios indican un 15,4 % de prevalencia con una intensidad media de 20,8 helmintos en Dinamarca (Saeed y col., 2006).

Un estudio realizado en Irlanda que involucró más de 500 ejemplares de *V. vulpes* arrojó prevalencias de entre 21 y 26 % con una intensidad que varió de 1 a 10 ejemplares de helmintos, aunque en unos pocos hospedadores contabilizaron más de 500 helmintos (Murphy y col., 2015).

En otras especies de cánidos silvestres se han registrado prevalencias de 30 % en *C. aureus* en Serbia (Ilic y col., 2016), 2,1 % en España (Segovia y col., 2001) y 17,3 % en Bielorrusia para *C. lupus* (Shimalov y Shimalov, 2000).

En cuanto a mesocercarias en fauna silvestre, contamos con los registros en ranas y culebras procedentes de Uruguay, pero sin datos de los índices parasitarios (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005; Capellino y col., 2003). En cambio, en países de Europa como Letonia se han estudiado anfibios que actúan como segundos hospedadores intermediarios de *A. alata*, hallando una prevalencia general del 27,7 % en renacuajos y ranas adultas (Ozolina y col., 2021).

También en Letonia, se determinó la presencia de mesocercarias en el 1,7 % de muestras de vísceras y músculo de lince euroasiático, *L. lynx*, lo que sugiere que este carnívoro podría actuar como hospedador paraténico y definitivo de *A. alata*. (Ozolina y col., 2020).

Y en un mamífero omnívoro como el jabalí (*Sus scrofa*) en varios países europeos se han determinado mesocercarias de *A. alata* en músculo, tejido adiposo y glandular con una prevalencia de 0,2 a 19,4 % y una intensidad de 0,02 a 1,2 mesocercarias por gramo de tejido (Jaksic y col., 2002, Portier y col., 2011).

Con respecto a carnívoros domésticos como perros, en Europa, mediante coproplogía se detectó que el 2,5 % de perros pastores y cazadores del norte de Grecia estaban parasitados con *A. alata* (Papazahariadou y col., 2007), así como el 1,6 % de perros domésticos con propietario en Serbia (Jovanovic y col., 2024). En cambio, para nuestra región los trabajos sobre coprología que informen a *Alaria* son escasos, reportándose para Uruguay el estudio de Cantón Paradiso y Falero Vimercati, (2005).

En cuanto a la morfología, los ejemplares de *Alaria* hallados en diferentes carnívoros de varias localidades de Uruguay son indistinguibles de *A. alata*. Esto ha llevado a que sea la especie con mayor número de citas en la región (Travassos y col., 1969; Petrigh y col., 2015; Ruas y col., 2008; Castro y col., 2009). Además, para Paraguay se reporta la presencia de *A. marciana* en base a la morfología de ejemplares adultos obtenidos de un *P. concolor* (Fischtal y Martin, 1973). En el caso de *A. marciana* las características morfológicas son similares a las de *A. alata* (Lee y col., 2022), lo cual puede haber contribuido al diagnóstico realizado en Paraguay.

Otra situación es la de *A. nattereri*, una especie que formalmente no está descrita y que posiblemente corresponda a un *nomen nudum*, aunque existen ejemplares depositados utilizados por Lutz (1933). Esta “hipotética” especie fue hallada en el estado Minas Gerais, al sureste de Brasil como parásita de *Thous crancrivorus* un sinónimo de *C. thous*. Aunque si bien Vieira y col. (2008) mencionan a *A. nattereri* como parásito de *P. cancrivorus* en Minas Gerais y citando al propio Lutz (1933), es probable que se trate de un error con el hospedador y corresponda efectivamente a *C. thous*. Incluso, Travassos y col. (1969) no toman en cuenta a *A. nattereri* en su trabajo “Trematódeos do Brasil”. Morfológicamente, los adultos de *A. nattereri* serían similares a *A. alata* (Lutz, 1933).

Una característica importante en la diferenciación de las especies de *Alaria*, es la presencia de aurículas salientes, en base a esto se separan *A. arisaemoides*, *A. mustelae*, *A. nasuae*, *A. taxideae*, *A. procyonis*, *A. clathrata*, *A. pseudoclathrata* y *A. ovalis* que presentan pseudoventosas a los lados de la ventosa oral en lugar de aurículas. Todos ejemplares analizados en este estudio presentan similitudes con las descripciones de *A. alata*, *A. americana* y *A. marciana* e incluso con *A. nattereri*.

En el caso de *A. alata*, es una especie registrada para Europa, Asia y América del Sur (Fiocchi y col., 2016; Rajković-Janje y col., 2002; Ruas y col., 2008, Vergles Rataj y col., 2013; Grissel y col., 2016; Tabaripour y col., 2018; Lee y col., 2022) mientras que *A. americana* y *A. marciana* se han registrado en América del Norte (Burrows y Lillis, 1965; Shoop y Corkum, 1980; Rhien y col., 2012) y *A. nattereri* con un reporte para Brasil.

Los ejemplares de este estudio son morfológicamente iguales entre ellos presentando variaciones en algunas medidas según hospedador (tabla 11), esta variabilidad morfométrica puede ser una característica que pueda llevar a confusiones en la identificación de especies dentro de este género. Más aun

teniendo en cuenta que muchas especies han sido descritas en durante la primera mitad de 1900 únicamente por características morfométricas (Hall y Wigdor, 1918; Bosma, 1931; La Rue y Barone, 1932; Thornton y col., 1974).

Tabla 13. Medidas de *Alaria* sp. con variación según hospederos de ejemplares de este estudio.

	<i>C. thous</i> Media (máx.-mín.)	<i>L. gymnocercus</i> Media (máx.-mín.)	<i>L. geoffroyi</i> Media (máx.-mín.)
N° individuos	30	34	8
LT	2,11 (1,85-2,35)	2,31 (1,74-2,77)	2,69 (2,42-2,97)
LPA	1,54 (1,25-1,72)	1,62 (1,25-1,97)	1,93 (1,75-2,17)
APA	0,64 (0,50-0,75)	0,78 (0,52-1,12)	1,01 (0,76-1,15)
LOT	0,77 (0,65-1,03)	0,85 (0,61-1,15)	1,26 (1,10-1,47)
DV	0,19 (0,17-0,22)	0,19 (0,14-0,24)	0,24 (0,14-0,32)

Referencias: LT- Largo total, LPA- Largo parte anterior, APA- Ancho parte anterior, LOT- Largo órgano tribocítico, DV- Distancia entre ventosa oral – acetábulo. Todas las medidas están expresadas en mm.

De las medidas analizadas podemos observar que en general los helmintos recuperados de *L. geoffroyi*, poseen medidas levemente mayores en el largo total, largo de la parte anterior, largo de la parte posterior, largo del órgano tribocítico y distancia entre la ventosa oral y el acetábulo a los obtenidos de las dos especies de zorros. Las medidas tomadas del ejemplar recuperado de *P. cancrivorus* no fue tomada en cuenta ya que se encontraba dentro de los rangos analizados en zorros. Estas medidas son algo menores a las obtenidas por Martínez (1986) para *L. geoffroyi* de la provincia de Chaco en Argentina.

De las especies del género *Alaria* que comparten la presencia de aurículas salientes y una disposición similar en las estructuras internas: *A. alata*, *A. americana* y *A. marciannae*, en la tabla 12 se observa que las medidas de los obtenidas en este trabajo incluyen rangos compartidos con las otras especies del género, habiendo medidas mínimas menores a las registradas para *A. alata* según Travassos y col. (1969). Lo mismo sucede para *A. marciannae* aunque en general son mayores a las presentadas por Johnson (1968) para esa especie. En relación a las medidas presentadas para *A. americana*, la medida de largo de la parte anterior (LPA) y otras como el largo total (LT) son mayores a los rangos presentados en Hall y Wigdor (1918).

Tabla 14. Medidas comparativas de especies de *Alaria* con presencia de aurículas salientes.

	<i>Alaria</i> sp.	<i>A. alata</i>	<i>A. americana</i>	<i>A. marciana</i>
Referencia	Este estudio	Travassos y col. (1969)	Hall y Wigdor (1918)	Johnson (1968)
	Mín-Máx	Mín-Máx	Mín-Máx	Mín-Máx
LT	1,74 – 2,97	2,40 – 4,32	1,16 – 2,32	1,56 – 1,84
LPA	1,25 – 2,17	1,50 – 3,00	0,69 – 1,07	-
APA	0,50 – 1,15	0,63 – 1,95	0,71 – 1,95	-
LPP	0,40 – 0,92	0,56 – 2,00	0,48 – 1,25	-
APP	0,25 – 0,92	0,40 – 1,71	0,65 – 0,95	-
LOT	0,61 – 1,47	0,82 – 1,89	-	0,54 – 0,70
AOT	0,21 – 0,55	0,28 – 0,91	-	0,28 – 0,57
LAu	0,05 – 0,15	0,06 – 0,15	-	-
LVO	0,07 – 0,13	0,07 – 0,13	0,09 – 0,13	0,09 – 0,12
AVO	0,05 – 0,11	0,08 – 0,14	-	0,10 – 0,13
LA	0,05 – 0,12	0,08 – 0,18	0,07 – 0,17	0,07 – 0,10
AA	0,04 – 0,12	0,02 – 0,09	-	0,08 – 0,12
DV	0,14 – 0,32	-	-	-

Referencias: LT- Largo total, LPA- Largo parte anterior, APA- Ancho parte anterior, LPP- Largo parte posterior, APP- Ancho parte posterior, LOT- Largo órgano tribocítico, AOT- Ancho órgano tribocítico, LAu- Largo aurícula, LVO- Largo ventosa oral, AVO- Ancho ventosa oral, LA- largo acetábulo, AA- Ancho acetábulo, DV- Distancia entre ventosa oral – acetábulo. Todas las medidas están expresadas en mm.

Esto demuestra que salvo algunos caracteres que puedan separar a las especies por grupos como la presencia o ausencia de aurículas salientes, los demás caracteres son subjetivos.

Estas diferencias pueden atribuirse no solo a la diferencia de tamaño del hospedero individual sino también al estado de madurez de los helmintos, pudiendo haber también diferencias significantes entre diferentes poblaciones (Lee y col. 2022).

Estas similitudes morfológicas han llevado a que por ejemplo *A. alata* haya sido reportada en muchos trabajos en tres continentes y que como veremos más adelante su presencia en América del Sur o al menos en nuestra región sería dudosa.

En relación a los análisis moleculares, al utilizar dos marcadores; uno a nivel mitocondrial y uno a nivel nuclear, queda expuesto que tanto en la identidad de las secuencias, así como en los análisis filogenéticos, todos los ejemplares de helmintos recuperados de los distintos hospedadores provenientes de las distintas localidades de Uruguay pertenecen a un mismo taxón.

Asimismo, las secuencias obtenidas para el marcador COI provenientes de helmintos adultos hallados en el intestino de *L. gymnocercus*, así como de huevos presentes en fecas de carnívoros recuperadas en Argentina por Pethrig y col. (2015) determinados morfológicamente como pertenecientes a *A. alata* poseen una alta identidad de entre 98,02 % y 100 % con las secuencias

obtenidas en Uruguay (tabla 6). Siendo las secuencias analizadas por Pethrig y col. (2015) comparadas con secuencias de *A. alata* provenientes de Europa con un 91 % de identidad entre ellas, por lo que infieren que, junto a las similitudes morfológicas de los adultos, que la especie se trataría en efecto de *A. alata*. Argumentando que la diferencia de un 9% en la identidad hallada entre las secuencias de Argentina y Europa se podría deber a la gran variabilidad genética en la secuencia del marcador COI.

En relación a esto, Wilson y col. (2011) establecen una identidad entre secuencias mayor al 98% para incluir las mismas dentro de una determinada especie.

En dicho trabajo de Pethrig y col. (2015) no fue realizado un análisis filogenético de las secuencias, el cual podría haber ayudado a esclarecer que probablemente se traten de dos taxones diferentes.

Es así, que en el análisis filogenético para el marcador COI, realizado en este trabajo, en el que fueron utilizadas las 14 secuencias obtenidas procedentes de *Alaria* sp. de diferentes hospedadores y localidades de Uruguay, es incluida la secuencia depositada por Pethrig y col. (2015) en el GenBank identificada como KF572949, así como otras de *Alaria* sp. disponibles provenientes de Argentina en la misma base de datos (figura 6). En este análisis se observa que la totalidad de las secuencias obtenidas en Argentina y Uruguay forman un clado de alto soporte, siendo muy probable que pertenezcan a un mismo taxón.

En base a esto podemos inferir que, si bien el taxón presente en la región comparte características morfológicas con *A. alata*, las diferencias moleculares evidencian que se trataría de una especie diferente, confundida durante años en diferentes trabajos en la región.

En este caso podríamos aplicar el concepto de especies crípticas, ya que son dos taxones que poseen características morfológicas idénticas, pero genéticamente diferentes, que se encuentran reproductivamente aislados y solo pueden distinguirse genética o molecularmente entre sí (DeSalle y col., 2005; Fišer y col., 2018; Kordbacheh y col., 2023).

La similitud morfológica con otras especies hace que la confusión pueda datarse desde la propia descripción original por Krause en 1914, en donde describe a la especie en base a helmintos recuperados en Europa, El Cairo (África) y Brasil (Krause, 1914), que, si bien presentaban características similares, podrían haber tenido rangos de medidas diferentes, ya que Lee y col. (2022) exponen rangos de medidas para *A. alata* algo mayores a los identificados por Krause (1914) y apoyándose en evidencia molecular para identificarlos con la especie.

Con la evidencia existente, en particular la molecular, es altamente probable que *A. alata* “sensu stricto” se distribuya en Eurasia o “viejo mundo” y no esté presente en nuestra región ni en toda América. Si bien sería necesario obtener información de ejemplares de *Alaria* spp. de diferentes regiones y en particular de América del Sur, este estudio es un avance significativo a nivel regional.

Con respecto a su carácter como zoonosis, actualmente nos encontramos en una época en donde el constante contacto entre la población humana, junto con

sus animales domésticos y la fauna silvestre, debido a las alteraciones que el hombre provoca en los ambientes naturales, exponen a los humanos a una mayor oferta y diversidad de patógenos con los que previamente podía no haber tenido contacto. Esto hace que, bacterias, virus o parásitos encuentren nuevos reservorios y hospederos, tanto definitivos como intermediarios o paraténicos, imponiendo la necesidad de tomar nuevas medidas sanitarias para evitar la propagación de nuevas zoonosis emergentes (Silva y col., 2017).

Si bien los casos de alariosis en humanos, incluso con casos fatales, se han reportado en América del Norte, en particular causados por mesocercarias de *Alaria americana* (Freeman y col., 1976), en Europa, *A. alata* es considerada como potencial agente zoonótico (Portier y col. 2011) e incluso Alemania categoriza a la carne de jabalí infectada con mesocercarias como no adecuada para consumo humano (Rentería-Solís y col., 2013).

Es probable que otras especies del género también tengan potencial zoonótico en diferentes regiones, por lo que se debería investigar en Uruguay y la región la presencia de mesocercarias tanto en hospedadores intermediarios o paraténicos que puedan ser parte de la alimentación de los humanos.

Otros aspectos como los ecológicos también deberían ser abordados a fin de dilucidar el ciclo de vida de *Alaria* sp. debido a que por el momento solo se ha identificado a *D. heloicum* como primer hospedador intermediario y a *B. pulchella* como segundo hospedador intermediario, así como los reptiles *P. patagoniensis*, *L. anomalus* y *S. merianae* como hospedadores paraténicos (Cantón Paradiso y Falero Vimercati, 2005; Capellino y col., 2003; Castro y col., 2011).

Finalmente, y reuniendo toda la evidencia presentada en este estudio, se puede inferir que la especie de *Alaria* que se encuentra en Uruguay presenta marcadas diferencias a nivel genético en el marcador COI con respecto a *A. alata*, lo cual también se ve reflejado en el análisis filogenético, aunque es morfológicamente indiferenciable. Resta dilucidar si junto con los hallazgos de Argentina se puede considerar como una nueva especie o debería tenerse en cuenta la denominación provista por Lutz (1933) como *A. nattereri* para ejemplares morfológicamente similares de Brasil. Aunque, al publicarse después de 1930, no cumple con los requisitos establecidos en el Artículo 13 del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1999), ya que no es una especie descrita formalmente y debería ser considerada como *nomen nudum*.

7. Conclusiones

La caracterización morfológica y molecular de ejemplares de *Alaria* obtenidos de diferentes carnívoros silvestres y de diferentes localidades del país indica que se trata del mismo taxón, observándose sutiles diferencias morfométricas dependiendo del hospedador.

El análisis filogenético basado en secuencias parciales del marcador molecular COI demostró que las muestras de Uruguay se relacionan estrechamente con secuencias de *Alaria* provenientes de carnívoros silvestres de Argentina formando un mismo clado separado de las especies de *Alaria* provenientes de Europa y América del Norte.

Los helmintos adultos estudiados de Uruguay no poseen diferencias morfológicas con *A. alata*, aunque tanto por la variación en la identidad de las secuencias, así como los análisis filogenéticos realizados para marcadores mitocondriales (COI) y nucleares (ITS2), pone en duda la presencia de *A. alata* en el país.

De confirmarse como nuevo, el taxón identificado en Uruguay debería considerarse una especie críptica, dado que no presenta diferencias morfológicas con *A. alata*, aunque sí divergencias genéticas. Asimismo, la evidencia bibliográfica y los resultados de este trabajo sugieren que probablemente se trate de una especie nueva.

8. Bibliografía

- Achatz, T. J., Chermak, T. P., Martens, J. R., Woodyard, E. T., Rosser, T. G., Pulis, E. E., & Tkach, V. V. (2022). Molecular phylogeny supports invalidation of *Didelphodiplostomum* and *Pharyngostomoides* (Digenea: Diplostomidae) and reveals a *Tylodelphys* from mammals. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 196(1), 124–136.
- Achaval, F., Clara, M. & Olmos, A. (2004). *Mamíferos de la República Oriental del Uruguay*, 1ª. Edición, Imprimex, Impresora.
- Acuña, A. M., & Nuri, A. (1996). Fascioliasis en la República Oriental del Uruguay. *Revista Médica del Uruguay*, 12, 37–43.
- Addison, E. M., Pybus, M. J., & Rietveld, H. J. (1978). Helminth and arthropod parasites of black bear, *Ursus americanus*, in central Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 56(10), 2122–2126.
- Allen, J. R., & Mills, J. H. (1971). *Alaria arisaemoides* in Saskatchewan dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 12(1), 24.
- Araujo, R. B. (2020). Diversidade de parasitas gastrointestinais em cachorro-domato (*Cerdocyon thous*, LINNAEUS 1766) na região metropolitana de Fortaleza. 2020. 66f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, CE.
- Augustine, D. L., & Uribe, C. (1927). *Alaria arisaemoides*, n. sp., a trematode from *Vulpes fulva*. *Parasitology*, 19(2), 236–244.
- Berenguer, J. G. (2007). *Manual de parasitología: Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario* (Vol. 31). Edicions Universitat de Barcelona.
- Bilska-Zajac, E., Marucci, G., Piróg-Komorowska, A., Cichocka, M., Rózycki, M., Karamon, J., & Cencek, T. (2021). Occurrence of *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*) in Poland and detection of genetic variability between isolates. *Parasitology Research*, 120, 83–91.
- Bosma, N. J. (1934). The life history of the trematode *Alaria mustelae* Bosma, 1931. *Transactions of the American Microscopical Society*, 53(2), 116–153.
- Botero, D., & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis humanas*. Corporación para Investigaciones Biológicas. Editorial Presencia Ltda.
- Burrows, R. B., & Lillis, W. G. (1965). Trematodes of New Jersey dogs and cats. *Journal of Parasitology*, 51(4), 570–574.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4), 575–583.

- Canel, D., Scioscia, N. P., Denegri, G. M., & Kittlein, M. (2016). Dieta del zorro gris pampeano (*Lycalopex gymnocercus*) en la provincia de Buenos Aires. *Mastozoología Neotropical*, 23(2), 359–370.
- Cantón Paradiso, A. M., & Falero Vimercati, M. (2005). Epidemiología del género *Alaria* (Trematoda: Diplostomatidae) en un ambiente periurbano del área metropolitana. Tesis de grado, Universidad de la República.
- Capellino, D., Morgades, D., Castro, O., Casas, L., Venzal, J. M., & González, E. M. (2003). Dos nuevos registros de helmintos con potencial zoonótico en cánidos silvestres de Uruguay. En IV Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria (pp. 12–14).
- Carnevia, D., Castro, O., Peretta, A., & Venzal, J. M. (2005). Identificación en Uruguay de metacercarias de *Ascocotyle (Phagicola) longa* (Digenea: Heterophyidae) parasitando lisas (*Mugil platanus*) y evaluación del riesgo zoonótico. *Veterinaria (Montevideo)*, 40(159–160), 19–23.
- Castro, O., de Souza, C. G., & Venzal, J. M. (2007). Incidencia de cercarias (Trematoda: Digenea) en *Drepanotrema heloicum* de un área suburbana de Canelones, Uruguay. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay*, 9(90), 101–107.
- Castro, O., Venzal, J. M., & Félix, M. L. (2009). Two new records of helminth parasites of domestic cat from Uruguay: *Alaria alata* and *Lagochilascaris major*. *Veterinary Parasitology*, 160(3–4), 344–347.
- Castro, O., Venzal, J. M., Crampet, A., De Souza, C., Félix, M. L., & González, E. M. (2011). Avances en el conocimiento de los tremátodos parásitos de carnívoros silvestres de Uruguay. En VII Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria (pp. 138–139).
- Castro, O. (2025). Lista de los helmintos parásitos de los carnívoros domésticos de Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 61(224).
- Chieffi, P. P., Gorla, M. C., Torres, D. M., Dias, R. M., Mangini, A. C., Monteiro, A. V., & Woiciechowski, E. (1992). Human infection by *Phagicola* sp. (Trematoda: Heterophyidae) in Registro, São Paulo, Brazil. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(5), 346–348.
- Choquette, L. P. E., Gibson, G. G., Kuyt, E., & Pearson, A. M. (1973). Helminths of wolves (*Canis lupus*) in the Yukon and Northwest Territories. *Canadian Journal of Zoology*, 51(10), 1087–1091.
- Cintra, M. F., García, L. P., Hernández, Y. S., Pérez, M. S., & Martínez, A. M. (2006). La zoonosis como ciencia y su impacto social. *REDVET*, 7(9), 1–19.
- Compton, T. L. (1969). *Alaria arisaemoides* from interior Alaska. *Canadian Journal of Zoology*, 47(6), 1420–1421.

- Cravino, J. L., Calvar, M. E., Poetti, J. C., Berrutti, M. A., Fontana, N. A., Brando, M. E., & Fernández, J. A. (2000). Análisis holístico de la predación en corderos, con énfasis en “zorros”. *Veterinaria (Montevideo)*, 35(141), 24–42.
- Dabanch, J. (2003). Zoonosis. *Revista Chilena de Infectología*, 20, 47–51.
- Del Campillo, M. C. (2006). Historia de la parasitología. En *Parasitología general* (pp. 3–21). McGraw-Hill Interamericana.
- Del Campillo, M. C., & Fernández, A. R. M. (2001). Problemas de nomenclatura en parasitología. *Panace*, 2(6), 95.
- DeSalle, R., Egan, M. G., & Siddall, M. (2005). The unholy trinity: Taxonomy, species delimitation, and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360(1462), 1905–1916.
- Di Bitetti, M. S., Di Blanco, Y. E., Pereira, J. A., Paviolo, A., & Pírez, I. J. (2009). Time partitioning favors coexistence of sympatric *Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus*. *Journal of Mammalogy*, 90(2), 479–490.
- Dimzas, D., Chassalevris, T., Ozolina, Z., Dovas, C. I., & Diakou, A. (2021). Investigation of food-transmitted parasites (*Trichinella* spp. and *Alaria* spp.) in wild boars in Greece by classical and molecular methods and development of a novel real-time PCR for *Alaria* spp. detection. *Animals*, 11(10), 2803.
- Dyer, W. G. (1970). Helminths of the striped skunk (*Mephitis mephitis*) in North Dakota. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 37, 92–93.
- Espinosa Morales, M., Alazales Javiqué, M., & García Socarrás, A. M. (2011). Parasitosis intestinal y factores ambientales en niños de Maracaibo. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 27(3), 396–405.
- Beltrán Fabián de Estrada, M., Otárola Mayhua, J., & Tarqui Terrones, K. M. (2014). Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud.
- Faria-Corrêa, M., Balbuena, R. A., Vieira, E. M., & De Freitas, T. R. (2009). Activity, habitat use, density and reproductive biology of *Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus* in the southern Brazilian Atlantic Forest. *Mammalian Biology*, 74, 220–229.
- Fernandes, B. J., Cooper, J. D., Cullen, J. B., Freeman, R. S., Ritchie, A. C., Scott, A. A., & Stuart, P. (1976). Systemic infection with *Alaria americana*. *Canadian Medical Association Journal*, 115(11), 1111.
- Fernández, A. M., & del Campillo, M. C. (2002). El parasitismo y otras asociaciones biológicas. En Cordero del Campillo et al. (Eds.), *Parasitología veterinaria* (pp. 22–38).
- Ferraz, A., Ongaratto, R. F., Capella, G. D. A., Santos, R. L. D., Braga, A. C. A., Reichow, A. C. D., & Nizoli, L. Q. (2024). First report of *Alaria* spp. in domestic feline in southern Brazil. *Advances in Research*, 25(3), 154–158.

- Ferroglio, E., Trisciuglio, A., Lazzaron, S., Filippetto, E., & Zanet, S. (2012). Clinical and molecular findings of *Alaria alata* infection in a dog from Aosta Valley, Italy. *Mappe Parassitologiche*, 18, 160.
- Fiocchi, A., Gustinelli, A., Gelmini, L., Rugna, G., Renzi, M., Fontana, M. C., & Poglajen, G. (2016). Helminth parasites of the red fox and wolf in Emilia-Romagna, Italy. *Italian Journal of Zoology*, 83(4), 503–513.
- Fischthal, J. H., & Martin, R. L. (1977). *Alaria (Alaria) marciana* (LaRue 1917) Walton 1950 (Trematoda: Diplostomatidae) from a mountain lion, *Felis concolor acrocodia* Goldman, from Paraguay. *Journal of Parasitology*, 63(2):202.
- Fišer, C., Robinson, C. T., & Malard, F. (2018). Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. *Molecular Ecology*, 27(3), 613–635.
- Foster, G. W., Kinsella, J. M., Sheppard, B. J., & Cunningham, M. W. (2009). Transmammary infection of free-ranging Florida panther neonates by *Alaria marciana*. *Journal of Parasitology*, 95(1), 238–239.
- Freeman, R. S., Stuart, P. F., Cullen, S. J., Ritchie, A. C., Mildon, A., Fernandes, B. J., & Bonin, R. (1976). Fatal human infection with mesocercariae of *Alaria americana*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25(6), 803–807.
- Fugassa, M. H. (2020). Updated checklist of helminths found in terrestrial mammals of Argentine Patagonia. *Journal of Helminthology*, 94, e170.
- Georgieva, S., Soldánová, M., Pérez-del-Olmo, A., Dangel, D. R., Sitko, J., Sures, B., & Kostadinova, A. (2013). Molecular prospecting for European *Diplostomum* reveals cryptic diversity. *International Journal for Parasitology*, 43(1), 57–72.
- Gressler, L. T., Noll, J. C. G., Freitas, Í. B. D., & Monteiro, S. G. (2016). Multiparasitism in a wild cat (*Leopardus colocolo*) in southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25, 374–377.
- García-Prieto, L., Mendoza-Garfias, B., & de León, G. P. P. (2014). Biodiversidad de Platyhelminthes parásitos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 164–170.
- Gatti, A., Bianchi, R., Rosa, C. R. X., & Mendes, S. L. (2006). Diet of two sympatric carnivores, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*, in a restinga area of Espírito Santo State, Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 22(2), 227–230.
- Gibson, D. I., Jones, A., & Bray, R. A. (Eds.). (2002). *Keys to the Trematoda: Volume 1*. CABI Publishing.
- González, E. M., & Lanfranco, J. A. M. (2010). *Mamíferos de Uruguay: Guía de campo e introducción a su estudio y conservación*. Ediciones de la Banda Oriental.

- González-Fuentes, H., Hamedy, A., Koethe, M., von Borell, E., Luecker, E., & Riehn, K. (2015). Effect of temperature on the survival of *Alaria alata* mesocercariae. *Parasitology Research*, *114*, 1179–1187.
- Hall, M. C., & Wigdor, M. (1918). Two new flukes from the dog.
- Harris, S. (1981). The food of suburban foxes (*Vulpes vulpes*), with special reference to London. *Mammal Review*, *11*(4), 151–168.
- International Commission on Zoological Nomenclature. (1999). *International Code of Zoological Nomenclature* (4th ed.). The International Trust for Zoological Nomenclature. (Consultado el 14 de noviembre de 2025).
- Ilić, T., Becskei, Z., Petrović, T., Polaček, V., Ristić, B., Milić, S., ... & Dimitrijević, S. (2016). Endoparasitic fauna of red foxes (*Vulpes vulpes*) and golden jackals (*Canis aureus*) in Serbia. *Acta Parasitologica*, *61*(2), 389–396.
- Jaksic, S., Uhitil, S., & Vucemilo, M. (2002). Mesocercariae of fluke *Alaria alata* determined in wild boar meat. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, *48*(3), 203–207.
- Johnson, A. D. (1968). Life history of *Alaria marciana* (La Rue, 1917) Walton, 1949 (Trematoda: Diplostomatidae). *Journal of Parasitology*, *54*(2), 324–332.
- Johnson, A. D. (1970). *Alaria mustelae*: Description of mesocercaria and key to related species. *Transactions of the American Microscopical Society*, *89*(2), 250–253.
- Johnson, E. M., Nagamori, Y., Duncan-Decocq, R. A., Whitley, P. N., Ramachandran, A., & Reichard, M. V. (2017). Prevalence of *Alaria* infection in companion animals in north central Oklahoma from 2006 through 2015 and detection in wildlife. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *250*(8), 881–886.
- Jovanovic, N. M., Bisenic, O., Nenadovic, K., Bogunovic, D., Rajkovic, M., Maletic, M., & Ilic, T. (2024). Gastrointestinal parasites in owned dogs in Serbia: Prevalence and risk factors. *Animals*, *14*(10), 1463.
- Karamon, J., Sroka, J., Dąbrowska, J., Bilaska-Zajac, E., Skrzypek, K., Różycki, M., & Cencek, T. (2020). Distribution of parasitic helminths in the small intestine of the red fox (*Vulpes vulpes*). *Pathogens*, *9*(6), 477.
- Kordbacheh, A., Rahimian, H., & Fontaneto, D. (2023). Mechanisms of reproductive isolation among cryptic species in monogonont rotifers. *Hydrobiologia*, *850*, 4705–4718.
- Korpysa-Dzirba, W., Różycki, M., Bilaska-Zajac, E., Karamon, J., Sroka, J., Bełcik, A., & Cencek, T. (2021). *Alaria alata* in terms of risks to consumers' health. *Foods*, *10*(7), 1614.
- Kramer, M. H., Eberhard, M. L., & Blankenberg, T. A. (1996). Respiratory symptoms and subcutaneous granuloma caused by mesocercariae: A case report. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *55*(4), 447–448.

- Krause, R. (1914). Beitrag zur Kenntnis der Hemistominen. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 112, 93–238.
- Larivière, S., & Pasitschniak-Arts, M. (1996). *Vulpes vulpes*. *Mammalian Species*, 537, 1–11.
- La Rue, G. R. (1926). Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) no. II: Taxonomy. *Transactions of the American Microscopical Society*, 45(1), 11–19.
- La Rue, G. R., & Barone, G. H. (1932). *Alaria oregonensis* from the coyote (Trematoda: Alariidae). *Transactions of the American Microscopical Society*, 51(3), 199–208.
- La Rue, G. R., & Townsend, E. W. (1932). A morphological study of *Alaria nasuae* La Rue and Townsend (Trematoda: Alariidae). *Transactions of the American Microscopical Society*, 51(4), 252–263.
- Lee, H. W., Hong, E. J., Kim, H. C., Ryu, S. Y., & Park, B. K. (2022). *Alaria alata* (Digenea: Diplostomidae) from Korean raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides koreensis*, in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 60(5), 361.
- Lena Vadora, I., & Radcenco Alvez, P. A. (2017). *Endoparásitos del zorro de campo (Lycalopex gymnocercus) y zorro de monte (Cerdocyon thous) de la región noroeste del Uruguay*. Tesis de grado, Universidad de la República.
- Lignon, J. S., Pinto, D. M., Martins, N. S., Pappen, F. G., Monteiro, S. G., & Bruhn, F. R. P. (2023). Multiparasitism in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) (Carnivora: Canidae), including new records, in the Brazilian Pampa: Case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 75, 261–266.
- Lima, R. C., Hoppe, E. G. L., Tebaldi, J. H., Cruz, B. C., Gomes, A. A. B., & Nascimento, A. A. (2013). Gastrointestinal helminths of *Cerdocyon thous* from the caatinga area of Paraíba State, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(6), 2879–2888.
- Lombardero, O. J., & Santa Cruz, A. M. (1986). Parasitismo de los perros callejeros de la ciudad de Corrientes: su evolución en los últimos 25 años. *Veterinaria Argentina*, 3, 888–892.
- López-Lemes, M., Hernández, S., Acuña, A. M., & Nari, A. (2005). Fascioliasis en la República Oriental del Uruguay. *Revista Médica del Uruguay*, 12, 37-43.
- Lucherini, M., Manfredi, C., Luengos, E., Mazim, F. D., Soler, L., & Casanave, E. B. (2006). Body mass variation in the Geoffroy's cat (*Oncifelis geoffroyi*). *Revista Chilena de Historia Natural*, 79(2), 169–174.
- Lucherini, M., & Luengos Vidal, E. M. (2008). *Lycalopex gymnocercus* (Carnivora: Canidae). *Mammalian Species*, 820, 1–9.
- Lutz, A. (1933). Considerações sobre o *Distomum tetracystis* Gastaldi e formas semelhantes erroneamente chamadas Agamodistomos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 27, 33–60.

- Magi, M., Macchioni, F., Dell'Omodarme, M., Prati, M. C., Calderini, P., Gabrielli, S., & Cancrini, G. (2009). Endoparasites of red fox (*Vulpes vulpes*) in central Italy. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), 881–885.
- Manfredi, C., Lucherini, M., Canepuccia, A. D., & Casanave, E. B. (2004). Geographical variation in the diet of Geoffroy's cat (*Oncifelis geoffroyi*) in Pampas grassland of Argentina. *Journal of Mammalogy*, 85(6), 1111–1115.
- Manga González, M. Y. (2006). Trematodos. En M. C. del Campillo (Ed.), *Parasitología general* (pp. 79–104). McGraw-Hill Interamericana.
- Marcano, Y., Suárez, B., González, M., Gallego, L., Hernández, T., & Naranjo, M. (2013). Caracterización epidemiológica de parasitosis intestinales en la comunidad 18 de Mayo, Santa Rita, estado Aragua, Venezuela, 2012. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 53(2), 135–145.
- Martínez, F. A. (1986). Helmintofauna de los mamíferos silvestres: Trematodes. *Veterinaria Argentina*, 3(26), 544–547.
- Martorelli, S. R., Marcotegui, P. S., La Sala, L. F., & Montes, M. M. (2013). Larval digeneans in *Biomphalaria* snails from the Salto Grande Dam area in the Uruguay River. *Publicación del Laboratorio de Helmintos y Parásitos de Crustáceos del CEPAVE*, 13(1), 1-13.
- Maslennikova, O. V., & Strelnikov, D. P. (2024). Alariosis in Mustelidae in the Kirov Region. теория и практика борьбы с паразитарными болезнями, 262-267.
- McDonald, H. R., Kazacos, K. R., Schatz, H., & Johnson, R. N. (1994). Two cases of intraocular infection with *Alaria* mesocercaria. *American Journal of Ophthalmology*, 117(4), 447–455.
- Möhl, K., Große, K., Hamedy, A., Wüste, T., Kabelitz, P., & Lücker, E. (2009). Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to *Alaria* mesocercariae: A review. *Parasitology Research*, 105, 1–15.
- Montané Céspedes, I. A. (2014). Esquistosomiasis intestinal: Reporte de un caso. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 18(5), 913–919.
- Mora, L. M. O., & Vázquez, F. A. R. (2006). Relaciones parásito/hospedador. En M. del Campillo (Ed.), *Parasitología general* (pp. 39–48). McGraw-Hill Interamericana.
- Morgades, A., Castro, O., Capellino, D., Venzal, J., Casas, L., Katz, H., & Morafia, A. (2002). Avances en el estudio de la fauna parasitaria del lobo fino (*Arctocephalus australis*) y del león marino (*Otaria flavescens*) en Uruguay. *Actas de Parasitología Veterinaria*, 63–64.
- Murphy, T. M., O'Connell, J., Berzano, M., Dold, C., Keegan, J. D., McCann, A., & Holden, N. M. (2015). Prevalence and distribution of *Alaria alata* in foxes in Ireland. *Parasitology Research*, 111, 283–290.

- Naquira, C. (2010). Las zoonosis parasitarias: Problema de salud pública en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(4), 494–497.
- Noya, O., Katz, N., Pointier, J. P., Theron, A., & de Noya, B. A. (2015). Schistosomiasis in America. En *Neglected tropical diseases—Latin America and the Caribbean* (pp. 11–43).
- Núñez-García, R. M., & Meraz Hernando, J. (2009). Un vistazo al Reino Animalia desde la perspectiva estructural filogenética. *Ciencia y Mar*, 37, 57–68.
- Odening, K. (1963). Echinostomatoidea, Notocotylata und Cyclocoelida (Trematoda: Digenea: Redioinei) aus Vögeln des Berliner Tierparks. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 33(1), 37–60.
- Ozoliņa, Z., Bagrade, G., & Deksne, G. (2020). First confirmed case of *Alaria alata* mesocercaria in Eurasian lynx (*Lynx lynx*) hunted in Latvia. *Parasitology Research*, 119(2), 759–762.
- Ozoliņa, Z., Deksne, G., Pupins, M., Gravele, E., Gavarane, I., & Kirjusina, M. (2021). *Alaria alata* mesocercariae prevalence and predilection sites in amphibians in Latvia. *Parasitology Research*, 120, 145–152.
- Otachi, E. O., Locke, S. A., Jirsa, F., Fellner-Frank, C., & Marcogliese, D. J. (2015). Morphometric and molecular analyses of *Tylodelphys* sp. metacercariae (Digenea: Diplostomidae) from the vitreous humour of four fish species from Lake Naivasha, Kenya. *Journal of Helminthology*, 89(4), 404–414.
- Papazahariadou, M., Founta, A., Papadopoulos, E., Chliounakis, S., Antoniadou-Sotiriadou, K., & Theodorides, Y. (2007). Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. *Veterinary Parasitology*, 148(2), 170–173.
- Patrelle, C., Portier, J., Jouet, D., Delorme, D., & Ferte, H. (2015). Prevalence and intensity of *Alaria alata* (Goeze, 1792) in water frogs and brown frogs in natural conditions. *Parasitology Research*, 114, 4405–4412.
- Pearson, J. C. (1956). Studies on the life cycles and morphology of the larval stages of *Alaria arisaemoides* Augustine and Uribe, 1927 and *Alaria canis* LaRue and Fallis, 1936 (Trematoda: Diplostomidae). *Canadian Journal of Zoology*, 34(4), 295–387.
- Pearson, J. C., & Johnson, A. D. (1988). The taxonomic status of *Alaria marciana* (Trematoda: Diplostomidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 55(1), 102–103.
- Pérez-Arellano, J. L., Andrade, M. A., López-Abán, J., Carranza, C., & Muro, A. (2006). Helminths and respiratory apparatus. *Archivos de Bronconeumología*, 42(2), 81–91.
- Petrigh, R. S., Scioscia, N. P., Denegri, G. M., & Fugassa, M. H. (2015). Primera secuencia de ADN mitocondrial de *Alaria alata* procedente de zorro gris

- pampeano (*Lycalopex gymnocercus*) de Argentina. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*, 10(2), 74–76.
- Poole, B. C., Chadee, K., & Dick, T. A. (1983). Helminth parasites of pine marten, *Martes americana* (Turton), from Manitoba, Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 19(1), 10–13.
- Portier, J., Jouet, D., Ferté, H., Gibout, O., Heckmann, A., Boireau, P., & Vallée, I. (2011). New data in France on the trematode *Alaria alata* (Goeze, 1792) obtained during Trichinella inspections. *Parasite*, 18(3), 271–276.
- Queirolo, D., Kasper, C. B., & de Mello Beisiegel, B. (2013). Avaliação do risco de extinção do graxaim-do-campo *Lycalopex gymnocercus* (G. Fischer, 1814) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*, 3(1), 172–178.
- Quintela, F. M., Iob, G., & Artioli, L. G. (2014). Diet of *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae) in restinga and estuarine environments of southern Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 104, 143–149.
- Rajković-Janje, R., Marinculić, A., Bosnić, S., Benić, M., Vinković, B., & Mihaljević, Ž. (2002). Prevalence and seasonal distribution of helminth parasites in red foxes (*Vulpes vulpes*) from the Zagreb County (Croatia). *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 48(3), 151–160.
- Rentería-Solís, Z. M., Hamedy, A., Michler, F. U., Michler, B. A., Lücker, E., Stier, N., & Riehn, K. (2013). *Alaria alata* mesocercariae in raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *Parasitology Research*, 112, 3595–3600.
- Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Wüste, T., & Lücker, E. (2012). *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*, Linnaeus, 1758) in eastern Germany. *Parasitology Research*, 111(4), 1857–1861.
- Roberts, L. S., & Janovy, J. Jr. (2000). *Foundations of parasitology* (pp. xviii–670). McGraw-Hill.
- Rodríguez-Ponce, E., González, J. F., de Felipe, M. C., Hernández, J. N., & Raduan Jaber, J. (2016). Epidemiological survey of zoonotic helminths in feral cats in Gran Canaria Island (Macaronesian archipelago, Spain). *Acta Parasitologica*, 61(3), 443–450.
- Romero, H. Q. (1984). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Editorial Limusa.
- Ruas, J. L. (2007). *Caracterização da fauna parasitária do Pseudalopex gymnocercus (graxaim-do-campo) e do Cerdocyon thous (graxaim-do-mato) na região Sul do Rio Grande do Sul* (Tesis de doctorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Ruas, J. L., Muller, G., Farias, N. A. R., Gallina, T., Lucas, A. S., Pappen, G., & Brum, J. G. W. (2008). Helminths of Pampas fox *Pseudalopex gymnocercus* (Fischer, 1814) and of crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) in southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17, 87–92.

- Szczęсна, J., Popiołek, M., Schmidt, K., & Kowalczyk, R. (2008). Coprological study on helminth fauna in Eurasian lynx (*Lynx lynx*) from the Białowieża Primeval Forest in eastern Poland. *Journal of Parasitology*, 94(4), 981–984.
- Saeed, I., Maddox-Hyttel, C., Monrad, J., & Kapel, C. M. O. (2006). Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 139(1–3), 168–179.
- Salas, J. (1962). Schistosomiasis mansoni. *Acta Médica Costarricense*, 6(1), 41–53.
- Saari, S., Näreaho, A., & Nikander, S. (2018). *Canine parasites and parasitic diseases*. Academic Press.
- Segovia, J. M., Torres, J., Miquel, J., Llaneza, L., & Feliu, C. (2001). Helminths in the wolf (*Canis lupus*) from north-western Spain. *Journal of Helminthology*, 75(2), 183–192.
- Segovia, J. M., Torres, J., & Miquel, J. (2004). Helminth parasites of the red fox (*Vulpes vulpes* L., 1758) in the Iberian Peninsula: an ecological study. *Acta Parasitologica*, 49(1), 67–79.
- Sekerak, A. D. (1969). *Alaria taxideae* Swanson and Erickson 1946 in pine marten from central Alaska (Trematoda: Diplostomatidae). *Canadian Journal of Zoology*, 47(2), 266.
- Schmidt, G. D., & Roberts, L. S. (2000). Trematoda: Form, functions, and classifications of digeneans. En *Foundations of parasitology* (pp. 219–245). McGraw-Hill.
- Shimalov, V. V., & Shimalov, V. T. (2000). Helminth fauna of the wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, 86(2):163-164.
- Shoop, W. L., & Corkum, K. C. (1981). Epidemiology of *Alaria marcianae* mesocercariae in Louisiana. *Journal of Parasitology*, 67, 928–931.
- Shoop, W. L., & Corkum, K. C. (1987). Maternal transmission by *Alaria marcianae* (Trematoda) and the concept of amphiparatenesis. *Journal of Parasitology*, 73, 110–115.
- Shoop, W. L., Font, W. F., & Malatesta, P. F. (1990). Transmammary transmission of mesocercariae of *Alaria marcianae* (Trematoda) in experimentally infected primates. *Journal of Parasitology*, 76, 869–873.
- Silva, A. B., Gutiérrez, M. A., & García, J. (2017). Medicina de la conservación: anotaciones para su entendimiento y estudio en Oaxaca. *Ciencia y Mar*, 21(61), 49–55.
- Simões, S. B. E., Barbosa, H. S., & Santos, C. P. (2010). The life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) longa* (Digenea: Heterophyidae), a causative agent of fish-borne trematodosis. *Acta Tropica*, 113(3), 226–233.

- Soulsby, E. J. L. (1987). *Parasitología y enfermedades parasitarias* (7.^a ed.). Nueva Editorial Interamericana.
- Strokowska, N., Nowicki, M., Klich, D., Didkowska, A., Filip-Hutsch, K., Wiśniewski, J., ... & Anusz, K. (2021). A comparison of detection methods of *Alaria alata* mesocercariae in wild boar (*Sus scrofa*) meat. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 16, 1–4.
- Swanson, G., & Erickson, A. B. (1946). *Alaria taxideae* n. sp., from the badger and other mustelids. *The Journal of Parasitology*, 32(1), 17–19.
- Swift, J., & Poetry, O. (2009). Digeneans: Strigeiformes. En L. S. Roberts (Ed.), *Foundations of parasitology* (8.^a ed.). McGraw-Hill.
- Széll, Z., Tolnai, Z., & Sréter, T. (2013). Environmental determinants of the spatial distribution of *Alaria alata* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 198(1–2), 116–121.
- Szynwelski, B. E., Kretschmer, R., Matzenbacher, C. A., Ferrari, F., Alievi, M. M., & de Freitas, T. R. O. (2023). Hybridization in canids: A case study of Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) and domestic dog (*Canis lupus familiaris*) hybrid. *Animals*, 13(15), 2505.
- Tăbăran, F., Sándor, A. D., Marinov, M., Cătoi, C., & Mihalca, A. D. (2013). *Alaria alata* infection in European mink. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1547–1549.
- Tabaripour, S. R., Youssefi, M. R., & Hosseini, S. M. (2018). Endoparasites of jungle cats (*Felis chaus*) and their pathologic lesions. *Iranian Journal of Parasitology*, 13(3), 480–487.
- Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs, O. F. J. (1979). *Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico*. Janssen Research Foundation.
- Thornton, J. E., Bell, R. R., & Reardon, M. J. (1974). Internal parasites of coyotes in southern Texas. *Journal of Wildlife Diseases*, 10(3), 232–236.
- Tolosa, J., Chiaretta, A., & Lovera, H. (2006). *El parasitismo: una asociación interespecífica*. Editorial Río Cuarto, Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Tongu, Y. (2001). The species of *Paragonimus* in Latin America. *Boletín del Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad de Okayama*, 12(1), 1–5.
- Travassos, L., Freitas, J. T. D., & Kohn, A. (1969). *Trematódeos do Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 67(1), 1-886.
- Uhrig, E. J., Spagnoli, S. T., Tkach, V. V., Kent, M. L., & Mason, R. T. (2015). *Alaria* mesocercariae in the tails of red-sided garter snakes: Evidence for parasite-mediated caudectomy. *Parasitology Research*, 114, 4451–4461.
- Umur, Ş. (1998). A case of *Alaria alata* in a dog. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22(1), 89–92.

- Valledor, S., Castro, O., Décia, L., Eguren, J., Pérez, V., Haran, G., & Cabrera, P. (2006). Relevamiento de helmintos intestinales en perros urbanos de Montevideo y Florida, y perros rurales del departamento de Florida. *Veterinaria (Montevideo)*, 41(163–164), 43–49.
- Venturelli, A., Monje, M., Assef, V., & Venturelli, F. (2003). Fasciolosis hepática. *Cuadernos de Cirugía*, 17(1), 43–46.
- Vergles Rataj, A., Posedi, J., Žele, D., & Vengušt, G. (2013). Intestinal parasites of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Slovenia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61(4), 454–462.
- Vieira, F. M., Luque, J. L., & Muniz-Pereira, L. C. (2008). Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa*, 1721(1), 1–23.
- Voelkel, A. C., Dolle, S., Koethe, M., Haas, J., Makrutzki, G., Birka, S., & Hamedy, A. (2019). Distribution of *Alaria* spp. mesocercariae in waterfrogs. *Parasitology Research*, 118, 673–676.
- Wasiluk, A. (2013). *Alaria alata* infection: Threatening yet rarely detected trematodiasis. *Journal of Laboratory Diagnostics*, 49, 33–37.
- Wilson, J. J., Rougerie, R., Schonfeld, J., Janzen, D. H., Hallwachs, W., Hajibabaei, M., ... & Hebert, P. D. (2011). When species matches are unavailable, are DNA barcodes correctly assigned to higher taxa? An assessment using sphingid moths. *BMC Ecology*, 11(1), 18.
- Wrublewski, D. M., Kusma, S. C., & Teixeira, V. N. (2018). Parasitos gastrointestinais em *Puma concolor*, *Puma yagouaroundi* e *Leopardus pardalis* (Carnivora: Felidae) na Floresta Nacional de Três Barras, SC, Brasil. *Revista da Academia de Ciência Animal*, 16, 1–8.