

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

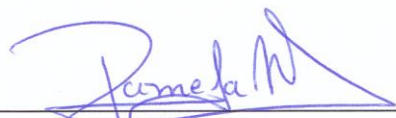
**DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS
GASTROINTESTINALES, ECTOPARÁSITOS Y *Trichinella* sp. EN VISÓN
AMERICANO (*Neovison vison*) CAPTURADOS EN EL AÑO 2016, REGIÓN DE
LOS RÍOS, CHILE**

Memoria de Título como parte de los
requisitos para optar al TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO

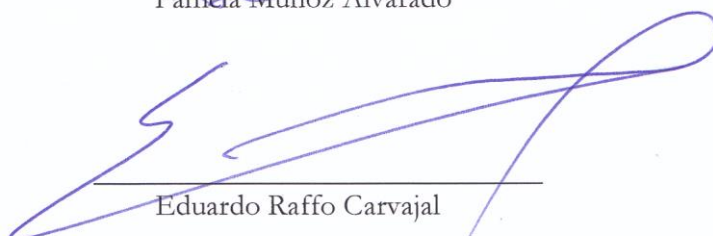
CAMILA PAZ ORTIZ MARTÍNEZ
VALDIVIA – CHILE

2017

PROFESORA PATROCINANTE


Pamela Muñoz Alvarado

PROFESOR COPATROCINANTE


Eduardo Raffo Carvajal

PROFESORES INFORMANTES


María José Navarrete Talloni
P.P. Marcelo Gómez Jaramillo

FECHA DE APROBACIÓN: 07 de Julio del 2017

A mis padres.

ÍNDICE

Capítulos	Páginas
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5. RESULTADOS.....	11
6. DISCUSIÓN.....	17
7. REFERENCIAS.....	22
8. ANEXOS.....	24

1. RESUMEN

El estudio de las parasitosis en vida silvestre es de importancia, ya que puede presentarse el proceso de Spillback o Spillover, junto con el riesgo de los posibles agentes zoonóticos que puedan transmitir los animales silvestres, ya sean nativo o invasores. En Chile, existen cuatro especies de mustélidos nativos, el huillín, el chungungo, el huroncito patagónico y el quique, además de una especie invasora, el visón americano (*Neovison vison*). Este último, originario de Norteamérica, fue introducido al país por la industria peletera en Magallanes, propagándose su población y llegando a observarse en la región de Los Ríos y Araucanía, convirtiéndose en una especie dañina, generando problemas en la agricultura familiar campesina y fauna silvestre. Por esto se crearon programas de control poblacional de la especie, además de investigaciones en cuanto a su estado sanitario, ya que existe escasa información sobre los agentes infecciosos que podrían eliminar al medio ambiente. Debido a lo anterior, es que se planteó como objetivo determinar e identificar los parásitos gastrointestinales de *N. vison*, estableciendo prevalencia (*P*), intensidad de infección (*I*) e intensidad media (I_M), además de detectar e identificar ectoparásitos presentes y pesquisar quistes de *Trichinella* sp. en visones americanos de la región de Los Ríos, capturados durante el año 2016.

A través de realización de necropsias, se recolectaron y analizaron 50 tractos gastrointestinales para la determinación de endoparásitos, además de 52 muestras de diafragma y cuádriceps para la pesquisa de *Trichinella* sp. Para la búsqueda de endoparásitos se analizó el contenido y mucosa intestinal, aislando, cuantificando e identificando los vermes encontrados, junto con la realización de triquinoscopía en el caso de quistes de *Trichinella* sp. Para la detección de ectoparásitos, se examinó el pelaje de todos los ejemplares al momento de la necropsia, aislando y clasificando todos los artrópodos encontrados.

Como resultados, se determinó la presencia de trematodos del género *Maritrema* en 60% (30 visones) de los tractos gastrointestinales muestreados con un total de 17.063 vermes, con una intensidad media de 569 parásitos/visón infectado, intensidad de infección de 3.632 trematodos en el individuo más parasitado y rango de infección de 3-3.632 parásitos. A través de morfometría los trematodos se identificaron como *Maritrema patagonica* (n= 100) y *Maritrema buillini* (n= 157). Se determinó la presencia de ectoparásitos (Orden Siphonaptera) en 3 ejemplares con un total de 10 artrópodos analizados, todos identificados como *Nosopsyllus fasciatus* o pulga de la rata del norte. De las muestras observadas por triquinoscopía, se determinó la ausencia de quistes de *Trichinella* sp. para el 100% de los visones analizados. En conclusión, se identificó *M. buillini* y *M. patagonica*, junto con *N. fasciatus* en visones americanos muestreados de la región de Los Ríos, además de la ausencia de quistes de *Trichinella* sp. en los mismos. Por lo tanto el presente estudio, es el segundo en determinar el género *Maritrema* en *N. vison*, y el primero en identificar morfométricamente a *M. buillini*, *M. patagonica* y *N. fasciatus* en visones americanos del país.

Palabras clave: Visón, *Maritrema buillini*, *Maritrema patagonica*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Trichinella*.

2. SUMMARY

DETERMINATION AND IDENTIFICATION OF GASTROINTESTINAL PARASITES, ECTOPARASITES AND *Trichinella* sp. IN MINK (*Neovison vison*) CAPTURED IN 2016, REGIÓN DE LOS RÍOS, CHILE

The study of Wildlife parasites is a process of great importance because spillback or spillover processes may occur, alongside with the risk of transmission of potentially zoonotic agents from these individuals (native or invasive species), to other un-infected populations. In Chile there are four native mustelid species, the southern river otter, marine otter, patagonian weasel and lesser grison, as well as an invasive species, the american mink (*Neovison vison*). The latter, originally from North America, was introduced to establish a fur industry in Magallanes. After that, the captive individuals were released and the population was spread, reaching the región de Los Ríos and Araucanía, thus becoming a harmful species generating problems to the small farming and wildlife. Because of this, population control programs were established, as well as health status research, due to how little is known regarding the infective agents they could be carrying. The aim of this study was to determine and identify *N. vison* gastrointestinal parasites, establishing the prevalence (P), infection intensity (I) and mean intensity (I_M), as well as ectoparasites and *Trichinella* sp. cysts research on mink individuals captured in “Los Ríos” region during 2016.

By means of necropsy, 50 gastrointestinal tracts were collected and analyzed for the endoparasites determination. 52 diaphragms and quadriceps samples were also analyzed for *Trichinella* sp. research. In order to find endoparasites, the intestinal content and intestinal mucosa were analyzed, isolating, quantifying and identifying the worms found. Trichinoscopy procedure was performed for the *Trichinella* sp. cysts. On the other hand, in the case of the ectoparasites detection, the fur of all minks individuals was examined at necropsy, found individuals were isolated, fixed and classified. As results, the presence of trematodes of *Maritrema* genus was found in 60% (30 minks) of the sampled gastrointestinal tracts with total 17.063 worms; with a mean intensity of 569 parasites/infected mink, infection intensity of 3.632 trematodes on the most parasitized individual and infection range of 3-3.632 parasites. Through a morphometric analysis the trematodes were identified as *M. patagonica* (n= 100) and *M. buillini* (n= 157). Moreover, in three *N. vison* samples the presence of ectoparasites (Siphonaptera) was found. From a total of 10 analyzed arthropods, all were identified as *Nosopsyllus fasciatus* (Northern Rat Flea). In the case of samples analyzed by trichinoscopy, the absence of *Trichinella* sp. cysts was established for the 100% of the analyzed minks. In conclusion, *M. buillini*, *M. patagonica*, and *N. fasciatus* were identified on the american minks collected from the “Los Rios” region, and no *Trichinella* sp cysts were detected on the same individuals. Therefore, this study is the second one to find the *Maritrema* genus in *N. vison*, and the first one in identify of *M. buillini*, *M. patagonica* and *N. fasciatus* with morphometric techniques in the american mink.

Keywords: American mink, *Maritrema buillini*, *Maritrema patagonica*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Trichinella*.

3. INTRODUCCIÓN

Es de importancia el estudio de la fauna parasitaria en animales silvestres, ya que un animal introducido puede adaptarse a la especie parasitaria propia de un animal nativo, infectándose de igual o mayor manera, pudiendo mantener el parásito en el ambiente y diseminarlo a la especie nativa, aumentando su carga parasitaria, o viceversa (Spillback/Spillover) (Flores y Brugni 2013). Además, si el agente infeccioso es de carácter zoonótico, es de vital importancia estudiar y conocer el comportamiento tanto de la especie hospedera como del parásito, ya que existe la posibilidad de que el humano genere un contacto directo o indirecto con el animal, pudiendo afectarse por el mismo.

3.1. FAMILIA Mustelidae

Los integrantes de la Familia Mustelidae (Clase Mammalia) son carnívoros de talla pequeña (30 cm) a mediana (1,5 m) y su peso corporal varía desde 40 gr hasta 45 kg. En Chile existen 4 especies de mustélidos nativos: las nutrias de hábitos diurnos como el chungungo (*Lontra felina*) (Anexo 1) y el huillín (*Lontra provocax*) (Anexo 2), y hurones de hábitos nocturnos como el huroncito patagónico (*Lyncodon patagonicus*) (Anexo 3) y el quique (*Galictis cuja*) (Anexo 4); a éstos se suma el visón americano (hurón) (Anexo 5) como especie introducida (Quintana y col 2009).

En cuanto a las nutrias nativas, el chungungo se distribuye desde Perú hasta Magallanes, se asocia a estuarios y roqueros destacando su presencia en bancos de algas. El huillín se ubica en el sur de Argentina y Chile, desde la región de la Araucanía hasta Magallanes, habita ríos, lagos y estuarios, con presencia de restos de troncos y raíces (Iriarte y Jaksic 2012). El quique se distribuye ampliamente en sudamérica observándose en Chile desde la región de Arica y Parinacota hasta Aysén, en zonas rocosas y con cursos de agua, por lo que habita más comúnmente ambientes cordilleranos que costeros. El huroncito patagónico a diferencia del quique sólo está presente en Chile y Argentina, limitándose a la zona sur austral. La dieta de estos mustélidos es muy similar, siendo todos carnívoros (Quintana y col 2009 e Iriarte y Jaksic 2012). Según el reglamento de clasificación de especies en Chile (RCE¹), el huillín se considera como Especie en Peligro en las regiones de Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, como Vulnerable en Aysén y Magallanes, siendo prohibida su caza por la Ley 19.473 (SAG 2015). Las principales razones por la cual se mantiene con problemas de conservación son: la falta de conocimiento de la población en cuanto a la especie (confundiéndola físicamente con *N. vison*), la destrucción de su hábitat por parte de los asentamientos humanos, y en los últimos años se asocia fuertemente con la propagación del visón americano en su hábitat, principalmente por la competencia que ejercen a la hora de alimentarse (Iriarte y Jaksic 2012). Situación similar tienen los demás integrantes de la familia, catalogando al quique en estado Vulnerable y al chungungo en Situación de Peligro; en el caso del Huroncito patagónico se define como Raro o de Preocupación menor.

¹ Reglamento de Clasificación de especies. Ministerio del Medio Ambiente. Decreto supremo n° 29, año 2013.

3.2. VISÓN AMERICANO (*Neovison vison*)

El visón americano es un mamífero semiacuático de tamaño pequeño (35 a 70 cm de longitud), con cuerpo alargado y extremidades relativamente cortas. Pelaje pardo oscuro a negro con parche característico de color blanco en el mentón. Se clasifica como una Especie Dañina sin restricciones de caza (Ley 19.473) (SAG 2015). Es un animal de hábitos nocturnos, territorial, rápido y ágil. Posee una alta capacidad reproductiva, apareándose entre invierno y primavera, pariendo entre 2 a 10 crías, con un promedio de 5 a 6 crías por camada. Los juveniles cazan desde los 5 meses de edad y alcanzan su madurez reproductiva a los 10 meses (Iriarte y Jaksic 2012). Es originario de Norteamérica, llegando a Chile por empresas peleteras ubicadas principalmente en Punta Arenas, ingresando una cantidad desconocida de ejemplares. En la región de Aysén, las primeras importaciones ocurrieron en el año 1967 desde Argentina, ingresando más de 1000 visones en la región. Al terminar la productividad de las empresas tanto en Punta Arenas como Aysén, llevaron a cabo diferentes acciones para finalizar el negocio, donde algunos escaparon y una cantidad no menor de ejemplares fueron liberados, encontrándose con un hábitat similar a su lugar de origen, estableciéndose sin problemas lo que contribuyó a su rápida expansión (Medina 1997). Desde ese momento la población se ha ido propagando hacia diferentes sectores del sur del país, inclusive llegando a la región de Los Ríos y Araucanía, convirtiéndose en especie dañina, generando una serie de problemas medioambientales y ganaderos, para lo cual se han creado programas de control poblacional para esta especie².

Los visones son generalistas y oportunistas, se alimentan de peces, invertebrados, aves (silvestres y domésticas), anfibios y pequeños mamíferos (roedores); por lo que se consideran dañinos por los agricultores, ya que generan un efecto económico negativo y localizado en la agricultura familiar campesina, siendo el principal depredador de aves de corral como gallinas. En cuanto a la fauna silvestre, *N. vison* se considera como el responsable de la disminución de ejemplares de huillín y coipo (*Myocastor coypus*) en territorio argentino y chileno, desplazando al huillín de su hábitat y depredando a las crías de coipo (Iriarte y Jaksic 2012). Medina (1997) realizó un estudio sobre la dieta del huillín y visones que habitan en la ribera de cursos de agua de la región de Los Ríos y Los Lagos, indicando que el primero se alimenta de crustáceos (79%) específicamente *Samastacus spinifrons* y *Aegla* sp., seguido por peces en un 19%. En cuanto al visón, también se destacó su consumo de crustáceos (48%) de las mismas especies antes mencionadas, además de pequeños mamíferos como roedores (40%) y peces con un 8%. El visón siendo oportunista y generalista atrapa animales de todo tipo (mamíferos, aves, peces y crustáceos) vulnerables y fáciles de cazar, a diferencia del huillín que se considera selectivo en cuanto a sus presas, prefiriendo peces y otras especies acuáticas como caracoles y moluscos de más difícil acceso (Medina 1997).

En Chile, la presencia del visón ha sido complicada de controlar, en el caso de la región de Aysén el control fue difícil debido, a la biología y comportamiento del visón así como a la geografía de esta zona. Se sugirió la introducción de algún agente patógeno que pudiese afectar negativamente a *N. vison*, pero no fue viable ya que los visones pertenecen al mismo orden de los félidos y cánidos (Carnívora), generando posiblemente un impacto negativo en la fauna nativa (puma, zorros y huillín) producto de la coexistencia de éstos en el territorio. Otro de los controles

² Comunicación personal. Eduardo Raffo M.V. Coordinador Regional de Fauna Silvestre, of. RENARE, SAG, Región de Los Ríos.

experimentales que se realizaron en la zona fue la utilización de la piel, la cual se orientó en la búsqueda de alternativas de uso mediante el aprovechamiento de ésta para confeccionar artículos artesanales no obteniendo resultados esperados. Un método implementado de forma experimental fue el manejo reproductivo de *N. vison* en la región de Aysén, específicamente para evitar su repoblamiento. Las acciones consistieron en la captura y eliminación de hembras, y de machos a los que se les practicó la vasectomía y posteriormente se les liberó. Los objetivos fueron eliminar el potencial depredador de las hembras y sus crías, y que los machos defiendan sus territorios, manteniendo actividad sexual pero sin procrear. Este proyecto no obtuvo resultados positivos, por lo que las autoridades decidieron cancelarlo (Cerde 2008).

Actualmente la región de Los Ríos es la única que está implementando iniciativas de control gubernamental sobre este depredador, llevando a cabo un Fondo Nacional de Desarrollo Regional (FNDR) dirigido por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) con una duración de 3 años, el cual consta de la captura de visones a través del uso de trampas tipo Tomahawk (autocaptura no traumática) con un atrayente en el fondo de la trampa. Éstas se entregan a los usuarios que hayan denunciado un ataque de visón hacia sus animales, instalando y revisando la trampa a diario, dando aviso al SAG en caso de observar un visón capturado, para proceder a la eutanasia de los mismos. Este proyecto es financiado por el gobierno regional, y se les ofrece una recompensa a los usuarios, para incentivar la revisión de las trampas de forma periódica, evitando los sacrificios irregulares por parte de la misma población. El objetivo de esto es controlar la población de visones en la región, capturando la mayor cantidad de ejemplares posibles. Otra alternativa es la caza de los mismos, la cual sólo es autorizada a través de la presentación del permiso de caza, que se obtiene luego de aprobar un examen de conocimiento sobre la Ley de caza chilena (Ley 19.473). Investigadores de la Universidad Austral de Chile (UACH), junto a profesionales del SAG analizan los individuos capturados con el objetivo de investigar sobre posibles agentes infecciosos que esta especie introducida pueda liberar al medio ambiente³.

3.3. ANTECEDENTES PARASITARIOS EN MUSTÉLIDOS

Son numerosos los estudios que tratan sobre la ecología parasitaria de los mustélidos alrededor del mundo, sobretodo en Europa y América. En relación a los ectoparásitos, Polechla (1996) realizó un estudio en 24 nutrias (*Lutra canadensis*) del río Arkansas, EE.UU, de las cuales 5 se encontraron con infestaciones por garrapatas. De un total de 10 de garrapatas, sólo 2 especies fueron identificadas: *Amblyomma americanum* (6 representantes) e *Ixodes cookei* con 2 especímenes, mientras que 2 ejemplares de garrapatas sólo fueron identificadas como Ixodidae.

Con respecto a los endoparásitos protozoarios, un estudio realizado en España por Sobrino y col (2007), determinó la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en muestras de suero de carnívoros silvestres (incluido mustélidos), realizando pruebas serológicas contra este parásito, en 70,3% (26/37) en tejones eurasiáticos (*Meles meles*), 85% (17/20) en garduñas (*Martes foina*), 100% (4/4) en martas (*Martes martes*), 100% (6/6) en nutrias (*Lutra lutra*), 100% (4/4) en turones (*Mustela putorius*) y 100% (1/1) en hurón (*Mustela putorius furo*). Estos resultados serológicos indicarían una

³ Comunicación personal. Eduardo Raffo M.V. Coordinador Regional de Fauna Silvestre, of. RENARE, SAG, Región de Los Ríos.

alta exposición de estos mustélidos a *T. gondii*. En España se realizó un estudio parasitológico en 102 ejemplares de Marta (*Martes martes*), de los cuales un 74,5% presentó parásitos correspondientes a helmintos, donde un 0,98% eran trematodos, 5,88% cestodos, 72,5% nematodos y 2,9% acantocéfalos. De los trematodos sólo se identificó a *Euryhelms squamula*, en cuanto a cestodos a *Taenia martis* y en relación a nematodos, se identificaron las especies *Pearsonema plica*, *Eucolens aerophilus*, *Aonchotheca putorii*, *Uncinaria criniformis*, *Molineus patens*, *Crenosoma petroni*, *Filaroides martis*, *Baylisascaris columnaris*, *Spirocerc lupi*, *Mastophorus muris*, *Spirura rytipleurites seurati*, *Physaloptera sibirica* y *Trichinella* sp. y como acantocéfalos a *Centrorhynchus aluconis*. Más de un tercio de los helmintos encontrados (35,3%) eran parásitos específicos de mustélidos, mientras que el resto fueron especies generalistas. La mayoría de los helmintos fueron extraídos del tracto digestivo, a pesar de que los 3 más abundantes (*P. plica*, *E. aerophilus* y *A. putorii*) fueron obtenidos desde riñón, sistema respiratorio y estómago, respectivamente (Segovia y col 2007).

En Sudamérica, Flores y col (2012) describieron la presencia de un tipo de helminto en 20 especímenes de huillín en el parque nacional Nahuel Huapi de la patagonia argentina. Dichos parásitos se pesquisaron desde la porción craneal del intestino, siendo identificados como *Maritrema huillini*, basado en las características morfológicas presentes. *M. huillini* es la primera especie de su género en Sudamérica y también es el primer digeneo (trematodo) registrado en *L. provocax* en el territorio.

3.4. ANTECEDENTES PARASITARIOS EN *Neovison vison*

En *N. vison* se han publicado casos tanto de parásitos internos como externos, siendo la mayoría de Norteamérica y Europa. En Alemania se realizó una investigación sobre visones, capturando 121 ejemplares, donde 55 fueron positivos a la infestación con garrapatas, identificándose cuatro especies del género *Ixodes*: *I. hexagonus*, *I. rugicollis*, *I. canisuga* e *I. ricinus*; siendo más prevalente la especie *I. hexagonus* (43,8%) (Christian 2010).

En cuanto a protozoos, en España, Gómez-Couso y col (2007) llevaron a cabo el primer reporte de *Cryptosporidium parvum* en *N. vison*. Se analizaron 51 muestras fecales, donde 33 provenían de visones de criadero (peletería) y 18 de visones silvestres. Se pesquisó *C. parvum* genotipo Ferret en 8 muestras (6,4%), identificándose a través de dos técnicas: IFAT (Direct immunofluorescence antibody test) y posteriormente PCR-RFLP. Es de gran importancia la identificación de *C. parvum* en visones, ya que su transmisión es rápida y sus ooquistes se diseminan a través de cursos de agua, los que podrían llegar a afectar el estado de salud de los animales que cohabitan con *N. vison* (domésticos y silvestres), además de su carácter zoonótico e implicancia en la salud pública que aún está en constante estudio. Este hallazgo destaca una vez más, la amplia gama de hospederos o individuos susceptibles que tiene este protozoo. Otro agente protozoario pesquisado en *N. vison*, ha sido *T. gondii* en Michigan (Estados Unidos), donde se encontró un individuo con signología concordante con toxoplasmosis, lo que fue corroborado posteriormente con histología, inmunohistoquímica y PCR de las muestras extraídas de retina y tejido cerebral (Jones y col 2006).

Dentro del Phylum Nematyhelminthes, Hurníková y col (2016) reportaron la presencia de especies de *Trichinella* sp. en visones americanos en estado libre en Polonia, obteniendo el parásito desde muestras de músculo diafragmático y de las extremidades posteriores mediante la técnica de

digestión artificial y PCR. En los resultados se determinó la infección con quistes musculares de *Trichinella* spp. en 27 visones de un total de 812 capturados, siendo positivos 19 de ellos a las especies *T. britovi*, *T. spiralis* y *T. pseudospiralis*. En cuanto a su ciclo biológico, es primordial el comportamiento carnívoro o caníbal del hospedero, ya que su estadio infectante (L1) es adquirido por la ingesta de músculos estriados; las nuevas generaciones de L1 posteriormente se enquistan en los músculos más oxigenados del animal (diafragma, maséter, lingual, cuádriceps) hasta ser consumidos por otro potencial hospedero. Los resultados del estudio polaco indicaron que *N. vison* está involucrado en el ciclo silvestre de *Trichinella* sp., y la colonización efectiva de nuevos territorios por parte del visón, puede ser un factor relevante en la presencia de este nematodo en vida silvestre, siendo de importancia por su carácter zoonótico, pudiendo relacionarse con animales partícipes del ciclo doméstico, como roedores.

Con respecto al Phylum Platyhelminthes, Sherrard-Smith y Chadwick (2015) estudiaron el comportamiento del visón americano en Gran Bretaña, como hospedero del trematodo digeneo *Pseudamphistomum truncatum*, el cual es un parásito generalista con un potencial de infección a todos los vertebrados piscívoros. De un total de 21 ejemplares de visón, se detectaron 7 positivos a *P. truncatum* (33%), y su intensidad de infección fue alta, correspondiendo a 253 parásitos por hospedero infectado. En Argentina, se estudiaron 4 ejemplares de visón americano del parque nacional Nahuel Huapi, en cuyos intestinos delgados se determinó la presencia de *Maritrema buillini*, trematodo digeneo que había sido descrito sólo una vez en la misma zona, pero en *L. provocax* (Flores y col 2012). Este parásito fue aislado y montado para su identificación morfológica, y comparado con lo descrito en huillín, corroborando su identidad a través morfometría. Todos los visones analizados presentaron infecciones en la porción craneal del intestino delgado, con una intensidad de infección de 20-864 parásitos (Flores y Brugni 2013).

Si se considera que el visón americano es una especie introducida en la zona sur de Argentina, que mantiene poblaciones grávidas de *M. buillini* y que la densidad poblacional de éste es mayor que la de la nutria nativa, se podría decir que las especies introducidas pueden funcionar como hospederos alternativos a parásitos de ejemplares endémicos, pudiendo quizás amplificar la infección de los hospedadores nativos; por lo que se infiere que el visón americano podría sostener el ciclo de vida de *M. buillini* en la zona, facilitando la adquisición de este parásito en el huillín pudiendo amplificar la abundancia parasitaria en esta especie (Flores y Brugni 2013).

3.5. ANTECEDENTES PARASITARIOS DE *N. vison* EN CHILE

En Chile, Sepúlveda y col (2011) realizaron un estudio sobre 30 visones americanos del río Maullín (región de Los Lagos) para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*. Utilizando un test serológico comercial, se determinó la presencia de 21 ejemplares (70%) seropositivos a anticuerpos de *T. gondii*, presentando un rango de títulos de 1:32 a 1:2048. Con respecto a endoparásitos en la región de Los Ríos, existe sólo un estudio que trata sobre la fauna parasitaria de *N. vison*, en el cual se realizaron necropsias para analizar los tractos gastrointestinales de 29 visones, junto con triquinoscopías, utilizando músculo diafragmático para la detección de *Trichinella*. Como resultado se determinó la presencia de trematodos digeneos identificados como *Maritrema* sp. en 23 visones americanos (79%), junto con la ausencia de quistes de *Trichinella* sp. en el total de individuos analizados (Mayorga 2017).

Los estudios parasitarios revisados a nivel mundial, sugieren el riesgo que puede significar la presencia de este mustélido introducido, tanto para la fauna silvestre como para los animales domésticos, junto con su impacto en salud pública por el riesgo de transmisión de patógenos al ser humano. Por lo tanto es necesario conocer los potenciales agentes infecciosos que pueda hospedar *N. vison*, tanto como reservorio o como diseminador de enfermedades parasitarias.

3.6. OBJETIVOS

3.6.1. Objetivo general

- Determinar e identificar parásitos gastrointestinales, ectoparásitos y quistes de *Trichinella* sp. en visón americano (*Neovison vison*) capturados dentro de un programa de control oficial durante el año 2016 en la Región de los Ríos, Chile.

3.6.2. Objetivos específicos

- Determinar e identificar morfométricamente los endoparásitos presentes en contenido gastrointestinal de *Neovison vison*.
- Establecer parámetros de intensidad de infección (I), intensidad media (I_M) y prevalencia (P) para cada especie endoparasitaria presente en *Neovison vison*.
- Determinar e identificar los ectoparásitos presentes en *Neovison vison*.
- Determinar la presencia de quistes de *Trichinella* sp. en músculo diafragmático y cuádriceps mediante la técnica de triquinoscopía en *Neovison vison*.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Para realizar este estudio se utilizaron visones provistos por el SAG por medio del programa FNDR, cuyo propósito es el control de éste carnívoro invasor. Los individuos fueron capturados y eutanasiados (dentro de 24 hrs post captura) por personal capacitado del SAG a través de neuroleptoanalgesia bajo condiciones de bioética y bienestar animal⁴ para luego proceder a la necropsia. Se utilizaron tractos gastrointestinales (TGI) completo de visones, desde estómago a intestino grueso (sin glándulas anexas), además de diafragma y músculo cuádriceps, realizándose la inspección de piel y pelaje para recolección de ectoparásitos. El periodo de recepción comprendió desde enero a diciembre del año 2016, obteniendo 102 visones, donde 50 se utilizaron para extraer TGI, y 52 para pesquisa de *Trichinella* sp. Todos provenían de la provincia del Ranco y Valdivia, región de Los Ríos, desde zonas urbanas y rurales (Anexo 6). Los TGI ligados se guardaron en envases rotulados con los datos del animal (N° SAG, procedencia, sexo, edad y fecha de eutanasia), fijándolos con formalina al 10%. De la misma forma, diafragma y cuádriceps se envasaron en tubos falcon (50 ml) para su examinación inmediata. Los ectoparásitos se almacenaron en tubos eppendorf (1,5 ml) con alcohol al 70%. Todos fueron llevados al Laboratorio de Parasitología Veterinaria del Instituto de Patología Animal de la UACH para su estudio.

4.2. MÉTODOS PARA PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

4.2.1. Determinación e identificación morfométrica de parásitos gastrointestinales

4.2.1.1. Necropsia parasitaria. Los TGI se colocaron sobre una bandeja metálica y se ligaron por segmentos para su manipulación, separándolos en estómago, duodeno, yeyuno craneal, yeyuno medio, yeyuno caudal e intestino grueso (colon). Utilizando alcohol 70%, el contenido de cada uno fue vaciado en placas Petri, para luego cortar con tijera punta roma-aguda y abrirlo en forma longitudinal procediendo a la inspección directa bajo lupa esteroscópica (2,5x), revisando con un asa metálica las vellosidades intestinales. El contenido vaciado en la placa Petri se inspeccionó bajo lupa (2,5x), al igual que el material sospechoso de la mucosa o vellosidades intestinales. Para cada segmento se aislaron los helmintos con una pipeta, cuantificándolos y conservándolos en tubos eppendorf (1,5 ml) con alcohol 70% para llevar a cabo su identificación.

4.2.1.2. Tinción, medición y captura de imágenes de endoparásitos. Se tomaron parásitos de visones escogidos al azar y fueron sometidos a un proceso de deshidratación con alcohol en gradiente de concentración ascendente (10%, 20%, 40%, 60% y 70%), durante 30 minutos en cada uno. Luego fueron sometidos a la tinción carmín acética de Semichón (TCAS) por una

⁴ *Comunicación personal.* Eduardo Raffo M.V. Coordinador Regional de Fauna Silvestre, of. RENARE, SAG, Región de Los Ríos.

semana (revisando el proceso día por medio) para ser decolorados con alcohol ácido por 10 minutos, seguido de alcohol alcalino durante otros 20 minutos deteniendo el proceso de decoloración. Terminando la fase de decoloración, se continuó el proceso de deshidratación depositando los parásitos en alcohol 80% y 90% por dos horas cada uno, y en alcohol absoluto por una semana, terminando con una mezcla de alcohol absoluto y salicilato de metilo (proporción 1:1) por 12 horas. Finalizado el proceso de tinción, los parásitos fueron montados sobre un portaobjeto con bálsamo de Canadá más Xilol, en una proporción 1:1, cubriéndolo cuidadosamente con un cubreobjetos para su protección. El análisis morfométrico y captura de imágenes de cada parásito, se realizó a través del uso de un microscopio óptico digital con cámara. La medición se llevó a cabo con el software ScopeImage 9.0 utilizando los objetivos 10x y 40x. Para cada caso se determinaron características morfométricas como: largo y ancho total del cuerpo, largo del esófago, largo de ventosa oral y ventral, largo y ancho de testículos, largo y ancho de ovarios, largo del saco del cirro y largo de ciegos intestinales. Las medidas fueron registradas en una planilla Excel, calculando promedio y desviación estándar de cada uno de los órganos observados. La conformación de los órganos internos, como las medidas de los mismos fueron comparados con las claves taxonómicas de McDonald (1981) y Deblock (2008) para cada ejemplar identificado.

4.2.1.3. Análisis de datos para endoparásitos. Los valores estadísticos fueron descritos según lo reportado por Bush y col (1997), determinando prevalencia (P), intensidad de infección (I) e intensidad media (I_M).

$$P = \frac{\text{Nº Hospederos infectados}}{\text{Nº Hospederos examinados}} \quad I = \frac{\text{Nº Individuos parásitos en un hospedero}}{\text{Nº Hospederos infectados}} \quad I_M = \frac{\text{Nº Total parásitos}}{\text{Nº Hospederos infectados}}$$

Los valores fueron tabulados en una planilla Excel y comparados taxonómicamente con lo expuesto por Flores y col (2012), Flores y Brugni (2013), Rauque y col (2013) y Mayorga (2017).

4.2.2. Determinación, identificación y captura de imágenes de ectoparásitos

Los ectoparásitos encontrados y aislados, fueron depositados en una placa petri y, posteriormente embebidos en hidróxido de potasio (KOH) al 20% por 4 horas para poder transparentar su exoesqueleto. Una vez terminado este proceso, se montaron con bálsamo Canadá más Xilol (1:1), sobre un portaobjetos y protegidos con un cubreobjetos. Su análisis y captura de imágenes se realizó de la misma forma que en el punto 4.2.1.3 con objetivos 4x, 10x y 40x y fueron analizados morfológicamente e identificados según las claves taxonómicas de Pratt (1966).

4.2.3. Determinación de quistes de *Trichinella* sp.

Para determinar la presencia de quistes de *Trichinella* sp., el músculo diafragmático y cuádriceps de cada individuo, fueron inmediatamente analizados con el método de triquinoscopía descrito por Mayorga (2017), extrayendo con una tijera roma-aguda un promedio de 10 cortes (del tamaño de un grano de arroz o 5-7 mm) de diferentes zonas del músculo diafragmático y de igual forma del músculo cuádriceps. Las muestras se comprimieron con dos placas para triquinoscopía y se observaron bajo microscopía óptica con objetivos de 4x y 10x, catalogando como positiva aquella muestra con al menos un quiste de *Trichinella* sp.

5. RESULTADOS

5.1. PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN *N. vison*

Se examinaron un total de 50 visones, donde 18 eran hembras, 32 eran machos, de los cuales un 60% (30 visones) resultaron positivos a la presencia de parásitos Clase Trematoda. Todos fueron encontrados a nivel intestinal en cada uno de sus segmentos (duodeno, yeyuno craneal, yeyuno medio, yeyuno caudal e intestino grueso); en cuanto al estómago, no se detectaron vermes en la totalidad de los visones analizados. Se aisló un total de 17.063 trematodos, siendo el yeyuno craneal la porción más parasitada, albergando al 59% (10.122) del total de parásitos pesquisados (Anexo 7). Todos los vermes fueron encontrados entre las vellosidades intestinales o en la superficie del epitelio (Figura 1).

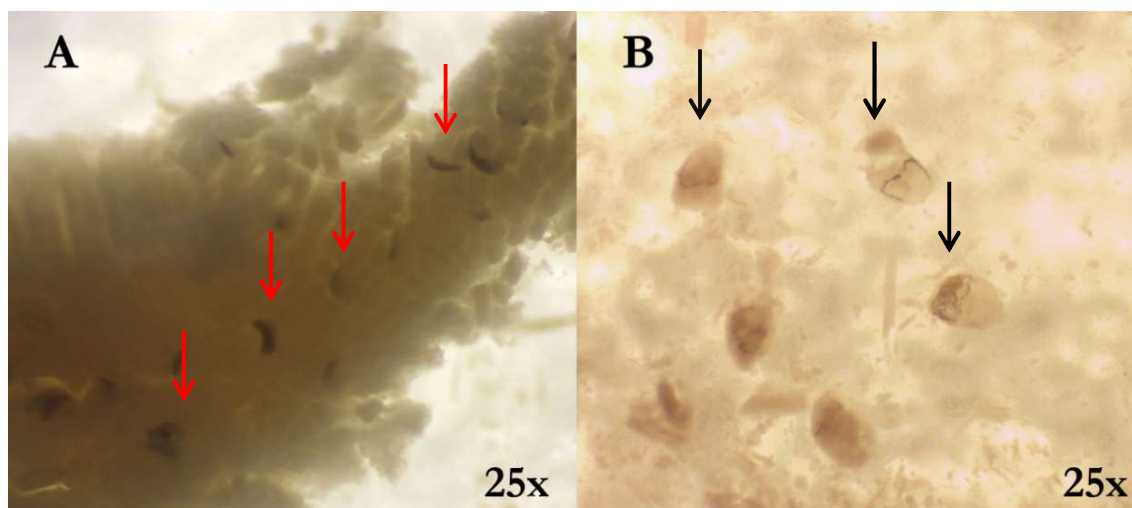


Figura 1. Imágenes capturadas desde lupa estereoscópica. (A) Vellosidades intestinales de yeyuno craneal con trematodos insertos en la mucosa (Flechas rojas). (B) Contenido de yeyuno craneal evidenciando los trematodos pesquisados (Flechas negras).

5.1.1. Identificación morfométrica de parásitos gastrointestinales

De los 17.063 trematodos encontrados, se sometieron al proceso de tinción 2.080 (12%), pudiendo aislar 257 (12%) de ellos para analizar su morfología. Según las claves taxonómicas de McDonald (1981) y Deblock (2008), y observando las características morfológicas por microscopía óptica, dichos trematodos correspondieron a la Familia Microphallidae por poseer un cuerpo pequeño (<1 mm), piriforme, con dos pequeñas ventosas, una oral y otra ventral, una vesícula excretora con un poro excretor simple, presencia de un saco de cirro, ovario lobulado y dos testículos adyacentes al mismo. Estas características permitieron identificar los trematodos como pertenecientes a la Subfamilia Maritreminae. Para la determinación del género, se identificaron características morfológicas como localización del útero posterior a los ciegos, la presencia de ventosa ventral en la zona ecuatorial del cuerpo, y vitelaria simétrica en forma de

herradura que se abre en sentido posterior, rodeando al útero y testículos; permitiendo la identificación de éstos como *Maritrema* sp. Al realizar un análisis morfométrico de los órganos de cada ejemplar (257 trematodos), y comparando con lo publicado por Flores y Brugni (2013), Rauque y col (2013) y Mayorga (2017), se logró determinar la presencia de dos especies, *Maritrema huillini* (157 ejemplares) (Cuadro 1), y *Maritrema patagonica* (100 ejemplares) (Cuadro 2).

Cuadro 1: Registro de medidas comparativas (µm) con Flores y Brugni (2013) y Mayorga (2017) en relación a *Maritrema huillini* aislados (157 ejemplares) desde *Neovison vison* provenientes de la región de Los Ríos durante el año 2016.

	<i>M. huillini</i> Flores y col (2013) <i>N. vison</i> (n= 4)				<i>Maritrema</i> sp. Mayorga (2017) <i>N. vison</i> (n= 29)				<i>M. huillini</i> Presente estudio <i>N. vison</i> (n= 50)			
	Rango		Media	DE	Rango		Media	DE	Rango		Media	DE
	Mín	Máx			Mín	Máx			Mín	Máx		
Cuerpo												
Largo	528	816	684	77,4	300	590	423	69,9	344	636	464	55,9
Ancho	259	451	349	42,9	175	325	229	37,9	172	475	275	43,8
Ventosa oral												
Largo	36	70	52	9,9	36	62	49	7,1	32	86	58	9,6
Ventosa ventral												
Largo	36	58	47	5,7	21	52	35	6,7	27	58	43	6,7
Esófago												
Largo	48	110	76	17,7	21	73	39	11,4	19	102	46	12,8
Ciego izquierdo												
Largo	361	472	414	37,8	115	290	196	47,9	136	289	215	31,2
Ciego derecho												
Largo	347	472	406	34	99	255	176	43,4	117	324	204	34
Testículo izquierdo												
Largo	72	120	98	15,8	22	87	43	15,6	51	127	86	17
Testículo derecho												
Largo	67	127	95	13,7	23	77	43	12,4	51	128	88	16,2
Saco de cirro												
Largo	155	209	181	16,3	70	178	122	29,5	81	193	135	20,9
Ovario												
Largo	38	79	54	9,4	15	41	24	6,2	18	48	30	12,3

DE= Desviación estándar

Cuadro 2: Registro de medidas comparativas (μm) con Rauque y col (2013) y Mayorga (2017) en relación a *Maritrema patagonica* aislados (100 ejemplares) desde *Neovison vison* provenientes de la región de Los Ríos durante el año 2016.

	<i>M. patagonica</i> Rauque y col (2013) <i>Gallus g. domesticus</i> (n=2)				<i>Maritrema</i> sp. Mayorga (2017) <i>N. vison</i> (n= 29)				<i>M. patagonica</i> Presente estudio <i>N. vison</i> (n= 50)			
	Rango		Media	DE	Rango		Media	DE	Rango		Media	DE
	Mín	Máx			Mín	Máx			Mín	Máx		
Cuerpo												
Largo	240	317	288	-	300	590	423	69,9	275	602	458	77,6
Ancho	182	211	197	-	175	325	229	37,9	192	387	272	40,7
Ventosa oral												
Largo	25	35	30	-	36	62	49	7,1	38	84	59	9,5
Ventosa ventral												
Largo	28	35	31	-	21	52	35	6,7	29	62	43	6,8
Esófago												
Largo	10	20	17	-	21	73	39	11,4	15	77	40	12,5
Ciego izquierdo												
Largo	105	130	112	-	115	290	196	47,9	106	246	183	29,3
Ciego derecho												
Largo	105	120	112	-	99	255	176	43,4	99	250	171	31
Testículo izq.												
Largo	40	83	55	-	22	87	43	15,6	39	122	94	15,6
Testículo der.												
Largo	45	70	60	-	23	77	43	12,4	57	140	93	17
Saco de cirro												
Largo	164	173	170	-	70	178	122	29,5	72	188	122	20,5
Ovario												
Largo	45	67	58	-	15	41	24	6,2	39	107	71	11,7

DE= Desviación estándar

En cuanto a la disposición de los órganos de *M. buillini* (Figura 2), éstos presentaron un cuerpo piriforme, en cuyo extremo anterior se localiza su ventosa oral pequeña, unida a la prefaringe y posteriormente a la faringe. Su esófago es largo y con tendencia a curvarse, divergiendo en dos ciegos intestinales cuyos extremos alcanzan el tercio posterior de ambos testículos. En el centro del cuerpo se observó la ventosa ventral, entre el saco del cirro y metratermo (lado izquierdo) y los ovarios (lado derecho), y posterior a éstos se localiza el útero rodeado por la vitelaria. Cabe destacar que en todos los ejemplares se observó un útero grávido.

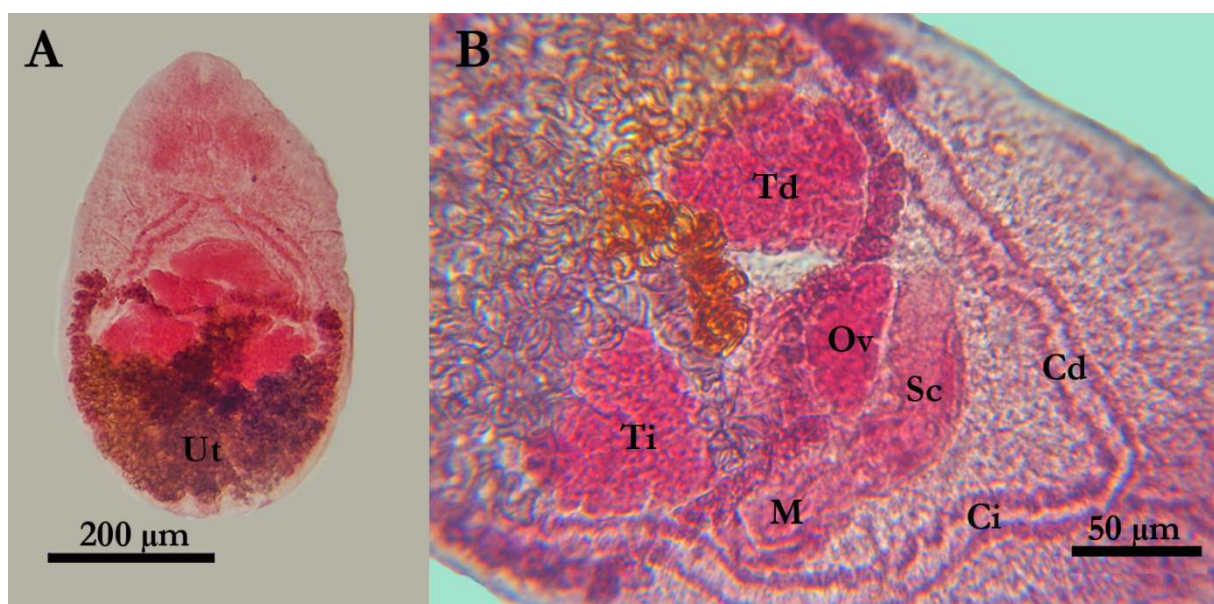


Figura 2. Imágenes de *Maritrema buillini* capturadas con microscopía óptica. (A) Cuerpo completo (vista ventral) observándose su forma piriforme y disposición general de los órganos, destacándose el útero (Ut) pletórico de huevos (10x). (B) Parásito ubicado diagonalmente enfocado en su porción media (vista dorsal), destacándose ambos testículos (Ti-Td) y su relación con los extremos de los ciegos (Ci-Cd) y vitelaria. Se observan ovarios (Ov), saco del cirro (Sc), metratermo (M) y parte del útero (40x) (TCAS).

Observando los órganos, y la disposición anatómica en el caso de *M. patagonica* (Figura 3), los ejemplares presentaron características compatibles con el género *Maritrema*, en cuyo extremo anterior se ubicaba la ventosa oral unida a la prefaringe y posterior faringe. Se observó un esófago corto y sin tendencia a curvarse, dividido posteriormente en dos asas cecales, cuyos extremos alcanzaron el borde anterior de la vitelaria. En el centro del cuerpo se localizó la ventosa ventral, saco del cirro y metratermo al lado izquierdo, y el ovario (trilobulado) en posición dextral. Dividiendo el cuerpo en dos, se observó la vitelaria que se abre en sentido posterior rodeando a ambos testículos (simétricos) y el útero, que en el caso de todos los ejemplares analizados se encontró repleto de huevos.

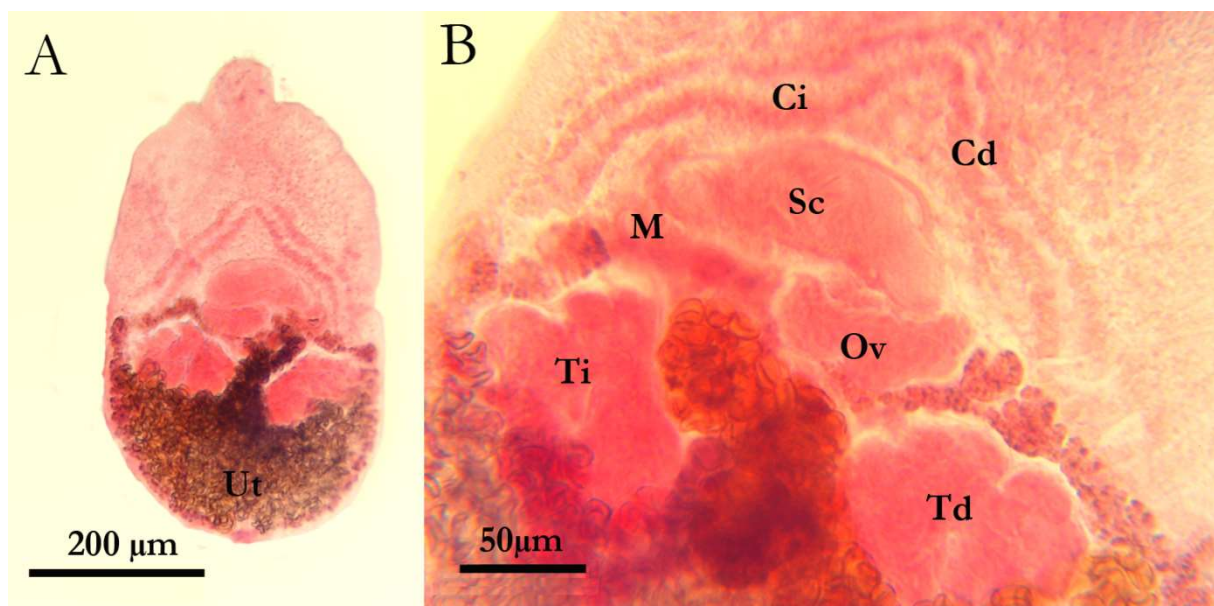


Figura 3. Imágenes de *Maritrema patagonica* capturadas con microscopía óptica. (A) Cuerpo completo (vista dorsal), observándose su forma piriforme y órganos internos, destacándose el útero (Ut) pletórico de huevos (10x). (B) Porción media (vista ventral), destacándose ambos testículos (Ti-Td) y su relación anatómica con los extremos de los ciegos (Ci-Cd) y vitelaria. Se observa ovario trilobulado (Ov), metratermo (M), saco del cirro (Sc) y parte del útero (TCAS).

5.1.2. Análisis de datos de parásitos gastrointestinales

Para el presente estudio se determinó una prevalencia (P) de 60% en cuanto a infección parasitaria por parte de *Maritrema* sp. Los valores de intensidad media (I_M) fueron de 569 parásitos/visión infectado, mientras que para la variable de intensidad de infección (I) se registró el visón N°29 con la intensidad más alta correspondiente a 3.632 trematodos, siendo el rango de infección (RI) de 3-3.632 parásitos (Anexo 8).

5.2. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ECTOPARÁSITOS EN *N. vison*

Como resultado de la inspección externa de los visones, se determinó que sólo tres ejemplares presentaron ectoparásitos en una baja intensidad de infestación (<10 ectoparásitos/animal). Los parásitos luego de analizarlos por microscopía y según las claves taxonómicas de Pratt (1966) se clasificaron como pulgas del Orden Siphonaptera, Familia Ceratophyllidae, género *Nosopsyllus*, especie *Nosopsyllus fasciatus* (Figura 4A), capturando 9 hembras y 1 macho (Anexos 9, 10 y 11). Su identificación se determinó observando cuidadosamente partes anatómicas como ctenidio pronotal y longitud de palpos con respecto a sus extremidades (Figura 4B), doble fila de cerdas presentes en zona dorsal del cuerpo (Figura 4C) y tarsos (Figura 4D).



Figura 4. Fotografías de *Nosopsyllus fasciatus* (hembra) capturadas por microscopía. (A) Cuerpo completo (4x). (B) Cabeza con sus palpos (flecha negra) y la ausencia de ctenidios genales (10x). (C) Porción cefálica y torácica, observándose su doble fila de cerdas por segmento (flechas negras) (10x). (D) Extremidades, observándose 5 pares de cerdas laterales en los tarsos (40x).

5.3. DETERMINACIÓN DE QUISTES DE *Trichinella* sp. EN *N. vison*

Se analizó un total de 52 muestras para examen de triquinoscopía, utilizando músculos diafragmáticos y cuádriceps de visones provenientes de ambas provincias. El resultando de esto derivó en la ausencia de quistes de *Trichinella* sp. para el 100% de las muestras analizadas (Anexo 12).

6. DISCUSIÓN

En el país, la mayoría de los estudios realizados hasta el momento en *N. vison* se han enfocado principalmente en su dieta y distribución, junto con sus interacciones con mustélidos nativos y el impacto que genera su presencia frente a animales domésticos y silvestres. El único estudio enfocado en la búsqueda de parásitos (gastrointestinales y *Trichinella* sp.) fue el realizado por Mayorga (2017), quien determinó la presencia del género *Maritrema* junto con la ausencia de quistes de *Trichinella* sp. en visones americanos de la región de Los Ríos. Por lo tanto el presente estudio sería el segundo en determinar la parasitosis por parte de *Maritrema* sp. y el primero en lograr identificar morfométricamente las especies *M. patagonica* y *M. huillini* (en una proporción de 1:1,6), además del ectoparásito *N. fasciatus* en *N. vison* de la misma región. La identificación del género, basada en las claves taxonómicas de McDonald (1981) y Deblock (2008), además de lo reportado por Mayorga (2017) permitió definir a los trematodos como *Maritrema* sp., reconociendo sus características morfológicas como cuerpo de pequeño tamaño y piriforme, con dos ventosas pequeñas (oral y ventral), una vesícula excretora con poro simple, saco del cirro unido a un metratermo al lado izquierdo, con un ovario al lado opuesto y dos testículos en la porción posterior del cuerpo. Ésto, además del útero ubicado posterior a los ciegos y una vitelaria en forma de herradura fue determinante para la clasificación de los helmintos.

Dentro de los especímenes analizados, se presentaron características morfológicas acordes con lo descrito por Flores y col (2012) y Flores y Brugni (2013), logrando identificarlos como *Maritrema huillini*. Las principales características fueron: un esófago largo y con tendencia a curvarse (Anexo 13), ciegos cuyos extremos alcanzaron los tercios posteriores de ambos testículos (Anexos 14 y 15) y un ovario al lado derecho del cuerpo, ligeramente lobulado y a veces de forma triangular. Sumándose a los especímenes de *M. huillini*, y en base a lo establecido por Rauque y col (2013), se determinó la coexistencia de *M. patagonica* en los visones examinados. Este último es muy similar a *M. huillini* en cuanto a su morfología, excepto por la conformación de algunos órganos que hicieron posible su diferenciación, como: esófago de longitud menor y sin tendencia a plegarse (Anexo 13), ovarios notoriamente trilobulados, y extremos de los ciegos que se extienden no más allá del borde anterior de la vitelaria (Anexos 14 y 16), la cual es su principal diferencia.

En relación a ambas especies, *M. huillini* y *M. patagonica*, si bien es cierto en lo publicado por Flores y col (2012), Flores y Brugni (2013) y Rauque y col (2013) se indica que ambos trematodos se diferencian principalmente por el largo total de su cuerpo, donde el primero sería de mayor tamaño. Al observar las medidas corporales en el presente estudio, esto no se presenta, lo que puede deberse a que en general la Clase Trematoda muestra la mayor variedad de formas y tamaños entre los helmintos, adaptándose a las condiciones ambientales en que se encuentra, específicamente al animal que lo alberga, siendo éste compatible o no con su parásito y pudiendo cambiar el tamaño del trematodo en diferentes hospederos (McDonald 1981, Deblock 2008). Lo anterior avala los resultados obtenidos, sobretudo en el caso de *M. patagonica*, ya que Rauque y col (2013) reportaron la presencia de este trematodo en pollitos de un día de vida (*Gallus gallus domesticus*) de forma experimental, no siendo ésta la especie hospedera idónea para el parásito, por lo que sus resultados morfométricos no serían necesariamente similares en los vermes examinados.

del presente estudio. Es por esto, que la identificación de las especies en cuestión se enfocó en la disposición anatómica de sus órganos (como la extensión de sus ciegos), por sobre la dimensión de los mismos.

En cuanto al ciclo biológico de la Familia Microphallidae, este es indirecto y se lleva a cabo generalmente en ambientes acuáticos, ya sea de agua dulce o salada. Usualmente utiliza a los moluscos como primer hospedero intermediario (HI), artrópodos o bivalvos como segundo hospedero, y mamíferos y/o aves carnívoras como hospedero definitivo (HD) (McDonald 1981). Según lo propuesto por Deblock (2008) y Flores y col (2013) en el caso de *M. huillini*, se describe la participación de gasterópodos prosobranquios (*Heleobia* sp.) como hospedero de las cercarias (1° HI), y pequeños crustáceos (*Aegla* sp.) como 2° HI albergando a las metacercarias (estadio infectante). En el estudio de Rauque y col (2013) se realizó una infección experimental utilizando crías de *G. gallus domesticus* para poder dilucidar el ciclo biológico de *M. patagonica*, introduciéndoles metacercarias extraídas de cangrejos (*Aegla* sp.) por vía oral. En este experimento se sugirió a *Heleobia* sp. como posible primer hospedero intermediario, ya que se capturaron especímenes de ellos en la zona de estudio, y además porque se ha estudiado su participación en los ciclos de *M. bonaerense* y *M. orensense* reportados en Argentina (Alda 2013). En ambos parásitos, el rol de HD lo pueden ejercer aves (Familia Laridae) y mamíferos, como el huillín y el visón que se alimentan normalmente de individuos hospederos de los estadios larvales, como lo son los cangrejos *Aegla* sp. (Medina 1997).

El análisis de los datos del presente estudio, en relación a *Maritrema* sp. fue comparado con lo obtenido por Flores y col (2012) y Flores y Brugnì (2013). En el primer estudio se pesquió *M. huillini* en un ejemplar de *L. provocax*, con una intensidad de infección de 5.927 helmintos, y el segundo estudio obtuvo una prevalencia de 100% (n= 4 visones), con una intensidad media de 428 helmintos y un rango de infección de 20 – 864 parásitos. La diferencia en el segundo caso, donde la prevalencia fue mayor que en el presente estudio, puede explicarse por el tamaño de la muestra, puesto que analizando una mayor cantidad de animales la prevalencia disminuye, ya que la posibilidad de tener animales negativos es mayor. Por otra parte, en cuanto a los resultados obtenidos por Mayorga (2017), quien determinó una *P* de 79%, un rango de infección de 3 – 6.090 vermes y una I_M de 661 helmintos/visón, las diferencias podrían deberse a las zonas muestreadas, ya que ésta abarcaba sólo la provincia de Valdivia, especialmente el sector de Isla Teja, donde no existe una competencia directa para *N. vison* en cuanto a su alimentación, pudiendo quizás, tener un mayor acceso a individuos que alberguen los estadios intermedios de *M. huillini* y *M. patagonica*. En el presente estudio se capturaron visones de ambas provincias, registrándose las mayores intensidades en zonas donde existe una mayor competencia de alimentación (Pto. Trumao, Provincia del Ranco). Por lo tanto el visón, siendo oportunista, caza presas de más fácil acceso, en este caso crustáceos y moluscos.

En cuanto a lo planteado por Rauque y col (2013), a pesar de ser un estudio experimental, se aislaron especímenes de *M. patagonica* adultos con dimensiones mayores que en el presente estudio. Esto se puede explicar principalmente por la cantidad de vermes analizados, siendo una cantidad muy baja comparada con el número de parásitos en *N. vison* (6 versus 100), sumándose además a que el animal inoculado (*G. gallus domesticus*) no sería el hospedero ideal para esta especie de trematodo.

Conforme a lo anterior, el visón, al incluir en su dieta a *Heleobia* sp. y *Aegla* sp., igual que *L. provocax* (Medina 1997), se sugiere como un nuevo hospedero definitivo para ambos trematodos, pudiendo generar el mecanismo de spillback, donde al ser una especie invasora puede funcionar como hospedero alternativo y competente frente a parasitosis de otros mustélidos, pudiendo tener una abundancia parasitaria mayor, amplificando la infección en los nativos (Flores y Brugni 2013, Sherrard-Smith y Chadwick 2015). Teniendo en cuenta que el éxito reproductivo de un parásito y la idoneidad de una especie hospedera, se determina por la presencia, intensidad de infección, permanencia en el organismo y su capacidad de generar huevos. Esto confirma los resultados presentados, donde *M. huillini* y *M. patagonica* no sólo sobrevivieron en el visón, en estado grávido, sino que también presentaron una intensidad de infección importante, alcanzando tamaños corporales similares o mayores que en los individuos anteriormente reportados.

En cuanto al nematodo *Trichinella*, se analizaron 52 ejemplares, utilizando musculatura diafragmática y cuádriceps femoral de *N. vison*. El resultado de las triquinoscopías fue negativo para el 100% de las muestras analizadas. Esto se contrasta con lo obtenido por Hurníková y col (2016), quienes registraron la presencia de quistes intramusculares de *Trichinella* sp. en un 3,3% de los visones de vida libre analizados (n= 812), pudiendo identificar las especies *T. britovi*, *T. spiralis* y *T. pseudospiralis*. La diferencia entre los resultados negativos de Mayorga (2017) y el presente estudio, en comparación con Hurníková y col (2016), puede deberse principalmente a la cantidad de muestras analizadas (29 y 52 versus 812, respectivamente), puesto que a mayor tamaño muestral, las posibilidades de pesquisar este nematodo podrían aumentar.

En relación al ciclo de *Trichinella* sp., es de tipo directo e inespecífico, ya que se basa en el carnivorismo, canibalismo y/o carroña de animales infectados con quistes larvados (L1) en su musculatura, siendo el cerdo doméstico (*Sus scrofa domesticus*), los roedores sinantrópicos y el ser humano sus principales hospederos (ciclo doméstico); en cuanto al ciclo selvático, participa una amplia gama de especies, incluyendo suinos, roedores y carnívoros, entre ellos mustélidos (Gottsien y col 2009). En el caso del visón, se infiere que al consumir pequeños mamíferos como roedores, consume el quiste larvado y continúa el ciclo dentro de él hasta llegar a alojarse y enquistarse en los músculos de mayor oxigenación (diafragma y cuádriceps), pudiendo transmitirse a animales carroñeros manteniendo el ciclo en el ambiente. Por otra parte, si bien no hay un registro escrito que lo demuestre, se ha observado una conducta canibal entre visones, pudiendo ocurrir en épocas de escases de alimento o por la inexperiencia de predación de visones juveniles⁵. Tomando en cuenta esto, se podría inferir que el visón actúa de la misma forma que los roedores en el ciclo doméstico, manteniendo el parásito en el ambiente y continuando su ciclo silvestre. Considerando que el visón incluye en su dieta a roedores sinantrópicos como *Rattus norvegicus* y *R. rattus* en un 42%, además de peces y crustáceos (Medina 1997), cabe la posibilidad de pesquisar a *Trichinella* sp. en la musculatura de visones. En cuanto al presente estudio, el contenido estomacal de los visones analizados presentó pelos en 10% de ellos (Anexo 8.2), lo que se relacionaría con la ingesta de roedores o mamíferos, siendo probable la pesquisa de *Trichinella* sp. en los individuos capturados. La triquinoscopía se describe como un método específico y sensible para detectar quistes en musculatura (Mayorga 2017), además Gottsien y col (2009)

⁵ *Comunicación personal.* Diego Gallardo M.V. y Carla Marchese M.V. Encargados de FNDR Control comunitario del visón, Provincia de Valdivia y Ranco, of. RENARE, SAG, Valdivia.

postula que las técnicas para detectar una infección por *Trichinella* sp. deben ser altamente sensibles, utilizando el músculo y tamaño adecuado, siendo la triquinoscopía y digestión artificial las pruebas de oro para diagnosticar triquinosis. Por lo tanto, se recomienda analizar a través de triquinoscopía y digestión artificial una mayor cantidad de individuos de *N. vison*, teniendo mayores posibilidades de detectar la presencia del parásito, pudiendo incluir la técnica de PCR y así identificar las especies de este nematodo presentes en la región.

En cuanto a los ectoparásitos pesquisados, dentro del número total de individuos analizados, sólo 3 visones presentaron pulgas en su pelaje. De ellos se aislaron un total de 10 ejemplares, correspondiendo el 100% a *Nosopsyllus fasciatus*, más conocida como Pulga de la rata del norte. Se identificó como tal en base a las claves taxonómicas de Pratt (1966), como ausencia de ctenidios genales, palpos cuyos extremos no sobrepasan el trocánter del primer par de miembros, y extremidades que presentan 5 pares de cerdas laterales en la parte distal del tarso (Figura 4). Si bien es cierto las pulgas se caracterizan por ser parásitos de especie inespecífica, pudiendo aislarse de toda clase de animales, es esperable el hallazgo de ésta en particular, ya que se describe su presencia en roedores sinantrópicos como *R. norvegicus* (Wall y Shearer 2001), los cuales comparten nicho ecológico con *N. vison*, y pueden ser depredados por el mismo (Medina 1997). Por lo tanto, se infiere que la parasitosis se lleva a cabo al momento de la caza del roedor, transmitiéndose el parásito adulto o también durante la búsqueda de alimento por parte del visón, adentrándose en los refugios de los roedores, en donde se albergan los estadios larvales de las pulgas (larva y pupa). Además de las pulgas, se observó un visón cuyo pelaje presentaba un tipo de artrópodo, los cuales se clasificaron como escarabajos de la Familia Mycetophagidae (Anexo 17), registrándose como un hallazgo al considerarse un insecto ambiental. Tomando en cuenta que los visones caminan por todo tipo de terrenos, el hallazgo de este insecto se podría relacionar con la alimentación de éste, puesto que consume materia orgánica, alimentándose quizás de los restos orgánicos presentes en las extremidades de *N. vison*⁶.

A la fecha, el presente trabajo es el segundo en determinar la presencia de *Maritrema* sp. en visones y el primero en identificar las especies *Maritrema patagonica*, *Maritrema huillini* y *Nosopsyllus fasciatus* en *N. vison* en el país. Por lo tanto, es importante generar estudios que respalden los resultados obtenidos, muestreando una mayor cantidad de individuos e implementando otras técnicas diagnósticas, pudiendo realizar análisis moleculares y filogenéticos, con el objetivo de corroborar la presencia de estos agentes parasitarios en esta especie invasora.

⁶Comunicación personal. Leticia Silvestre. Ingeniero agrónomo. Laboratorio de entomología, Instituto de producción y sanidad vegetal, Universidad Austral de Chile.

6.1. CONCLUSIONES

- 6.1.1. Se determinó e identificó el parasitismo de *Maritrema huillini* y *Maritrema patagonica*, en base a análisis morfométricos, en tractos gastrointestinales de ejemplares de *Neovison vison* en la región de Los Ríos, Chile.
- 6.1.2. Se determinó una prevalencia de 60%, un rango de infección de 3 – 3.632 trematodos y una intensidad media de 569 parásitos en *Neovison vison* diagnosticados como positivos a *Maritrema* sp. en la región de Los Ríos, Chile.
- 6.1.3. Se determinó e identificó morfométricamente *Nosopsyllus fasciatus* en 3 ejemplares de *Neovison vison* de la región de Los Ríos, Chile.
- 6.1.4. No se detectó la presencia de quistes de *Trichinella* sp. en el total de los visones examinados de la región de Los Ríos, Chile.

7. REFERENCIAS

- Alda P, N Bonel, R Hechinger, S Martorelli. 2013. *Maritrema orensense* and *Maritrema bonaerense* (Digenea: Microphallidae): Descriptions, life cycles, and comparative morphometric analyses. *J Parasitol* 99, 218-228.
- Bush A, K Lafferty, J Lotz, A Shostak. 1997. Parasitology 22etes ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *J Parasitol* 83, 575-583.
- Cerda J. 2008. Experiencias piloto del control del visón en Aysén. Acta del Seminario Vertebrados dañinos en Chile: desafíos y perspectivas, Santiago, Chile, Pp 30-38.
- Christian A. 2010. Tick infestation (*Ixodes*) on feral mink (*Neovison vison*) in central Germany. *Soil organism* 82, 209-216.
- Deblock S. 2008. Family Microphallidae. In: Jones A, Bray RA, Gibson DI (Eds). *Keys to the Trematoda Volumen 3*, CABI Publishing, Wallingford, UK, Pp 451-492.
- Flores V, N Brugni, C Pozzi. 2012. A New Microphallid (Digenea) Species from *Lontra provocax* (Mammalia: Mustelidae) from Freshwater Environments of Northwestern Patagonia (Argentina). *J Parasitol* 5, 992-994.
- Flores V, N Brugni. 2013. *Maritrema huillini* (Digenea: Microphallidae) en mustélidos (Carnívora: Mustelidae) de ambientes de agua dulce de la Patagonia (Argentina). *Rev Arg Parasitol* 1, 110-118.
- Gómez-Couso H, F Mendez-Hermida, E Ares-Mazás. 2007. First report of *Cryptosporidium parvum* “Ferret” genotype in American mink (*Mustela vison* Schreber 1777). *Parasitol Res* 100, 877-879.
- Gottsien B, E Pozio, K Nöckler. 2009. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of Trichinellosis. *Clin Microbiol Rev* 22, 127-145.
- Hurníková Z, M Kolodziej-Sobocińska, E Dvorožňáková, A Niemczynowicz, A Zalewsky. 2016. An invasive species as an additional parasite reservoir: *Trichinella* in introduced American mink (*Neovison vison*). *Vet Parasitol* 231, 106-109.
- Iriarte A, F Jaksic. 2012. Familia Mustelidae. En: Iriarte A, F Jaksic (Eds). *Los carnívoros de Chile*. 1º Ed. Editorial Flora y Fauna Chile y CASEB, Santiago, Chile, Pp 164-189.
- Jones Y, S Fitzgerald, J Sikarske, A Murphy, N Grosjean, M Kiupel. 2006. Toxoplasmosis in a free-ranging mink. *J Wildl Dis* 42, 865-869.

- Mayorga P. 2017. Pesquisa de endoparásitos gastrointestinales y *Trichinella* sp. En vison (*Neovison vison*), Región de Los Ríos, Chile. *Tesis de grado*, Facultad de Ciencias veterinarias, Universidad Austral de Chile, Chile.
- McDonald M. 1981. Family Microphallidae. In: McDonald M (Ed). *Key to trematodes reported in waterfowl*. Fish and wildlife service United State department of the interior, Washington DC, Pp 80-81.
- Medina G. 1997. A comparison of the diet and distribution of southern river otter (*Lutra provocax*) and mink (*Mustela vison*) in Southern Chile. *J Zool Lond* 242, 291-297.
- Polechla P. 1996. New host records of ticks (Acarina: Ixodidae) parasitizing the river otter (*Lutra canadensis*). *IUCN* 13, 8-12.
- Pratt HD. 1966. Fleas: Pictorial key to some common species in the United States. In: Fuller HS (ed). *Pictorial keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance*. 1° ed. U.S. Department of health, education, and welfare public health service, Atlanta, Georgia, Estados Unidos, Pp 167-174.
- Quintana V, J Yáñez, M Valdevenito, A Iriarte. 2009. Descripciones de especies vivientes, Orden carnívora: Familia Mustelidae. En: Muñoz A, J Yáñez (Eds). *Mamíferos de Chile*. 1° Ed. CEA ediciones, Valdivia, Chile, Pp 112-117.
- Rauque C, V Flores, N Brugni. 2013. *Maritrema patagonica* n. sp. (Digenea: Microphallidae) cultured from Metacercariae from freshwater Anomuran, *Aegla* spp. (Decapoda: Aeglidae), in Patagonia. *Comp Parasitol* 80, 196-202.
- SAG, Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. 2015. Ley de caza N° 19473. 16° Edición: agosto 2015.
- Segovia J, J Torres, J Miquel, E Sospedra, R Guerrero, C Feliu. 2007. Analysis of helminth communities of the pine marten, *Martes martes*, in Spain: Mainland and insular data. *Acta parasitol* 52, 156-164.
- Sepúlveda M, C Muñoz-Zanzi, C Rosenfeld, R Jara, K Pelican, D Hill. 2011. *Toxoplasma gondii* in feral American minks at the Maullín river, Chile. *Vet Parasitol* 175, 60-65.
- Sherrard-Smith E, E Chadwick. 2015. The impact of introduced hosts on parasite transmission: *Opisthorchiid* infections in American mink (*Neovison vison*). *Biol Invasions* 17, 115-122.
- Sobrino R, O Cabezón, J Millán, M Pabón, MC Arnal DF Luco, C Gortázar, JP Dubey, S Almeria. 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol* 148, 187-192.
- Wall R, D Shearer. 2001. Chapter 6: Fleas (Siphonaptera). In: Wall R, D Shearer (Eds). *Veterinary ectoparasites: Biology, pathology and control*. 2° Ed. Blackwell Science, Oxford, UK, Pp 143-160.

8. ANEXOS

Anexo 1. Chungungo (*Lontra felina*) (Fotografía: S. Espinoza).



Anexo 2. Huillín (*Lontra provocax*) (Fotografía: O. Larraín).



Anexo 3. Huroncito patagónico (*Lyncodon patagonicus*) (Fotografía: B. Vásquez).



Anexo 4. Quique (*Galictis cuja*) (Fotografía: R. Lira).



Anexo 5. Visón americano (*Neovison vison*) (Fotografía: P. Oyarzún).



© Pablo Oyarzún Ruiz, 2017

Anexo 6. Mapa de la región de Los Ríos, dividido por provincias (Ranco y Valdivia). Símbolos amarillos indican localidades desde donde se capturaron 102 visones americanos para el presente estudio (Imagen rescatada desde Google Earth).



Anexo 7. Información detallada de *Neovison vison* (18 hembras y 32 machos) analizados, indicando cantidad total de helmintos aislados en cada porción del tracto gastrointestinal. Donde H= Hembra; M= Macho; D= Duodeno; Y1= Yeyuno craneal; Y2= Yeyuno medio; Y3= Yeyuno caudal; IG= Intestino grueso; CE= Contenido estomacal; Cap= Caparazón; Esc= Escamas; Pel= Pelos; Plu= Plumas; Ind= Indeterminado; SC= Sin contenido.

Nº	Nº SAG	Procedencia	Sexo	D	Y1	Y2	Y3	IG	Total	CE
1	-	Los Esteros	M	48	190	180	25	0	443	Plu –Cap
2	-	Pto. Trumao	H	0	0	0	0	0	0	SC
3	-	Pto. Trumao	M	0	0	0	0	0	0	Ind
4	-	Pto. Trumao	M	0	0	0	0	0	0	SC
5	-	Pishuinco chico	M	0	0	0	0	0	0	Cap-Plu
6	-	Punucapa	H	0	89	82	41	0	212	Pel-Cap
7	-	Pto. Trumao	H	0	25	0	30	0	55	Ind
8	-	Cabo Blanco	H	0	16	0	0	0	16	Ind
9	-	Cadillal	H	0	0	0	0	0	0	Plu
10	-	Pishuinco chico	M	22	65	234	0	0	321	Cap-Pel
11	-	Pto. Trumao	M	13	43	7	19	0	82	Cap-Plu
12	26	Pto. Trumao	H	0	0	0	0	0	0	SC
13	112	Isla Teja Sur	M	0	156	340	48	0	544	SC
14	111	Pishuinco Ch.	M	0	0	128	31	0	159	Plu
15	109	Punucapa	M	0	39	11	0	0	50	Cap
16	119	Demaihue	H	109	329	167	52	0	657	Ind
17	108	Río Bueno	M	0	43	70	9	0	122	Esc-Cap
18	81	Punucapa	M	0	0	0	0	0	0	Ind
19	78	Pto. Trumao	M	29	380	62	0	0	471	Esc
20	70	Cadillal alto	M	33	1010	316	20	0	1379	Cap
21	67	Paillaco	M	55	242	149	8	0	454	Ind
22	72	Coz-coz	H	0	0	0	0	0	0	Pel-Plu
23	85	Pto. Trumao	M	0	0	0	0	0	0	Cap
24	193	El Nogal	M	6	161	40	0	0	207	SC
25	217	Yaquito	H	47	1600	90	3	0	1740	Esc-Cap
26	160	Parque urbano	M	0	0	0	0	0	0	Pel
27	236	Punucapa	M	0	0	0	0	0	0	Cap
28	83	Pto Trumao	M	0	0	0	0	0	0	SC
29	3	Pto. Trumao	H	210	1410	1271	730	11	3632	Cap-Esc

Anexo 7 (Continuación). Donde H= Hembra; M= Macho; D= Duodeno; Y1= Yeyuno craneal; Y2= Yeyuno medio; Y3= Yeyuno caudal; IG= Intestino grueso; CE= Contenido estomacal; Cap= Caparazón; Esc= Escamas; Pel= Pelos; Plu= Plumas; Ind= Indeterminado; SC= Sin contenido.

Nº	Nº									
Nº	SAG	Procedencia	Sexo	D	Y1	Y2	Y3	IG	Total	CE
30	2	Pto. Trumao	H	42	762	563	0	0	1367	Cap
31	20	Pto. Trumao	M	0	0	0	0	0	0	Ind
32	10	Pto Trumao	M	0	0	0	0	0	0	Ind
33	183	Cocule	H	0	0	0	0	0	0	Cap
34	137	Iñaque	H	2	78	20	0	0	100	Esc
35	152	El Nogal	M	7	0	0	0	0	7	Pel
36	215	Punucapa	H	17	172	228	50	0	467	Cap
37	262	Futa	M	19	181	10	0	0	210	Cap
38	274	Cadillal alto	M	111	491	192	20	0	814	Esc
39	271	Filuco	M	0	0	0	0	0	0	Ind
40	275	Cadillal alto	M	0	3	0	0	0	3	Ind
41	199	Yaquito	M	0	31	92	0	0	123	Cap
42	211	Cocule	M	21	38	0	0	0	59	Cap-Esc
43	202	El Nogal	H	0	0	0	0	0	0	SC
44	165	Rio Bueno	M	14	197	131	65	0	407	Cap-Plu
45	213	El Nogal	M	0	0	0	0	0	0	Plu
46	250	Cocule	H	0	0	0	0	0	0	Cap
47	176	Punucapa	M	105	2204	430	2	0	2741	Cap-Esc
48	197	San José CONAF	H	0	0	0	0	0	0	Ind
49	190	Yaquito	H	49	127	0	0	0	176	Ind
50	229	Cuyinhue	M	0	40	5	0	0	45	SC
TOTAL				959	10.122	4.818	1.153	11	17.063	

Anexo 8. Cantidad total, prevalencia, intensidad media y rango de infección de trematodos encontrados en los segmentos de tractos gastrointestinales de *Neorison vison* muestreados, en la región de Los Ríos. Donde D= Duodeno; Y1= Yeyuno craneal; Y2= Yeyuno medio; Y3= Yeyuno caudal; IG= Intestino grueso; *P*= Prevalencia; *I_M*= Intensidad media; *RI*= Rango de infección.

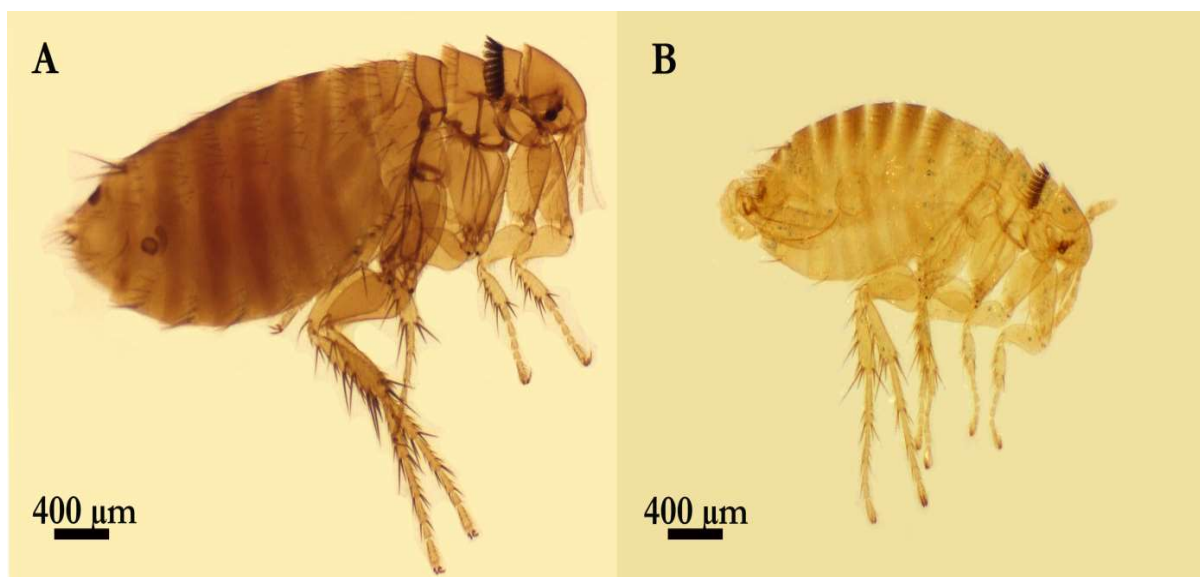
Nº	Segmento	Cantidad total (nº)	<i>P</i> (%)	<i>I_M</i>	<i>RI</i>
1	D;Y1;Y2;Y3	443			
2	Y1;Y2;Y3	212			
3	Y1;Y3	55			
4	Y1	16			
5	D;Y1;Y2	321			
6	D;Y1;Y2;Y3	82			
7	Y1;Y2;Y3	544			
8	Y2;Y3	159			
9	Y1;Y2	50			
10	D;Y1;Y2;Y3	657			
11	Y1;Y2;Y3	122			
12	D;Y1;Y2	471			
13	D;Y1;Y2;Y3	1379			
14	D;Y1;Y2;Y3	454			
15	D;Y1;Y2	207			
16	D;Y1;Y2;Y3	1740			
17	D;Y1;Y2;Y3;IG	3632			
18	D;Y1;Y2	1367			
19	D;Y1;Y2	100			
20	D	7			
21	D;Y1;Y2;Y3	467			
22	D;Y1;Y2	210			
23	D;Y1;Y2;Y3	814			
24	Y1	3			
25	Y1;Y2	123			
26	D;Y1	59			
27	D;Y1;Y2;Y3	407			
28	D;Y1;Y2;Y3	2741			
29	D;Y1	176			
30	Y1;Y2	45			
			60	569	3 - 3.632
TOTAL		17.063			

Anexo 9. Información de ejemplares de *Neovison vison*, capturados durante el año 2016 en cuyo pelaje se observaron pulgas *Nosopsyllus fasciatus*, incluyendo el total de ectoparásitos aislados por animal.

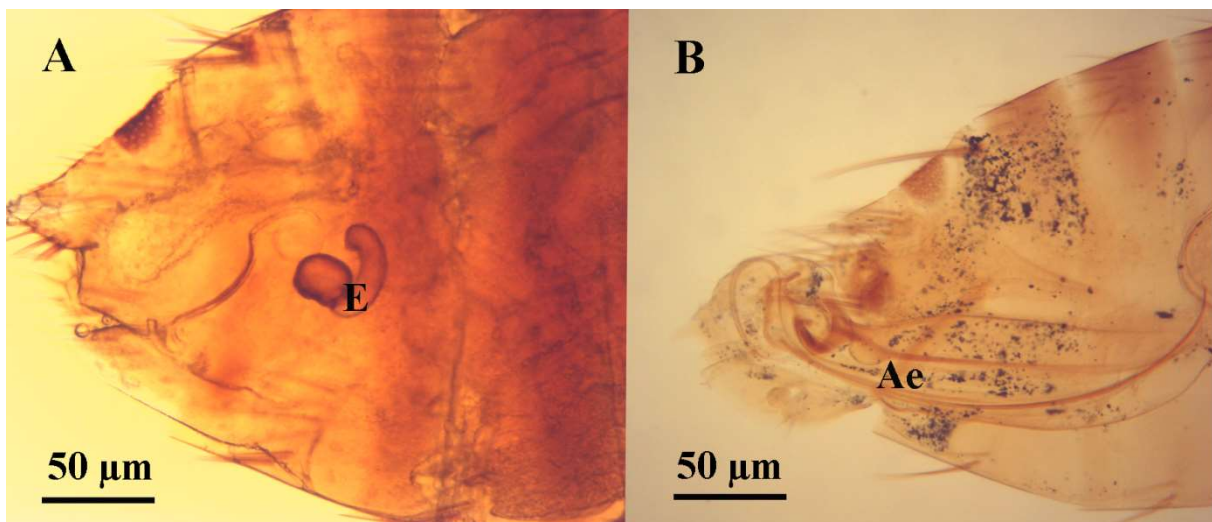
Ectoparásitos						
Nº	Procedencia	Fecha Eutanasia	Sexo	Edad	Resultado	Total aislados
1	Roble huacho	Nov.2016	H	A	<i>Nosopsyllus fasciatus</i>	2
2	Isla Huape	Dic.2016	M	A	<i>Nosopsyllus fasciatus</i>	2
3	Puilingue	Dic.2016	M	A	<i>Nosopsyllus fasciatus</i>	6

M= Visón Macho; H= Visón Hembra; A= Adulto.

Anexo 10. Imágenes capturadas por microscopía óptica de *Nosopsyllus fasciatus* aislados de *Neovison vison*, observándose su cuerpo completo (4x). (A) *N. fasciatus* hembra; (B) *N. fasciatus* macho. Se destaca la gran diferencia de tamaño entre ellos.



Anexo 11. Imágenes capturadas por microscopía óptica donde se observan las partes posteriores de pulgas *Nosopsyllus fasciatus* aisladas (40x). (A) Hembra con su espermateca (E). (B) Macho con su órgano copulador o *Aedeagus* (Ae).



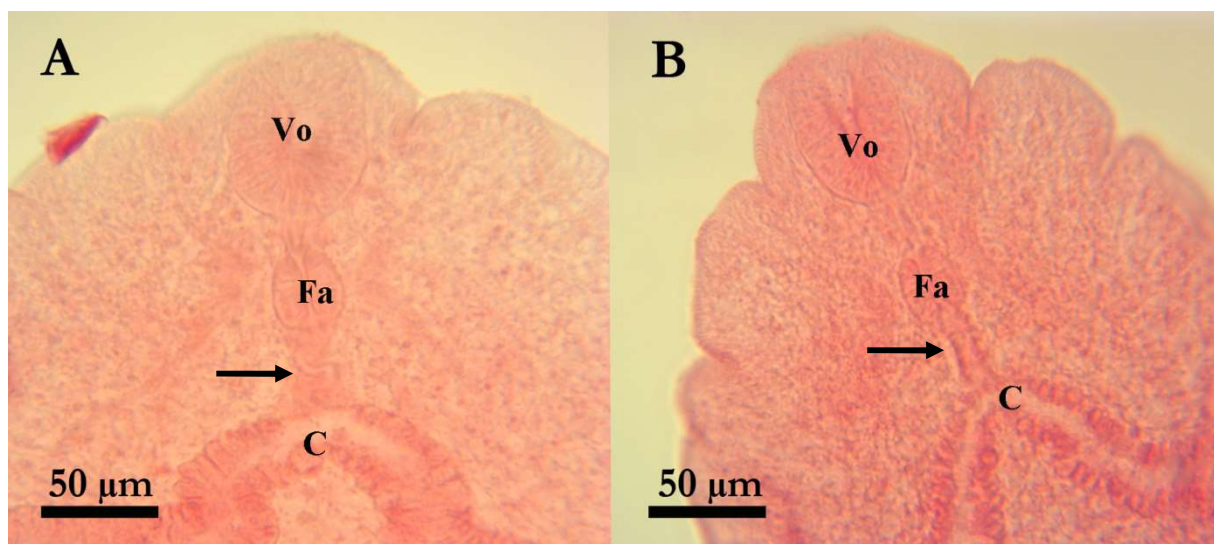
Anexo 12. Información de ejemplares de visón americano (*Neovison vison*) de la región de Los Ríos, a los cuales se les analizó por triquinoscopía. Donde M= Visón Macho; H= Visón Hembra; A= Adulto; J= Juvenil; AM= Adulto mayor.

<i>Trichinella sp.</i>						
N°	N° SAG	Procedencia	Fecha Eutanasia	Sexo	Edad	Resultado
1	210	Cocule	22-02-2016	H	A	Negativo
2	211	Cocule	22-02-2016	M	A	Negativo
3	215	Punucapa	23-02-2016	H	A	Negativo
4	217	Yaquito	23-02-2016	H	A	Negativo
5	250	Cocule	29-02-2016	H	A	Negativo
6	251	Catamutún	01-03-2016	M	A	Negativo
7	259	Isla Teja	02-03-2016	M	A	Negativo
8	262	Futa	29-02-2016	M	A	Negativo
9	271	Filuco	03-03-2016	M	AM	Negativo
10	274	Cadillal	03-03-2016	M	A	Negativo
11	282	Isla Teja	07-03-2016	M	A	Negativo
12	286	Pto. Trumao	07-03-2016	H	AM	Negativo
13	287	Pto. Trumao	07-03-2016	M	A	Negativo
14	289	Yaquito	07-03-2016	H	A	Negativo
15	296	Pto. Trumao	07-03-2016	M	A	Negativo
16	487	Cocule	02-05-2016	M	A	Negativo
17	488	Yaquito	02-05-2016	M	A	Negativo
18	489	Pto. Trumao	02-05-2016	M	A	Negativo
19	490	Pto. Trumao	02-05-2016	M	A	Negativo
20	491	Pto. Trumao	02-05-2016	M	A	Negativo
21	492	Pto. Trumao	02-05-2016	M	A	Negativo
22	493	Isla Huape	02-05-2016	M	A	Negativo
23	496	Cadillal	03-05-2016	M	A	Negativo
24	498	Pto. Trumao	03-05-2016	M	A	Negativo
25	500	Quitaqui	04-05-2016	M	A	Negativo
26	503	Santa Bárbara	05-05-2016	H	AM	Negativo
27	515	Santa Bárbara	16-05-2016	M	A	Negativo
28	516	Los Molinos	16-05-2016	M	A	Negativo
29	517	La Estancilla	16-05-2016	H	A	Negativo
30	524	Huifco	23-05-2016	M	A	Negativo
31	525	Cocule	23-05-2016	M	AM	Negativo
32	572	Futa	07-06-2016	M	A	Negativo
33	573	Cocule	07-06-2016	H	A	Negativo
34	574	Cocule	07-06-2016	H	A	Negativo

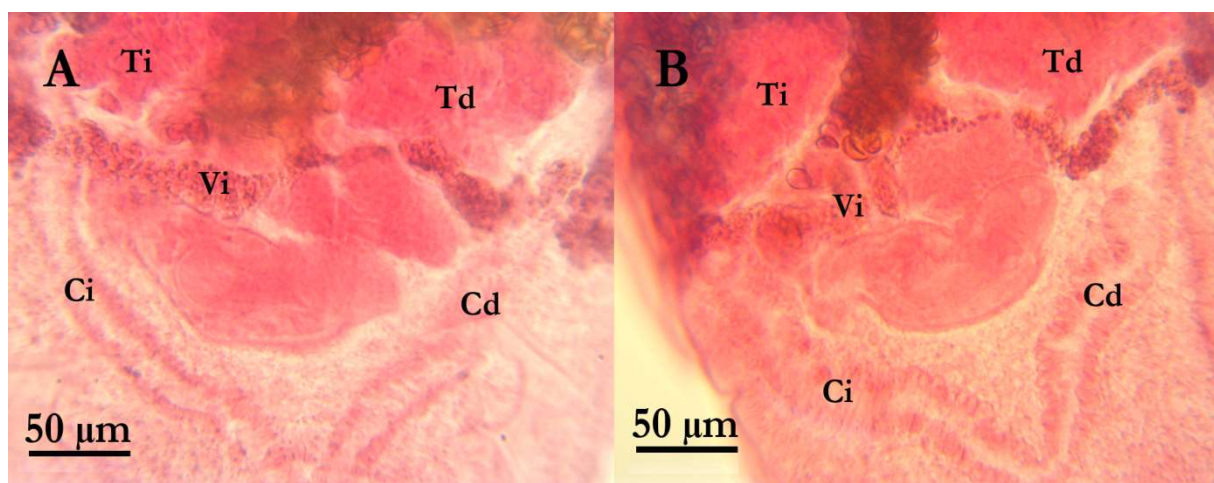
Anexo 12 (Continuación). Donde M= Visión Macho; H= Visión Hembra; A= Adulto; J= Juvenil; AM= Adulto mayor.

N°	N° SAG	Procedencia	Fecha Eutanasia	Sexo	Edad	Resultado
35	622	Club Yates	05-07-2016	M	A	Negativo
36	624	Futa	04-07-2016	M	A	Negativo
37	692	Punucapa	01-08-2016	H	A	Negativo
38	701	Punucapa	01-08-2016	H	A	Negativo
39	714	Cadillal alto	10-08-2016	M	A	Negativo
40	797	Los Lagos	13-09-2016	M	A	Negativo
41	798	Las Juntas	13-09-2016	M	A	Negativo
42	799	Los Hornitos	13-09-2016	M	A	Negativo
43	848	Cadillal	06-10-2016	M	A	Negativo
44	849	Los Conales	06-10-2016	M	A	Negativo
45	850	Mantilhue	06-10-2016	M	A	Negativo
46	915	Sta. Bárbara	16-12-2016	M	A	Negativo
47	930	Sto. Domingo	27-12-2016	M	J	Negativo
48	931	San Pedro	27-12-2016	H	J	Negativo
49	932	Huellehue	27-12-2016	M	A	Negativo
50	946	Regina	27-12-2016	H	A	Negativo
51	947	Pto. Trumao	27-12-2016	M	A	Negativo
52	949	Regina	27-12-2016	M	A	Negativo

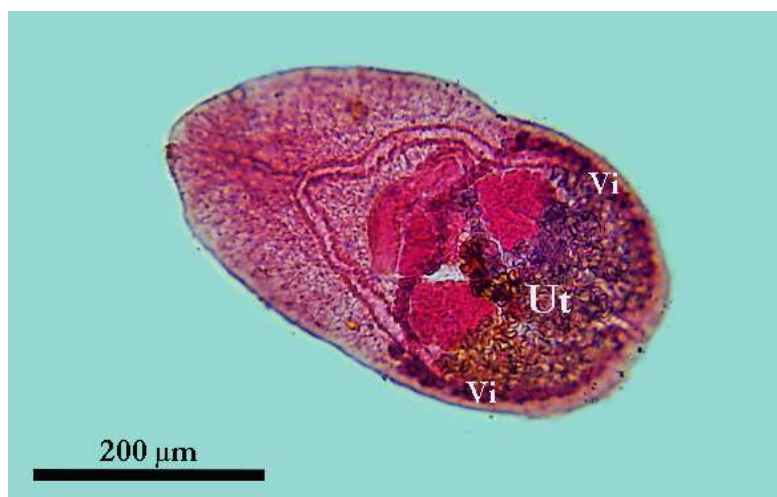
Anexo 13. Imágenes capturadas por microscopía óptica (40x) (TCAS), donde se observa el extremo oral de ambas especies de *Maritrema* sp. con sus respectivas ventosas orales (Vo) y esófagos ubicados entre faringe (Fa) y ciegos (C). (A) Se observa *Maritrema buillini* con su esófago largo y curvo (Flecha); (B) Se observa *Maritrema patagonica* con su esófago corto y recto (Flecha).



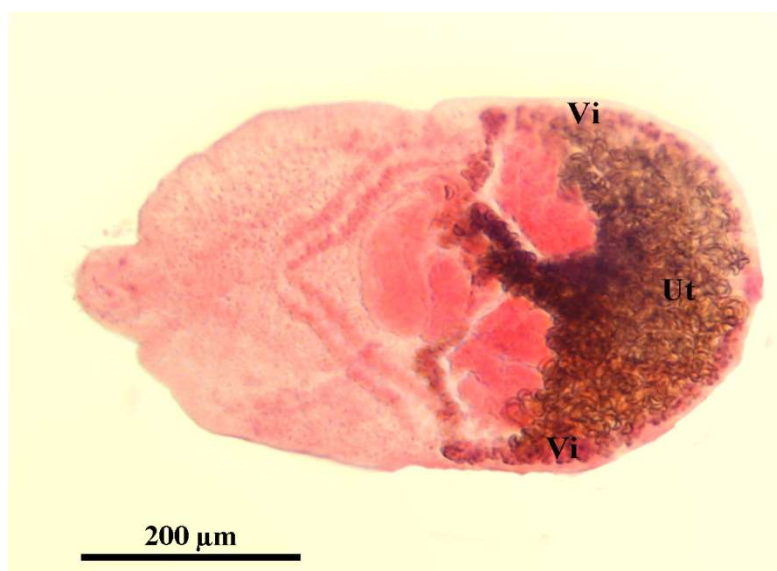
Anexo 14. Porción media de *Maritrema buillini* (A) y *Maritrema patagonica* (B) (40x) (TCAS), destacándose ambos ciegos (Cd-Ci), y su relación anatómica con los testículos (Td-Ti) y vitelaria (Vi).



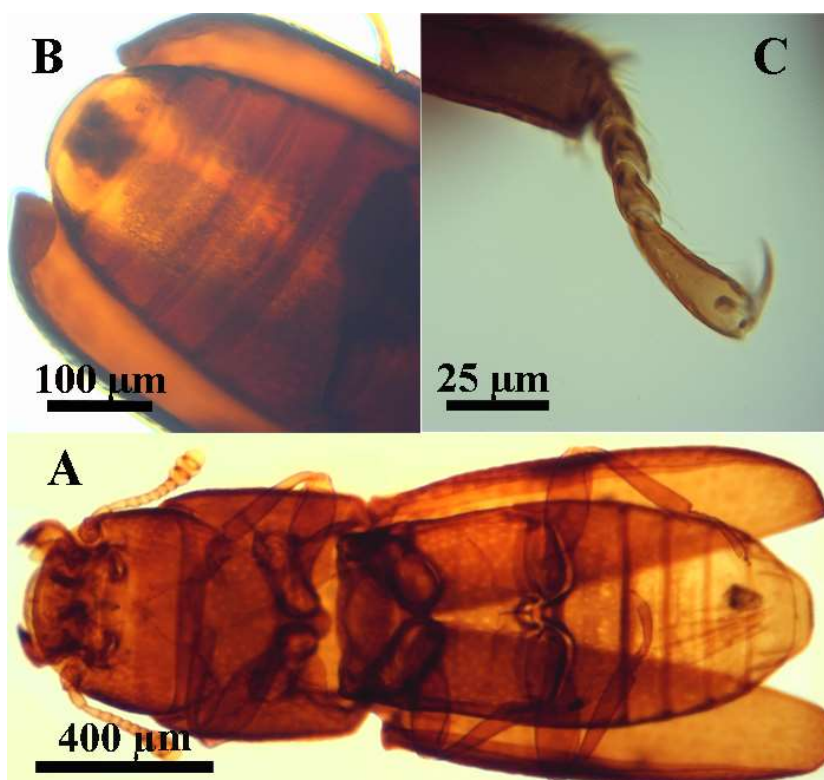
Anexo 15. Cuerpo completo de *M. buillini* presente en visión americano, donde se destaca su vitelaria (Vi), rodeando al útero (Ut) (10x) (TCAS).



Anexo 16. Cuerpo completo de *Maritrema patagonica* presente en visión americano, en donde se destaca su vitelaria (Vi), rodeando al útero (Ut) (10x) (TCAS).



Anexo 17. Imágenes microscópicas capturadas de ejemplares de escarabajos identificados (Familia Mycetophagidae). (A) Cuerpo entero (Vista dorsal) (4x). (B) Porción posterior (Vista ventral), observándose la superficie abdominal (25x). (C) Última porción de sus extremidades específicamente los tarsos (40x).



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, Jeannette, Sergio, Sebastián y Vanessa, ya que sin ustedes nada de esto sería posible; incentivándome desde pequeña a seguir mis sueños y aspiraciones. Gracias por celebrar mis triunfos, y por levantarme luego de las derrotas. Gracias por su apoyo incondicional, su amor y sus palabras de aliento, que aunque estando muy lejos, se sintieron como si estuviésemos cerca. Los quiero y adoro con todo mi ser.

Agradezco también a mi segunda familia, los Painean-Peña (Georgina, Pascual, Rita y tía Marta), quienes me recibieron en Valdivia y me abrieron las puertas de su hogar, haciéndome sentir como una más de la familia. Gracias por el cariño que me brindan día a día; gracias a ustedes es que me siento como una “Maucha-Valdiviana”. Los quiero mucho.

Agradezco a la familia parasitológica, a la Dra. Pamela Muñoz, por su constante apoyo, confianza, cariño, y por guiarme para lograr ser una buena profesional. A Pablo Oyarzún por la gran ayuda y colaboración que me prestó, de principio a fin; a Don Luis, Pauli, Óscar, Arelis, Gustavo y Aurora, muchas gracias por todas las risas y buenos momentos.

Por supuesto, darles mi infinitas gracias al “Team Visón” de SAG-RENARE, al Dr. Eduardo Raffo, Carla Marchese, Diego Gallardo, Alonso, Eduardo y Luisa, quienes me ayudaron a comenzar con este trabajo, enseñándome el tema desde sus inicios. Gracias por todos los buenos momentos, y por el estupendo recibimiento que me brindaron.

Gracias a todos mis amigos, comenzando por mi Kim, cuyos años de amistad permanecen intactos con el tiempo, junto con el tremendo cariño que siento por ella; gracias por tu apoyo y sabiduría, te quiero mucho amiga. También agradezco a Maricela, Paula, Nicolle y Jaqueline, quienes me acompañaron y me apoyaron en muchas decisiones de mi vida. Gracias a mis amigos colegas, Mary, Vanette, Camila, Catalina, Cristian, Ricardo, Luis, Renata, Constanza y todos aquellos con quienes compartí momentos importantes durante mi vida universitaria; gracias a todos ustedes por las risas y los llantos, y por estar en las buenas y en las malas.

Por último, le agradezco a mi compañero de vida, amigo, partner, cómplice, media naranja, mi cable a tierra, y amor de mi vida. Hace 7 años que estoy enamorada de ti, y espero que ese sentimiento no cambie nunca. Gracias Javier por todo el apoyo que siempre me has dado, y por seguirme en mis sueños y aspiraciones, haciéndolas tuyas. Te amo y te adoro. Espero que junto a nuestra Lucy preciosa, sigamos siendo la bella familia que somos ahora.