

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Identificación de *Corynosoma* sp. (Acanthocephala, Polymorphidae) en
pescado blanco de interés económico y su importancia zoonótica**

Edwin Martin Dávila Rios

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Asesora: Mg. Rosa Martínez Rojas

Lima, Perú

2021

DEDICATORIA

A mis abuelitos Mario y Rosario

Por el cariño y apoyo incondicional.

A mis Padres Edwin, Gina y a mis amigos

Aarón, Andrea y Samantha.

AGRADECIMIENTOS

A mis abuelitos Mario Dávila y Rosario Paredes por el apoyo emocional en las situaciones que la vida presenta y darme el respaldo necesario para alcanzar mis objetivos.

A mis padres Edwin Dávila y Gina Ríos por tenerme paciencia en este largo camino de estudios y el soporte brindado.

A mi asesora de tesis la Dra. Rosa Martínez Rojas por aceptarme como tesista y ser una gran maestra y guía desde que empezó esta investigación.

Al biólogo y amigo Aarón Mondragón por compartir sus conocimientos y el apoyo brindado en este estudio.

Al laboratorio de Parasitología de Fauna Silvestre y Zoonosis de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por permitirme desarrollar el proyecto en sus instalaciones y las facilidades brindadas.

RESUMEN

La corinosomiasis es una zoonosis menor causada por acantocéfalos parásitos del género *Corynosoma* Lühe, 1904 (Polymorphidae), infección adquirida a través del consumo de carne cruda de peces marinos. El presente trabajo tiene como objetivo identificar la presencia de *Corynosoma* sp. en pescados blancos de interés económico y su importancia zoonótica durante los meses de verano del año 2018 en el Perú. Para ello, se muestrearon 35 individuos de cada especie de pez: *Paralichthys adspersus* “lenguado”, *Paralabrax humeralis* “cabrilla” y *Cheilodactylus variegatus* “pintadilla” procedentes del terminal pesquero de Chorrillos. Además, se trabajó material codificado procedentes del puerto de San Andrés, Pisco, Ica. Los especímenes parasitarios fueron identificados por sus características morfológicas y microfotografiados por Microscopia Electrónica de Barrido (MEB). Se aislaron 203 larvas cistacantos presentes en *P. humeralis* con una prevalencia de (67.71%), 235 (54.29%) en *C. variegatus* y 71 (42.86%) en *P. adspersus*. Se utilizó el Kit comercial (ADN DNeasy tissue Kit de Qiagen, USA) para extraer el ADN genómico y se amplificó por PCR usando el gen citocromo c oxidasa subunidad 1 (*cox1*). El análisis genético permitió identificar la presencia de la especie *Corynosoma australe* (= *Corynosoma obtuscens*) en 17 muestras, para ello, se obtuvieron secuencias con fragmentos de 594, 639 y 660 pb. La construcción del árbol filogenético fue soportada usando maximun likelihood modelo Kimura-2 parámetros, donde las secuencias se agruparon en un clado hermano con secuencias nucleotídicas depositadas en el GenBank con valores de bootstrap mayores a 91% de similitud. En conclusión, se proporciona por primera vez una data molecular identificada con el marcador genético *cox1* a *C. australe* aisladas de tres especies de peces de interés comercial con una alta incidencia frente a las costas del mar peruano.

Palabras clave: *Corynosoma australe*, corinosomiasis, cistacanto, gen *cox1*, peces teleósteos.

ABSTRACT

Corinosomiasis is a minor zoonosis caused by acanthocephalus parasites of the genus *Corynosoma* Lühe, 1904 (Polymorphidae), an infection acquired through the consumption of raw meat of marine fish. Aimed to identify the presence of *Corynosoma* sp. in white fish with economic interest and the zoonotic importance during 2018 summer season in Peru. For that, 35 individuals of each fish were collected: *Paralichthys adspersus* “lenguado”, *Paralabrax humeralis* “cabrilla” y *Cheilodactylus variegatus* “pintadilla” from the Chorrillos fishing terminal. In addition, coded material from the port of San Andrés Pisco, Ica, was also analyzed. The Parasitic specimens were identified by morphological characteristics and were microphotographed using Scanning Electron Microscopy (SEM). 203 cystacanth larvae were isolated from *P. humeralis* with a prevalence of (67.71%), 235 (54.29%) from *C. variegatus* and 71 (42.86%) from *P. adspersus*. The commercial Kit (DNA DNeasy tissue Kit from Qiagen, USA) was used to extract the genomic DNA and it was amplified by PCR using the cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene. The genetic analysis included identifying the presence of the species *Corynosoma australe* (= *Corynosoma obtuscens*) in 17 samples, for this, sequences with fragments of 594, 639 and 660 bp were obtained. The construction of the phylogenetic tree was supported using Kimura-2 model maximum likelihood parameters, where the sequences were grouped in a sister clade with nucleotide sequences deposited in the GenBank with bootstrap values higher than 91% similarity. In conclusion, for the first time, molecular information identified with the genetic marker cox1 a *C. australe* isolated from three species of fish of commercial interest with a high incidence on the Peruvian sea coast.

Key words: *Corynosoma australe*, Corinosomiasis, cystacanth, cox1 gene, teleost fish.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE TABLAS	11
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Planteamiento del problema	14
1.2. Formulación del problema	14
1.3. Justificación	14
1.4. OBJETIVOS.....	16
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	16
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
II. MARCO TEÓRICO.....	17
2.1. Corynosomiasis	18
2.2. Agente etiológico	19
2.2.1. Características morfológicas básicas	19
2.2.2. Ciclo de vida	20
2.2.3. Distribución geográfica.....	22
2.2.4. Prevalencia.....	22
2.3. Clasificación taxonómica	23
2.4. Diagnóstico	24
2.4.1. Importancia de un diagnostico especifico	24

2.4.2. Diagnóstico morfológico	24
2.4.3. Diagnóstico molecular	25
2.5. Importancia clínica	25
2.6. Control y prevención	26
2.7. Hospederos	27
2.7.1. El lenguado <i>Paralichthys adspersus</i>	27
2.7.2. La Cabrilla <i>Paralabrax humeralis</i>	29
2.7.3. La Pintadilla <i>Cheilodactylus variegatus</i>	30
2.7.4. <i>Otaria byronia</i> (= <i>Otaria flavescens</i>) “lobo marino de Sudamérica”	31
III. ANTECEDENTES	33
IV. HIPÓTESIS	36
V. MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1. Lugar de ejecución	37
5.2. Tipo y diseño metodológico	37
5.3. Variables	37
5.4. Operacionalización de las variables	38
5.5. Muestreo	38
5.6. Procedimiento y análisis de datos	39
5.6.1. Obtención del parásito	39
5.6.2. Preservación y fijación del parásito	40
5.6.3. Estudio a microscopia de luz y microscopia electrónica de barrido	40
5.6.4. Preparación de muestras para análisis molecular	41
5.6.5. Extracción de ADN	41

5.6.6. Amplificación del ADN mediante PCR convencional.....	42
5.6.7. Electroforesis.....	43
5.6.8. Secuenciamiento del gen Cox1.....	43
5.6.9. Identificación molecular.....	43
5.6.10. Análisis bioinformática.....	44
5.7.Aspecto ético.....	44
VI. RESULTADOS.....	45
6.1.Análisis parasitológico	45
6.2.Identificación morfológica de la larva cistacanto	46
6.3.Identificación morfo-anatómica.....	48
6.4.Espectrofotometría y electroforesis	50
6.5.Amplificación de ADN mediante PCR convencional	52
6.6.Identificación molecular	53
6.6.1. Análisis filogenético	53
VII. DISCUSIÓN	55
VIII. CONCLUSIONES	60
IX. RECOMENDACIONES	61
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
XI. ANEXOS	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Ciclo de vida de <i>Corynosoma sp.</i>	21
Fig.2. Cistacanto de <i>Corynosoma</i> . (A) Cuerpo completo de cistacanto, teñido con carmín acético de Semichon y sin teñir (B) Cuello, (C) Probóscide, (D) Filas de ganchos, (E) Superficie dorsal, (F) Espina ventral, (G) Espinas genitales y (H) Poro genital.....	47
Fig.3. (A) Distribución de espinas en el cuerpo, (B) Probóscide con ganchos (C)Espinas genitales, (D) Cuello espinado y (E) Espinas en la zona ventral.....	48
Fig.4. (A) Cuerpos completos de cistacantos sin coloración. (B) probóscide sin coloración.....	49
Fig.5. Electroforesis en gel de agarosa al 1.0 % del ADN extraído de larvas de cistacantos de <i>Corynosoma sp.</i> Se aprecian bandas intensas de ADN genómico total con smear. (A) Pocillos con ADN (1-6) y el control (-). (B) Con ADN (7-10), (C) con ADN (11-17). PM (Peso Molecular de 100 – 5 000 pb).....	51
Fig.6. Electroforesis del amplificado en gel de agarosa al 1.5%. (A) y (B) Carril del 1-19 productos de 623 pb aprox. del gen <i>Cox1</i> del ADN de cistacantos de <i>Corynosoma</i> . Carril P.M (Peso Molecular) GeneRuler Express DNA Ladder (#SM 1551).....	52
Fig.7. Construcción de árbol filogenético a partir de secuencias de nucleótido parciales de <i>cox1</i> usando maximun likelihood modelo Kimura 2 parámetros. Valores de Bootstrap (10 000 repeticiones) se muestran en las ramas. <i>Andracantha phalacrocoracis</i> es usado como grupo externo. Se indican todos los números de acceso al GenBank de las secuencias utilizadas para construir el árbol.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de origen de las muestras de larvas cistacanto.....	39
Tabla 2. Índices parasitarios de cabrilla, pintadilla y lenguado.....	45
Tabla 3. Promedio de la concentración de ácidos nucleicos y rango de medidas de absorbancia.....	50

I. INTRODUCCIÓN

El mar peruano pertenece a un sector del océano pacífico con una amplitud de 200 millas marinas y está reconocido entre los más ricos del mundo debido a la corriente de Humboldt, siendo esta una masa de agua fría que llega al mar aportando consigo una gran cantidad de nutrientes, fitoplancton y zooplancton, que son microorganismos que constituyen el alimento fundamental para las especies marinas generando así una gran biodiversidad de peces, moluscos, crustáceos y algas. La riqueza de nuestro mar se demuestra en la gastronomía del Perú y ello a su vez favorece el desarrollo de la industria pesquera tanto artesanal como industrial.

Dentro de la gran lista de peces que presenta nuestro litoral tenemos tres especies con gran importancia socioeconómica y son utilizadas en la alimentación de las familias peruanas: El lenguado *Paralichthys adspersus* presenta una alta demanda e importancia comercial debido a que este pez posee una carne blanca y magra, por lo que es muy apreciado, entre los peces marinos es uno de los que tiene mayor valor (Mejía *et al.*, 1970), pudiendo comercializarse hasta en S/.80.00 nuevos soles el Kg.

La Cabrilla *Paralabrax humeralis* es una de las principales especies dentro de la pesquería demersal, su carne se considera de buena calidad y es utilizado en la alimentación. Debido a que es una especie con gran demanda en el mercado nacional, se promueve la investigación sobre su biología con el fin de generar tecnologías para su cultivo.

La Pintadilla *Cheilodactylus variegatus* es muy codiciado por la población peruana debido al bajo costo. El precio promedio anual registrado entre los años 2014 y 2017 oscilan entre los S/. 9.40 y S/. 12.50 nuevos soles el Kg.

Los peces marinos de consumo humano, en su mayoría pueden ser portadores de formas larvarias de parásitos que completan su ciclo biológico en mamíferos marinos (Rice, 1998).

Algunas de estas formas larvarias pueden infectar al hombre y dar lugar al desarrollo del parásito adulto ocasionando pérdidas socioeconómicas, ya sea por la transmisión al humano de patógenos de importancia en salud pública o aquellas que, al estar presentes, pueden ocasionar el deterioro o daño del producto, el cual debe ser descartado de las líneas de comercio o producción, según lo establece la normativa sanitaria vigente. El riesgo de infección parasitaria es grande cuando se consume pescados crudos, pescados que no haya sido cocido correctamente o sometidos a un congelamiento insuficiente, ya que podrían contener larvas infectivas de helmintos. Es así como se puede desarrollar una ictiozoonosis en el ser humano y causar diferentes malestares.

Corynosomiasis es una enfermedad zoonótica causada por parásitos pertenecientes al género *Corynosoma*. La vía de infección es por la ingesta de peces marinos que estén infectados con este espécimen. *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) ha sido reportado en Alaska, en el mar Caspio (Amin, 2011) y *Corynosoma validum* Van Cleave, 1953 recientemente encontrada en el íleon de un paciente en Hokkaido, Japón (Kaimoto, 2018).

De los acantocéfalos que son transmitidos por peces, el género *Corynosoma* se ha registrado que, durante su ciclo de vida, los huevos son ingeridos por un invertebrado, que a su vez sirve de alimento a varias especies de vertebrados. La larva infectiva (cistacanto) puede albergarse en peces, y el adulto se desarrolla comúnmente en mamíferos marinos (Kuzmina, 2018).

En el Perú, es común encontrar el estadio juvenil de *Corynosoma sp.* enquistado o libre en la superficie visceral de numerosos peces de importancia comercial, mientras que el estadio adulto se localiza en el intestino grueso de pinnípedos.

1.1. Planteamiento del problema

En el Perú, se ha registrado una importante y variada fauna parasitaria, relacionada a los peces que son altamente consumidos por nuestra población.

La demanda de peces para el consumo humano aumenta cada vez más en nuestro país gracias al desarrollo y la constante innovación de la gastronomía peruana, por eso existen especificaciones en técnicas de fecundación, crianza y desarrollo para las diferentes especies de peces y así obtener un ejemplar en óptimo estado para el consumo o comercio. Los parásitos atentan contra estos objetivos ya que se ha demostrado que en otros países la presencia de estadios juveniles del género *Corynosoma* en peces de consumo humano pueden causar problemas de salud con complicaciones en el tracto digestivo, pérdidas socioeconómicas y daño del producto para el comercio. En el Perú se ha reportado a *Corynosoma sp.* en la superficie visceral y musculatura de los peces de consumo común, considerándose que podría ser potencialmente zoonótico .

1.2. Formulación del problema

En el Perú, existen pocos estudios con relación de la presencia de larvas parasitarias del género *Corynosoma* en peces, siendo en su totalidad estudios a nivel taxonómico. Por este motivo, proponemos realizar una identificación genética de esta especie aplicando técnicas moleculares, utilizando la larva cistacanto aislada de peces de alto interés comercial para posteriores estudios epidemiológicos moleculares.

1.3. Justificación

En nuestro país, son muy pocos los estudios relacionados con las zoonosis transmitidas a través del consumo de productos marinos crudos o semi crudos y mucho menos estudios sobre enfermedades descuidadas o no registradas como la “corynosomiasis” ya que es un género poco estudiado. A pesar que la carne de pescado cruda es la fuente principal de platos típicos y de alto consumo en el Perú, podrían tener un impacto insospechado en la salud pública con posibles manifestaciones gastrointestinales no reportadas.

En Trujillo se reportaron los primeros 4 casos humanos de un acantocéfalo identificado como *Profilocollis altmani* parasitando al ser humano, siendo el primer informe en el mundo sobre infección humana de este acantocéfalo.

Por este motivo, realizar diagnósticos rápidos y altamente confiables de formas larvianas parasitarias aisladas de peces debe ser considerada importante, ya que, puede ser una causa potencial de dolencias del tracto gastrointestinal que se ignora luego del consumo de pescado crudo y/o mariscos en países altamente pesqueros.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Identificar a *Corynosoma sp.* en pescado blanco *Paralichthys adspersus*, *Paralabrax humeralis* y *Cheilodactylus variegatus* de interés económico y de relevancia zoonótica.

1.4.2. Objetivos específicos

- Identificar por morfología a *Corynosoma sp.* mediante claves taxonómicas.
- Identificar a *Corynosoma sp.* utilizando Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).
- Determinar molecularmente la especie de *Corynosoma* utilizando el gen *cox1*.
- Construir un árbol filogenético con las secuencias del gen *cox1* amplificado a partir del ADN obtenido de las muestras procesadas.
- Confirmar si la especie *C. australe* es una sinonimia de *C. obtucens*.

II. MARCO TEORICO

El mar peruano está reconocido entre los más ricos del mundo contando con más de mil especies de peces, además de moluscos, crustáceos y algas, esta riqueza se ve reflejado en la gastronomía del Perú que muestra una amplia diversidad de platos a base de pescado crudo entre ellos el ceviche, tiradito y sashimi.

El parasitismo en peces ocasiona grandes pérdidas socioeconómicas debido al deterioro o daño del producto, el cual debe ser descartado de las líneas de comercio o producción o por la transmisión al humano de patógenos de importancia en salud pública (Serrano *et al.*, 2017). Estas parasitosis que son causadas por la ingesta de carne de pescado cruda se denominan *ictiozoonosis*. Entre ellas, de acuerdo con (Coombs y Crompton, 1991; Ashford y Crewe, 2003), se conocen 95 parasitosis producidas por especies de helmintos como los platelmintos, nematodos y acantocéfalos.

Los acantocéfalos son parásitos estrictos de vertebrados y su forma larvaria se desarrolla en un hospedero intermediario invertebrado. El hombre puede infectarse con estos parásitos; por esta razón, el estudio de los acantocéfalos también tiene importancia en el bienestar y la salud. En nuestro país se conocen muy pocas especies, registrando hasta la fecha solo 25, mayormente de animales de vida silvestre (Tantaleán *et al.*, 2005).

Inohuye R, *et al.* (1995) indican que *Corynosoma sp.* presenta un cuerpo pequeño claviforme, con una porción anterior del tronco ensanchada y aplanada con forma de disco o bulbo. Con presencia de espinas en el cuerpo y una probóscide que se eleva desde el bulbo del tronco y se dobla ventralmente. Los ganchos de la probóscide están dispuestos entre 14-28 hileras con 8-18 ganchos cada una.

Es común encontrar el estadio juvenil de *Corynosoma obtuscens* Lincicome, 1943 enquistado o libre en la superficie visceral de numerosos peces de importancia comercial, mientras que el estadio adulto se localiza en el intestino grueso de lobos marinos. También infecta en forma natural a hospederos no habituales como el perro doméstico, al que causa lesiones intestinales por medio de su probóscide y el zorro, *Pseudolopex culpaeus*.

Corynosoma australe Johnston 1937 se ha registrado en nuestro país (Tantaleán *et al.*, 1994). Durante su ciclo de vida, los huevos son ingeridos por un invertebrado, que a su vez sirve de alimento a varias especies de vertebrados. La larva infectiva (*cistacanto*) puede albergarse en peces y el adulto se desarrolla comúnmente en mamíferos marinos.

Es de interés nacional mantener actualizada la data de la fauna parasitaria presente en las especies hidrobiológicas destinadas al consumo humano directo o indirectamente, con la finalidad de establecer estudios experimentales orientados a conocer los hospederos definitivos no naturales en que se desarrolla los parásitos, así como la capacidad infectiva y su relación con la infección humana (Serrano *et al.*, 2017).

2.1. Corynosomiasis

La corinosomiasis es una zoonosis menor causada por acantocéfalos parásitos del género *Corynosoma* Lühe, 1904 (Polymorphidae), infección adquirida a través del consumo de carne cruda de peces marinos. Este género incluye a más de 40 especies y típicamente se reproducen en mamíferos acuáticos y aves, pero una especie *C. seropedicus* Machado Filho, 1970, se reportó en perros, sin embargo, se consideran hospederos accidentales (Noronha, 1988).

Uno de los primeros casos registrados es por *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) en Inuit Alaska (Schmidt, 1971), y actualmente se ha aislado a *Corynosoma validum* Van Cleave, 1953 del fíleon de un paciente en Hokkaido, Japón (Takahashi *et al.*, 2016).

Se reportó un caso peculiar de corinosomiasis en un hombre de 73 años de edad diagnosticado por endoscopia, los resultados de los exámenes determinaron especies no identificadas de *Corynosoma* sp. y *Corynosoma villosum* aislados del intestino delgado, además, el diagnóstico endoscópico sugirió relevancia entre el dolor abdominal y las infecciones presentes en el intestino delgado. Los acantocéfalos aislados estaban compuestos de hembras grávidas con huevos desarrollados, lo que sugiere que estos parásitos pueden sobrevivir durante mucho tiempo en el intestino después de la infección. En este caso, el breve intervalo entre infecciones parece deberse a los hábitos alimenticios del individuo, que consistían en consumir regularmente mariscos crudos (Fujita *et al.*, 2016).

2.2. Agente etiológico

2.2.1. Características morfológicas básicas

Desde una perspectiva evolutiva y funcional, la morfología de la mayoría de parásitos está relacionada por la necesidad de un anclaje eficaz a sus hospederos. Los acantocéfalos en particular, han desarrollado una probóscide armada con ganchos que se anclan al intestino de su hospedero definitivo (Sinisalo y Valltonen, 2003). Especies como *Corynosoma* Lühe, 1904 infectan a un gran grupo de mamíferos marinos y aves alrededor del mundo. La morfología de este grupo es peculiar presenta un tronco anterior inflado y doblado ventralmente dándole una apariencia de pipa, la parte ventral del tronco está recubierta por espinas que da el soporte y estabilidad en el sustrato a la hora de utilizar la probóscide para el momento del anclaje. (Aznar *et al.*, 2018).

Hernández-Orts *et al.* (2016), describe las diferentes características en los estadios del género *Corynosoma*. Los adultos son de coloración blanquecina, hembras de mayor tamaño que los machos, probóscide subcilíndrica armada con 21-24 filas longitudinales con 11-13 ganchos. Cistacantos presentan un mismo tamaño en machos y hembras con probóscide subcilíndrica armada con 18 filas longitudinales con 12-13 ganchos.

2.2.2. Ciclo de vida

Los acantocéfalos presentan un ciclo de vida indirecto, en las especies acuáticas, los peces o aves pueden ser sus hospederos definitivos y los crustáceos actúan como hospederos intermediarios. Se da inicio mediante una larva acantor parcialmente formada en el huevo, cuando este es ingerido por un invertebrado termina su desarrollo, perfora el intestino de su hospedero y se ubica en el hemocele donde se transforma en una segunda larva que es la acantela, la cual forma una probóscide rudimentaria (Skorobrechova *et al.*, 2012). La acantela se desarrolla en otra forma larvaria, el cistacanto, cuando se rodea de una membrana producida por el crustáceo, convirtiéndose entonces en la forma infectiva (Nikishin *et al.*, 2007). Cuando el hospedero intermediario es ingerido por un pez que puede actuar como hospedero definitivo, el cistacanto abandona su cubierta, extiende su probóscide sujetándose al intestino del hospedero llevándose a cabo su madurez sexual y reproducción.

Aunque se desconocen los ciclos de vida completos de la mayoría de las especies de *Corynosoma*, la evidencia disponible de varias especies indica que los anfípodos bentónicos actúan como hospederos intermediarios para las etapas larvales, es decir, la acantela y el cistacanto (Zdzitowiecki y Presler, 2001). Los cistacantos de muchas especies de *Corynosoma* se han registrado en todo el mundo en una amplia gama de peces teleósteos

que se infectan al alimentarse de anfípodos infectados pudiendo servir como hospederos paraténicos cerrando la brecha trófica entre los hospedadores intermedios y definitivos (Laskowski y Zdzitowiecki, 2005), y que también pueden circular ampliamente a través de la red trófica a través de la transmisión de pez a pez (Hernández-Orts *et al.*, 2013).

Estos peces a su vez son ingeridos por mamíferos marinos que son hospederos definitivos, el más común es *Otaria byronia* (= *Otaria flavescens*) "león marino de Sudamérica". Los cistacantos se desarrollan a adultos en el intestino, se realiza la fecundación y comienzan a producir sus primeros huevos.

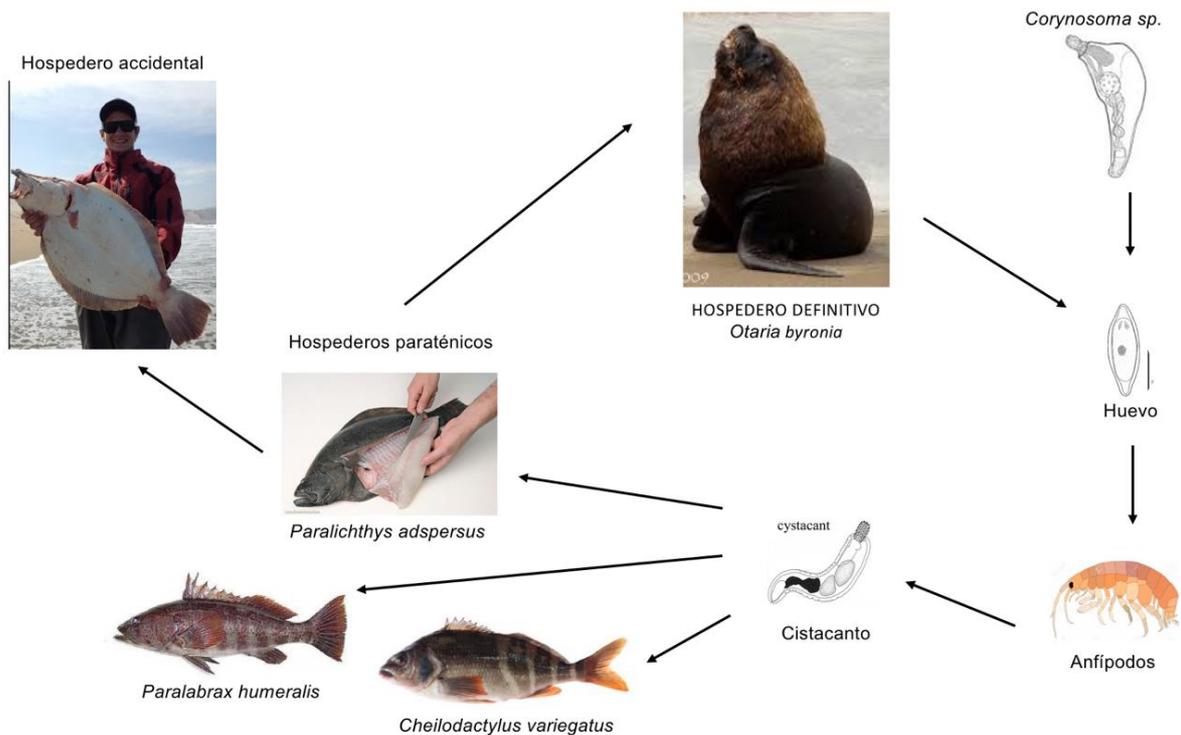


Fig.1. Ciclo de vida de *Corynosoma sp.*

2.2.3. Distribución geográfica

La distribución geográfica del acantocéfalo *Corynosoma* se asocia a aguas frías, ecosistemas boreales y templados, siendo la mayoría de casos en países bálticos, asiáticos, las costas del pacífico y atlántico (Nickol *et al.*, 2002).

El lobo marino sudamericano es uno de sus principales hospederos definitivos por esa razón, varias especies de *Corynosoma* están presentes en países como Ecuador, Perú, Chile, Argentina, Uruguay y el sur de Brasil. En el hemisferio norte se reporta presencia en México, Estados Unidos, Alaska y Canadá donde se encuentran especies parasitando a mamíferos marinos.

Este acantocéfalo también se encuentra en Europa principalmente en países que rodean el mar Báltico como Suecia, Finlandia, Rusia, Polonia, Alemania y Dinamarca. En Japón se detectaron casos de Corynosomiasis en humanos que fueron extraídos del intestino de pacientes con dolores ventrales (Fujita *et al.*, 2016).

2.2.4. Prevalencia

Las infecciones humanas por *Corynosoma* han sido reportadas casi exclusivamente en Japón en la isla Hokkaido, un hombre con dolor abdominal fue sometido a una proctoscopia donde se detectó un cuerpo extraño de color blanquecino (5mm) incrustado en el íleon; posteriormente, identificado molecularmente como *Corynosoma villosum* (Fujita *et al.*, 2016). Otro reporte, es de una mujer con bastante dolor abdominal y que no presentaba una enfermedad pre existente, fue sometida a una gastroduodenoscopia y colonoscopia en las cuales se encontró úlceras y un parásito (10mm) en el íleon que estaba fuertemente incrustado, posteriormente, fue identificado como *Corynosoma validum* correspondiendo el espécimen a

una hembra con la cavidad corporal llena de huevos (Takahashi *et al.*, 2016). En el Perú, se desarrolló un estudio experimental con *Corynosoma obtuscens*, orientado a conocer la capacidad infectiva en un hospedero definitivo no natural como el “perro domestico”. En este estudio se observó que *Corynosoma* presento una alta capacidad infectiva e inespecificidad para el hospedero definitivo, convirtiéndolo en un parasito potencial para el hombre (Castro y Martínez, 2004).

2.3. Clasificación taxonómica

Aznar *et al.* (2018), dividieron a *Corynosoma* en dos géneros, *Corynosoma* para especies marinas y *Pseudocorynosoma* para especies de agua dulce, basado en divergencias anatómicas, ecológicas y filogenéticas. (García-Varela *et al.*, 2009), demostraron que el *Pseudocorynosoma* es un linaje independiente que no comparte un ancestro común con *Corynosoma* o *Andracantha*.

En el Perú se conocen muy pocas especies de Acantocéfalos debido a que la información relacionada se encuentra muy dispersa, registrando hasta la fecha solo 25 especies y también a la falta de estudios sobre el género *Corynosoma* en el que solo se han detallado la presencia de 2 especies y una no identificada la especie (Tantaleán *et al.*, 2005).

- Phylum Acanthocephala (Rudolphi, 1808)
- Clase Palaeacanthocephala (Meyer, 1931)
- Orden polymorphida (Petrochenko, 1956)
- Familia Polymorphidae (Meyer, 1931)
 - Genero *Corynosoma* (Luhe, 1904)
 - *Corynosoma obtuscens* (Lincicome, 1943)
 - *Corynosoma australe* (Johnston, 1937)
 - *Corynosoma* sp.

2.4. Diagnóstico

2.4.1. Importancia de un diagnostico especifico

Para reducir la probabilidad de aparición de una infección, controlar su progresión o simplemente impedir que esta se de, es importante tener un diagnostico especifico para identificar a los parásitos y hospederos a nivel de especie que sumarian a tener un mejor entendimiento de la distribución actual de diferentes taxones.

El diagnóstico se basa en la demostración de la existencia de los huevos en las materias fecales que contienen el primer estadio. Con el método de concentración por centrifugación, se pueden observar mejor los huevos. El parásito adulto puede ser examinado cuando al paciente se le administra citrato de piperazina u otro antihelmíntico para que lo expulse del intestino. La identificación de las diferentes especies de acantocéfalos en las infra comunidades de helmintos puede realizarse mediante la técnica de los marcadores de ácido desoxirribonucleico (ADN) polimórficos amplificados al azar (RAPD). (Pelayo, 2008).

2.4.2. Diagnóstico morfológico

El diagnóstico de *Corynosoma* se basa principalmente en la observación bajo estereoscopio o microscopia electrónica donde se identifica la presencia de huevos de forma elíptica y de paredes gruesas que contienen el primer estadio larval o acantor. Los estadios de cistacanto y adulto son fácilmente identificados por la peculiar forma de pipa del cuerpo y la presencia de la probóscide armada con ganchos. Para este proceso son fijados en solución AFA (alcohol al 70% - formol - ácido acético glacial), preservados en alcohol al 70%, coloreados con carmín acético de Semichon o tricrómica de Gomori, y montados en bálsamo de Canadá.

Para la diferenciación entre especímenes y la determinación de sexo se puede dar mediante la medición corporal y si presentan la probóscide evertida se procede a identificar los patrones de

posición, contabilizar la cantidad de filas, el número de ganchos presentes, la longitud de los ganchos y la presencia u ausencia de espinas en el poro genital (Hernández-Orts *et al.*, 2012). Para tener un diagnóstico específico y confirmar la especie es necesario utilizar técnicas moleculares ya que las medidas pueden variar dependiendo de la especie y el hospedero en las que se encuentren.

2.4.3. Diagnóstico molecular

Los métodos moleculares son ampliamente utilizados en el diagnóstico debido a su especificidad y la posibilidad de evaluar un gran número de muestras en un corto tiempo. Es un método costoso y se necesita de profesionales capacitados, pero en la actualidad representa la herramienta más confiable para identificar muestras de *Corynosoma* a nivel de especie ya que las descripciones específicas de la taxa presentan varios rangos en medidas y patronaje de ubicación en los cuales uno se podría equivocar y dar un diagnóstico errado en el momento de la observación. También, se pueden aplicar para determinar los diferentes estadios de desarrollo del parásito esto nos permitiría rastrear los orígenes de las fuentes de infecciones humanas y obtener datos epidemiológicos moleculares según la ubicación geográfica.

2.5. Importancia clínica

Los acantocéfalos se encuentran ampliamente distribuidos dentro de la gran diversidad de peces presentes en el mar peruano. Sin embargo, el género *Corynosoma* cuyo estadio juvenil se encuentra enquistado o libre, principalmente sobre la superficie visceral de la mayoría de peces comerciales, siendo una zoonosis de importancia potencial en la salud del hombre.

La enfermedad en el hombre: El efecto patológico y la sintomatología de la infección humana han sido poco estudiados. Los casos registrados en China, que son los más abundantes, se refieren a casos extremos con cólicos abdominales agudos y perforación del intestino. En los

dos casos pediátricos más recientes, se debió efectuar una resección de una porción del yeyuno que tenía múltiples perforaciones (Leng *et al.*, 1983). Ikeh *et al.* (1992), reportaron sobre un paciente que se quejaba de debilidad, mareos ocasionales y sensación intermitente de quemadura alrededor del ombligo, sin embargo, generalmente los casos son asintomáticos y pasan desapercibidos.

La enfermedad en los animales: El parásito produce perforaciones en el intestino, úlceras y reacción inflamatoria que puede evolucionar hasta la necrosis y la formación de pequeños nódulos, a veces caseosos. Las manifestaciones clínicas dependen de la intensidad de la infección, del grado de penetración del parásito en la pared intestinal y sobre todo de la infección bacteriana secundaria. Los casos más graves se deben a la perforación del intestino, con la consiguiente peritonitis y muerte. En general, no se observan manifestaciones clínicas. En el visón, que es un hospedero accidental, *C. strumosum* produjo diarrea sanguinolenta y anemia (Leng *et al.*, 1983).

2.6. Control y prevención

El objetivo del control y de las medidas preventivas es irrumpir el ciclo de vida del parásito en cualquier punto y ser atacado (Fajer *et al.*, 2017). En la práctica, las medidas deberían centrarse en los siguientes puntos principales: el tratamiento antihelmíntico de las personas que albergan el parásito, ya que no se tiene un tratamiento específico contra *Corynosomiasis* y la prevención de la transmisión de larvas infecciosas de los peces a los seres humanos.

La prevención de la infección humana consiste en evitar la ingestión de pescado crudo ahumado o escabechado, pero esto sería algo utópico o irrealizable que no se daría. Para ello se cuenta con una Guía de Peligros y Controles de Pescado y Productos Pesqueros donde las

recomendaciones pueden parecer estrictas, pero es una forma de reducir la probabilidad de la aparición de la enfermedad, impedir o controlar su progresión.

Para una buena seguridad alimentaria el pescado debe estar bien cocido; alternativamente para prevenir la infección, tiene que estar congelado durante 24 a 48 h a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Recomendaciones rigurosas para matar los parásitos más resistentes a la congelación, nos indican que los productos pesqueros deben de estar a una temperatura por debajo de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 7 días o a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15h.

2.7. Hospederos

2.7.1. *Paralichthys adpersus* “lenguado”

Paralichthys adpersus “*el lenguado*” es una especie endémica de las costas del Perú y Chile que pertenece al orden Pleuronectiformes, en el cual se encuentran diferentes familias como *Achiridae*, *Bothidae*, *Cynoglossidae*, *Soleidae*, *Scophthalmidae*, *Pleuronectidae* y *Paralichthyidae*. En esta última, se ubica el género *Paralichthys* conformado por 17 especies distribuidas en ambas costas de América (Apari, 2019; Silva y Oliva, 2010). En Perú, *P. adpersus* es la única especie de este género registrada con una gran importancia en términos de abundancia y valor comercial, cuya distribución abarca desde Paita (Perú) hasta Lota e Islas Juan Fernández (Chile) (Angeles y Mendo, 2005; Iannacone *et al.*, 2012). Su alimentación esta basada en moluscos, peces pequeños, poliquetos, restos de cnidarios, huevos de otras especies (Flores *et al.*, 2013).

Presenta un cuerpo alto y elíptico, con dos lados diferentes: el ocular con escamas ctenoides (parte pigmentada, de color gris a gris marrón con manchas oscuras), y el lado ciego con escamas cicloides (parte sin pigmentación) (Fraysse y Petrarroia, 2013). También presenta una línea lateral fuertemente curvada en su porción inicial que continúa casi en línea recta hacia la región posterior. Posee una cabeza grande con el perfil casi recto, un hocico grande, un poco

más grande que el diámetro del ojo y branquiespinas cortas (Rubio, 2016). Las narinas ubicadas en la cara oculada son de pequeño tamaño y están situadas una al lado de la otra cercanas al perfil de la cabeza, similar a las narinas de la cara ciega. Cuenta con aletas dorsales alargadas que se originan a nivel de la mitad del ojo en los ejemplares adultos, aletas pectorales cortas cuya longitud corresponde casi a la mitad de la longitud de la cabeza en el lado oculado y casi un tercio de la longitud de la cabeza sobre el lado ciego; y aletas pélvicas en ambos lados subiguales (Kong y Castro, 2002).

Las hembras de *P. adspersus* presentan ovarios de gran tamaño, que ocupan hasta la región caudal del cuerpo. Tiene un desove parcial o fraccionado, con presencia de oocitos en diferentes estados de desarrollo durante la mayor parte del año. Desova con mayor intensidad desde fines de invierno a inicios de primavera (Acuña y Cid, 1995), cuando las temperaturas oscilan de 10,3 -16,8 °C en la zona sur de la bahía de Concepción, de 13 -17°C en la zona centro-norte de la bahía de Coquimbo (Ahumada y Chuecas, 1979). No presenta dimorfismo sexual marcado, salvo durante el proceso de maduración sexual cuando la hembra muestra un vientre abultado fácilmente identificable y los machos presencia de semen al ser manipulados (Balart, 1996). Sin embargo, Ángeles y Mendo (2005), reportan la presencia de un orificio genital en hembras sobre la línea media detrás del ano, inexistente en machos, que permitiría separarlos por sexos. Además, señalan un claro dimorfismo sexual respecto al crecimiento, alcanzando las hembras un mayor tamaño que los machos (Silva, 2010).

Los primeros estadios de desarrollo embrionario desde blástula (7 h 20 min), gástrula (20 h), néurula (26 h) a embrión (52 h), terminan cuando ocurre la eclosión del huevo que se produce entre las 54 y 62 horas post fecundación, dependiendo de la temperatura de incubación que puede oscilar entre 15 a 16 °C (Silva *et al.*, 2001). Posteriormente, la etapa de pre-larva comprende desde la eclosión hasta la reabsorción del saco vitelino. Cuando las larvas poseen

todas las características del adulto se inicia la etapa juvenil, donde los organismos permanecen en el fondo sobre su lado ciego y su actividad natatoria es menos activa posteriormente empieza la etapa de crecimiento y engorde hasta llegar a las características de adulto (Apari, 2019).

2.7.2. *Paralabrax humeralis* “cabrilla”

Paralabrax humeralis “cabrilla” es un pez carnívoro, bentófago y oligófago. Esta especie es dominante e importante en el ensamblaje de las comunidades litorales marinas peruanas (Jacinto y Aguilar, 2007), utiliza recursos tróficos de los ambientes rocosos donde se alimenta preferentemente de peces y de crustáceos. Pertenece a la familia Serranidae que es considerada un grupo monofilético, debido a cuatro especializaciones: tres espinas sobre el opérculo, ausencia del uroneural posterior, ausencia de la espina procurrente y del tercer cartílago radial pleural (Rodrigo y Pequeño, 2001). En adición, presenta diversas expresiones de modelos sexuales desde gonocorismo (sexos separados) a hermafroditismo simultáneo y varias formas de protoginia (cambio de sexo de hembra a macho) (Sadovy y Domeier, 2005).

Habita en áreas costeras rocoso-arenosas desde Ecuador hasta la región austral de Chile (Cisternas y Siefield, 2008). Se le encuentra desde aguas someras hasta los 200 m de profundidad, donde la temperatura del agua va desde 13.6 hasta 17.2 °C y con contenido de oxígeno desde 0.34 a 2.77 ml.l⁻¹ (Goicochea *et al.*, 2014).

Esta especie es de importancia comercial en las costas del Perú, alcanzando desembarques de hasta 2481 TM (Produce, 2015) y es una de las cinco especies demersales con mayores desembarques anuales (PRODUCE 2012), siendo comercializada en estado fresco, congelado y salado. Llega a medir hasta 54.5 cm de longitud total y pesar hasta 2.5 kg (Goicochea *et al.*, 2014). Debido a que es una especie con gran demanda en el mercado nacional, se promueve la investigación sobre su biología con el fin de generar tecnologías para su cultivo.

2.7.3. *Cheilodactylus variegatus* “pintadilla”

Cheilodactylus variegatus “Pintadilla” es una especie demersal que habita en fondos someros en áreas rocosas, arenosas y principalmente con fuerte oleaje. Su distribución está comprendida desde Paita, Perú, hasta Talcahuano, Chile (Chirichigno y Cornejo, 2001).

Respecto a su fenotipo, se conoce que la coloración varía en especímenes de acuerdo al estadio (Flores y Poblete, 2015); en la post larva y juvenil tienen un cuerpo muy comprimido y profundo, los ojos más grandes y viven cerca de la superficie (Nielsen, 1963). El ejemplar adulto presenta el hocico bastante largo y puntiagudo. La boca es pequeña y horizontal (Carhuas, 2018). El maxilar no alcanza la vertical trazada desde el margen anterior del ojo. Presenta alrededor de 14 a 17 branquiespinas más o menos desarrolladas en la rama inferior del primer arco branquial y 5 a 7 branquiespinas en la rama superior. La aleta dorsal es continua y presenta las últimas espinas muy cortas, normalmente la sexta o séptima espinas son las más largas. La aleta caudal ahorquillada con el lóbulo superior más largo que el inferior. La aleta anal es pequeña y presenta tres espinas de las cuales la primera y segunda están desconectadas. La aleta pectoral tiene los radios simples y ligeramente separados distalmente. Su color es verde-negrusco con 6 a 7 franjas negras características (Chirichigno y Vélez, 1998).

Sobre su alimentación, la especie ha sido considerada como carnívora alimentándose de una gran variedad de invertebrados bentónicos (Palma y Ojeda, 2002). Su dieta principal consta de tres grandes grupos Mollusca, Polychaeta y Crustácea, destacando la predominancia de anfípodos, gasterópodos y porcelánidos (Aguilar, 2017; Cornejo *et al.*, 2014).

Respecto a su biología reproductiva la pintadilla consta de ocho estadios para hembras y machos (Samamé *et al.*, 1994). Esta especie tiene una mayor actividad reproductiva durante

los meses de mayo a julio con las más altas tasas de desove para el mes de julio (González, 2012).

2.7.4. *Otaria byronia* (= *Otaria flavescens*) "león marino de Sudamérica"

Los lobos marinos representan un grupo importante en la diversidad de mamíferos marinos del litoral peruano. Se reconocen dos especies de la familia Otariidae, uno de los cuales es *Otaria flavescens* (Shaw, 1800), sinónimo de *Otaria byronia* (Blainville, 1820), comúnmente conocido como león marino sudamericano, lobo marino de un pelo o lobo marino chusco, que tiene una amplia distribución a lo largo de la costa sudamericana, y se distribuye desde la localidad de Zorritos, Perú, a los 4°S en la costa del Océano Pacífico, hasta Torres en el sur de Brasil, a los 29°S en la costa del Océano Atlántico, hasta Cabo de Hornos incluyendo una pequeña colonia que se encuentra en las islas Malvinas de Argentina (Crespo *et al.*, 2012; Masová y Barus, 2013).

En el Perú, se estimó la población de lobos marinos de un pelo en 144.087 individuos en el Censo Nacional, realizado en febrero 96 - marzo 97. Actualmente se estima en 111.828 (IMARPE, 2018). Según estos datos, la población suele ser afectada entre otros factores por la interacción antropogénica de la pesca artesanal, industrial y eventos naturales como el fenómeno de El Niño (ENSO) (Adams y Flores, 2016). Se trata de una especie vulnerable por su longevidad entre 18 a 20 años, madurez sexual a los 4 años y una cría por año (Paves y Espinoza, 2005). Esta especie vive agrupada en colonias formadas por el macho dominante y su "harem" de hembras y de algunos individuos juveniles en los islotes, roqueríos y puntas de la costa peruana, utilizados para la reproducción y apareamiento. Se distribuyen entre la zona norte, centro y sur de la costa peruana. Ocasionalmente se le ha registrado en las Islas Galápagos en Ecuador; así como, en las costas de Colombia y Panamá (Felix, 2002; Berta y Churchill, 2012).

En ambos sexos, el hocico es aplanado, ancho, corto, obtuso y curvado hacia arriba; la mandíbula inferior es ancha y alta y se encuentra presente el proceso temporal. En los machos adultos, el cuello es muy grueso y posee fuertes músculos.

La alimentación del lobo marino de un pelo se basa de varias especies de peces pelágicos y bentónicos que son utilizados en la alimentación humana e industrial (Naupay et al., 2019). Las actividades reproductivas del lobo marino común, al igual que la de otros Otariidae, son llevadas a cabo en lugares específicos como parideros o colonias reproductivas y en períodos discretos llamadas temporadas reproductivas (Cappozzo, 2000). En estos parideros, la gran cantidad de ejemplares congregados desarrollan un conjunto de patrones conductuales característicos no manifestados durante el resto del año y se procede a la formación de “harenes”, pariciones y cópulas. El período donde se registran estos patrones son principalmente en los meses primavera-verano, fecha en la cual el aumento de la productividad y las favorables condiciones meteorológicas potencian un ambiente propicio para la sobrevivencia y el desarrollo de la descendencia (Testa, 2002).

III. ANTECEDENTES

En el Perú, el sector pesquero es la más importante fuente generadora de divisas después de la minería, destacándose la pesca marítima y en menor grado la continental (FAO, 2010). El 19.8% de la extracción de los recursos hidrobiológicos fueron destinados al consumo humano directo (enlatado, congelado, curado o fresco), en tanto que el 80.2% fue destinado al consumo indirecto (harina y aceite de pescado) en 2013 (INEI, 2014) (Serrano *et al.*, 2017).

Los peces marinos de consumo humano, en su mayoría teleósteos, pueden ser portadores de formas larvarias de parásitos que completan un ciclo biológico con mamíferos marinos y aves ictiófagas. Las infecciones son adquiridas al consumir pescado crudo, insuficientemente cocido, ahumado o sometidos a congelamiento insuficiente, y que contengan las larvas infectivas de estos helmintos. La fuente de infección en la costa sudamericana del Pacífico radica en el consumo de pescado crudo bajo la forma del "cebiche", "tiradito", "sushi" y "sashimi" (Pérez *et al.*, 1999).

En general, los parásitos de hospederos marinos han sido considerados sistemas simples en los cuales se puede estudiar provechosamente las relaciones entre patrones y procesos ecológicos, debido a que los hospederos (sean considerados como comunidades, especies, poblaciones o individuos), constituyen unidades de estudio naturalmente acotadas (Rhode, 1990). Por ejemplo, la variación del tamaño corporal o la edad del hospedero, así como también el hábitat ocupado, o la propia identidad específica, pueden constituir factores relevantes para entender las variaciones en la diversidad de parásitos o en la adecuación biológica y morfología de un determinado taxón parasitario (George- Nascimento y Marin, 1992).

Se conocen 95 parasitosis producidas por especies de helmintos (como los platelmintos, los nematodos y los acantocéfalos) que representan un problema de salud pública. Esto ocurre principalmente en el sureste de Asia, una de las más importantes regiones endémicas para este tipo de helmintiasis; en ellas se concentra una gran proporción de la carga parasitaria global (Sánchez *et al.*, 2015).

Los acantocéfalos son parásitos estrictos de vertebrados. La forma larvaria se desarrolla en un hospedero intermediario invertebrado, pero es común encontrar hospederos paraténicos vertebrados o invertebrados. El hombre puede infectarse con algunas especies; por esta razón, el estudio de los acantocéfalos también tiene importancia en salud pública (Tantaleán *et al.*, 2005).

Desde una perspectiva funcional y evolutiva la morfología de la mayoría de los parásitos está marcada por la necesidad de un anclaje efectivo a sus hospederos. Los acantocéfalos en particular han desarrollado una probóscide armada con ganchos que se anclan al intestino de sus hospederos vertebrados definitivos. Muchas especies también usan un segundo mecanismo de anclaje con estructuras más desarrolladas en la probóscide (Aznar *et al.*, 2018).

Los acantocéfalos no presentan tubo digestivo y en la cavidad corporal se desarrollan los huevos hasta embrionar, que son de forma elíptica alargada con doble envoltura. La pared de su cuerpo está formada por cuatro capas, las cuales corresponden a la epicutícula, cutícula, hipodermis sincitial y capa muscular (Takahashi *et al.*, 2016).

El género *Corynosoma* (Lühe, 1904) pertenece a la familia Polymorphidae (Meyer, 1931) que cuenta con 38 especies. El tronco de *Corynosoma* está descrito como pequeño a mediano tamaño cubierto característicamente con espinas. La probóscide está armada con 14 a 28 filas de ganchos (Waindok *et al.*, 2018).

Cuando los anfípodos son ingeridos por peces, *Corynosoma* spp. se transforma en cistacanto en las cavidades corporales y en los órganos internos de estos hospederos. Los cistacantos son el estadio infeccioso del parásito y puede ser transmitido a predadores de peces y también accidentalmente a humanos (Habibi y Shamsi, 2018).

Hernández- Orts *et al.* (2019), estudiaron el rol de diferentes especies de peces en la transmisión de *Corynosoma australe* a los hospederos definitivos, lobos marinos como *Otaria flavescens* en América del Sur.

Fujita *et al.* (2016), reportaron zoonosis causada por especies de *Corynosoma* a través de una endoscopia en un paciente que frecuentemente comía pescado crudo, el diagnóstico se dio mediante identificaciones morfológicas y moleculares de los parásitos encontrados.

En el Perú, *Corynosoma* sp. se ha encontrado enquistado o libre en la superficie visceral de numerosos peces de importancia comercial (Tantaléan *et al.*, 2005) mientras que el estadio adulto se ha descrito en el intestino grueso de lobo chusco *Otaria flavescens* (Cabrera *et al.*, 1994).

(Castro y Martínez, 2004), describieron el proceso de desarrollo de *Corynosoma obtuscens* en *Canis familiaris*, considerando el potencial zoonótico de esta larva en el Perú.

IV. HIPÓTESIS

La utilización de técnicas moleculares permitirá identificar a las larvas de cistacantos de *Corynosoma* sp. aislados del lenguado, cabrilla y pintadilla procedentes de dos puntos de la costa peruana y determinar si corresponden a diferentes especies.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Parasitología en Fauna Silvestre y Zoonosis, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

5.2. Tipo y diseño metodológico

La presente investigación es de tipo descriptivo transversal. En este diseño de investigación se recolectaron datos de un solo momento y en un tiempo único, a la vez que se efectuó la descripción de las especies de parásitos aislados de los peces.

5.3. Variables

Variable 1: Características morfo anatómicas de la diversidad de las especies endoparásitos aislados de las muestras de peces (lenguado, cabrilla y pintadilla).

Indicadores:

- Número de las especies endoparásitos y larvas de cistacantos
- Localización del parásito en el hospedero.
- Estructuras morfo anatómicas larvas de cistacantos (sistemas
- Prevalencia
- Intensidad media
- Abundancia media

Variable 2: Identificación molecular de las especies endoparásitos aislados de las muestras de peces (lenguado, cabrilla y pintadilla).

- Calidad del DNA extraído

- Pureza del DNA extraído
- Tamaño de los fragmentos de DNA amplificado
- Secuenciamiento
- Alineamiento del secuenciamiento
- Mapa filogenético

5.4. Operacionalización de las variables

Comparar desde el punto de vista morfológico las especies de *Corynosoma* aislados de los hospederos tomados de su ambiente natural.

Comparar las secuencias de ADN de las especies de *Corynosoma* aislados de los diferentes hospederos.

5.5. Muestreo

Se recolectaron 35 individuos de cada espécimen de *Paralichthys adspersus* “lenguado”, *Paralabrax humeralis* “cabrilla” y *Cheilodactylus variegatus* “pintadilla” frescos procedentes del terminal pesquero de Chorrillos (12° 9'57.59''S 77° 1'46.3''O) durante los meses de enero a marzo del 2018 y se procedió a realizar la necropsia en el laboratorio para su respectivo análisis.

Además, se procesaron algunas muestras previamente identificadas por morfología, aisladas de los mismos ejemplares de peces en el año 2015, proporcionadas por el Laboratorio de Parasitología en Fauna Silvestre y Zoonosis (UNMSM) (S-16) procedente del puerto de San Andrés, Pisco, Ica (13° 43'51''S 76° 13'17''O).

5.6. Procedimiento y análisis de datos

5.6.1. Obtención del parásito

A los pescados obtenidos del terminal pesquero de Chorrillos se les realizó un corte ventral para extraer los órganos internos en placas Petri, luego se examinó la superficie visceral y la zona interna de cada órgano con la ayuda de un estereomicroscopio (Leica) en búsqueda de los cistacantos de *Corynosoma*. Además, se examinó minuciosamente la musculatura de los ejemplares adquiridos.

Tabla 1. Descripción de origen de las muestras de larvas cistacanto

	Estadio	Hospedero	Origen	Año
URP MD1	Cistacanto	Pintadilla	Lima	2018
URP MD3	Cistacanto	Lenguado	Lima	2018
URP MD4	Cistacanto	Pintadilla	Lima	2018
URP MD6	Cistacanto	Lenguado	Lima	2018
URP MD8	Cistacanto	Cabrilla	Lima	2018
URP MD10	Cistacanto	Pintadilla	Lima	2018
URP MD11	Cistacanto	Cabrilla	Lima	2018
URP MD13	Cistacanto	Pintadilla	Lima	2018
URP MD14	Cistacanto	Cabrilla	Lima	2018
URP MD16	Cistacanto	Lenguado	Lima	2018
URP MD17	Cistacanto	Cabrilla	Lima	2018
URP MD18*	Cistacanto	Pintadilla	Ica	2015
URP MD19*	Cistacanto	Lenguado	Ica	2015
URP MD20*	Cistacanto	Cabrilla	Ica	2015
URP MD21*	Cistacanto	LM	Ica	2015
URP MD23*	Cistacanto	LM	Ica	2015

LM: Lobo Marino.

*Muestras de *Corynosoma* en estadios larvario y adulta, proporcionadas por el Laboratorio de Parasitología de la UNMSM.

5.6.2. Preservación y fijación del parásito

Los especímenes colectados fueron seleccionados y codificados en el laboratorio, estos fueron separados en viales según sus características morfológicas y anatómicas, previamente lavados en solución salina para ser conservados en alcohol al 70 %, posteriormente guardados en refrigeración a 4 °C hasta las siguientes etapas de procesamiento.

5.6.3. Estudio a microscopia de luz y microscopia electrónica de barrido

Los cistacantos se colorearon con Carmín acético de Semichón dejándolos por 24 h, luego se lavaron en alcohol al 70 % y se decoloraron en alcohol-ácido al 70 % (HCl al 1 %) hasta que las estructuras internas se visualicen. Seguidamente, se lavaron con alcohol al 70 % y se colocaron en alcohol-alcálico al 70 % (NH₄OH al 1 %) por 1 min, luego se volvió a lavar en alcohol al 70 %. A continuación, se procedió a la deshidratación con una batería de alcoholes de 80 %, 90 % y 100 % (2 veces). Para la diafanización, se utilizó xilol-alcohol al 100 % en proporción 1:1 por 15 min y finalmente se sumergió en xilol puro por 15 min. Para el montaje permanente se utilizó Bálsamo de Canadá sintético.

Algunos cistacantos seleccionados por sus características se fijaron en glutaraldehído al 2 % en buffer fosfato (Na₂HPO₄ 0,1 M + NaH₂PO₄ 0,1 M) para realizar microfotografías al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). Las muestras se lavaron con buffer fosfato 0,2 M y fueron deshidratados con una batería de alcoholes (etanol al 80 %, 90 %, dos de 100 % por 30 min en cada uno). Para la identificación se utilizó la clave de Petrochenko (1958).

En el Laboratorio de equipamiento especializado de la Facultad de Ciencias Biológicas (UNMSM), se desecaron los cistacantos por punto crítico, montados en stabs de aluminio, luego metalizados en baño de oro, quedando listos para la toma de microfotografías.

5.6.4. Preparación de muestras para análisis molecular

Previamente a la extracción de ADN, los cistacantos fueron sumergidos dos veces en buffer fosfato salino (PBS) durante 10 minutos alternados con lavados de agua nanopura. El cistacanto se almacenó en tubos de plástico Eppendorf de 1.5 mL para la extracción del ADN.

5.6.5. Extracción de ADN

Para la extracción del ADN genómico de los cistacantos de *Corynosoma* se utilizó el Kit de extracción de ADN DNeasy tissue Kit (Qiagen, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

1. Se colocó el cistacanto completo en tubos de micro centrífuga de 1,5 mL añadiéndose 180 μ L de buffer ATL.
2. Se añadió 20 μ L de proteinasa K y se mezcló mediante agitación e incubó en baño María a 56 °C hasta que el tejido sea completamente lisado.
3. Se centrifugó el tubo de micro centrífuga de 1,5 mL en el mini spin para retirar las gotas desde el interior de la tapa.
4. Se añadió a la muestra 200 μ L de tampón AL, se mezcló en un vórtex durante 15s e incubó a 70°C durante 10 min. Se centrifugó brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.
5. Seguidamente, se adicionó 200 μ L de etanol de grado molecular y se mezcló en un vórtex durante 15 s. Después de mezclar, se centrifugó brevemente el tubo.
6. Se aplicó cuidadosamente la mezcla de la etapa 4 (incluyendo el precipitado) a la columna de centrifugación QIAamp (en un tubo de recogida de 2 mL) cuidadosamente. Se cerró el tapón y centrifugó a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min. Luego se desechó el tubo que contiene el filtrado y se puso en la columna de centrifugación QIAamp, tubo limpio de recogida de 2 mL.

7. Se abrió con cuidado el spin de la columna QIAamp y se añadió 500 µL de tampón AW1 y se centrifugó a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min. Enseguida, se colocó la columna de centrifugación QIAamp en un tubo limpio de recogida.
8. Luego, se añadió 500 µ de tampón AW2 y se centrifugó a 14.000 rpm durante 3 min. Se repitió la centrifugación por 1 min, para evitar que queden residuos.
9. Se añadió 100 µL de buffer AE y se incubó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se centrifugó a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min, finalmente se pasó el ADN obtenido a un tubo limpio de micro centrífuga de 1,5 mL (no incluido en el Kit).

La calidad de las muestras de ADN se evaluó por electroforesis y la concentración y pureza por espectrofotometría utilizando un Quantus™ (Promega).

5.6.6. Amplificación del ADN mediante PCR convencional

Para la identificación de las especies de *Corynosoma sp.* se usó un fragmento de longitud de 623 pb del gen citocromo c oxidasa subunidad 1 (*cox1*) presente en el ADN mitocondrial (ADNmt). Las muestras de ADN extraídas fueron amplificadas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador Veriti™ 96-well (Applied Biosystems, USA), para esto se amplificó por PCR usando el primer forward: CORY-COIF 5' AGTTCTAATCATAARGATATYGG-3' (Nadler *et al.*, 2006) y reverse: CORY-COIR 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'(Folmer *et al.*, 1994).

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 50 µL, incluyendo 5 µL de ADN genómico. La mezcla de la reacción contenía 2.5 U/µL Taq polimerasa (kit HotStarTaq DNA Polymerase Qiagen, Alemania), y 0.5 µM de cada cebador (Macrogen, Korea).

Las condiciones estandarizadas de amplificación en el termociclador consistieron en 1 ciclo a 94 °C por 3 min; 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 40 °C por 60 s, y 72 °C por 1 min; y un ciclo final de 72 °C por 5 min.

5.6.7. Electroforesis

Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa (Cleaver Scientific) al 1 %, para lo cual se usó buffer TAE al 1X para la preparación de los geles. Las condiciones de corrida fueron: 90 V, 300 A y 50 min. Se utilizaron 3 µL del marcador GeneRuler Express DNA Ladder (#SM 1551) combinando con 1 µL CSL–run safe. El ladder tiene las siguientes bandas de tamaño: 5000, 3000, 2000,1500, 1000, 750, 500, 300 y 100 pb (Thermo Scientific). Las presencias de las bandas en los geles fueron observadas mediante un sistema de foto documentación de geles Enduro GDS Touch (Lab Net, USA). Se utilizaron 3 µL del ADN y se mezclaron con 1 uL del marcador CSL–run safe (Cleaver Scietific).

5.6.8. Secuenciamiento del gen *cox1*

Se enviaron los productos de PCR para su secuenciamiento a Macrogen Inc., Korea. Las secuencias que se obtuvieron se compararon con todas las especies de *Corynosoma* reportados y depositados en el DDJB/EMBL/GenBank hasta la fecha.

5.6.9. Identificación molecular

Las identificaciones de las secuencias se buscaron y compararon las secuencias obtenidas disponibles en la base de datos del NCBI GenBank/EMBL/DDBJ y otras bases de datos usando el programa de alineamiento local de secuencias BlastN versión 2.0 (Altschul *et al.*, 1997).

5.6.10. Análisis bioinformática

El alineamiento de las secuencias se realizó haciendo uso del Programa Clustal W2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>), el análisis filogenético se desarrolló con el programa MEGA versión X (Kumar *et al.*, 2018) usando maximum likelihood con el apoyo del modelo Kimura 2-parámetros y los valores de soporte nodal fue ejecutado con 10000 re-muestras de bootstrap (Kimura, 1980; Kumar *et al.*, 2018).

5.7. Aspecto ético

La cantidad de muestras biológicas utilizadas en este estudio no perjudica a la población de peces ni al ecosistema, estos recursos fueron capturados mediante la actividad de pesca artesanal con fines de investigación respetando las normas establecidas por el Instituto del Mar Peruano (IMARPE).

VI. RESULTADOS

6.1. Análisis parasitológico

De los 35 ejemplares de *Paralabrax humeralis* procedentes del puerto de Chorrillos se aislaron 203 larvas cistacantos, de 35 *Cheilodactylus variegatus* se obtuvieron 235 cistacantos y de 35 *Paralichthys adspersus* se aislaron 71 (Tabla 2).

Las larvas de *Corynosoma* se encontraron en la superficie visceral y mesenterio en diferentes porciones del intestino. Estas larvas son de color blanquecino con una forma de pipa característica presentando una probóscide armada de ganchos y cuerpo espinado.

Tabla 2. Índices parasitarios de cabrilla, pintadilla y lenguado

INDICES PARASITARIOS	cabrilla	pintadilla	lenguado
Total peces examinados	35	35	35
Total peces infectados	23	19	15
Total parásitos (larvas cistacantos)	203	235	71
Prevalencia (%) (colocar formula)	65.71	54.29	42.86
Intensidad media (colocar formula)	8.83	12.37	4.73
Abundancia media (colocar formula)	5.8	6.71	2.03

6.2. Identificación morfológica de la larva cistacanto

La larva cistacanto de *Corynosoma* no presenta diferencia significativa entre ambos sexos son similares en tamaño y forma entre machos y hembras. El cuerpo presenta un rango entre 1.8 a 2.2 (2.0) mm de largo por 0.70 – 0.80 (0.70) mm de ancho en la parte media del cuerpo. Presentan una probóscide cilíndrica de 0.40 - 0.42 (0.41) mm de largo por 0.125- 0.127 (0.126) mm de ancho en la base, armada con 16-18 filas de ganchos longitudinales compuestas por 12-13 ganchos en cada fila, con un promedio de 260 ganchos en la probóscide incluyendo ganchos largos en la parte superior y ganchos más pequeños en la parte basal de la misma. Los lemniscos son más cortos que el saco de la probóscide. El cuello es más ancho que largo de 0.12 - 0.14 (0.13) mm por 0.24 - 0.26 (0.23) mm de ancho y cuerpo expandido en forma de pipa con una superficie dorsal más prominente que la superficie ventral. El cuerpo está armado con espinas distribuidas asimétricamente cubriendo la zona dorsal anterior, en la parte ventral se distribuye hasta el extremo posterior y alrededor del poro genital.

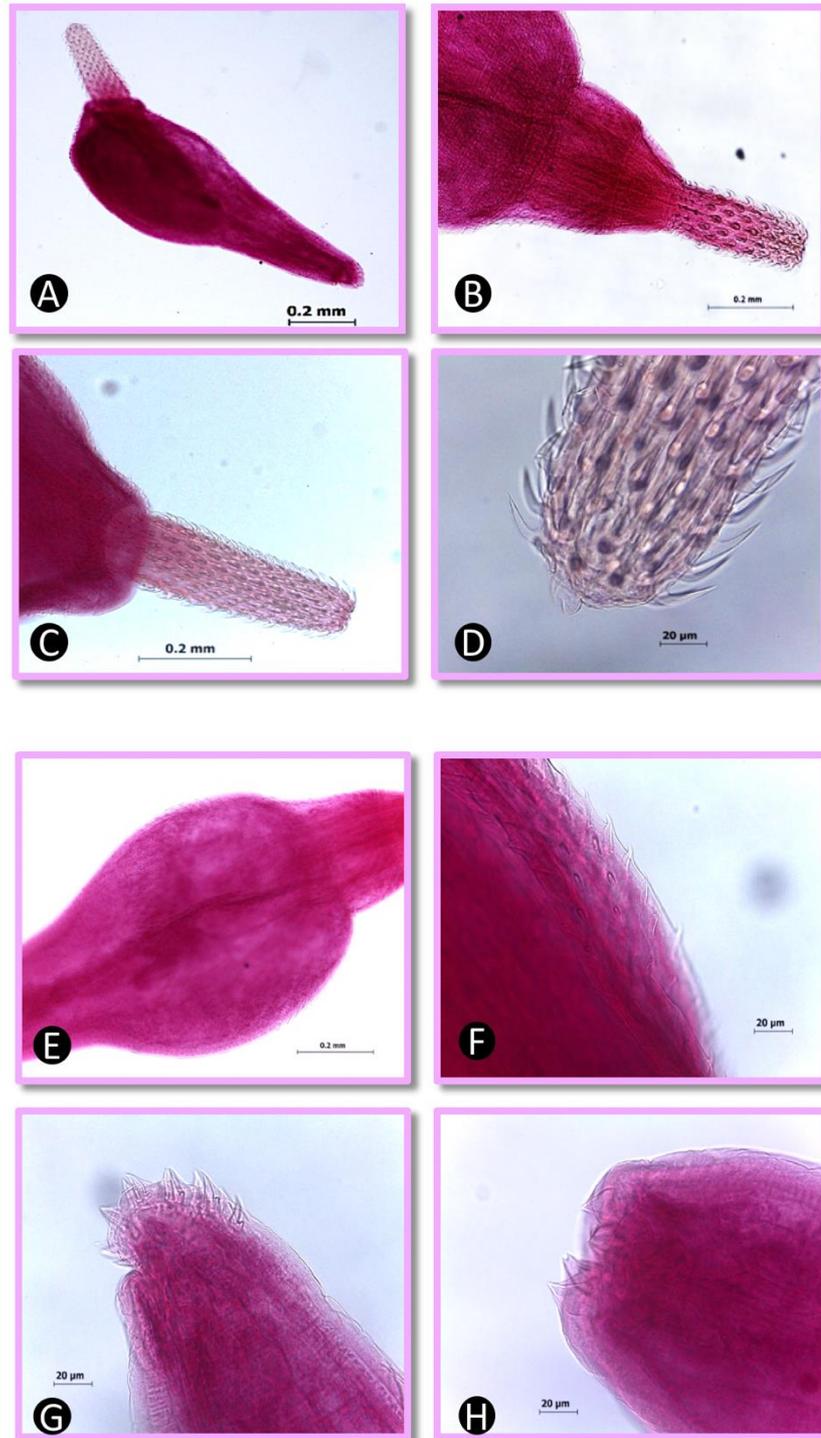


Fig. 2. Larva cystacanto de *Corynosoma* sp. (A) Cuerpo completo de cystacanto teñido con carmín acético de Semichon. (B) Cuello, (C) Probóscide, (D) Filas de ganchos, (E) Superficie dorsal, (F) Espina ventral, (G) Espinas genitales y (H) Poro genital. Las fotos fueron tomadas a 4x (fig. A), 10x (fig. B, C y E) y 40x (fig. D, F, G y H) aumentos.

6.3. Identificación morfo-anatómica

Corynosoma tiene una forma característica y funcional al presentar una probóscide retráctil armada con filas de ganchos que le permite tener un anclaje efectivo en las paredes intestinales de su hospedero definitivo y también está revestido con espinas en varias partes de su cuerpo con diferentes patrones de distribución como un mecanismo secundario para una buena adherencia.

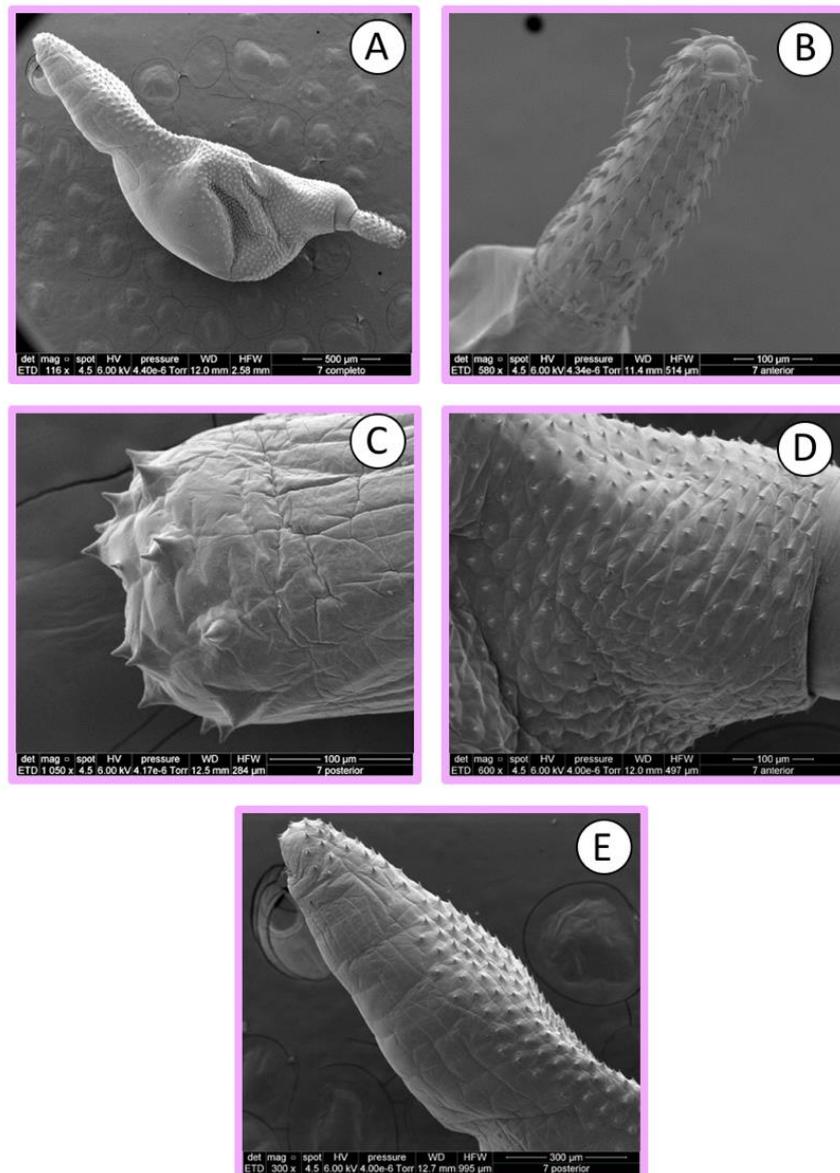


Fig. 3. Microfotografías tomadas con el Microscopio Electronico de Barrido (MEB). (A) Distribución de espinas en el cuerpo, (B) Probóscide con ganchos (C) Espinas genitales, (D) Espinas posterior al cuello y (E) Espinas en la zona ventral.

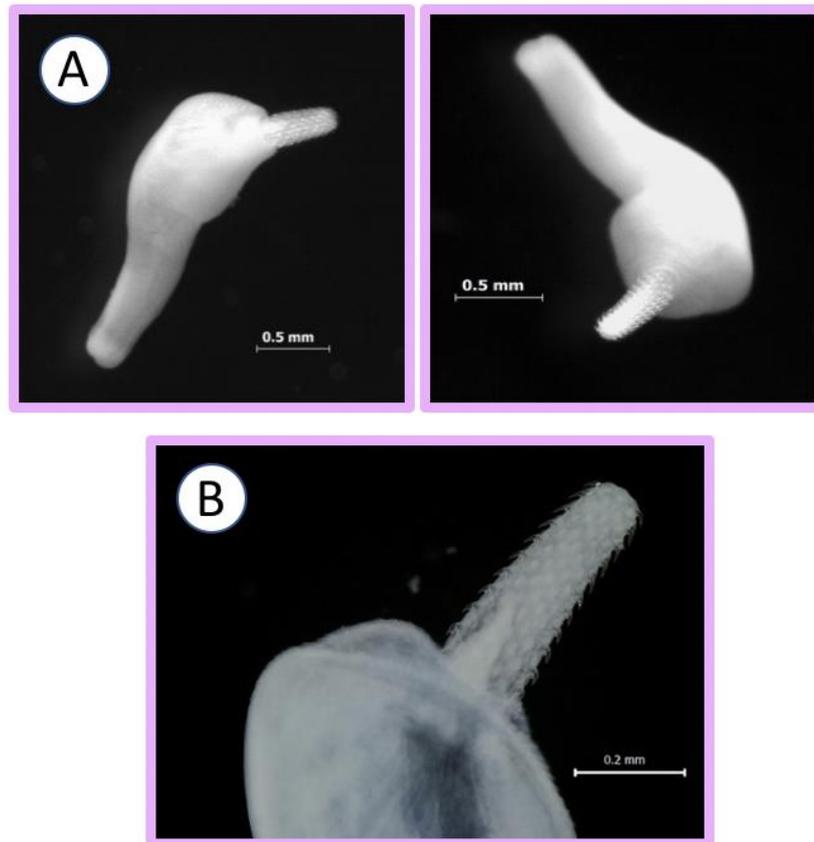


Fig.4. (A) Cuerpos completos de cistacantos sin teñir. (B) probóscide. Las medidas se indican en milímetros (mm). Fotografías tomadas a 4x (fig. A) y 10x (fig. B) aumentos.

6.4. Espectrofotometría y Electroforesis

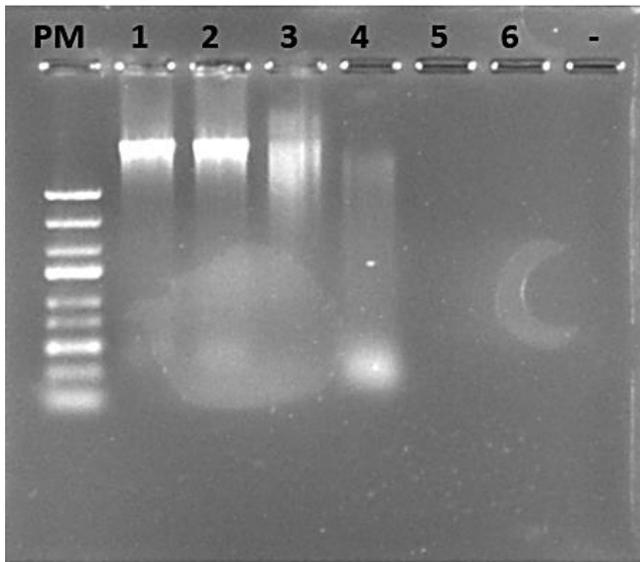
Se cuantificó el ADN utilizando un NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific™), se obtuvo una concentración de ácidos nucleicos con un rango de 41.5 a 80.5 ng/uL y valores indicativos de pureza óptima y aceptable (≤ 1.75 a $1.98 \text{ nm} \geq$). Se utilizó 2 uL de buffer AE para calibrar (blanqueo) y para la medición de cada muestra. Se presenta el promedio de las medidas por triplicado de cada muestra de ADN extraída (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio de la concentración de ácidos nucleicos y rango de medidas de absorbancias.

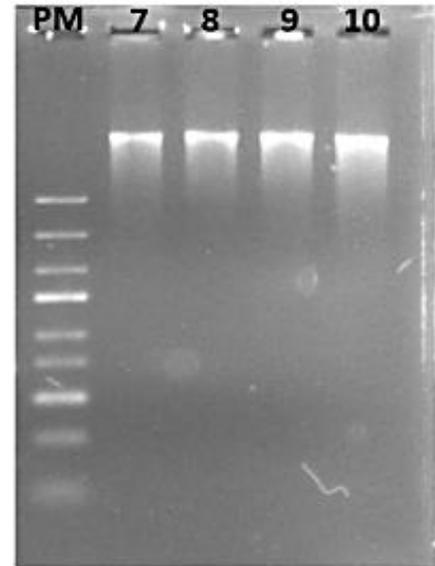
ID	ADN	Unit	260/280	260/230
BUFFER AE	0.5	ng/uL	-34.52	0.98
UNMSM-URP-MD1	41.50	ng/uL	1.75	1.81
UNMSM-URP-MD3	53.25	ng/uL	1.80	2.12
UNMSM-URP-MD4	61.23	ng/uL	1.82	1.85
UNMSM-URP-MD6	76.48	ng/uL	1.73	1.94
UNMSM-URP-MD8	49.65	ng/uL	1.95	1.89
UNMSM-URP-MD10	72.20	ng/uL	1.84	1.93
UNMSM-URP-MD11	48.42	ng/uL	1.91	2.02
UNMSM-URP-MD13	52.41	ng/uL	1.76	2.15
UNMSM-URP-MD14	74.63	ng/uL	1.90	1.88
UNMSM-URP-MD16	80.50	ng/uL	1.88	1.96
UNMSM-URP-MD17	57.74	ng/uL	1.77	2.17
UNMSM-URP-MD18	48.16	ng/uL	1.92	1.83
UNMSM-URP-MD19	56.24	ng/uL	1.81	1.94
UNMSM-URP-MD20	68.71	ng/uL	1.83	2.03
UNMSM-URP-MD21	80.15	ng/uL	1.98	1.81
UNMSM-URP-MD23	58.24	ng/uL	1.76	2.12

La calidad de las muestras de ADN extraídas se realizó mediante pruebas de visualización en gel de agarosa al 1.0 % (Fig. 5).

(A)



(B)



(C)

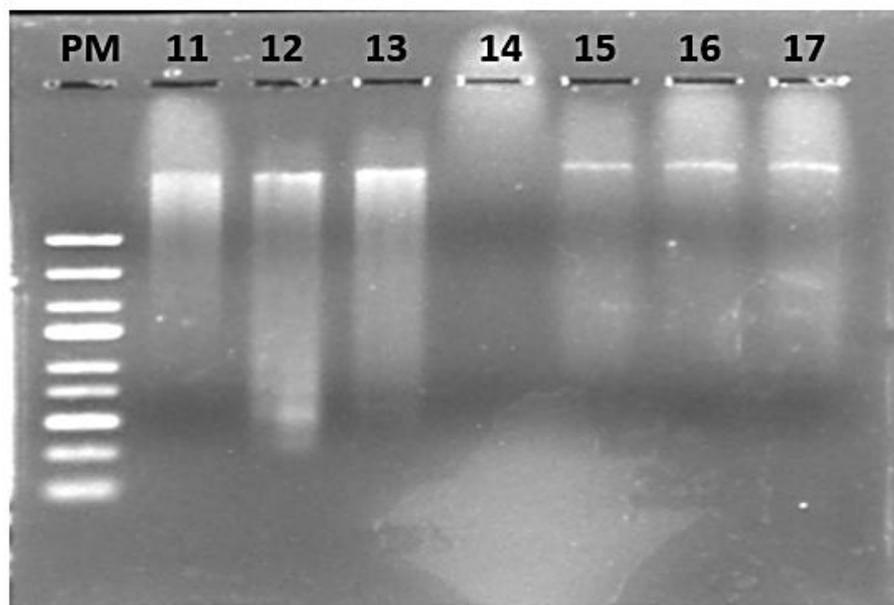


Fig. 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1.0 % del ADN extraído de larvas de cistacantos de *Corynosoma* sp. Se aprecian bandas intensas de ADN genómico total con smear. (A) Pocillos con ADN (1-6) y el control (-). (B) Con ADN (7-10), (C) con ADN (11-17). PM (Peso Molecular de 100 – 5 000 pb).

6.5. Amplificación de ADN mediante PCR convencional

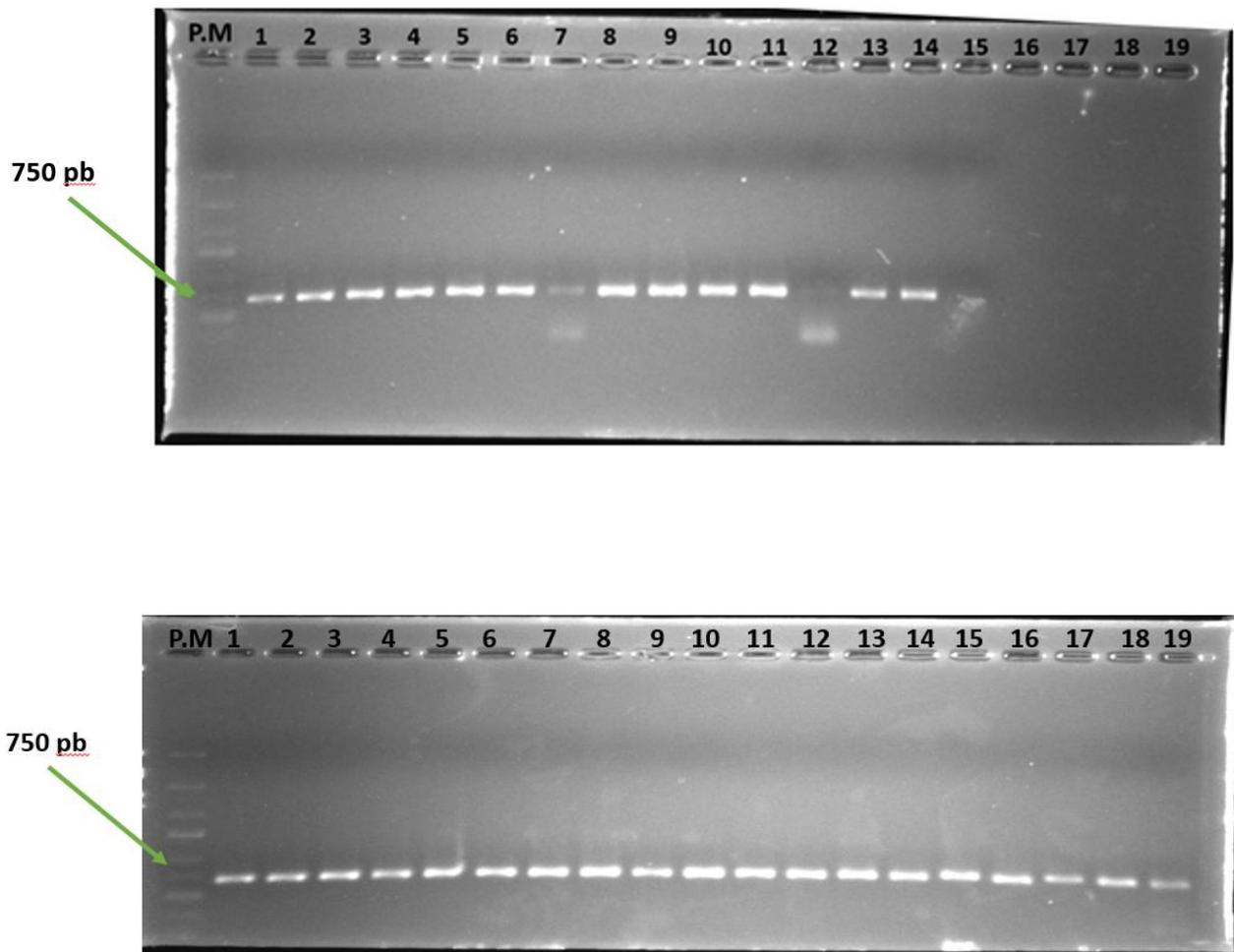


Fig. 6. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Amplificación del gen *Cox-1* del ADN (A) y (B) Carril del 1-19 productos de 623 pb aprox. de cistacantos de *Corynosoma*. Carril P.M (Peso Molecular) GeneRuler Express DNA Ladder (#SM 1551).

6.6. Identificación molecular

La amplificación del ADN mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando el marcador genético del gen mitocondrial citocromo oxidasa 1 (*cox1*) de las larvas cistacantos identificaron la presencia de *Corynosoma australe* (= *Corynosoma obtuscens*) en 17 muestras, para ello, las secuencias fueron editadas en Clustalw2 donde se obtuvieron fragmentos de 594 pb, 639 pb y 660 pb.

Se usó la herramienta de búsqueda (BLAST del NCBI) para buscar similitud mediante comparaciones de las secuencias de nucleótidos depositadas en la base de datos y calcular la significación estadística. Para esto, se evaluó diferentes parámetros y se precisó según el porcentaje de identidad que todas las secuencias nucleotídicas están en un rango de 91.16% al 93.21% de similitud con la especie *Corynosoma australe*.

6.6.1. Análisis filogenético

La construcción del árbol filogenético inferido usando el marcador molecular *cox1* de las secuencias nucleotídicas permitió agrupar en un mismo clado a todas las muestras con la especie *Corynosoma australe* (= *Corynosoma obtuscens*) con valores de bootstrap mayores a 91%. Para ello, se utilizó secuencias nucleotídicas obtenidas del GenBank de especies del género *Corynosoma* como: *C. australe* (cod. MK119245, MK119247, MF497334, MF497333 y KX957714), *C. stromosum* (cod. EF467871, MK119250), *C. hanna*e (cod. KX957717, KX957721), *C. villosum* (cod. MK119251, LC465388), *C. validum* (cod. JX442192, MK119252) y *C. semerme* (cod. MK119253, MF001277). Además, se usó como grupo externo a *Andracantha phalacrocoracis* (LC465356) (Fig. 7).

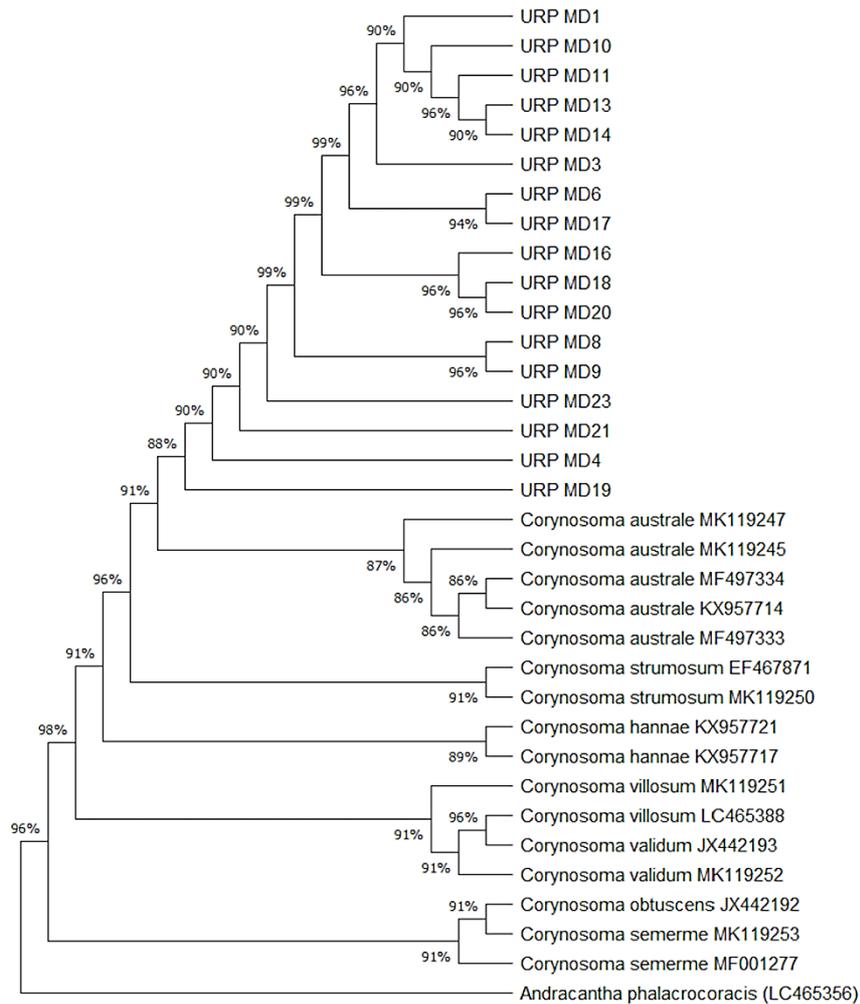


Fig. 7. Construcción de árbol filogenético a partir de secuencias de nucleótido parciales de *cox1* usando maximun likelihood modelo Kimura 2 parámetros. Valores de Bootstrap (10 000 repeticiones) se muestran en las ramas. *Andracantha phalacrocoracis* es usado como grupo externo. Se indican todos los números de acceso al GenBank de las secuencias utilizadas para construir el árbol.

VII. DISCUSION

La identificación de la fauna parasitaria en peces marinos del litoral peruano es variada y está ligada al comportamiento trófico por ser organismos que incluyen invertebrados acuáticos en su dieta, que pueden ser hospederos intermediarios en el ciclo de vida de varios helmintos, así mismo los cambios climatológicos podrían aumentar la variabilidad de los parásitos y así tener más probabilidad de repercutir en la salud pública (Serrano *et al.*, 2017). Este trabajo proporciona pruebas de la presencia de *Corynosoma sp.* en pescados de gran interés comercial y que podrían presentar un potencial zoonótico en sus consumidores.

El hospedero intermediario es desconocido, ya que *C. australe* es un acantocéfalo que no tiene especificidad de hospedero (Aznar *et al.*, 2012). Los estadios juveniles, acantelas y cistacantos son encontrados en 17 especies de peces que actúan como hospederos paraténicos de importancia comercial en el Perú (Tantaleán *et al.*, 2005; Laskowski y Zdzitowiecki, 2009; Iannacone *et al.*, 2003). Además, se han registrado cistacantos de *C. australe* en *Paralabrax humeralis* (Valenciennes, 1828) 34,1% (Iannacone y Alvarino, 2009), *S. deliciosa* 20% (Chero *et al.*, 2014), *T. murphy* 40%, *M. gayi peruanus* 26%, *Cheilodactylus variegatus* Valenciennes, 1833 50%, *P. humeralis* 14,29%, *S. deliciosa* 5,5% y *C. variegatus* 6,79% (Chero, 2017).

En el Perú se ha reportado *C. australe* en pinnípedos de la costa norte y sur (Miranda *et al.*, 1968; Tantaleán, 1993; Tantaleán *et al.*, 2005; Minaya *et al.*, 2018), también se han reportado en otros hospederos accidentales como *Canis familiaris* (Cabrera *et al.*, 1999) y en el zorro andino *Pseudalopex culpaeus* (Molina, 1782) (Tantaleán *et al.*, 2007), ambos procedentes de la zona sur.

Es de importancia resaltar que la mayoría de helmintos que parasitan mamíferos marinos suelen usar cadenas tróficas para su transmisión en las que se presentan uno o más hospederos

intermediarios, con el fin de lograr el completo desarrollo sexual en su hospedero definitivo (Bush *et al.*, 1997); por lo que dependerá de la probabilidad de contacto entre la presa y predador para tener un ciclo parasitario exitoso, de modo que pueden llevar la infección al siguiente hospedero (Calderón, 2015). Así mismo, se realizó una infección experimental en el perro doméstico *Canis familiaris* con *C. obtuscens*, donde reportaron por primera vez la presencia de huevos maduros en las heces de un hospedador no habitual (Castro y Martínez, 2004).

La forma infectiva es capaz de sobrevivir por un largo tiempo anclado hasta que comience la oviposición en el hospedero. Es por esta característica específica que puede causar lesiones severas, como la ulceración de la pared intestinal y sangrado. Debido al pequeño cuerpo de los parásitos, la corynosomiasis es difícil de confirmar especialmente en casos donde el área afectado es la zona intestinal. La endoscopia es necesaria como un método práctico para poder diagnosticar esta zoonosis.

Takahashi *et al.* (2016), describieron un caso clínico provocado por *Corynosoma* con importancia en la salud pública. Determinaron que se debería prestar atención no solo a la identificación de los casos clínicos si no también determinar la fuente de la infección humana. El paciente presentó dolor abdominal y múltiples úlceras intestinales en el íleon desarrolladas por el anclaje del parásito. Se detectó mediante una endoscopia de video donde se observó el potencial de causar daño en el intestino.

Sasaki *et al.* (2019), hallaron mayor cantidad de cistacantos de *Corynosoma* sp. enquistados en la membrana serosa que envuelve el tracto digestivo de los peces pero no en los músculos. Según la literatura no se han encontrado cistacantos enquistados en los músculos de peces, pero si gran presencia en los órganos internos y en la cavidad peritoneal donde se presume que es la fuente de infección humana. Un buen lavado después de remover los órganos internos, la

eliminación de la membrana serosa de la cavidad peritoneal o el correcto congelamiento podrían ser efectivos para prevenir la corynosomiasis humana.

Un estudio realizado en 20 peces teleósteos en la Patagonia ubicado en aguas del Océano Atlántico frente a las costas de Argentina, reportan la presencia de *C. australe* y su rol de transmisión al hospedador definitivo *Otaria flavescens* (Hernández-Orts *et al.*, 2019). Así mismo, reportamos la presencia de *C. australe* para 3 especies de peces teleósteos (lenguado, cabrilla y pintadilla) para las aguas del Océano Pacífico sureste (frente a la costa central de Perú), siendo estas especies de peces las más apreciadas por su carne blanca para su consumo.

Además, Hernández-Orts *et al.* (2019), indicaron que los patrones de transmisión de *C. australe* en el área de estudio son la base de la compensación potencial entre la propagación de infecciones a través de la red trófica, lo que daría lugar a que muchas especies hospedadoras paraténicas se infecten levemente o infecten taxones específicos que probablemente sean consumidos por hospedadores definitivos, que daría como resultado un conjunto de especies más reducido, pero más infectado. En el presente trabajo, reportamos una alta carga parasitaria y prevalencia (42 – 65%) de *C. australe*, identificada por características morfológicas tradicionales y por análisis mediante el marcador genético del gen mitocondrial citocromo oxidasa 1 (*cox1*), siendo el cistacanto de *C. australe* la misma especie que infecta a las 3 especies de peces teleósteos en este estudio.

En países de Sudamérica hay estudios sobre la presencia *C. australe*, este parásito se ha localizado en el intestino delgado y grueso de lobos marinos, el hallazgo coincide con los estudios realizados en Argentina (Hernández-Orts *et al.*, 2012), (Morgades, *et al.*, 2006) en Uruguay y (Machado, 2012) en Brasil, mientras que en Chile fue solo reportado como *Corynosoma* sp. por (Nascimento y Carvajal, 1981); los estudios anteriormente citados mencionan el hallazgo en *O. flavescens*; sin embargo, dichos resultados no son coincidentes

con los señalados hasta la actualidad en otáridos de la costa peruana, en el que el acantocéfalo hallado en *O. flavescens* ha sido identificado como *C. obtuscens* por (Miranda, *et al.*, 1968; Tantaleán *et al.*, 1993).

Las observaciones morfológicas como la apariencia del cuerpo, el patrón de ganchos, la cantidad de los ganchos en la probóscide y la distribución de las espinas corporales son importantes en la taxonomía de los acantocéfalos y son las claves para identificar especies. Sin embargo, pequeñas diferencias en las características causan varias evidencias de sinonimias (Amin, 2013).

Lisitsyna *et al.* (2018), evidencian una sinonimia entre adultos de *C. obtuscens* y *C. australe* mediante estudios morfométricos y análisis molecular usando fragmentos de los genes *cox1* y 18S rRNA. Estos especímenes adultos fueron aislados de *Zalophus californianu* de las costas de California, USA y comparados con secuencias depositadas en el Genbank de adultos aislados de *Spheniscus magellanicus* (pingüino de Magallanes en Argentina), que mediante relación filogenética las especies de *Corynosomas* se posicionaron en un mismo clado dando como resultados un 99% - 100% de similitud. Nosotros construimos un árbol filogenético inferido con el método de maximum likelihood, donde estima que las secuencias de los cistacantos del presente estudio tienen una probabilidad mayor al 91% con *C. australe*, además se agrupan en un clado hermano. En las diferentes especies de peces del mar peruano, los especímenes de cistacantos de *Corynosoma* han sido identificados y reportados como *C. obtuscens* (Castro y Martínez, 2004; Cabrera *et al.*, 1999), ahora en la presente tesis podemos concluir gracias al estudio combinado morfológico y molecular que *C. australe*, es un sinónimo mayor de *C. obtuscens*, pero es necesario combinar la información sobre los hospederos y la distribución para las especies con estos dos nombres. Esto también es confirmado por Lisitsyna *et al.* (2018), donde combina datos morfológicos y moleculares de los estadios adultos de

hospederos definitivos, señalando que al parecer de *C. australe* es la única especie del género *Corynosoma* que parasita pinnípedos en ambos hemisferios y que es un sinónimo de *C. obtuscens*. Para tener la certeza que en el mar peruano está presente sólo la especie de *C. australe* se debe realizar un estudio de los especímenes adultos de *Corynosomas* en pinnípedos.

Un estudio de peces de mar en *Paralichthys isósceles*, *P. patagonicus* y *Xystreurys rasile* conocidos comúnmente como lenguados capturados frente a las costas del estado de Río de Janeiro, Brasil, reportaron la presencia de *C. australe* y *C. cetaceum* mediante caracteres morfológicos, morfométricos y genéticos (Goncalves *et al.*, 2019). De la misma manera, reportamos la presencia de *C. australe* en *P. adpersus* en aguas del mar peruano central.

Las descripciones morfológicas y análisis morfométricas presentan pequeñas variaciones que hace confusa la identificación específica del género *Corynosoma*, ello podría explicarse mediante la influencia de las hormonas del hospedero que tienen un efecto sobre el crecimiento y distribución de sus hospederos según lo señala (Smyth *et al.*, 1976), mientras que (Trouvé *et al.*, 1998) consideran que un parásito se somete a selectivas presiones debido a los recursos alimentarios y al anfitrión inmunocompetente, señalando que tales limitaciones o ventajas podrían tener alguna influencia en los rasgos del parásito y se reflejaría en su crecimiento.

El uso de herramientas moleculares mediante marcadores genéticos como el gen *Cox1* sería esencial para determinar especies permitiendo evaluar las variaciones morfológicas que corresponden a la especie o a la expresión fenotípica de la misma debido al medio ambiente (Hebert *et al.*, 2003). Por lo tanto, este estudio contribuye a mejorar el conocimiento sobre la distribución y ocurrencia de *especies de Corynosomas* en las aguas del Pacífico sudoriental y sus implicaciones en la seguridad de los productos del mar para las poblaciones humanas locales.

VIII. CONCLUSIONES

- Se proporciona por primera vez una data molecular identificando con el marcador genético *Cox1* a *Corynosoma australe* en tres especies de peces (*Paralabrax humeralis*, *Cheilodactylus variegatus* y *Paralichthys adspersus*) de interés comercial.
- Se confirma que *C. australe* es un sinónimo mayor de *C. obtuscens*, soportado por inferencias filogenéticas.
- Se registra que *C. australe* fue la especie con ocurrencia en el año 2015 y 2018, siendo identificada combinando características morfológicas, morfométricas y genéticas.
- Se registra una mayor prevalencia en *Paralabrax humeralis* (65.71%) que en *Cheilodactylus variegatus* (54.29%) y *Paralichthys adspersus* (42.86%).
- Se registra una mayor abundancia media (6.71) e intensidad media (12.37) en *Cheilodactylus variegatus* que en *Paralabrax humeralis* y *Paralichthys adspersus*.
- Se concluye que *C. australe* es un parásito inespecífico ya que es la única especie que está parasitando a los tres peces teleósteos en el presente estudio.
- La construcción del árbol filogenético evidencia que las secuencias son soportadas y se agerupan en un clado hermano con las secuencias de *C. australe*.

IX. RECOMENDACIONES

Se requieren mayores investigaciones con respecto a las zoonosis relacionadas con el consumo de productos biológicos marinos, ya que en nuestro país están muy asociadas las costumbres culinarias con la identidad cultural y esto podrían tener un impacto negativo en la salud pública, es por ello que sería recomendable darle más atención al estudio epidemiológico.

En el litoral peruano está presente una fauna parasitaria variada y esta puede variar aún más debido a los cambios climatológicos, por lo que es importante determinar las especies parasitarias que la integran, su repercusión en la salud pública y mantener actualizada la data parasitaria presente en las especies hidrobiológicas destinadas al consumo humano directa o indirectamente, con la finalidad de establecer programas sanitarios y recomendaciones para garantizar la inocuidad de estos productos.

Se recomienda estudiar los adultos de *Corynosomas* presentes en pinnípedos y otros mamíferos marinos del mar peruano, con la finalidad de poder obtener mayor información sobre la ocurrencia de *C. australe*, ya que la base de su alimentación de estos mamíferos son una extensa variedad de peces.

Se recomienda utilizar otros métodos algorítmicos para apoyar los resultados del análisis filogenético.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, E. y Cid, L. (1995). On the ecology of two sympatric flounders of the genus *Paralichthys* in the Bay of Coquimbo, Chile. *Netherlands Journal of Sea Research*. 34 (1-3) : 7-18.
- Adams, G. y Flores, D. (2016). Influencia de El Niño Oscilación del Sur en la disponibilidad y abundancia de recursos hidrobiológicos de la pesca artesanal en Ica, Perú. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* Vol. 51, No2: 265-272.
- Aguilar, A. (2017). Determinación de la proporción potencial de desove basada en longitudes para *Cheilodactylus variegatus* (Valenciennes, 1833) “pintadilla” en la localidad de Ancón. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 72pg.
- Ahumada, R. y Chuecas, L. (1979). Algunas características hidrográficas de la Bahía Concepción (36°40'S - 73°02'W) y áreas adyacentes, Chile. *Gayana Miscelánea* 8: 1-56.
- Altschul, S. *et al.* (1997). Gapped Blast and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, Vol. 25, No. 17 3389–3402.
- Amin, O. (2013). Classification of the Acanthocephala. *Folia Parasitol* 60:273–305.
- Amin, O. *et al.* (2011). The morphology of an unique population of *Corynosoma strumosum* (Acanthocephala, Polymorphidae) from the Caspian seal, *Pusa caspica*, in the land-locked Caspian Sea using SEM, with special notes on histopathology. W. Stefanski Institute of Parasitology, PAS *Acta Parasitologica*, 56(4), 438–445.

- Angeles, B. y Mendo, J. (2005). Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (steindachner) de la costa central del Perú. *Ecología Aplicada*, 4(1,2).
- Apari, E. (2019). Descripción de cambios transcripcionales durante estadios tempranos del desarrollo del lenguado *Paralichthys adspersus*. Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. 61pg.
- Aznar, F., Hernández-Orts, J. y Raga, J. (2018). Morphology, performance and attachment function in *Corynosoma* spp. (Acanthocephala). *Parasites & Vectors* 11: 633.
- Aznar, F. *et al.* (2018). Reproductive inequalities in the acanthocephalan *Corynosoma* cetaceum: looking beyond crowding effects. *Parasites & Vectors* 11: 203.
- Aznar, F. *et al.* (2012). Assessing host–parasite specificity through coprological analysis: a case study with species of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals. *Journal of Helminthology* 86, 156–164.
- Balart, E. (1996). Pesquería de lenguados. Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur. Casas Valdez, M. y G. Ponce Díaz (eds.).
- Berta, A. y Churchill, M. (2012). Pinniped taxonomy: review of the evidence for description of currently recognized pinniped species and subspecies. *Mammal Review* 42: 207-234. DOI: 10.1111/j.1365-2907.2011.00193.x.
- Cabrera, R., Rojas, R. y Davalos, M. (1999). *Corynosoma obtuscens* lincicome, 1943 (acanthocephala:polymorphidae) en *canis familiaris* de la ciudad de chincha, Peru. *Parasitol* v.23 n.1-2.

- Cabrera, R., Coronado, C. y Ampuero, S. (1994). Parásitos de Otáridos de la costa peruana y su importancia sanitaria. *Boletín de Lima*. 16 (91-96): 77- 80.
- Calderón, K. (2015). Helmintos y ectoparásitos en *Otaria flavescens* "lobo marino chusco" (mammalia: otariidae) en Punta San Juan de Marcona ·Ica. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. 53 pps.
- Cappozzo, L. (2000). Comportamiento reproductivo del lobo marino sudamericano. *Ciencia Hoy Volumen 10 número 59*.
- Carhuas, V. (2018). Taxonomía y ecología de los metazoos parásitos de la "pintadilla" *Cheilodactylus variegatus* valenciennes, 1833 (perciformes: cheilodactylidae) en la costa central de Perú. Universidad Federico Villareal.
- Castro, M. y Martínez, R. (2004). *Proceso del desarrollo de Corynosoma obtuscens (Acanthocephala: Polymorphidae) en Canis familiaris y su posible implicancia en salud pública*. *Parasitol Latinoam* 59: 26 – 30.
- Chero, J. (2017). Biodiversidad de metazoos parásitos en peces de la zona marino costera de Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Chero, J. *et al.* (2014). Aspectos ecológicos de los helmintos parásitos de lorna *Sciaena deliciosa* (tschudi, 1846) (Perciformes: Sciaenidae) adquiridos del terminal pesquero de Ventanilla, Callao, Perú. *Neotrop. Helminthol.* 8(1).
- Chirichigno, F. y Cornejo, R. (2001). Catálogo comentado de los peces marinos del Perú. Instituto del Mar del Perú, IMARPE, Publicación especial. Callao, Perú. 314 p.

- Chirichigno, F. y Vélez, J. (1998). Clave para identificar los peces marinos del Peru. Instituto del Mar del Peru, Publicación especial. 496 p.
- Cisternas, F. y Sielfeld, W. (2008). Habitat overlap of *Paralabrax humeralis* (Cuvier & Valenciennes, 1828), *Hemilutjanus macrophthalmos* (Tschudi, 1845), and *Acanthistius pictus* (Tschudi, 1845) (Pisces; Serranidae) in the rocky subtidal south of Iquique, Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 36(2): 153-158.
- Cornejo, M. *et al.* (2014). Composición y sobreposición dietaria de *Pinguipes chilensis* (Perciformes: Pinguipedidae), *Cheilodactylus variegatus* (Perciformes: Cheilodactylidae) y *Aplodactylus punctatus* (Perciformes: Aplodactylidae) en el litoral costero valdiviano, Chile. *Gayana* 78(2): 9280-11408.
- Crespo, E. *et al.* (2012). Estado de situación del lobo marino común en su área de distribución. Universidad de Valparaíso Editorial, Dirección de Extensión y Comunicaciones.
- Fajer, E. *et al.* (2017). Estrategias para la prevención y control de las enfermedades parasitarias de la tilapia. *Acta Agrícola y pecuaria*, 3 (2): 25-31.
- Felix, F. (2002). Una colonia de lobos marinos sudamericanos (*Otaria flavescens*) en Salinas, Ecuador. *Acta oceanografica del pacifico* vol.11 N.1.
- Flores, H. y Poblete, H. (2015). Primer registro de melanismo en *Cheilodactylus variegatus* Valenciennes, 1833 (Perciformes, Cheilodactylidae). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(3): 588-594.
- Flores, J. *et al.* (2013). Abundancia, distribución, hábitos alimentarios e interacciones tróficas de cinco especies de lenguados (Pleuronectiformes) en el Pacífico central mexicano. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 41(3): 423-439.

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Fraysse, C. y Petraroia, A. (2013). Crecimiento del lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) en condiciones de cultivo. Universidad de Buenos Aires.
- Fujita, T., Waga, E., Kitaoka, K., Imagawa, T., Komatsu, Y., Takanashi, K. y Fujimori, S. (2016). Human infection by acanthocephalan parasites belonging to the genus *Corynosoma* found from small bowel endoscopy. *Parasitology international*, 65(5), 491-493.
- García-Varela, M. *et al.* (2009). Systematic position of *Pseudocorynosoma* and *Andracantha* (Acanthocephala, Polymorphidae) based on nuclear and mitochondrial gene sequences. *J Parasitol* 95(1):178-85.
- George-Nascimento, M. y Marin, S. (1992). Efecto de dos especies hospedadoras, el lobo fino austral *Arctocephalus australis* (Zimmerman) y el lobo marino común *Otaria byronia* (Blainville) (Carnívora; Otariidae), sobre la morfología y la fecundidad de *Corynosoma* sp. (Acanthocephala; Polymorphidae) en Uruguay. *Revista Chilena de Historia Natural* 65: 183-193.
- Goicochea, C. Moquillaza, P. y Mostacero, J. (2014). Edad y crecimiento de *Paralabrax humeralis* (Valenciennes) en el Mar del Callao, 1996. *Instituto del Mar del Perú* 39(1-2): 23-25.

- Goncalves, M. *et al.* (2019). Acanthocephalan parasites of the flounder species *Paralichthys isosceles*, *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* from Brazil. *Brazilian Journal of veterinary Parasitology*. ISSN 1984-2961.
- González, A. 2012. Parámetros biológico-pesqueros y talla mínima de captura de *Cheilodactylus variegatus* Valenciennes. Instituto del Mar del Perú, Informe 39 (1-2): 53-60.
- Habibi, F. y Shamsi, S. (2018). Preliminary report of occurrence of *Corynosoma spp.* (Acanthocephala: Polymorphidae) in Southern Caspian sprat (*Clupeonella grimmi*). *pringer Nature*.
- Hebert, P. *et al.* (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol.* 270(1512): 313–321.
- Hernández-Orts, J., Smales, L., Pinacho-Pinacho, C., Garcia-Varela, M. y Presswell, B. (2016). Novel morphological and molecular data for *Corynosoma hanna*e Zdzi-towiecki, 1984 (Acanthocephala: Polymorphidae) from teleosts, fish-eating birds and pinnipeds from New Zealand. *Parasitology International*.
- Hernández-Orts, J. *et al.* (2019). Transmission of *Corynosoma australe* (Acanthocephala: Polymorphidae) from fishes to South American sea lions *Otaria flavescens* in Patagonia, Argentina. *Springer Nature*.
- Hernández-Orts, J., Montero, F., Juan-García, A., García, N., Crespo, E., Raga, J. y Aznar, F. (2013). Intestinal helminth fauna of the South American sea lion *Otaria flavescens* and fur seal *Arctocephalus australis* from northern Patagonia, Argentina. *J Helminthol* 87: 336–347.

- Hernández-Orts, J. *et al.* (2012). Patterns of trunk spine growth in two congeneric species of acanthocephalan: investment in attachment may differ between sexes and species. *Parasitology*. 139: 945–955.
- Iannacone, J. *et al.* (2012). Parasitofauna del lenguado fino *Paralichthys adspersus* (steindachner) (Osteichthyes, Paralichthyidae) capturados por pesquería artesanal en Chorrillos, Lima, Perú. *Neotrop. Helminthol.* 6(1).
- Iannacone, J. y Alvariño, L. (2009). Dinámica poblacional de la diversidad parasitaria de la “cabrilla” *Paralabrax humeralis* (teleostei: serranidae) en Chorrillos, Lima, Perú. *Neotrop. Helminthol.*, 3(2).
- Iannacone, J. *et al.* (2003). Comunidades ectoparasitarias branquiales de la pintadilla *Cheilodactylus variegatus Valenciennes 1833* (Pisces: Cheilodactylidae). *Parasitol Latinoam* 58: 59 – 67.
- Ikeh, E. *et al.* (1992). Acanthocephalan infection in man in northern Nigeria. *Journal of Helminthology* vol.66 I.3.
- Jacinto, M. y Aguilar, S. (2007). Concentraciones traza de metales en especies marinas de la bahía de Huarmey, Ancash, Perú. *Rev. peru. biol.* 14(2): 307-311.
- Kaimoto, T. *et al.* (2018). Host characteristics and infection level of an intestinal parasite *Corynosoma strumosum* (Acanthocephala) in the Kuril harbor seal of Erimo Cape, Hokkaido, Japan. *Parasitology international* 67, 237-244.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16, 111–120 .

- Kong, I. y Castro, H. (2002). Macrofauna y algas marinas. Guía de biodiversidad No 3. Vol.1.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. y Mega, X. (2018). Análisis de genética evolutiva molecular en plataformas informáticas. *Mol Biol Evol*; 35: 1547-1549.
- Kuzmina, T. *et al.* (2018). Metazoan parasites of California sea lions (*Zalophus californianus*): A new data and review. *IJP: Parasites and Wildlife* 7, 326–334.
- Laskowski, Z. y Zdzitowiecki, K. (2005). La fauna de helmintos de algunos peces nototenioides recolectados en la plataforma de las islas argentinas, Antártida occidental. *Pol Polar Res* . 26: 315–324.
- Leng, Y. *et al.* (1983). Human infection with *Macracanthorhynchus hirudinaceus* Travassos, 1916 in Guangdong Province, with notes on its prevalence in China. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 77: 107-109.
- Lisitsyna, O. *et al.* (2018). Morphological and molecular evidence for synonymy of *Corynosoma obtusens* Lincicome, 1943 with *Corynosoma australe* Johnston, 1937 (Acanthocephala: Polymorphidae). *Syst Parasitol.*
- Machado, E. (2012). Identificação da comunidade componente de helmintos gastrointestinais, hepáticos, pulmonares, cardíacos e renais de *Otaria flavescens* (Shaw, 1800) Leão-marinho-do-sul, no litoral sul do Brasil. Programa de Pós-graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas.
- Majluf, P. y Trillmich, F. (1981). Distribution and abundance of Sea Lions (*Otaria byronia*) and Fur Seals (*Arctocephalus australis*) in Perú. *Z.f. Säugetierkunde* 46(86) 384-393.
- Masová, S. y Barus, V. (2013). Redescription of cystacanths of *Corynosoma pseudohamanni*

- Zdzitowiecki, 1984 (Acanthocephala: Polymorphidae) from paratenic sh hosts. *Folia parasitológica* 60 [2]: 169–176.
- Medina, M., Araya, M. y Vega, C. (2004). Alimentación y relaciones tróficas de peces costeros de la zona norte de Chile. *Investigaciones Marinas*, Vol. 32(1).
- Mejía, J., Samamé, M. y Pastor, A. (1970). Información básica de los principales peces de consumo. *Informes Especiales IMARPE*, N° IM-62, Julio 1970. 20 pp.
- Miranda, H., Fernández, W. e Ibañez, N. (1968). Diphylobotriasis Investigación de *Diphyllobothrium pacificum* (Nybelin,1931) Margolis, 1956, en *Otaria byronia* (sin. *Otaria flavescens*) y en peces marinos. *Archivos Peruanos de Patología y Clínica*, vol. 22, pp. 9-24
- Morgades, D. *et al.* (2006). Fauna parasitaria del lobo fino *Arctocephalus australis* y del león marino *Otaria flavescens* (Mammalia, Otariidae) en la costa uruguaya. *Vida silvestre Uruguay*.
- Nadler, S., Bolotin, E. y Stock, S. (2006). Phylogenetic relationships of *Steinernema* Travassos, 1927 (Nematoda: Cephalobina: Steinernematidae) based on nuclear, mitochondrial and morphological data. *Systematic Parasitology*, 63, 161–181.
- Naupay, A. *et al.* (2019). Helminths gastrointestinales de *Otaria flavescens* shaw 1800 (mammalia: otariidae) león marino sudamericano de la costa central del Perú. *Neotropical Helminthology*, 13(2), jul-dic:317-333.
- Nickol, B. *et al.* (2002). *Corynosoma magdaleni* in gray seals from the gulf of bothnia, with emended descriptions of *Corynosoma strumosum* and *Corynosoma Magdaleni*. *J. Parasitol*, 88(6), pp. 1222-1229.

- Nielsen, J. (1963). On the development of *Cheilodactylus variegatus* Valenciennes, 1833 (Cheilodactylidae). *Copeia* (3): 528-533.
- Nikishin, V. *et al.* (2007). Encapsulation of Acanthocephalans *Corynosoma* sp. in Two Reservoir Host Species. *Doklady Biological Sciences*, Vol. 417, pp. 462–464.
- Noronha, D. (1988). *Corynosoma clementei* Giovannoni y Fernandes, 1965 y su sinónimo *Corynosoma seropedicus* Machado Filho, 1970, un parásito accidental de *Canis familiaris* L., 1758 . *Arq Flum Med Vet.* 3 : 119-120.
- Palma, A. y Ojeda, P. (2002). Abundance, distribution and feeding patterns of a temperate reef fish in subtidal environments of the Chilean coast: the importance of understory algal turf. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 189-200.
- Paves, H., Schlatter, R. y Espinoza, C. (2005). Patrones reproductivos del lobo marino común, *Otaria flavescens* (Shaw 1800), en el centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 687-700.
- Pelayo, S. (2008). Zooantroponosis. *Parasitología*. Encimed.
- Pérez, I. *et al.* (1999). Presencia de formas parasitarias en peces comerciales del mar peruano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* Vol. 10, N° 1.
- Petrochenko, V. (1958). Acanthocephalans of domestic and wild animals. Vol. II. Moscow: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, 458 pp.

- Rhode, K. (1990). Phylogeny of platyhelminthes, with special reference to parasitic groups. Internal. J. Parasitol. 20:979-1007.
- Rice, DW. (1998). Marine Mammals of the World. Society for Marine Mammalogy Special Publication 4, 1–231. Lawrence, Kansas, USA.
- Rodrigo, R. y Pequeño, G. (2001). Revisión taxonómica de especies de las subfamilias Epinephelinae y Serraninae (Pises: Serranidae) de Chile. Revista de Biología Tropical, vol.49, pp.157-171.
- Rubio, K. (2016). Osteología de *Paralichthys adspersus* “lenguado” en la región La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo.
- Sadovy, Y. y Domeier, M. (2005). Are aggregation-fisheries sustainable? Reef fish fisheries as a case study. Coral Reefs 24: 254–262.
- Saitou, N. y Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4:406-425.
- Samamé, M., Quiroz, R. y Machii, T. (1994). Weight-length relationships and reproduction of the Peruvian pintadilla, *Cheilodactylus variegatus* V. (Cheilodactylidae), from the Callao fishing zone, Perú. Fisheries Research 22: 279-291.
- Sánchez, J. y Galvez, M. (2015). Escala de madurez gonadal de cabrilla *Paralabrax humeralis* (Valenciennes, 1828). Bol Inst Mar Perú / Vol 30 / Nos 1-2.
- Sasaki, M., Katahira, H., Kobayashi, M., Kuramochi, T., Matsubara, H. y Nakao, M. (2019). Infection status of commercial fish with cystacanth larvae of the genus *Corynosoma*

- (Acanthocephala: Polymorphidae) in Hokkaido, Japan. *International Journal of Food Microbiology* 305 - 108256
- Schmidt, G. (1971). Acanthocephalan infections of man, with two new records, *J. Parasitol.* 57: 582–584.
- Serrano, E. *et al.* (2017). Detección de Parásitos en Peces Marinos Destinados al Consumo Humano en Lima Metropolitana. *Rev Inv Vet Perú* 28(1): 160-168.
- Silva, A. y Oliva, M. (2010). Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 38(3): 377-386.
- Silva, A. *et al.* (2001). Evaluación del crecimiento de juveniles de lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) cultivado en estanques. *Biol. Pesq., Chile*, 29: 21-30.
- Sinisalo, T. y Valtonen, ET. (2003). *Corynosoma* acanthocephalans in their paratenic fish hosts in the northern Baltic Sea. *Parasite* 10(3):227– 233.
- Skorobrechova, E., Nikishin, V. y Lisitsyna, O. (2012). Structure of capsule around acanthocephalan *Corynosoma strumosum* from uncommon paratenic hosts—lizards of two species. *Parasitol Res* 110:459–467.
- Takahashi, K., Ito, T., Sato, T., Goto, M. *et al.* (2016). Infection with fully mature *Corynosoma* cf. *validum* causes ulcers in the human small intestine. *Japanese Society of Gastroenterology*.
- Tantaleán, M., Sánchez, L., Gómez, L. y Huiza, A. (2005). Acantocéfalos del Perú. *Rev. Perú. biol.* 12(1): 83-92.

- Tantaleán, M. (1994). Nuevos helmintos de importancia medica en el Perú. Rev. Perú. Med. Trop. U.N.M.S.M.
- Tantaleán, M. (1993). Nota sobre parasitismo intestinal diagnosticado en el IMT Daniel A. Carrión. Rev. Per. Med. Trop. UNMSM; 7(2): 99-103
- Testa, J. (2002). Does predation on neonates inherently select for earlier birth? Journal of Mammalogy 83: 699-706.
- Trouvé, S. *et al.* (1998). The evolution of parasites fecundity. Int. J. Parasitol. 28, 1817–1819.
- Waindok, P. *et al.* (2018). Prevalence and molecular characterisation of Acanthocephala in pinnipedia of the North and Baltic Seas. Parasites and Wildlife 7, 34-43.
- Zavalaga, C., Paredes, R. y Arias- Schreiber, M. (1998). Dieta del lobo fino *Arctocephalus australis* y el lobo chusco *Otaria byronia* en la costa sur del Perú en febrero de 1998. Inf. Prog, inst. Mar Perú 79:3-16.
- Zdzitowiecki, K. y Presler, P. (2001). Ocurrencia de Acanthocephala en huéspedes intermedios, Amphipoda, en Admiralty Bay, Islas Shetland del Sur, Antártida . Polaco Res. 22 : 205–212.

XI. ANEXOS



Distribución del lobo de mar común *Otaria flavescens* en Sudamérica.



Terminal pesquero de Chorrillos, Lima – Perú.



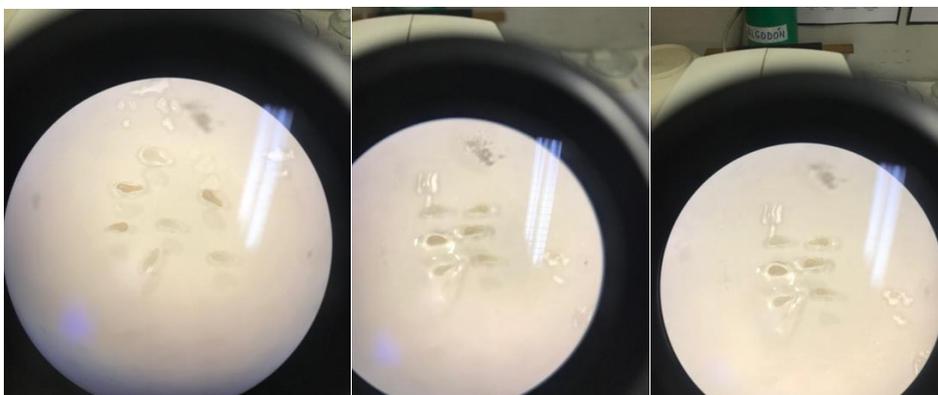
Puerto de San Andres, Pisco- Ica.



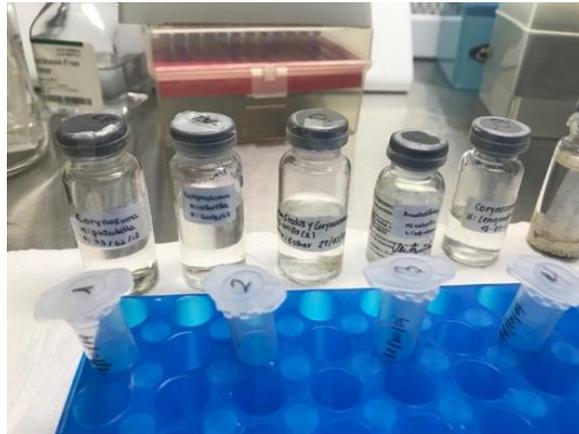
“cabrilla”, “pintadilla” y “lenguado”.



Lavado y separación de especímenes encontrados.



Observación y determinación de cistacantos.



Rotulado de cistacantos encontrados en cada espécimen



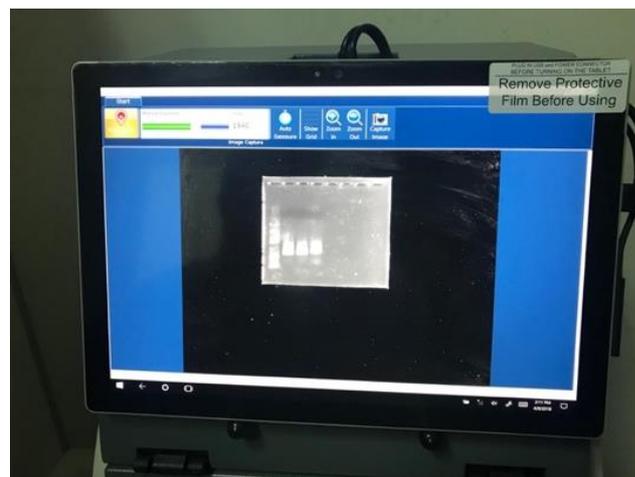
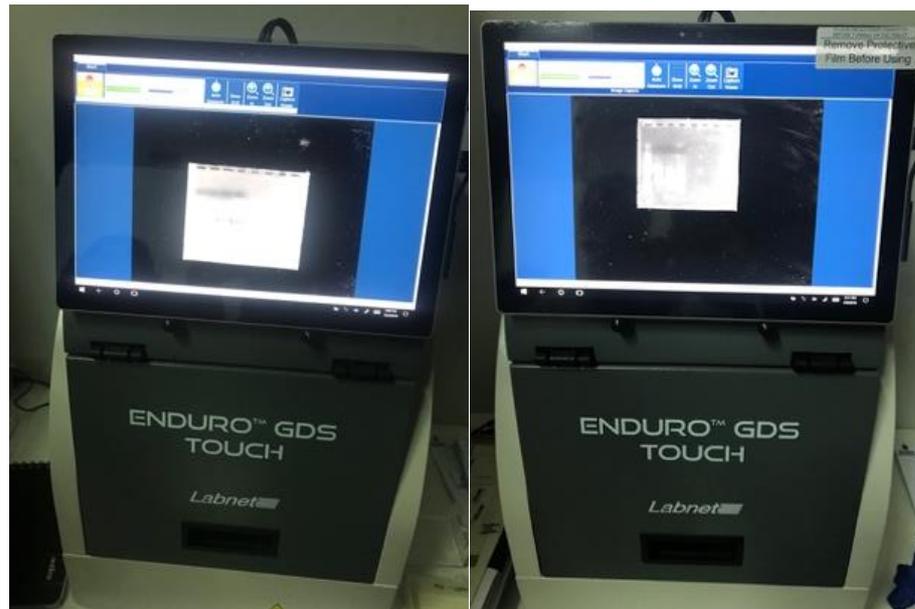
Proteinasa k, reactivo utilizados en la extracion de ADN.



Proceso de electroforesis: gel de agarosa y cámara electroforesis.



Marcador GeneRuler Express DNA Ladder (#SM 1551)



Sistema de foto documentación Enduro GDS Touch para visualizar las bandas en gel de agarosa.