



## Plan de Gestión de Datos

### INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

#### 1. – Datos del Proyecto

##### - Título del Proyecto (en castellano)

¿Cuán importantes son las defensas para determinar el resultado de una infección?  
Estudio comparado e integrativo en 4 sistemas diferentes

##### - Título del Proyecto (en inglés)

How important are host defenses to determine the outcome of infections? Comparative and integrative studies in four systems

##### - Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen

Las enfermedades infecciosas y parasitarias son consecuencia de interacciones inter-específicas entre parásitos y hospedadores. En esta relación, el parásito explota al hospedador para su propio desarrollo y/o reproducción, mientras que el hospedador responde activando estrategias de defensa para eliminar al parásito (resistencia) o minimizar el impacto de la infección (tolerancia). Una de las principales **consecuencias de la interacción hospedador-parásito** es la virulencia, definida como el daño que una infección causa al hospedador. Es importante establecer qué determinantes hacen que la virulencia varíe. Al mismo tiempo, el conocimiento de las consecuencias de la interacción parásito-hospedador sobre el parásito es aún muy limitado. Disponer de datos sobre desarrollo, reproducción y transmisión del parásito es esencial para entender, anticipar y predecir las dinámicas de infección, y para comprender el fenómeno desde un punto de vista ecológico y evolutivo.

El estudio del **contexto sobre la interacción parásito-hospedador** es fundamental ya que en la naturaleza, hospedadores y parásitos están constantemente expuestos a desafíos ambientales, lo cual modifica la capacidad de un hospedador para resistir o tolerar una infección. Por otra parte, se ha demostrado que la **interacción parásito-hospedador puede depender de la presencia de otra infección**, revelando que hay interacciones interespecíficas entre parásitos dentro del hospedador que no deberían ser ignoradas. Asimismo, la mayoría de **los parásitos puede infectar a más de una especie hospedadora**, incluso de diferentes órdenes o clases taxonómicas. Una implicancia importante de los sistemas con múltiples hospedadores es que la transmisión puede ocurrir entre hospedadores altamente variables en su competencia para hospedar y transmitir, dependiendo entonces la dinámica de infección de la estructura de la comunidad de hospedadores.

En este marco nos proponemos estudiar estos fenómenos de manera integrativa y comparada para alcanzar un mayor entendimiento de los procesos y patrones que determinan los resultados de las interacciones parásito-hospedador. Para esto se caracterizarán las estrategias de defensa (resistencia/tolerancia) que se generan y su eficacia en diferentes sistemas parásito-hospedador. Se tendrán en cuenta sistemas multihospedador, coinfecciones y/o bajo distintos contextos ambientales, puntos claves para comprender la ecología de las enfermedades transmisibles.

##### - Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen



Infectious and parasitic diseases are the consequence of interspecific interactions between parasites and hosts. In this relationship, the parasite exploits the host for its own development and reproduction, whereas the host responds with defence strategies to eliminate the parasite (resistance) or minimize the impact of the infection (tolerance). One of the main consequences of the host-parasite interaction is the virulence, defined as the host damage due to infection. It is important to establish which determinants make the virulence vary. At the same time, our knowledge on the consequences of a host-parasite interaction for the parasite is still very limited, as it is difficult to gather quality data that document the parasite performance and success. Generating such information is essential to understand, anticipate and predict infection dynamics, and to comprehend the phenomenon from an ecological and evolutive perspective.

Studying the influence of the context on host-parasite interactions is paramount, as in nature hosts and parasites are constantly exposed to environmental challenges, It has been shown that the environmental context has a strong influence on the ability of the host to resist or tolerate an infection. On the other hand, it has been shown that the outcome of a host-parasite interaction may depend on the existence of a concomitant infection, revealing that there are interspecific interactions among parasites infecting a host, which cannot be ignored. Also, it should be taken into consideration that most parasites can infect more than one host species, even different taxonomic orders or classes. An important implication of this is that in multihost systems transmission happens among hosts with different competence for the parasite development, reproduction and transmission, hence depending the infection dynamics on the structure of the host community.

We propose to study these phenomena using an integrative and comparative approach, to attain a better understanding of the patterns and processes that determine the outcomes of host-parasite interactions. For this, we will establish which defence strategies (resistance or tolerance) are elicited in different systems and contexts, establishing also their efficacy, key information to enhance our knowledge on the ecology of transmissible diseases.

**- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano)**

Interacción hospedador- parásito      Resistencia/Tolerancia      Ecología de enfermedades

**- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés)**

Host-parasite interactions      Resistance/Tolerance      Disease ecology

**2 – Datos del Director/ar del Proyecto**

**- Nombre y Apellido**

Andrea L. Racca

**- Unidad Académica**

Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral  
 Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET)

**- Teléfono oficial de contacto**

+ 54 9 3496 -420639 Int. 111 – 353

**-Teléfono móvil de contacto**

+ 54 9 342 5261339

**-E-mail del Director/a del Proyecto**

[aracca@fcv.unl.edu.ar](mailto:aracca@fcv.unl.edu.ar)



## DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

### -Describe la toma de muestras / datos a realizar

#### TOMA DE MUESTRA/DATOS

##### SISTEMA AVES - C.P. TORQUANS

Este sistema incluye como hospedadores a pichones altriciales de una comunidad de aves de la zona rural de la ciudad de Esperanza (provincia de Santa Fe), que son parasitados por larvas de moscas del Complejo *Philornis torquans* (*CP. torquans*). A continuación se nombran las aves que ingresarán en este estudio (todas pertenecen al orden Passeriforme): Hornero (*Furnarius rufus*), Espinero chico (*Phacellodomus sibilatrix*), Espinero grande (*Ph. ruber*), Espinero crestudo (*Coryphistera alaudina*), Chotoy (*Schoeniophylax phryganophilus*), Cacholote castaño (*Pseudoseisura lophotes*), Chororó (*Taraba major*), Benteveo (*Pitangus sulphuratus*), Tacuarita común (*Troglodytes aedon*), Tacuarita azul (*Polioptila dumicola*), Jilguero (*Sicalis flaveola*), Cardenal común (*Paroaria coronata*), Tordo músico (*Agelaioides badius*), Tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*). Todas las especies están, a nivel nacional e internacional, categorizadas en preocupación menor y son abundantes en el área.

- Conteo de larvas por pichón: se contabilizará la cantidad de larvas de moscas del C.P. torquans (dado que pueden observarse directamente mediante la inspección de los pichones) diferenciadas por estadios (L1: menor a 3mm; L2: entre 3mm y 7 mm y L3: mayor a 3mm).
- Extracción de sangre: a partir de pichones que superen los 5 g, y con una frecuencia de tres veces por semana, se realizará la extracción de sangre (máximo 15 micro-litros) mediante el corte de uña. Se realizará recuento total y diferencial de las células sanguíneas.
- Evaluación histopatológica e inmunohistoquímica: se caracterizará el tipo de reacción inmune que se produce en epidermis y dermis de los pichones parasitados, mediante técnicas histopatológicas tradicionales. Para esto se seleccionarán 5 pichones de cada especie.
- Administración de fitohemaglutinina (PHA) para evaluar la respuesta inmune en pichones con distintas cargas parasitarias: se seleccionarán 12 pichones que no hayan ingresado al tratamiento anterior y que presenten diferente historial de cargas de larvas. En estos se inoculará PHA y se realizarán dos mediciones, obteniendo así la dimensión de la reacción, la cual se asociará con las cargas parasitarias de cada hospedador.
- Inmunosupresión experimental con administración de dexametasona: se procederá a buscar nidos de las especies a estudiar que contengan más de un pichón. Se seleccionarán al azar la mitad de la nidada, la cual se tratará con dexametasona y el resto corresponderá al grupo control. Se medirá la disminución de la respuesta inmune (a través del recuento total y diferencial de GB), el grado de resistencia de los hospedadores y la productividad parasitaria (mediante la sobrevida de las larvas) y la tolerancia (expresado como la pendiente de la regresión lineal: condición de salud en función de la intensidad parasitaria).
- Evaluación de la administración de alimento aportada por los padres: en principio se observará de manera directa con binoculares, y a una distancia en la cual no se altere el normal comportamiento de los padres, se registrará la cantidad de veces que los adultos ingresan al nido durante el día. En los períodos de mayor visita por parte de los padres, se activarán cámaras de filmación dentro del nido para determinar si existe un aporte diferencial de alimento por parte de los padres.
- Evaluación del éxito larvario: se contabilizará la cantidad de larvas que parasitan a los hospedadores y se estimará la proporción de moscas que logran pupar.

Las variables que medirán los componentes y consecuencias de la interacción parásito-hospedador son:

Condición de salud de los hospedadores: se establecerá mediante la sobrevida, la longitud de tibio-



tarso y tarso –metatarso, el peso, la concentración de glóbulos rojos y desarrollo de la pápula ante la inoculación de PHA.

Inversión en resistencia: de manera sistémica, el realizará el recuento absoluto y diferencial de glóbulos blancos. Mientras que de manera local se tendrá en cuenta la caracterización de cortes histológicos de los tejidos circundantes a la localización de la larva.

Carga/productividad parasitaria: se tendrá en cuenta la sobrevida de las larvas en los hospedadores, la proporción de larvas de C.P. *torquans* del estadio L1 que llega al estadio de L3. También se medirá el período de tiempo que tardan las larvas desde que ingresan en el hospedador hasta que lo abandonan.

Cuantificación de la resistencia y su eficiencia: se realiza comparando intra e interespecíficamente la asociación entre los parámetros de carga parasitaria y la inversión en resistencia.

Cuantificación de la tolerancia: mediante el análisis de la pendiente de la regresión establecida entre variables de la condición de salud de los hospedadores como función de la carga parasitaria.

Posibles estrategias de tolerancia: frecuencia de alimentación de los pichones aportados por parte de los padres, evaluación de la administración de corticoides.

## **SISTEMA CUISES - ENDO/ECTOPARÁSITOS**

En este sistema se estudiará la interacción entre el Cuis campestre (*Cavia aperea*) y su comunidad de endo y ectoparásitos.

### *Clausuras experimentales*

El estudio será desarrollado en 2 clausuras experimentales pertenecientes, cada una con una superficie de 0.125 ha, que permitan controlar la dispersión y depredación aérea.

### *Capturas en agroecosistemas, conformación colonia fundadora*

La colonia de estudio será conformada por cuises capturados en agroecosistemas próximos a la ciudad de Esperanza. Los individuos capturados seleccionados para ser parte del estudio (n=24 adultos/juveniles, 18 hembras y 6 machos) serán marcados con dos caravanas numeradas (para su individualización, pesados, sexados y examinados para cuantificar la presencia de ectoparásitos. Además, se tomará muestra de sangre mediante punción de vena safena externa de pata posterior y se colectarán muestras de heces.

### *Recapturas en clausuras experimentales*

#### Variables indicadoras de condición de salud de los hospedadores durante las recapturas

Morfotipos: se determinará sexo, condición reproductiva y corporal, se tomarán medidas morfométricas: largo total del cuerpo, masa corporal y condición corporal. Se registrará el estado reproductivo tanto para machos como hembras adultas, registrando también lactancia, preñez y número de crías paridas.

Longevidad relativa y conocida de los individuos: se categorizarán como adultos (7-14 meses) los individuos de la colonia fundadora. A partir de las pariciones en las clausuras se podrán monitorear una nueva filial con datos precisos para la edad de cada individuo.

Parámetros hematológicos: se realizará recuento total de eritrocitos y leucocitos y recuento diferencial leucocitario, a partir de sangre entero obtenida mediante la punción de la vena safena externa.

Carga parasitaria: se buscará y se realizará recuento de ectoparásitos de forma sistémica: piojos y ácaros. Además, se recolectarán heces para análisis coproparasitológico (endoparásitos).

#### Variables indicadoras de estrategias de resistencia



Inversión inmunológica: a partir de muestras de sangre de cada recaptura se obtendrá el recuento total y diferencial de leucocitos. Con estas variables se realizarán asociaciones con las variables de carga parasitaria para cuantificar resistencia.

*Datos conductuales, observaciones directas*

En cada clausura y mediante observación directa se cuantificará la tasa de contacto físico. Estas observaciones se realizarán 2 veces por semana, con un promedio de 5h, 1 día por clausura. Se utilizarán categorías conductuales definidas por etogramas publicados para la especie.

Variables indicadoras de condición de salud de los hospedadores durante las observaciones directas:

Se realizará un análisis de redes sociales para asignar una medida de centralidad (producto de la totalidad de vínculos sociales desarrollados durante el tiempo de muestreo y por clausura) a la totalidad de individuos estudiados. La red social se correlacionará con el resto de variables propuestas como indicadoras de condición de salud de los hospedadores.

**SISTEMA ABEJAS - VARROA DESTRUCTOR**

Aquí se propone indagar la interacción entre abejas (*Apis mellífera*) y el parásito *Varroa destructor*.

La recolección de material vivo para experimentación se obtendrá a partir de panales con cría abierta de las colonias de abejas. Posteriormente, el material será trasladado al laboratorio y mantenido en un ambiente experimental controlado.

Etapas experimentales en laboratorio

- Experimento 1: Régimen nutricional restrictivo.
- Experimento 2: Infestación artificial con el ácaro *V. destructor*.
- Experimento 3: Régimen nutricional restrictivo + parasitismo por *V. destructor*.

Cada tratamiento (control y experimentos 1, 2 y 3) contará con su respectiva réplica (n = 60). Se registrará diariamente: mortalidad, porcentaje de supervivencia y el tiempo de desarrollo (días).

Variables indicadoras de la condición de salud de los hospedadores

Larvas individuales provenientes del grupo control y de los experimentos 1, 2 y 3 (N = 240, N = 120 por réplica) se muestrearán al final del período de alimentación (día 6 = D6, n = 30, 15 por réplica) y al emerger las abejas adultas (día 21 = D21, n = 30, 15 por réplica). En cada uno de los instantes mencionados, los organismos serán pesados para determinar su masa corporal y además, se estimará la masa relativa del cuerpo graso.

Variables indicadoras de estrategias de resistencia

Inversión inmunológica: se realizará recuento diferencial de las células sanguíneas hemocitarias a partir de extendidos de hemolinfa. La evaluación se realizará bajo un microscopio óptico por abeja individual.

Variables indicadoras de éxito reproductivo

El grado de infestación por *V. destructor* se determinará como el número de ácaros por larva al momento de la emergencia de la abeja adulta (día 21 = D21). Se clasificará a toda la descendencia femenina en grupos según su etapa de desarrollo. La mortalidad de la descendencia del ácaro, si la hubiere, también será determinada. Las variables serán cuantificadas por abeja individual sólo en aquellos individuos que han sido infestados artificialmente con el ácaro *V. destructor* (experimentos 2 y 3).

Tolerancia: a partir de los datos obtenidos de los Experimentos 1, 2 y 3, se analizarán las



pendientes de la regresión entre la condición de salud de los individuos y la intensidad parasitaria.

### **SISTEMA RATAS-TRIPANOSOMA/TRIQUINELA**

Este sistema está integrado por Ratas (*Rattus norvegicus*, Wistar) y dos parásitos *Trypanosoma cruzi* y *Trichinella spiralis*

La instancia de trabajo con animales de laboratorio ya fue ejecutada en su totalidad. Se utilizó un total de 128 ratas en 4 experimentos no simultáneos (32 ratas por experimento). Los tratamientos se implementaron durante 13 semanas.

Los 4 experimentos fueron de características similares (cada uno involucra 32 ratas en estudio + 8 'intrusos'), variando entre sí según la conformación evaluada de la relación hospedador-parásito:

- Experimento 1: los animales fueron inmunizados con albúmina sérica bovina (ASB).
- Experimento 2: a infectados con *Trichinella spiralis*
- Experimento 3: las ratas se infectaron con trypomastigotes sanguíneos de *Trypanosoma cruzi* (cepa Tulahuen)
- Experimento 4: los individuos se coinfectaron con los parásitos mencionados.

En cada uno de los experimentos se utilizó un diseño factorial 2x2, con restricción alimentaria (RA+) y conflicto social (CS+) como variables independientes. Luego de la aclimatación, los individuos de cada experimento fueron asignados, al azar, a uno de cuatro grupos de tratamientos (con 2 réplicas cada uno): i) Control (C) (n=8, 4 por réplica); ii) Restricción alimentaria (RA) (n=8, 4 por réplica); iii) Conflicto social (CS) (n= 8, 4 por réplica); y iv) Restricción alimentaria + conflicto social (RA+CS) (n=8, 4 por réplica).

Cada semana, los individuos fueron pesados y medidos, se les extrajo una muestra de sangre y se colectó muestra individualizada de materia fecal. Al finalizar los tratamientos los animales fueron eutanasiados según protocolo bajo anestesia profunda. Se obtuvieron muestras de sangre por punción cardíaca, seguida de exsanguinación y dislocación cervical. Se tomaron las mismas medidas y muestras que semanalmente, al tiempo que los órganos internos fueron pesados y preservados, por duplicado, en formol 10% y a -80°C.

#### Quantificación de carga parasitaria: *Try. cruzi*

La cuantificación se prevé realizarla mediante examen histopatológico y PCR en tiempo real. Para el primer caso, se evaluará la presencia, frecuencia y tamaño de nidos amastigotes mediante examen histológico de órganos seleccionados: corazón, músculo esquelético, intestino, bazo, hígado. La cuantificación mediante PCR en tiempo real se realizará a partir de sangre y tejidos.

#### Quantificación de carga parasitaria: *Tri. spiralis*

La cuantificación se realizó a través de la técnica de digestión artificial con pepsina-ácido clorhídrico. La intensidad de infección se determinó en relación a la cantidad de masa muscular analizada (larvas/gramo).

Medidas de condición de salud: se considerarán para su evaluación i) medidas corporales: peso corporal e índice de masa corporal (log peso/log largo [Labocha y col., 2014]); ii) medidas de salud: conteo de eritrocitos; y iii) medidas reproductivas: peso, tamaño y masa testicular estimada ([ancho testicular<sup>2</sup>] x largo testicular).

Resistencia cuantitativa: a partir de los datos obtenidos de los Experimentos 2, 3 y 4, se analizará la diferencia entre las cargas parasitarias que presenten los individuos de cada uno de los grupos de tratamiento.

Resistencia cualitativa: se obtendrá midiendo la diferencia de condición de salud (como inferencia de *fitness*) entre los individuos del Experimento 1 (no expuestos a parásitos) y aquellos expuestos a



parásitos que fueron capaces de repeler la infección (esta medida se realizará en caso de existir tales casos).

Tolerancia: a partir de los datos obtenidos de los Experimentos 2, 3 y 4, se analizarán las pendientes de la regresión entre condición de salud de los individuos y la intensidad parasitaria.

**- Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? (marque X)**

	<b>NO</b>
	<b>SI. Elija una de las opciones:</b>
	a) Se encuentra en evaluación de protección por medio de patentes
	b) No se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible
	c) Existe un contrato con un tercero que impide la divulgación
	d) Otro. Justifique. <b>X</b>
	<b>Se solicita confidencialidad debido a que los resultados serán parte de una (o varias) publicación científica en revista especializada del área, para lo cual es necesario que los datos no hayan sido publicados con anterioridad.</b>

**- Período de Confidencialidad: Es el período durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El período máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.**  
 Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con "X".

	<b>1 (UN) año</b>
	<b>2 (DOS) años</b>
	<b>3 (TRES) años</b>
	<b>4 (CUATRO) año</b>
<b>X</b>	<b>5 (CINCO) años</b>
	<b>Otro.</b>
	<b>Motivos:</b>