

Libros de **Cátedra**

Parasitología comparada Modelos parasitarios

Parte I. Protozoos

Nilda Ester Radman, María Inés Gamboa
y Franca Lucrecia Mastrantonio Pedrina
(coordinadores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

PARASITOLOGÍA COMPARADA MODELOS PARASITARIOS

PARTE I. PROTOZOOS

Nilda Ester Radman
María Inés Gamboa
Franca Lucrecia Mastrantonio Pedrina
(coordinadores)

Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EDITORIAL DE LA UNLP

A nuestros maestros, Dr. Juan José Boero, Dra. Raquel Feldman, quienes
abrieron caminos para nuestra cátedra y nos enseñaron a quererla,
A nuestros maestros Dra. Lucila Venturini y Dr. Jorge Led que supieron continuar
con el reto de los mayores, continuaron su senda e hicieron lo suyo y más,
A nuestra amiga Mónica del Valle Guardis, con quien
nos hubiera gustado seguir caminando,
Los docentes de hoy, tenemos algo de todos ellos, lo atesoramos
y actualizamos, pero la esencia está detrás!

Agradecimientos

A nuestros alumnos, a quienes nos debemos. Los que fueron, los que son y los que serán. A quienes ansiamos transmitir lo poco que sabemos, esperando sembrar en ellos, desafíos, interrogantes y motivaciones para su quehacer profesional. Porque nos ayudan en nuestro crecimiento, porque nos permiten disfrutar de nuestra profesión y acompañarlos a crecer en el riquísimo y transformador proceso mutuo de enseñanza/aprendizaje.

A Luciana Paula Davies quien, con abnegada dedicación y conociéndonos solo desde la virtualidad, nos acompañó en el proyecto y realizó los dibujos de esta obra, interpretando y enriqueciendo la morfología y ciclo de vida de muchos individuos del Reino Protista y otros microparásitos del hombre de los animales.

A Marcos Javier Butti quien, con su creatividad y energía, nos acompaña desde hace tiempo, haciendo suyos nuestros objetivos, sin abandonar los propios, por la toma de muchas imágenes y la edición de otras tantas que enriquecen este texto.

Mi trabajo, hecho por décadas, lo he continuado no para lograr los elogios que ahora disfruto, sino principalmente por ansias de conocer, lo que siento que es muy intenso en mí comparado con otros hombres. Por lo tanto, siempre que descubro algo importante o novedoso, siento que es mi deber traspasar mis hallazgos al papel, de manera que toda la gente con ingenio pueda informarse.

Antonie van Leeuwenhoek

Índice

PRIMERA PARTE

Protozoos

Introducción

Reino Protista _____ 10

María Inés Gamboa y Nilda Ester Radman

Capítulo 1

Toxoplasma gondii. Toxoplasmosis _____ 23

Juan Manuel Unzaga

Capítulo 2

Cystoisospora belli. Cystoisosporosis humana _____ 34

María Laura Ciarmela

Capítulo 3

Cystoisospora spp. Cystoisosporosis animal _____ 41

María Inés Gamboa

Capítulo 4

Sarcocystis spp. Sarcocystosis humana _____ 51

Marta Minvielle

Capítulo 5

Sarcocystis spp. Sarcocystosis animal _____ 59

Gastón Moré

Capítulo 6

Cryptosporidium spp. Criptosporidiosis _____ 69

Betina Cecilia Pezzani

Capítulo 7

Eimeria tenella y otras Eimerias aviares _____ 78
Valeria V. Corbalán

Capítulo 8

Cyclospora cayetanensis. Ciclosporosis humana _____ 93
Leonora Kozubzky

Capítulo 9

Hepatozoon sp. Hepatozoonosis canina _____ 100
Franca Mastrantonio, Diego Fernando Eiras

Capítulo 10

Plasmodium spp. Paludismo _____ 113
Gustavo J. Fernández

Capítulo 11

Haemoproteus spp. Haemoproteosis _____ 128
María Florencia Unzaga

Capítulo 12

Leucocytozoon spp. Leucocytozoonosis _____ 137
Sergio I. Garijo

Capítulo 13

Babesia spp. Babesiosis humana _____ 150
Mara Maydana

Capítulo 14

Babesia spp. Babesiosis bovina _____ 160
Emanuel Ortega

Capítulo 15

Orden Piroplasmida. Babesiosis y rangeliosis canina _____ 169
Diego Fernando Eiras, María Victoria Vazquez, Darío Vezzani

Capítulo 16

Balantioides coli. Balantidiosis. Otros Ciliophora _____ 181
Beatriz A. Osen

Capítulo 17

Amebozoa. Amebas entéricas humanas _____ 193
María Elena Costas y Paula Magistrello

Capítulo 18

Amebas patógenas de vida libre (AVL) _____ 205
Sixto Raúl Costamagna

Capítulo 19

Giardia spp. Giardiosis. Otros Fornicata _____ 218
Nilda Ester Radman

Capítulo 20

Trichomonas vaginalis. Trichomonosis genital humana _____ 232
Susana Archelli

Capítulo 21

Tritrichomonas foetus. Trichomonosis bovina _____ 247
César Ivan Pruzzo

Capítulo 22

Otros Trichomonadidos. Trichomonosis humanas y animales _____ 254
Antonela Paladini

Capítulo 23

Dientamoeba fragilis. Dientamoebiasis *Histomona meleagridis.* Histomonosis _____ 265
Marcos Butti

Capítulo 24

Trypanosoma cruzi. Enfermedad de Chagas-Mazza _____ 274
Rubén Storino

Capítulo 25

Trypanosoma spp. Trypanosomosis humanas y animales _____ 306
Cristina Salomón

Capítulo 26

Leishmania infantum. Leishmaniosis visceral canina _____ 319
Oscar D. Salomón, Victoria Fragueiro Frías, Vanesa Negri

Capítulo 27

Blastocystis spp. Blastocystosis humana _____ 336

María Inés Gamboa

Capítulo 28

Clase Myxozoa. Myxozoanosis _____ 348

Delfina María Paula Cantatore, María Alejandra Rossin

Capítulo 29

Phylum Microsporidia. Microsporidiosis humana _____ 363

Silvana Carnevale y Jorge Velazquez

Capítulo 30

Nosema apis. Nosemosis _____ 375

Santiago Plischuk

Los autores _____ 384

INTRODUCCIÓN

Reino Protista

María Inés Gamboa y Nilda Ester Radman

Los protozoos son organismos microscópicos con características similares a las de los animales, son organismos diversos, en su mayoría heterótrofos unicelulares que ingieren su alimento. Ellos pasan la mayor parte de su vida como formas asexuales, pero algunos atraviesan etapas sexuales, con meiosis y fusión de gametos haploides, dando lugar a cigotos diploides. Se encuentran en todo el mundo, en muy diversos hábitats. La mayoría son de vida libre, pero todos los animales superiores pueden estar infectados por uno o más géneros de protozoos. Muchas especies causan enfermedades (por ejemplo, la malaria), otras son comensales en el tracto digestivo de los rumiantes y de los insectos. Se han descrito varios miles de especies, la mayoría de vida libre, posibles de hallarse en todos los hábitat. Anton van Leeuwenhoek fue la primera persona que los observó y lo hizo en sus propias heces. Se considera que metamonadas (*Giardia* spp.) y microsporidios (*Nosema* sp.) son los protozoos más antiguos, mientras que los del Phylum Ciliophora son los más recientes. Como parásitos o comensales son muy ubicuos, pueden hallarse en distintos órganos y tejidos, por lo cual todos los humanos y animales albergan protozoos endoparásitos en algún momento de su vida o están permanentemente infectados. Algunas especies se consideran comensales mientras que otras son patógenas y ocasionan desde enfermedades leves hasta potencialmente mortales. Los individuos inmunocompetentes pueden controlar la infección parasitaria, ser portadores, constituir riesgo para otros individuos y contaminar el ambiente. En áreas endémicas de parasitosis humanas o animales se prefiere mantener bajas cargas parasitarias a fin de evitar reinfecciones. (Alvarez, 2017; Nagoba & Pichare 2020).

Infecciones por protozoos leves o subclínicas en individuos sanos, pueden ser graves o mortales en pacientes inmunodeprimidos, niños, ancianos, malnutridos, personas con enfermedades concomitantes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), medicados en forma prolongada con corticoides e individuos trasplantados. En ocasiones los individuos tienen cierta inmunidad a cepas locales pero no hacia las de otras regiones (Rojo & Gonzalez, 2016) Así ocurre con *Trypanosoma cruzi*, *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii* y *Cryptosporidium* spp. entre otros. Estos parásitos son entonces oportunistas, por afectar a hospedadores vulnerables o inmunosuprimidos en distintos grados. Las especies de *Acanthamoeba* sp. son amebas de vida libre que habitan suelo y el agua, cuyos quistes pueden transmitirse por el aire. Se han reportado úlceras corneales graves y pérdida de visión debidas a especies de

Acanthamoeba en individuos que usan lentes de contacto debido a la colonización del protozoo, ya que forma parte de los biofilms formados en los estuches de almacenamiento y también se halla en las soluciones de limpieza, especialmente las preparadas en forma doméstica. Las amebas del género *Naegleria* sp. habitan en masas de agua superficiales, ocasionan meningoencefalitis amebiana primaria, enfermedad que suele ser mortal. Las amebas ingresan al cuerpo a través del agua que salpica el tracto nasal superior, al zambullirse, o durante la natación o el buceo. Estas infecciones por *Acanthamoeba* se observaron primeramente in vitro, en cultivos celulares y en animales de laboratorio. Posteriormente se comenzaron a reconocer y notificar como agentes de patologías en humanos.

La falta de vacunas, la escasez de medicamentos efectivos e inoocuos para el hospedador y el control de vectores, hicieron que la Organización Mundial de la Salud indique la necesidad de que algunas enfermedades sean investigadas y se propongan programas para su control. Entre ellas, algunas son ocasionadas por protozoos, malaria, tripanosomiasis y leishmaniasis. Ha habido numerosos avances en relación a ellas; no obstante, no se han resuelto los problemas relacionados a su control en muchas regiones. Además, se van presentando resistencias a las drogas, lo cual obliga a continuar investigando.

Los protistas no representan una agrupación filogenética de organismos estrechamente relacionados, ni comparten ninguna característica biológica que no sea común a todos los eucariotas. La mayoría de los subgrupos de protistas se clasifican de forma imprecisa como algas o protozoos.

Las infecciones varían desde asintomáticas hasta potencialmente mortales, según la especie, cepa del parásito y la resistencia del hospedador. Tienen una estructura interna compleja cuyas organelas cumplen numerosas actividades metabólicas. Algunos protozoos cuentan con cilios, flagelos y/o pseudópodos para su desplazamiento, otros de movilidad reducida lo hacen con ayuda de su citoesqueleto. Mediante estudios realizados con microscopía de luz y electrónica, los protozoos se clasificaron en seis filos. No obstante, a lo largo del tiempo esta clasificación se ha modificado numerosas veces y sigue en continua revisión y cambio, al punto que algunos autores reconocen 7 phyla y otros listan más de 30. La mayoría de las especies que causan enfermedades humanas son miembros de los Phyla Apicomplexa, Euglenozoa, Amebozoa, Metamonada y Ciliophora, sin embargo es probable que a medida que se avance en novedosas técnicas aplicadas al diagnóstico se evidencien otros.

En esta publicación se incluyen sólo especies parásitas, algunas de las cuales han cambiado su ubicación taxonómica a la luz de nuevos estudios y ya no pertenecen al Reino Protozoa, pero siguen ejerciendo acción parasitaria en humanos y animales. Por ello, más allá de la clasificación sistemática, son abordados en este tratado.

En protozoosis, como en todas las parasitosis, es necesario que el parásito no destruya rápidamente a su víctima y pueda además transmitirse de un hospedador infectado hacia otro no infectado, a fin de perpetuarse. Sus fases en el hospedador, alimentándose y multiplicándose activamente se denominan habitualmente trofozoítos o formas vegetativas. En la transmisión actúan las formas de resistencia, particularmente en los enteroparásitos. Ese estado se

denomina quiste y posee una gruesa membrana que le proporciona protección. Es una etapa del parásito que le permite sobrevivir en el ambiente, es además la forma de diseminación del parásito y a la vez forma infectante para un nuevo hospedador. Algunos protozoos se dividen en el quiste. En la práctica laboratorial es utilizada para efectuar el diagnóstico de las enteroparasitosis. Sin embargo, algunos protozoos no forman quistes, en ellos los trofozoítos son a la vez la forma de diseminación, parasitaria e infectante, esto ocurre por ejemplo en el género *Trichomonas*.

La fisión binaria es la forma más común de reproducción asexual. Sin embargo, existen otras formas asexuadas de división, simple y múltiple. Los Apicomplexa presentan durante su vida etapas de reproducción asexual y sexual. También se ha observado algún tipo de sexualidad en otros grupos.

Una gran parte de los protozoos son parásitos de animales, plantas y de otros parásitos, a los últimos se los denomina hiperparásitos.

Todos los protozoos parásitos requieren sustancias orgánicas preformadas, es decir, la nutrición es holozoica como en los animales superiores. La mayoría de los protozoos parásitos de humanos tienen un tamaño inferior a 50 μm . Los más pequeños (principalmente las formas intracelulares) miden de 1 a 10 μm de largo, pero *Balantidium coli* puede medir 150 μm . Como ocurre en todos los eucariotas, el material nuclear se encuentra encerrado en la carioteca. El núcleo es vesicular, con cromatina dispersa que le da aspecto difuso. Posee un cuerpo más o menos central, llamado endosoma o cariosoma, estructura que carece de ADN en amebas y tripanosomas parásitos. En el filo Apicomplexa, el núcleo vesicular tiene uno o más nucléolos que contienen ADN. Los ciliados poseen micronúcleo encargado de funciones relacionadas a la reproducción y macronúcleo que rige las de la vida vegetativa. Los orgánulos de los protozoos tienen funciones similares a las de los órganos de los animales superiores. La membrana plasmática que encierra el citoplasma también cubre las estructuras locomotoras salientes, como pseudópodos, cilios y flagelos. La capa de la superficie exterior de algunos protozoos, denominada película, es lo suficientemente rígida para mantener una forma distintiva, como en tripanosomas y *Giardia* spp., aunque sus cuerpos son flexibles y pueden deformarse con facilidad. En la mayoría de los protozoos, el citoplasma se diferencia en ectoplasma (la capa exterior transparente) y endoplasma (la capa interior que contiene orgánulos); esta división se observa fácilmente en especies con pseudópodos salientes, como las amebas. Algunos protozoos tienen citostoma o rudimento de boca celular para ingresar los alimentos. Las vacuolas contráctiles para la osmoregulación ocurren en algunos, como *Naegleria* y *Balantidium*. Muchos protozoos tienen microtúbulos subpeliculares; en Apicomplexa, proporcionan un medio de movimiento lento. Tricomonas y tripanosomas tienen membrana ondulante distintiva entre la pared del cuerpo y un flagelo. En los protozoos parásitos se encuentran muchas otras organelas, como: aparato de Golgi, mitocondrias, lisosomas, vacuolas alimentarias, conoides de Apicomplexa y otras estructuras especializadas. La microscopía electrónica es esencial para visualizar los detalles ultraestructurales del protozoo.

Clasificación

En 1985, se publicó la taxonomía de protozoos basada en su morfología y estructuras, que ubicaba a los protozoos en seis filos. Dos de ellos, Sarcomastigophora y Apicomplexa, contienen las especies más importantes que causan enfermedades humanas. *Dientamoeba fragilis*, estuvo erróneamente ubicada en la Familia Entamoebidae. Sin embargo, sus estructuras internas mostraron que pertenece al orden Trichomonadida de protozoos flagelados. En algunos casos, organismos idénticos mediante microscopía óptica se han denominado como especies diferentes utilizando otros criterios relacionados a su distribución geográfica y las manifestaciones clínicas que ocasionan. Ello ocurre en individuos del género *Leishmania*, idénticas morfológicamente. Se han empleado métodos bioquímicos a fin de diferenciar patrones de isoenzimáticos y para identificar secuencias de nucleótidos. Se ha estudiado profundamente el ADN circular extranuclear, mitocondrial o cinetoplasto utilizándolo como un elemento muy importante en taxonomía de los tripanosomátidos y para el diagnóstico de las enfermedades que ocasionan, Enfermedad de Chagas - Mazza, Leishmaniasis y Tripanosomiasis africanas (Kaufer & Ellis, 2020).

Existen estrategias como la clonación que contribuyen a la realización de estudios taxonómicos. También se utilizan anticuerpos monoclonales específicos a fin de identificar cepas desconocidas.

Actualmente en la taxonomía de protozoos se suman técnicas de biología molecular. Su empleo implica profundos cambios en la sistemática de estos organismos, aunque el estudio morfológico seguirá siendo fundamental para el diagnóstico clínico de enfermedades ocasionadas por protozoos en humanos y animales.

Etapas del ciclo de vida

Durante su ciclo de vida, un protozoo generalmente pasa por varias etapas que difieren en estructura y actividad. Trofozoíto, término general para la etapa activa, de alimentación y de multiplicación de los protozoos, en esa etapa desarrollan su patogenicidad. En los hemoflagelados, el trofozoíto recibe distintos nombres, amastigote, promastigote, epimastigote y tripomastigote, según presencia o no de flagelo y localización del cinetoplasto. Se emplean una variedad de términos para las etapas en Apicomplexa, como taquizoíto y bradizoíto para *Toxoplasma gondii*. Otras etapas de los complejos ciclos de vida asexual y sexual que se observan en este filo son el merozoíto, forma resultante de la fisión de un esquizonte o meronte multinucleado y las etapas sexuales como los gametocitos y los gametos. Algunos protozoos forman quistes que contienen una o más formas infecciosas. La multiplicación ocurre en los quistes de algunas especies, de modo que el desenquistamiento libera más de un organismo. Por ejemplo, cuando el trofozoíto de *Entamoeba histolytica* forma por primera vez un quiste, tiene un solo núcleo. A medida que el quiste madura, la división nuclear produce cuatro núcleos y de él desenquistan cuatro amebas metaquísticas uninucleadas. De manera similar, *Giardia lamblia* recién enquistada tiene el mismo número de estructuras internas (orgánulos) que el trofozoíto (2). A medida que el quiste madura,

los orgánulos se duplican y se forman dos trofozoítos (4 núcleos). Los quistes que se eliminan en las heces tienen una pared protectora que permite que el parásito sobreviva en el ambiente exterior durante un período que varía de días a un año, según la especie y las condiciones ambientales. Como parásitos, en los tejidos recurren a distintas estrategias para protegerse de anticuerpos y células inmunes. Su continuidad biológica depende del carnivorismo. Los ooquistes son etapas resultantes de la reproducción sexual en Apicomplexa. Algunos ooquistes de este phylum no se eliminan en las heces del hospedador, pero los de *Plasmodium* sp., agente de la malaria, se desarrollan en la cavidad corporal del mosquito vector.

Reproducción

La reproducción en los protozoos puede ser asexual, como en las amebas y flagelados que infectan a los humanos, o con fases de reproducción asexual y sexual, como en los Apicomplexa de importancia médica y veterinaria. El tipo más común de multiplicación asexual es la fisión binaria, en la que los orgánulos se duplican y el protozoo luego se divide en dos organismos completos, es longitudinal en los flagelados y transversal en los ciliados. Primero ocurre la cariocinesis (división nuclear) y luego la citocinesis (división citoplasmática). La endodiogenia es una forma de división asexual que se observa en *Toxoplasma* y algunos organismos relacionados. Se forman dos células hijas por brote interno, dentro de la célula madre, que luego se rompe, liberando la progenie más pequeña que crece hasta su tamaño completo antes de repetir el proceso. En la esquizogonia, división asexual de tipo múltiple de los Apicomplexa, se producen sucesivas cariocinesis, seguidas de sucesivas citocinesis, dando lugar a merozoítos. Los apicomplejos, cumplen una etapa sexual que implica la producción de gametos (gametogonia), la fertilización para formar el cigoto (singamia) y la formación del ooquiste. La maduración de este ooquiste de forma asexual (por fisión múltiple), ocasiona varios esporozoítos. Esa etapa se denomina esporogonia.

Algunos protozoos tienen ciclos de vida complejos y requieren dos especies hospedadoras diferentes. Otros en cambio, cumplen su ciclo vital en un solo hospedador. No son necesarios grandes inóculos en un hospedador susceptible para que un protozoo colonice y se reproduzca hasta lograr en él una población. Sin embargo, factores propios del hospedador, su estado inmunitario, edad, estado nutricional etc., o estrategias parasitarias, como la ubicación en sitios inmunológicamente privilegiados, variación antigénica, inhibición metabólica etc., ocasionan distintos tipos de relaciones parásito/hospedador. Algunos protozoos requieren solo un pequeño inóculo para ocasionar enfermedad en su hospedador, sin embargo la dosis respuesta varía entre hospedadores. Así dependiendo de contactos previos, en ocasiones un solo ooquiste o un solo trofozoito pueden ser suficientes (Teunis y col 2002).

Nutrición

Muchos protozoos son de vida libre y la mayoría de ellos se alimentan de procariontas ("bacterivoría"), o de otros eucariontes microbianos. Los protozoos son heterótrofos y la mayoría son "animales", ya que ingieren partículas sólidas de alimento mediante la fagotrofia. Las amebas ingieren los alimentos en partículas o gotas a través de una especie de boca temporal. Realizan la digestión y la absorción en una vacuola alimenticia y expulsan las sustancias de desecho. Muchos protozoos poseen citostoma o microporo, a través del cual ingresan los alimentos ingeridos, que son incluidos en vacuolas alimentarias. La pinocitosis es un mecanismo similar, mediante el cual se introducen líquidos. Las vías metabólicas presentan similitud con las de los animales superiores. También poseen semejantes requerimientos nutritivos. Numerosos protozoos se han logrado cultivar en el laboratorio. Los organismos obtenidos son útiles para realizar ensayos inmunológicos o bioquímicos, y terapéuticos ya que están libres potenciales provenientes de los hospedadores. Son necesarios estudios con el propósito de hallar blancos terapéuticos y compuestos inhibidores específicos contra los protozoos parásitos que no alteren el metabolismo de sus hospedadores mamíferos (García-Torres & Pérez-Montfort, 2011).

La rápida multiplicación de los protozoos les brinda amplias posibilidades de variaciones. De este modo, los parásitos pueden adquirir modificaciones en su patogenicidad y en su respuesta a las drogas, entre otras. La competencia por los nutrientes con su hospedador no implica un importante mecanismo de agresión en los protozoos. No obstante, algunos ocasionan daños en la mucosa intestinal que interfieren ampliamente en la absorción de vitaminas, minerales y otros nutrientes de importancia. Los que se ubican en el interior de células y tejidos producto de su acción patógena pueden ocasionar disfunción orgánica (Nagoba & Pichare, 2020).

Para el desarrollo de esta obra y a efectos de ordenar y unificar las jerarquías de los grupos parasitarios abordados, se ha aplicado el criterio taxonómico utilizado en National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>)

Superphylum ALVEOLATA

Los alveolados incluyen a los dinoflagelados, de los que aproximadamente la mitad son algas con plástidos complejos, y dos grandes e importantes grupos de protozoos: los parásitos apicomplejos y los ciliados, en su mayoría de vida libre.

Phylum APICOMPLEXA

Los Apicomplexa son casi todos parásitos de animales y los varios miles de especies descritas incluyen los organismos que causan la malaria, la criptosporidiosis y la toxoplasmosis en

humanos, así como varias de las principales enfermedades del ganado. Suelen tener metagénesis: alternancia de fases sexuales y asexuales en su ciclo de vida, que incluye múltiples tipos de células y que pueden implicar gran variedad de hospedadores. Se caracterizan por la ausencia de órganos de locomoción. La mayoría son parásitos intracelulares que utilizan un "complejo apical", que incluye distintos tipos de orgánulos microtubulares y secretores, para invadir activamente las células hospedadoras y modificarlas posteriormente. Sorprendentemente, la mayoría de los Apicomplexa también poseen un complejo plástido que no es fotosintético (apicoplasto), pero desempeña funciones biosintéticas esenciales. Poseen microporos semejando una boca, para la alimentación por pinocitosis, mitocondria, RER, Aparato de Golgi y vacuola parasitófora (Simpson & Eglit, 2016).

Los Apicomplexa infectan a la mayoría de las células animales (desde las células epiteliales del intestino de los insectos, los invertebrados marinos y vertebrados, hasta los glóbulos rojos de la sangre de los primates y los seres humanos). Por ejemplo, el *Plasmodium* es el agente causal de la malaria.

Phylum CILIOPHORA

Pertenecen a los alveolados, tienen numerosos cilios en la superficie celular. Son depredadores muy diversos y abundantes en muchos sistemas acuáticos. A menudo utilizan "cilios orales" especializados como parte de su mecanismo de alimentación. Tienen una organización genómica inusual: cada ciliado contiene normalmente dos tipos de núcleos. Los macronúcleos "sómáticos" son las plantillas para la transcripción durante la fase asexual del ciclo vital, mientras que los micronúcleos participan en la fase sexual del ciclo vital, y actúan como la línea germinal (mientras que los macronúcleos degeneran durante y/o después del proceso sexual). En humanos al momento solo se ha hallado *Balantidium coli*, en distintas especies animales existen varios géneros de importancia, entre ellos *Paratrichodina africana*, *Trichodina* spp. *Tetrahymena* spp. Por otra parte muchos ciliados son simbiosis de los rumiantes,

Clado AMOEBOZOA

Movimiento por flujo interno de citoplasma: pseudópodos

La mayoría de los organismos amebozoos, al menos en alguna etapa de su ciclo vital, realizan el típico movimiento ameboidal mediante pseudópodos lobulados (lobopodios), en contraste con los largos pseudópodos filiformes (filopodios) o reticulados (reticulopodios) que se adhieren a las superficies y arrastran la célula hacia adelante. Anteriormente, todos los protistas que tenían alguna forma de pseudópodo o flujo protoplásmico locomotor se incluían en la clase o filo Sarcodina. Posteriormente, descubrimientos basados en la microscopía electrónica y en estudios moleculares han demostrado que los ancestros de los amebozoos se movían con la ayuda de un

cilio. Esto se ha mantenido en algunas formas vivas y unas pocas especies tienen dos cilios o son secundariamente multiciliadas (Berman, 2012).

Muchos amebozoa son de vida libre, aunque algunos son parásitos obligados o facultativos (p. ej., *Acanthamoeba*), y unos pocos tienen una etapa de flagelación en su ciclo vital.

Dentro de este Phylum, el Clado Archamoeba, son todos anaerobios, con mitocondrias muy modificadas (parecidas a las metamonadas). Archamoebae incluye amebas de vida libre, organismos ameboides flagelados y comensales/parásitos, como el principal patógeno humano *Entamoeba histolytica*. Con un citoplasma hialino distintivo y pseudópodos abultados, viven en hábitats anóxicos o microóxicos y son anaerobios, careciendo de mitocondrias típicas, así como de aparato de Golgi, plastos y microcuerpos peroxisomales normales. Tienen un aparato flagelar distintivo presente en todos los miembros flagelados del grupo. Los ciclos de vida de las especies individuales pueden incluir flagelados, amebas de varios tamaños y quistes (Walker et al., 2017).

Clado EXCAVATA

Incluye los Clados Metamonada y Discoba

Clado METAMONADA

Los Metamonada descienden de un ancestro común que había perdido la capacidad de realizar la respiración aeróbica, y en consecuencia tienen mitocondrias muy modificadas de varios tipos que carecen de genomas mitocondriales. Los miembros anaerobios de Metamonada mantienen un orgánulo relicto, derivado de una mitocondria ancestral, que suele denominarse mitosoma, aunque se utiliza un término específico, hidrogenosoma, para referirse a los relictos mitocondriales que utilizan proteínas de sulfuro de hierro para producir hidrógeno molecular y ATP (Berman, 2019). Varios subgrupos se han convertido en parásitos especializados o simbioses de animales. Poseen elaborados citoesqueletos de numerosas fibras de proteínas. Así, muchos presentan un axostilo, formado por varios miles de microtúbulos que soportan la célula a modo de esqueleto. Tienen flagelos en grupos de cuatro, que se asocian a los núcleos formando los cariomastigotes. Las diplomonas, los parabasálidos y sus parientes son en su mayoría, comensales inofensivos o simbioses beneficiosos que se encuentran en el tracto digestivo de vertebrados e invertebrados. Sin embargo, algunas especies son patógenas y causan diversas enfermedades del intestino, el tracto urogenital u otros órganos internos. En el pasado, los diplomonadas y los parabasálidos se han propuesto como las primeras ramas divergentes entre los eucariotas vivos. Aunque esta idea ha quedado obsoleta, la ubicación filogenética exacta de Metamonada dentro de los eucariota aún no está totalmente resuelta (Simpson & Čepička, 2019).

El parásito intestinal *Giardia* spp. (Phylum Fornicata) y el parásito urogenital *Trichomonas vaginalis*, perteneciente al Phylum Parabasalia, son patógenos humanos de alta prevalencia, pero también existe una gran diversidad de metamonadas simbióticas en los intestinos posteriores de muchas termitas que se alimentan de madera, así como la gran mayoría son de vida libre y habitan ambientes marinos o de agua dulce pobres en oxígeno (Nagoba & Pichare, 2020).

Phylum FORNICATA

Carecen de mitocondrias y de hidrogenosomas, poseen mitosomas, un orgánulo derivado de la mitocondria pero que no realiza el proceso de respiración ni produce hidrógeno como los hidrogenosomas. Los miembros de la clase Diplomonadida tienen la llamada morfología de espejo, con simetría bilateral, formada por dos conjuntos de núcleos, flagelos y citoplasma, dispuestos simétricamente alrededor de un eje central. Sólo hay un patógeno humano en la clase Diplomonada: *Giardia lamblia*.

Phylum PARABASALIA

Presentan un aparato parabasal, formado por dos o más fibras parabasales estriadas que conectan el aparato de Golgi al sistema flagelar. Los parabasálidos carecen de mitocondrias y son anaerobios, todos tienen un orgánulo celular único, el hidrogenosoma, que es una reliquia de la mitocondria que interviene en el metabolismo anaerobio del piruvato. El axostilo permanece inmóvil. No poseen formas quísticas, por lo que se transmiten en forma directa (salvo por *D. fragilis*). A este phylum pertenecen los parásitos de los géneros *Trichomonas*, *Dientamoeba* y *Enteromonas*.

Los trofozoítos de 10 a 15 µm de longitud se multiplican por fisión binaria longitudinal en la superficie epitelial de la vagina o la uretra, así como en las secreciones vaginales o uretrales, por lo que se transmiten por vía sexual.

Clado DISCOBA

La mayoría de los Discoba tienen mitocondrias aeróbicas con genomas. Incluye a Phylum Heterolobosea, muchos de los cuales tienen fases alternas ameboidales y flageladas, como *Naegleria fowleri*, especie de vida libre que puede causar infecciones fatales en humanos.

A este clado también pertenece el Phylum Euglenozoa.

Phylum EUGLENOZOA

Los euglenozoos son flagelados (mastigotes) que tienen uno o dos (raramente más) flagelos que surgen de una invaginación apical o subapical en forma de bolsa de la célula llamada reservorio (Leedale y Vickerman, 2000; Adl et al., 2005). El axonema de los flagelos suele ir acompañado de varillas paraxonémicas, tienen mitocondrias en forma de disco características del Phylum y suelen reproducirse asexualmente por fisión binaria longitudinal. Los miembros de la Clase Kinetoplastea se caracterizan principalmente por la presencia del cinetoplasto, una gran masa de ADN fibrilar en la mitocondria, normalmente en estrecha asociación con la zona de fijación flagelar. Incluyen los parásitos que provocan la enfermedad del sueño (*Trypanosoma brucei*), la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*) y la leishmaniasis (*Leishmania* spp.) en humanos (todas ellas causadas por diferentes tripanosomátidos) y varias enfermedades importantes de animales y algunas plantas. Los tripanosomátidos son pequeños (normalmente 4-15 μm), osmótrofos o fagótrofos, parásitos heteroxenos o monóxenos con un flagelo sin mastigonemas, que emerge anterior o lateralmente del reservorio. Además de la fijación basal, el flagelo puede estar unido a varios otros puntos a lo largo de la superficie celular, constituyendo así una membrana ondulante (Lange & Jeffrey, 2012).

Clado STRAMENOPILES

Tienen un flagelo en alguna parte del ciclo de vida que posee un tipo característico de “pelos” tubulares rígidos dispuestos en dos filas, aunque muchos los han perdido. Incluyen una variedad particularmente amplia de algas con plástidos complejos que contienen clorofila.

La mayoría de los stramenópilos son eucariotas unicelulares (protistas). El grupo incluye una variedad de algas protistas, flagelados heterótrofos, opalinos, flagelados proteromonas, heliozoos actinofrios y oomicetos. En este clado se incluyó a *Blastocystis* spp. mediante estudios filogenéticos y moleculares.

Phylum CNIDARIA (MYXOZOA)

Se trata en este libro, debido a que durante mucho tiempo los Myxozoos se consideraron protozoos, ubicados dentro de los esporozoos. Al profundizar en sus particularidades se han clasificado en el Phylum Cnidaria (Fook & Siddall, 2015).

Son parásitos metazoos, su taxonomía está basada en la morfología de las esporas. Myxozoa tiene más de 2000 especies, es un grupo diverso de endoparásitos. Su ciclo de vida incluye dos hospedadores, un vertebrado y un invertebrado, ambos acuáticos. Poseen pocas células en cada etapa de su vida. El Phylum Cnidaria incluye a corales, anémonas de mar y medusas. Se han

hallado esporos de *Myxobolus* sp. en heces humanas. Algunos representantes del Phylum Myxozoa son *Myxobolus cerebralis*, *Tetracapsuloides bryosalmonae*, *Ceratomyxa shasta*, entre muchos otros (Shpirer et al., 2018).

Reino FUNGI

Phylum MICROSPORIDIA

En la década de 1990, variados análisis de filogenia molecular, con estudios de genes y regiones de rADN evidenciaron la relación de Microsporidia con el reino Fungi, ya fuese como una rama basal o como un grupo paralelo. Además, existe evidencia biológica que apoya esta relación, ya que Microsporidia posee quitina en la pared de sus esporas y almacena trehalosa, que es probablemente su mayor reserva de azúcares, como ocurre con muchas especies fúngicas (Cruz Choappa, 2018). Por lo tanto, existen evidencias genéticas, estructurales y metabólicas suficientes para ubicar este Phylum al reino Fungi.

Referencias

- Alvarez, A. R. (2017). Los protozoos: características generales y su rol como agentes patógenos. *Ciencia Veterinaria*, 8(1), 62-71.
- Berman, J.J. (2012). Chapter 22 - Amoebozoa. In: Taxonomic Guide to Infectious Diseases, Edit: Jules J. Berman, Academic Press, pp. 117-121.
- Berman J.J. (2019). Taxonomic Guide to Infectious Diseases: Understanding the Biologic Classes of Pathogenic Organisms (Second Edition).
- Cruz Choappa R. (2018). El phylum Microsporidia. *Revista Chilena de Infectología*, 35 (1): 73-74.
- Foxx, J. & Siddall, M.E. (2015). The road to Cnidaria: history of phylogeny of the Myxozoa. *Journal of Parasitology*, 101(3), 269-274.
- García-Torres, I. & Pérez-Montfort, R. (2011). Avances en la identificación de blancos terapéuticos y el diseño racional de fármacos contra la enfermedad de Chagas. *Revista de Educación Bioquímica*, 30 (2), 68-81.
- Kaufner, A., Stark, D. & Ellis, J. (2020). A review of the systematics, species identification and diagnostics of the Trypanosomatidae using the maxicircle kinetoplast DNA: from past to present. *International journal for parasitology*.
- Lange, C.E. & Jeffrey, C.L. (2012). Protistan Entomopathogens. In Insect Pathology (Second Edition), Edit Academic Press, pp. 367-394.

- Nagoba, B.S. & Pichare, A. (2020). *Medical Microbiology and Parasitology PMFU 4th Edition-E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Rojo-Marcos, G. & Cuadros-Gonzalez, J. (2016). Malaria y protozoos intestinales. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 34(3), 191-204.
- Shpirer, E., Diamant, A., Cartwright, P. & Huchon, D. (2018). A genome wide survey reveals multiple nematocyst-specific genes in Myxozoa. *BMC evolutionary biology*, 18(1), 138. <https://doi.org/10.1186/s12862-018-1253-7>
- Simpson, A.G.B. & Eglit, Y. (2016). Protist Diversification. In: Encyclopedia of Evolutionary Biology, Edit Richard M. Kliman, Academic Press, pp. 344-360.
- Simpson, A.G.B. & Čepička I. (2019). Amitochondriate Protists (Diplomonads, Parabasalids and Oxymonads), in Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition) Edit ELSEVIER, pp 86-98.
- Teunis, P.F., Chappell, C.L. & Okhuysen, P.C. (2002). Cryptosporidium dose-response studies: variation between hosts. *Risk analysis*, 22(3), 475-485.
- Walker G., Zadrobílková E. & Čepička I. (2017). Archamoebae. In: Archibald J., Simpson A., Slamovits C. (eds) Handbook of the Protists. Springer, Cham.

Reino Protista

Clado o Superphylum Alveolata

Phylum Apicomplexa

Clase Conoidasida

Orden Eucoccidiorida

Familia Sarcocystidae

Género *Toxoplasma*

Género *Cystoisospora*

Género *Sarcocystis*

Familia Cryptosporidiidae

Género *Cryptosporidium*

Familia Eimeriidae

Género *Eimeria*

Género *Cyclospora*

Familia Hepatozoidae

Género *Hepatozoon*

CAPÍTULO 1

Toxoplasma gondii. Toxoplasmosis

Juan Manuel Unzaga

Generalidades

Toxoplasma gondii es un protozoo Apicomplexa que parasita al hombre y animales de sangre caliente. La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial. En los seres humanos la primoinfección por *Toxoplasma gondii* durante la gestación puede provocar severos daños al feto; en pacientes inmunosuprimidos el parásito afecta diversos órganos, pero tiene especial importancia como causante de encefalitis. Los efectos de la toxoplasmosis en los animales varían de acuerdo a la especie y a otros factores propios del hospedador y del parásito (Dubey, 2010).

Historia

Toxoplasma gondii fue descubierto por Nicolle y Manceaux (Túnez 1908, 1909) en un roedor (*Ctenodactylus gundi*) e independientemente fue descrito por Splendore (San Pablo, Brasil, 1908) en un conejo de laboratorio. En 1939 fue reconocido como patógeno humano cuando Wolf, Cowen y Paige confirmaron un caso de toxoplasmosis transplacentaria. El ciclo completo de *Toxoplasma gondii* fue descrito en 1970 por Frenkel, Dubey y Miller (Dubey, 2010).

Autor y año	Contribución
Nicolle y Manceaux (1908)	Aislamiento en gundi
Splendore (1908)	Aislamiento en conejo
Mello (1910)	Descripción de enfermedad en animal doméstico (perro)
Janku (1923)	Descripción de infección en ojo humano (necropsia)
Wolf y Cowen (1937)	Transmisión transplacentaria
Pinkerton & Weinman (1940)	Se describe como enfermedad fatal en adultos humanos
Sabin (1942)	Caracterización de la enfermedad en humanos
Sabin & Feldman (1948)	Descripción de Dye Test
Siim (1952)	Descripción de toxoplasmosis glandular en hombre
Weinman & Chandler (1954)	Se sugiere transmisión por carnivorismo

Hartley & Marshall (1957)	Se describe aborto en ovejas
Jacobs et al. (1960)	Caracterización biológica de quistes tisulares
Hutchison (1965)	Transmisión fecal
Hutchison et al. (1969,1970,1971); Frenkel et al. (1970); Dubey et al. (1970); Sheffield & Melton (1970); Overdulve (1970)	Descripción como coccidio
Frenkel et al. (1970); Miller et al. (1972)	Descripción de hospedadores definitivo e Intermediario
Dubey & Frenkel (1972)	Se describen 5 formas de <i>T. gondii</i> en epitelio Intestinal de gato

Tabla 1: Historia de *Toxoplasma gondii* y *Toxoplasmosis*

Morfología y Ciclo Biológico

El gato doméstico y otros félidos son los hospedadores definitivos del parásito. En ellos realiza dos tipos de ciclo: el intestinal, que los caracteriza como hospedadores definitivos y el extraintestinal, que es similar al que ocurre en los hospedadores intermediarios.

Durante el ciclo intestinal, la reproducción de *Toxoplasma gondii* en las células del epitelio entérico es de tipo asexual y sexual, produciendo ooquistes que salen al exterior con la materia fecal. En el ambiente, bajo condiciones adecuadas, se forman los esporozoítos.

Los hospedadores intermediarios son aves o mamíferos. En ellos el parásito sólo se reproduce asexualmente. Después de introducirse en el organismo, las formas infectantes penetran en células de distintos tejidos, se multiplican como taquizoítos por endodiogenia, mecanismo por el cual a partir de una célula madre se originan dos células hijas con la consiguiente destrucción de la célula que les dio origen, destruyendo las células parasitadas y diseminándose dentro del hospedador. Pasado un período corto, se originan los bradizoítos, que se multiplican más lentamente y forman los quistes tisulares. en los cuales viven durante lapsos variables según las especies (Figura 1).

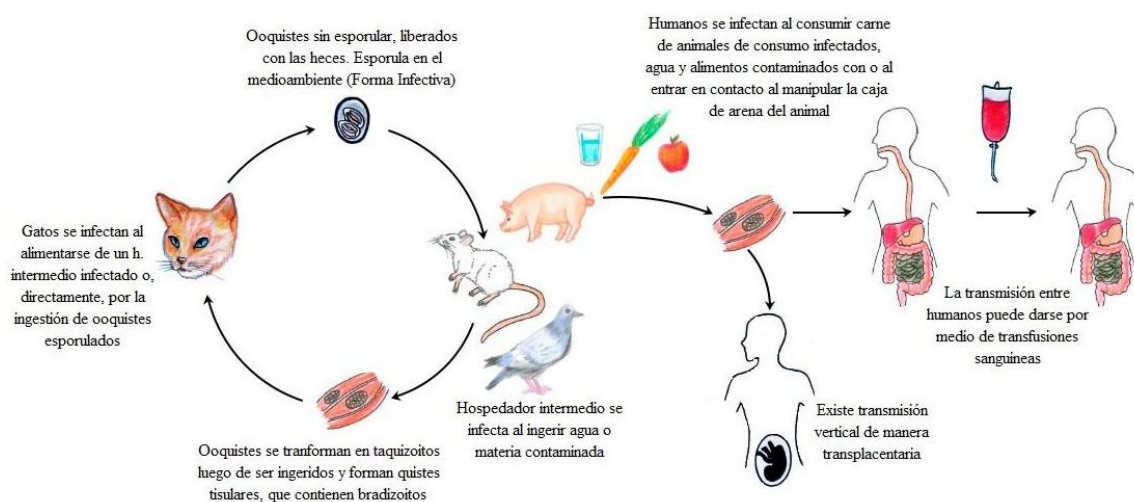


Figura 1. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma (toxón=arco, plasma=forma en griego) deriva de la forma de arco del taquizoíto.

Existen tres formas infectantes de *Toxoplasma gondii*: taquizoítos, bradizoítos (quistes) y esporozoítos (ooquistes).

El término taquizoíto fue utilizado por Frenkel para describir las formas de división rápida en ciertas células del hospedador intermediario y en células no intestinales del hospedador definitivo. Taquizoíto reemplazó a trofozoíto (trophicos=alimentación en griego). Los taquizoítos miden aproximadamente $2 \times 6 \mu\text{m}$, presentan un extremo anterior puntiagudo (conoide) y uno posterior redondeado. Ultraestructuralmente el taquizoíto presenta un Complejo Apical (formado por: anillos polares, conoide, roptrias, micronemas y microtúbulos subpeliculares), membrana plasmática, microporo, mitocondria, complejo de Golgi, ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y liso, núcleo, gránulos densos, gránulos de amilopectina (pueden estar ausentes) y el apicoplasto o Golgi adjunto. que es una organela que tiene una membrana plasmática múltiple.

La membrana plasmática o película está formada por tres membranas (plasmalema más dos membranas plasmáticas), que en conjunto forman el complejo de membrana interna, el cual es discontinuo en el extremo anterior (alrededor de los anillos polares), en el microporo (situado lateralmente) y en el poro posterior, situado en el extremo posterior del taquizoíto. El primer anillo polar es parte del complejo de membrana interna a nivel del extremo anterior del taquizoíto, el cual rodea al conoide, estructura en forma de cono truncado, formado por seis a ocho elementos microtubulares dispuestos en forma de resorte. Veintidós microtúbulos subpeliculares que se originan en el segundo anillo polar se extienden longitudinalmente en forma espiral, por debajo del complejo de membrana interna. Dos microtúbulos terminan en el conoide. Entre el polo anterior y el núcleo se encuentran 8 a 10 organelas en forma de palo de béisbol, llamadas roptrias. Las roptrias son estructuras secretoras que presentan una porción anterior delgada de $2,5 \mu\text{m}$ de longitud que se extiende en el interior del conoide y una estructura sacular de $1 \mu\text{m}$ de longitud. Los micronemas son estructuras redondeadas que se encuentran principalmente en el extremo anterior del parásito. El núcleo está situado en el área central del taquizoíto y contiene gránulos de cromatina y nucleolo de localización central.

Los taquizoítos se mueven por flexión, ondulación, rotación y deslizamiento. El conoide, las roptrias, los micronemas y el microporo están asociados con la penetración a la célula hospedadora y la creación de un ambiente intracelular apto para el crecimiento y desarrollo del parásito. El conoide puede rotar, inclinarse, extenderse o retraerse en el momento que el parásito contacta con la célula hospedadora antes de la penetración. Las roptrias contienen enzimas proteolíticas con función secretora asociadas a la penetración. El microporo es una invaginación de las dos membranas internas de la película o membrana plasmática.

Los taquizoítos penetran activamente a través del plasmalema o por fagocitosis. Luego de penetrar, los taquizoítos toman forma ovoide y se ubican dentro de una vacuola parasitófora formada tanto por la célula como por el parásito.

El término bradizoíto (brady: despacio en griego) se refiere a un organismo que se multiplica lentamente dentro de los quistes tisulares. Un quiste tisular está formado por un conjunto de

bradizoítos rodeados por una membrana parasitaria definida. Se los puede hallar a los pocos días de la infección, pero es el estado en que permanece el parásito en el organismo en el período crónico. Los quistes tisulares varían de tamaño: los más jóvenes son más pequeños y pueden medir 5 μm de diámetro conteniendo sólo dos bradizoítos, mientras que los más viejos pueden contener cientos de bradizoítos (Imagen 1). Los quistes tisulares en el cerebro suelen ser esféricos y raramente llegan a medir 70 μm de diámetro, mientras que los quistes intramusculares son elongados y llegan a medir 100 μm . A pesar de que los quistes tisulares se pueden hallar en diferentes órganos, tales como pulmón, hígado y riñón, son mucho más frecuentes en tejido nervioso (cerebro, retina) y muscular (músculo cardíaco y esquelético). Los quistes tisulares intactos probablemente no producen daño y pueden persistir durante toda la vida del hospedador sin causar respuesta inflamatoria. La pared del quiste tisular es elástica y fina ($<0,5 \mu\text{m}$). El quiste desarrolla dentro del citoplasma de la célula hospedadora. Los bradizoítos son muy similares estructuralmente a los taquizoítos. El núcleo está ubicado en la extremidad posterior del parásito. Las roptrias en los bradizoítos son generalmente electrodensas, mientras que en los taquizoítos presentan una estructura de baja densidad electrónica. Sin embargo, el contenido de las roptrias en los bradizoítos varía según la edad del quiste. Los bradizoítos contienen abundantes gránulos de amilopectina (PAS-positivos), mientras que en los taquizoítos dichos gránulos son más discretos o están ausentes.

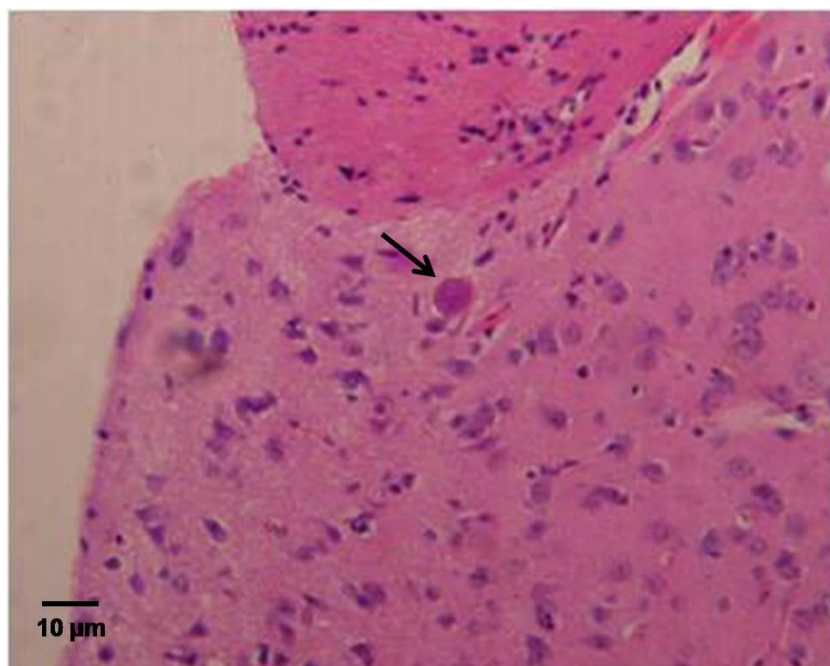


Imagen 1. Quiste tisular de *T. gondii* en corte de sistema nervioso central de ratón inoculado experimentalmente.
Teñido con hematoxilina y eosina. (Objetivo 40X)

Estados enteroepiteliales: los gatos eliminan ooquistes luego de ingerir alguna de las tres formas infectantes de *T. gondii*. El período prepatente y la frecuencia de eliminación de ooquistes varía de acuerdo a la forma infectante ingerida. Por lo tanto, el período prepatente será de 3 a 10 días luego de la ingestión de quistes, 19 a 41 días luego de la ingestión de ooquistes, y de 19

o más días luego de la ingestión de taquizoítos. Luego de que el gato ingiere un quiste, la pared del mismo es disuelta por enzimas proteolíticas. Los bradizoítos liberados penetran en las células epiteliales del intestino delgado para iniciar el desarrollo de numerosas generaciones de *T. gondii*. Cinco diferentes tipos morfológicos de *T. gondii* desarrollan en el intestino antes de que comience la gametogonía. Estos estadíos son designados con las letras A a E. El origen de los gamontes no ha sido determinado, pero probablemente a partir de los merozoítos D o E se origine la formación de los gamontes masculinos y femeninos. Los gamontes se encuentran en el intestino delgado, más comúnmente en el íleon. Los gamontes femeninos son subesféricos y cada uno presenta un núcleo central y numerosos gránulos PAS-positivos. Ultraestructuralmente la gameta madura femenina contiene varios microporos, retículo endoplásmico rugoso y liso, numerosas mitocondrias, vesículas y cuerpos formadores de pared. Los gamontes masculinos (microgamontes) son ovoides o elipsoidales. Durante la microgametogénesis el núcleo del microgamonte se divide en 10 a 21 partes, las cuales se mueven hacia la periferia del parásito. En la división del microgamonte a microgametas se forman uno o dos cuerpos residuales. Las microgametas son elongadas, el extremo anterior puntiagudo presenta dos cuerpos basales. Dos largos flagelos se originan desde los cuerpos basales y se dirigen posteriormente. Las microgametas utilizan sus flagelos para llegar a penetrar y fertilizar a la gameta femenina, dando origen a la formación de un huevo o cigoto.

El cigoto, rodeado por una pared quística, constituye el ooquiste. Por el proceso de esporulación se producen dentro del ooquiste dos esporocistos, cada uno de los cuales contiene cuatro esporozoítos. Los ooquistes no esporulados son subesféricos o esféricos y miden 10 x 12 μm de diámetro (Imagen 2). Los ooquistes esporulados son subesféricos o elipsoidales y miden 11 x 13 μm de diámetro. Los esporocistos miden 6 x 8 μm .

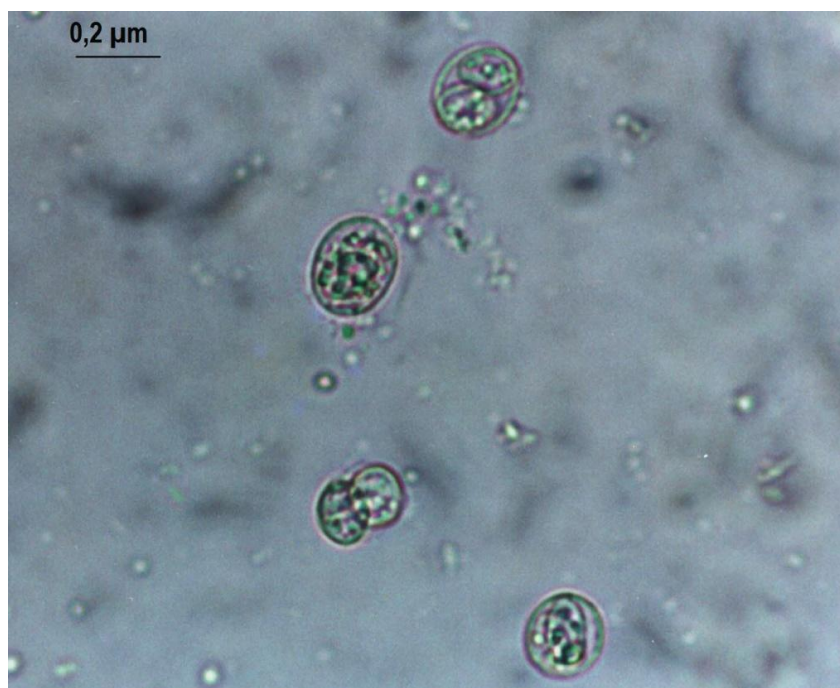


Imagen 2: Ooquistes no esporulados y esporulados de *T. gondii* (observación en fresco 40X)

Ultraestructuralmente la pared del ooquiste esporulado tiene tres capas. El ooquiste contiene una micropila formada por tres membranas continuas a las membranas de la pared del ooquiste. A pesar de que la función de la micropila no es conocida, representa un sitio permeable en la pared del ooquiste a la acción del CO₂ y varias enzimas que permiten la entrada de las sales biliares y de la tripsina, las cuales estimulan la liberación de los esporozoítos. El esporozoíto es similar al taquizoíto, excepto en que presenta abundantes micronemas, roptrias y gránulos de amilopectina. Los esporozoítos miden 2 x 6 a 8 µm y el núcleo es de ubicación subterminal (Unzaga, 2004).

Genotipos de *T. gondii*

La estructura poblacional de *T. gondii* es muy compleja y presenta diferentes patrones geográficos. En los últimos años se ha avanzado sobre el estudio molecular de este parásito, lográndose un mayor conocimiento de sus características y su comportamiento biológico. La mayoría de los aislamientos de *T. gondii* de Europa y América del Norte han sido caracterizados por técnicas moleculares en tres genotipos típicos, conocidos como tipo I, II y III, que difieren notablemente en patogenicidad y se sugirió la distribución clonal del parásito, detectándose un predominio del tipo II. A pesar de que estos genotipos presentan diferencias genéticas menores al 1%, muestran diferencias fenotípicas importantes en virulencia para el ratón. Los genotipos tipo I, representados por la cepa de referencia RH, son de alta patogenicidad para el ratón, produciendo infecciones letales, ya que la inoculación de un único protozoo en un ratón produce su muerte en 8-12 días post-infección, mientras que los de tipo II y III son menos virulentos en el modelo ratón. Sin embargo, en los últimos tiempos, una gran variabilidad genética ha sido determinada, basada en la utilización de nuevos marcadores para su caracterización molecular, detectándose genotipos atípicos en otras regiones, principalmente en América del Sur, Asia y África. La diversidad genética hallada indica que es necesario realizar estudios para determinar la virulencia, patogenicidad y comportamiento in vitro de estos nuevos genotipos, ya que algunos de ellos han demostrado tener alta virulencia en las especies de las que fueron aisladas. Conocer su relación con la presentación de la enfermedad en las distintas regiones y el comportamiento en las distintas especies animales, permitiría desarrollar nuevas estrategias de diagnóstico y prevención. Es importante conocer la variedad de genotipos que circulan en Argentina para entender las características epidemiológicas regionales entre los casos clínicos en humanos y en animales, tanto domésticos como silvestres (Pardini, 2012; Bernstein, 2019).

Transmisión y formas de diseminación

Los hospedadores definitivos adquieren la infección por vía oral, ingiriendo quistes tisulares cuando se alimentan de presas u otras carnes crudas. Esta forma es la que se considera más

eficiente para transmitir la infección, porque la eliminación de ooquistes es mayor que cuando se infectan por la ingestión de ooquistes. Estudios realizados establecen que menos del 30% de los gatos infectados con taquizoítos son capaces de eliminar ooquistes, mientras que cerca del 100% de los gatos infectados con quistes eliminan ooquistes. La transmisión transplacentaria de taquizoítos puede ocurrir en gatos, pero no es frecuente.

Los gatos eliminan ooquistes que permanecen en el medio, los cuales al ser ingeridos accidentalmente producen la infección. Las carnes de las especies utilizadas para el consumo, son fuentes de infección si contienen quistes de *T. gondii* y se ingieren crudas o mal cocidas. La Figura 1 ilustra el ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*. La transmisión transplacentaria se efectúa en un amplio rango de hospedadores como seres humanos, roedores, cabras, ovejas, cerdos, etc (Dubey, 2010).

Signología Clínica

La toxoplasmosis en los seres humanos

Se considera que más de un tercio de la población humana presenta anticuerpos específicos anti-*T. gondii*. La seroprevalencia de la toxoplasmosis en seres humanos es variable, teniendo en cuenta la edad, los hábitos alimenticios, los factores ambientales, etc. En la década del '90, la seroprevalencia en los países de Europa Central, tales como Austria, Bélgica, Francia, Alemania y Suiza fueron estimada entre el 37 al 58% en mujeres gestantes. Porcentajes similares fueron observados en Croacia, Polonia, Eslovenia, Australia y el norte de África. La seroprevalencia fue más alta (51 al 72%) en algunos países de Latinoamérica, incluidos Argentina, Brasil, Cuba, Jamaica y Venezuela y países del norte de África, como Camerún, Congo, Gabón y Togo. La seroprevalencia fue baja en países del sudeste asiático, como China y Corea (4 al 39%).

Hay cuatro formas principales de presentación de la toxoplasmosis: la forma asintomática con linfadenopatía cervical en infecciones agudas; la toxoplasmosis prenatal; la toxoplasmosis ocular (resulta de la reactivación de la coriorretinitis después de una infección congénita) y la reactivación multisistémica de la infección latente, especialmente en sistema nervioso central (SNC) en individuos inmunocomprometidos.

La ingestión de comida o agua contaminada con ooquistes o la ingestión de quistes en carne cruda o mal cocida son las dos principales formas de transmisión de la toxoplasmosis postnatal para los humanos. Luego de la infección, los taquizoítos se multiplican en diferentes células del organismo para formar quistes que se localizan principalmente en el cerebro. Se ha hipotetizado que estos quistes podrían romperse ocasionalmente y los bradizoítos liberados serían destruidos en pacientes inmunocompetentes. Sin embargo, en los pacientes inmunocomprometidos como pacientes con VIH/SIDA, los bradizoítos liberados podrían multiplicarse localmente y dirigirse a otros órganos. El mecanismo de reactivación de la toxoplasmosis no es conocido. Se desconoce si los bradizoítos de quistes antiguos pueden directamente generar quistes tisulares o deben

pasar primero por la etapa de taquizoíto. Los bradizoítos son menos susceptibles a los tratamientos quimioterápicos que son efectivos contra los taquizoítos, por lo que se desprende la importancia de la significación clínica de los bradizoítos en los tejidos.

Antes de 1980 pocos casos de reactivación fueron descritos en pacientes que sufrían linfadenopatía. Desde entonces, la encefalitis por toxoplasmosis ha sido la causa más común de la aparición de lesiones cerebrales en pacientes con VIH/SIDA. A nivel mundial, más del 30% de pacientes con VIH/SIDA mueren por esta enfermedad. Sin embargo, con el uso de la terapia antiretroviral, la incidencia de la encefalitis por toxoplasmosis está disminuyendo.

Aunque la mayoría de los casos de toxoplasmosis asociada a VIH/SIDA presentan lesiones cerebrales, también se han detectado infecciones localizadas en otros sitios e infecciones diseminadas (Unzaga, 2004; Pardini, 2012).

La toxoplasmosis en los animales

Toxoplasma gondii presenta grados variables de patogenicidad según la especie, determinando distintas presentaciones clínicas. Así, se ha demostrado que algunos animales silvestres son altamente susceptibles a contraer la infección, reportándose casos fatales en suricatas, canguros y monos de parques zoológicos. Dentro de las especies de producción, los bovinos parecen ser poco susceptibles a la enfermedad y la ingestión de carne bovina aún no se considera una fuente de infección relevante en humanos, aunque la seroprevalencia en esta especie suele ser elevada. En las aves domésticas la infección cursa de forma subclínica, pero el estudio en las aves de traspatio es importante, debido a que pueden considerarse como centinelas de la contaminación ambiental por ooquistes en una región, lo que permite relacionar los genotipos hallados en ellas con los que podrían estar presentes en la población humana en la misma zona. En cerdos, la toxoplasmosis generalmente cursa en forma subclínica, ocasionando en algunos casos natimortos o nacimiento de animales débiles y la posibilidad de infección en ellos se relaciona con las condiciones de explotación, siendo mayor en los que se mantienen en forma extensiva. En pequeños rumiantes la toxoplasmosis es considerada una causa importante de problemas reproductivos en muchos países. La infección se caracteriza por presentar principalmente abortos con momificación del feto. En los corderos se pueden presentar enteritis y linfadenopatías mesentéricas. En infecciones experimentales se han recuperado parásitos en el músculo esquelético hasta 119 días post-infección. En los caprinos se ha comprobado que los parásitos persisten durante 441 días y que los abortos son reiterados, a diferencia de los ovinos, en los cuales los abortos se producen durante la primoinfección. Los gatos tienen gran importancia por el rol epidemiológico que desempeñan como diseminadores de la enfermedad. Es poco frecuente observar en ellos signos clínicos y cuando ocurre, sucede preferentemente en cachorros infectados por vía transplacentaria. Eventualmente los signos clínicos corresponden a cuadros neumónicos principalmente. Otros signos clínicos incluyen fiebre intermitente o permanente,

anorexia, pérdida de peso, ictericia debido a hepatitis o colangiohepatitis, vómitos, diarrea, hiperestesia y deficiencias neurológicas. La toxoplasmosis ocular puede ocurrir en gatos sin signos clínicos polisistémicos, cursando como uveítis anterior o posterior uni o bilateral. Las manifestaciones neurológicas y oculares que ocurren en ausencia de otros signos clínicos sistémicos se observan más comúnmente por reactivaciones de quistes tisulares que por infecciones agudas. La toxoplasmosis generalizada en perros es observada preferentemente en cachorros menores de 1 año caracterizada por fiebre, tonsilitis, disnea, diarrea y vómitos. Los signos clínicos más importantes en perros se asocian al sistema nervioso y muscular, cursando con miositis y encefalomiелitis. La toxoplasmosis canina es clínicamente similar a la infección producida por *Neospora caninum*. Los equinos parecen ser los animales más resistentes a la enfermedad. En infecciones experimentales sólo una escasa proporción evidenció un cuadro febril (Unzaga, 2004; Pardini, 2012, Bernstein, 2019; Gos, 2019).

Diagnóstico

Para el diagnóstico de la toxoplasmosis se debe considerar: la historia y observación clínica, la histopatología, las pruebas serológicas, los aislamientos y las técnicas de biología molecular (PCR).

La detección de anticuerpos anti-*T. gondii* indica que los individuos se han infectado previamente. Las pruebas de aglutinación indirecta y “Dye-test” no proveen datos sobre el curso de la infección y los títulos individuales altos no siempre están asociados con la ocurrencia de abortos. Con la utilización de otras técnicas como la de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), que detectan IgG e IgM específica, sería posible determinar el período agudo de la enfermedad, durante el cual se produce la infección transplacentaria. Las pruebas de IFI y ELISA son más sensibles y específicas que las de aglutinación; si bien la prueba de Sabin Feldman o “Dye test” es de alta sensibilidad y especificidad, los mayores inconvenientes que presenta es la utilización de antígeno vivo y el tiempo que se necesita para su ejecución.

Los aislamientos se pueden efectuar por inoculación en ratones o en cultivo de células. La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ha demostrado ser una herramienta útil para el diagnóstico de la toxoplasmosis en seres humanos. Actualmente las técnicas de PCR-RFLP han permitido establecer la presencia de diferentes genotipos típicos: tipo I, II, III y atípicos o no clonales (Unzaga, 2004; Pardini, 2012, Bernstein, 2019; Gos, 2019).

Importancia en Salud Pública

Los gatos pueden infectarse ingiriendo carne o vísceras y contaminar el medio ambiente con ooquistes eliminados con la materia fecal. Los felinos eliminan ooquistes en sus heces desde los

3 a 10 días luego de la ingestión de bradizoítos durante un período de 10 a 30 días, de 19 a 41 días luego de la ingestión de ooquistes esporulados por un período de hasta 10 días y de 19 o más días luego de la ingestión de taquizoítos por un período de 4 a 6 días. Los ooquistes sin esporular, refrigerados, permanecen viables al menos por 3 meses. Cuando están en el ambiente, a 22°C esporulan en 24 a 48 hs. Los ooquistes esporulados, almacenados a 4°C son infectantes por períodos de hasta 4 años y medio, entre 10 a 25°C hasta 6 meses. Estos períodos se acortan a medida que aumenta la temperatura; a 60°C pierden su capacidad de infectar en 1 minuto. Los ooquistes de *T. gondii* son menos infectantes y patógenos para el hospedador definitivo que para los hospedadores intermediarios. Millones de ooquistes son producidos por multiplicación en el intestino del gato, sin provocar signología clínica. Aunque es frecuente que la eliminación de ooquistes ocurra sólo durante la primoinfección, experimentalmente se ha comprobado que durante una reinfección se pueden producir nuevamente.

Las fuentes de infección más importantes para el hombre parecen ser el suelo y el consumo de carnes crudas y/o mal cocidas y de frutas y hortalizas mal lavadas. Los quistes tisulares son destruidos a 70°C, a -20°C por 24 hs o más y por radiación gamma. El estacionamiento de los preparados cárneos no destruye los quistes y pueden conservarse a 4 o 6°C hasta más de 2 meses; se ha comprobado que los quistes pueden permanecer infectantes luego de la muerte de un animal infectado. En condiciones experimentales, se han obtenido valores sobre la persistencia del parásito vivo en los tejidos de algunos animales. En bovinos se ha recuperado hasta 267 días post-infección, en ovinos 173 días post-infección, en cerdos 870 días post-infección, en cabras 440 días post-infección y en equinos 476 días post-infección.

La infección en el hombre y animales varía según el área geográfica. Las condiciones ambientales pueden determinar el grado de diseminación de la infección por *T. gondii*. La prevalencia es mayor en climas cálidos y áreas llanas que en climas fríos y áreas montañosas; y en climas húmedos más que en secos. Esto está probablemente relacionado con las condiciones favorables para la esporulación y conservación de los ooquistes en el ambiente.

Entre las medidas aconsejadas para prevenir la infección en la población de riesgo, además de la higiene habitual de las manos con agua y jabón, se recomienda la utilización de guantes para realizar tareas con tierra (horticultura, jardinería), cocinar adecuadamente los productos cárneos y evitar llevar accidentalmente a la boca restos de carnes crudas cuando se está cocinando.

Los estudios efectuados sobre la transmisión de la toxoplasmosis por los gatos, indican que el riesgo de infección no es mayor para los propietarios de estos animales que para la población general.

En cuanto a las medidas de prevención tendientes a evitar la eliminación de ooquistes, se recomienda utilizar productos comerciales o cocidos de preparación casera para la alimentación de los gatos. Los animales castrados y bien alimentados adquieren hábitos sedentarios y tienen menor tendencia a cazar, pero, aun así, hay posibilidades de que capturen presas.

Es adecuado que los gatos dispongan de un recipiente para efectuar sus deposiciones, que serán vertidas a la red cloacal. Ese recipiente debe ser higienizado diariamente. Los ooquistes

recién eliminados no son infectantes y el contacto con agua hirviendo durante 5 minutos los destruye, pero no son destruidos por los desinfectantes comunes (Unzaga, 2004).

Referencias

- Bernstein, M. (2019). *Estudios biológicos e inmunológicos de aislamientos de Toxoplasma gondii provenientes de animales de zoológico en Argentina*. Tesis doctoral. Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Dubey, J.P. (2010). *Toxoplasmosis in Animals and Humans*, CRC Press, New York, NY, USA, 2nd Ed.
- Gos, M.L. (2019). *Estudios serológicos, biológicos y moleculares de Toxoplasma gondii y su relación con la transmisión transplacentaria en infecciones naturales en cabras*. Tesis doctoral. Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Pardini, L. (2012). *Estudios inmunológicos y moleculares de la infección por Toxoplasma gondii en cerdos*. Tesis doctoral. Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Unzaga, J.M. (2004). *Efecto de la infección por Toxoplasma gondii en hembras ovinas gestantes*. Tesis doctoral. Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.

CAPÍTULO 2

Cystoisospora belli. Cystoisosporosis humana

María Laura Ciarmela

Generalidades

Cystoisospora belli (Frenkel, 1977) es un protozoo intracelular obligado responsable de la cystoisosporosis humana, una infección cosmopolita, aunque más frecuente en regiones tropicales y subtropicales. Este parásito penetra y desarrolla en el interior de las células epiteliales del intestino delgado, produciendo diarrea, esteatorrea, dolor de cabeza, dolor abdominal, fiebre y pérdida de peso. En pacientes inmunocompetentes produce una diarrea aguda autolimitada, en inmunocomprometidos y en niños es un parásito oportunista, cuyos síntomas son más severos. La cystoisosporosis está considerada como una de las enfermedades marcadoras de SIDA (Becerril Flores, 2004).

La cronicidad de la infección en individuos inmunocomprometidos y sus recurrencias, puede ser debido a la capacidad que tiene *C. belli* de infectar sitios extraintestinales, esta sería una forma de resistencia a los tratamientos (Cranendonk et al., 2003). Los quistes extraintestinales han sido descritos en nódulos linfáticos mesentéricos y traqueobronquiales, hígado, médula ósea, y lámina propia del intestino delgado de pacientes con HIV/SIDA. La presencia de estos quistes en tejidos linfoides sugiere que los macrófagos podrían estar manteniendo al parásito en estado de latencia por largos periodos (Frenkel et al., 2003).

Morfología

Cystoisospora belli tiene el aspecto típico de los coccidios. Los ooquistes pueden ser ovoides o de aspecto fusiforme, de 20 a 30 µm de largo por 10 a 20 µm de ancho. Posee una pared de doble capa, observándose al principio, en su interior, una masa esférica granular con un núcleo redondo y claro (Figura 1), que luego madura y forma dos porciones, dando origen a dos esporoblastos, cada uno de los cuales desarrolla una pared gruesa para convertirse en esporoquistes, los cuales a su vez contendrán cuatro esporozoítos curvos cada uno. Los ooquistes maduran en el medio externo (EcuRed, 2013).

Los ooquistes son resistentes a la cloración del agua, sobreviven varios meses en el ambiente, se destruyen a 60°C durante 5-10 minutos.

Los esporozoítos y los merozoítos, las fases móviles que invaden células epiteliales, tienen forma de semiluna. Cuando maduran a trofozoítos toman una forma redonda u oval, con un núcleo prominente y un nucléolo conspicuo.

Los macrogametos presentan un núcleo grande, redondo u oval, situado centralmente. A También los caracteriza la presencia de gránulos intracitoplasmáticos prominentes. Los microgametocitos, que son el estadio menos comúnmente identificado, contienen microgametos alineados en su periferia a lo largo de la superficie interna de la membrana celular (Resende et al., 2014).

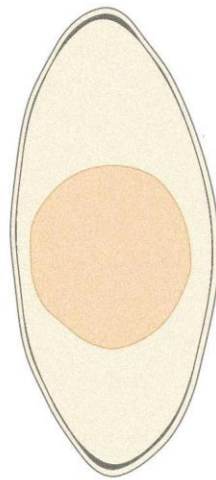


Figura 1. Esquema de morfología de ooquiste inmaduro de *Cystoisospora belli*.

Transmisión y formas de diseminación

El único hospedador de *Cystoisospora belli* es el hombre, produce cystoisosporosis. Su hábitat es el intestino delgado y la forma evolutiva infectante es el ooquiste, el cual sale a través de las heces de la persona infectada, madurando en el ambiente, para luego contaminar alimentos, que, al ser consumidos, infectarán a nuevas personas (Neira et al., 2010).

Ciclo biológico

El ciclo de vida de *C. belli* es monoxeno (Figura 2). Tiene su hábitat en células epiteliales del intestino delgado. Es un parásito intracelular obligado. El elemento infectante es el ooquiste maduro que se encuentra en el agua y alimentos contaminados. El hombre ingiere estos ooquistes y en el intestino delgado se liberan los esporozoítos que van a penetrar las células epiteliales

donde se va a llevar a cabo la reproducción asexual o merogonia, originando los merozoítos, los que van a invadir nuevas células. Algunos de estos merozoítos se diferencian en micro y macrogametos, se fusionan (gametogonia – reproducción sexual), con la formación de un cigoto y posteriormente, se transforma en un ooquiste inmaduro en cuyo interior se encuentra el esporoblasto. Este ooquiste es liberado al ambiente con las heces. En el medio externo se van a desarrollar por esporogonia 2 esporoquistes, cada uno con 4 esporozoítos móviles (ooquiste maduro, forma infectiva). La esporulación con condiciones adecuadas de humedad, temperatura y oxígeno se lleva a cabo en 24 horas. Los sujetos infectados pueden eliminar ooquistes durante meses (DPDX, 2017).

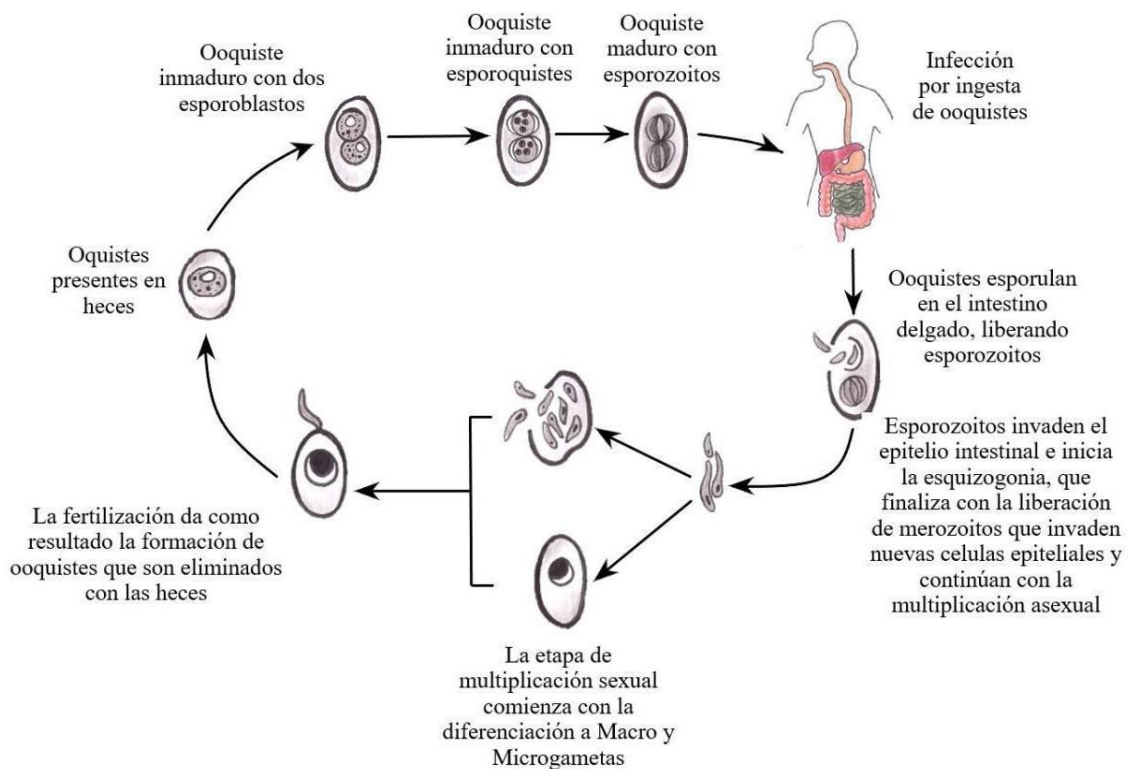


Figura 2. Ciclo biológico de *C. belli*

Patogenia

En pacientes inmunocompetentes, la mucosa intestinal puede tener apariencia normal. En inmunocomprometidos, *C. belli* durante su paso por el intestino delgado provoca atrofia de las vellosidades intestinales (causa síndrome de malabsorción) con hiperplasia de las criptas, lo que determina una mucosa aplanada y vellosidades cortas y aplanadas. Poco se ha hallado en la lámina propia. Los eosinófilos están aumentados en la lámina propia de manera similar a la enteritis eosinofílica. Las células plasmáticas, linfocitos y leucocitos polimorfonucleares están aumentados en gran número. Puede haber necrosis de la mucosa intestinal.

El grado de lesión que produce depende de la cantidad de parásitos que provocan destrucción del epitelio intestinal e hipertrofia de las criptas. La lesión se debe más bien a la inflamación como una reacción del huésped, y no tanto a que el parásito secreta sustancias que dañan al hospedador (Kozubsky & Costas, 2017).

Signología clínica

La infección con *C. belli* puede ser sintomática u oligosintomática. Puede llegar a presentarse con un cuadro de diarrea sin sangre de tipo lientérico, de aparición brusca, acompañado en los primeros días de dolor abdominal y meteorismo, náuseas, fiebre y malestar general. Las heces son pastosas o líquidas, abundantes y frecuentes (4 a 10 o más evacuaciones diarias). Puede agregarse hiporexia y una pérdida importante de peso (5 kg o más). En individuos inmunocompetentes la enfermedad se resuelve espontáneamente en varias semanas.

La evolución es de semanas a meses y deja una astenia marcada.

En pacientes inmunocomprometidos, infantes y niños, la diarrea puede ser severa. A diferencia de la infección con otros protozoos, la infección con *C. belli* se presenta con eosinofilia.

En algunos pacientes la enfermedad ha durado más de 20 años con carácter intermitente (Cranendonk et al., 2003; Montalvo et al., 2013).

Infección extra-intestinal

En pacientes con SIDA y enterocolitis por citomegalovirus, se ha reportado la aparente ubicación extraintestinal de *C. belli*: nódulos linfáticos mesentéricos, periaórticos, traqueobronquiales y mediastínicos; diseminación que se ha asociado con reacción granulomatosa. Se ha detectado en árbol biliar, hígado y bazo. Se han descrito quistes unizoicos de *C. belli* en ganglios linfáticos mesentéricos y gametocitos en el epitelio de la vesícula biliar de un con SIDA. Se ha relacionado con enfermedad biliar, produciendo dos síndromes: colangitis esclerosante de tipo progresivo que ocasiona lesión y dilatación de los conductos biliares intra y extra-hepáticos y síndrome de colecistitis acalculosa causado por la infección de la pared de la vesícula biliar, lo que ha sucedido en pacientes con SIDA (Lindsay et al., 1997).

Distribución geográfica

C. belli es de distribución mundial, es endémica de regiones tropicales y subtropicales de Haití, México, Brasil, El Salvador, Perú, África tropical y sureste asiático. En países desarrollados se han asociado episodios esporádicos diarreicos en guarderías, centros de día e instituciones

psiquiátricas, inmigrantes, en viajeros que regresan de zona endémica y en pacientes infectados con HIV (Kozubsky & Costas, 2017).

Diagnóstico

Si bien estos parásitos pueden ser detectados en el laboratorio mediante el convencional examen microscópico directo de heces, pero es de baja sensibilidad, por sus características estructurales ácido-alcoholes resistentes de sus ooquistes son las coloraciones ácido-resistentes (Kinyoun y Ziehl-Neelsen modificado), las recomendadas para su diagnóstico debido a sus ventajas de sensibilidad, practicidad y menor costo. Otras coloraciones que se han usado son: azul de lactofenol, técnica auramina-rodamina, coloración Giemsa y la técnica de azul de metileno-safranina caliente. No obstante, existen otras opciones microscópicas, enzimoimmunoensayos y pruebas moleculares para su detección (Imagen 1).

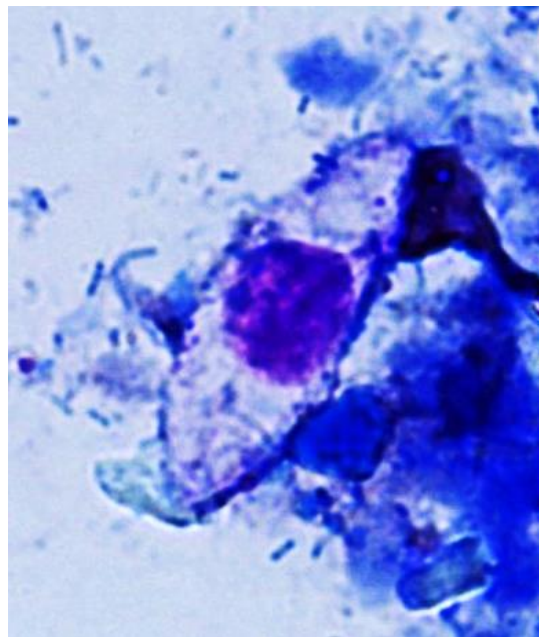


Imagen 1. *Cystoisospora belli*: ooquiste inmaduro, 100X. Coloración, Kinyoun.

La eliminación de los ooquistes de *C. belli* puede ser intermitente, por lo tanto, se pedirá al paciente un estudio coproparasitológico seriado. También puede realizarse búsqueda de elementos parasitarios en contenido duodenal a partir del quinto día de la enfermedad junto a cristales de Charcot Leyden, si es que el examen coproparasitario dio negativo (Traviezo Valles, 2014; Kozubsky & Costas, 2017) (Imagen 2).

Un método de diagnóstico sofisticado usado en investigación es la PCR en tiempo real en muestras fecales. En pacientes con SIDA se sugiere estudio histológico (Ud et al., 2012).



Imagen 2. Cristales de Charcot-Leyden, producto de la degradación de los eosinófilos. Fuente: CDC.

Tratamiento

El tratamiento de elección para la cystoisosporiosis es Trimetoprima/sulfametoxazol 160 mg TMP y 800 mg SMX por vía oral 2 veces al día durante 10 días.

Los niños deben recibir 5 mg/kg de TMP (y 25 mg/kg de SMX) por vía oral 2 veces al día durante el mismo número de días (Kozubsky & Costas, 2017).

En pacientes infectados con HIV, pueden requerir un tratamiento más prolongado entre 6 a 8 semanas.

Otras posibles alternativas serían: Pirimetamina asociada a ácido fólico, ciprofloxacina o nitzoxanida (Ud et al., 2012).

Profilaxis

Las medidas de profilaxis de esta protozoosis están dirigidas a la comunidad como el control de aguas, correcta eliminación de excretas. Medidas individuales: Lavado de manos antes de las comidas y después de ir al baño.

Los viajeros a zona endémica deben evitar la ingesta de agua, hielo y alimentos crudos contaminados.

Lavar bien frutas y verduras.

Pacientes con infección por VIH y recuento de linfocitos CD4 menor a 200 células/microlitro podrán requerir tratamiento profiláctico asociado a su tratamiento antirretroviral para mejora del sistema inmune (Kozubsky & Costas, 2017).

Referencias

- Becerril Flores, M. (2004). Isosporosis (Págs. 97-99). En: *Parasitología Médica, de las moléculas a la enfermedad*. Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A. de C.V.
- Cranendonk, R.J. Kodde, C.J. Chipeta, D. Zijlstra, E.E. Sluiter, J.F. (2003) *Cryptosporidium parvum* and *Isospora belli* infections among patients with and without diarrhoea. *East African Medical Journal* 80 (8): 398-401.
- DPDX – Laboratory Identification of parasites of public health concern. (2017). CDC. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/cystoisosporiasis/index.html>.
- EcuRed, Recuperado de: https://www.ecured.cu/index.php?title=Isospora_belli&oldid=1988219 (2013).
- Frenkel, J.K. (1977). *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. *Journal of Parasitology* 63: 611–628.
- Frenkel, J. K., Silva, M. B. D. O., D.O. Saldanha, J. C., Silva-Vergara, M. L. D., Correia, D., Barata, C. H., ... & Prata, A. (2003). Presença extra-intestinal de cistos unizóicos de *Isospora belli* em paciente com SIDA: relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(3), 409-412.
- Kozubsky, L. Magistrell, P. Zulia, M.V. (2017) Cystoisosporiosis. En *Parasitología humana para bioquímicos*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. p 90.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. Blagburn, B.L. (1997) Biology of *Isospora* spp. from Humans, Nonhuman Primates, and Domestic Animals. *Clinical Microbiology Reviews* 10 (1): 19–34.
- Montalvo, R., Ticona E., Ñavincopa, M., García, Y., Chávez, G., Chávez, V., Arévalo, J., Soria, J., Huiza, A. (2013) Diarrea recurrente por *Cystoisospora belli* en pacientes con infección por VIH en TARGA. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública* 30(2):326-30.
- Neira, P.O. Barthel, E.M. Wilson, G.L. Muñoz N.S. (2010) Infección por *Isospora belli* en pacientes con infección por VIH. Presentación de dos casos y revisión de la literatura *Revista Chilena de Infectología* 27 (3): 219-227.
- Resende, D.V. Lages-Silva, E., Assisa, D.C. Prata, A. Oliveira-Silva, M.B. (2009). Experimental infection of murine and human macrophages with *Cystoisospora belli*. *Acta Tropica* 111: 177–180.
- Travieso Valles, L.E. (2014) *Isospora belli* un coccidio importante de diagnosticar (*Isospora belli* diagnose important coccidia) *Revista Venezolana de Salud Pública* 2 (1): 45-46.
- Ud Din, N., Torka, P., Hutchison, R. E., Riddell, S. W., Wright, J., & Gajra, A. (2012). Severe *Isospora* (*Cystoisospora*) *belli* diarrhea preceding the diagnosis of human T-cell-leukemia-virus-1-associated T-cell lymphoma. *Case reports in infectious diseases*, 2012.

CAPÍTULO 3

Cystoisospora spp. Cystoisosporosis animal

María Inés Gamboa

Generalidades

El género *Cystoisospora* pertenece al Phylum Apicomplexa, por poseer un complejo apical que le permite penetrar la célula hospedadora, son parásitos intracelulares obligados.

El género *Isospora* fue descrito por primera vez por Schneider en 1881 y su taxonomía ha sido motivo de controversia desde entonces (Tabla 1). En 1977, se propuso el género *Cystoisospora* debido a la presencia de quistes en tejidos de roedores que funcionan como hospedadores intermediarios de *Isospora felis* e *Isospora rivolta* de gatos (Frenkel, 1977). El género pertenecía a la familia Eimeriidae, pero estudios filogenéticos demostraron que *Cystoisospora* está más estrechamente relacionada con *Toxoplasma*, *Neospora* y *Sarcocystis* spp. que con *Eimeria*, lo que indica que pertenece a la familia Sarcocystidae (Carreno et al., 1998; Franzen et al., 2000). Más recientemente Barta y colaboradores (2005), asignaron todos los ooquistes tetrasporozoicos, diplosporoquísticos de mamíferos sin cuerpo de Stieda en sus esporoquistes, al género *Cystoisospora* (Sarcocystidae), y todos los ooquistes de aves con cuerpos de Stieda en sus esporoquistes al género *Isospora*.

Las especies que se encuentran con frecuencia en el perro y que son causa común de diarrea en cachorros son: *Cystoisospora canis*, *Cystoisospora ohioensis*, *Cystoisospora burrowsi*, *Cystoisospora neorivolta*.

El género *Cystoisospora* se caracteriza por tener quistes monozoicos, es decir, quistes que tienen un solo tipo de célula o zoito y de un solo tipo de hospedador intermediario. El ciclo es heteroxeno facultativo, siendo la monoxenia facultativa la más frecuente.

Estos protozoos son específicos del hospedador, tienen una distribución mundial y las infecciones son muy comunes, especialmente en animales jóvenes. En un estudio austriaco, el 8,7% de los perros menores de 2 años estaban infectados; el 78% de las muestras positivas se encontraban en cachorros menores de 4 meses (Mitchet et al., 2005). En los Estados Unidos, el CAPC informa de tasas de prevalencia de la infección por *Cystoisospora* spp. que van desde el 3% hasta más del 30% (www.capcvet.org). No se han comprobado infecciones en humanos.

A diferencia de lo que ocurre en otros hospedadores, donde son comunes las infecciones mixtas con varias especies de *Eimeria*, *C. suis* es el patógeno predominante en los cerdos, causando la cystoisosporidiosis neonatal porcina.

Morfología

La caracterización morfológica de las especies de *Cystoisospora* es problemática, ya que muchos de los ooquistes se parecen a los de *Toxoplasma*, *Hammondia* y *Sarcocystis*.

Los ooquistes de *Cystoisospora* tienen dos esporoquistes con cuatro esporozoítos y carecen de micrópila, cuerpo de Stieda y residuo del ooquiste (Figuras 1 y 2).

Los ooquistes de *C. felis* miden 38–51 μm por 27–29 μm , mientras que los ooquistes de *C. rivolta* son mucho más pequeños (21–28 μm por 18–23 μm) (Soulsby, 1987). Los ooquistes de *Cystoisospora suis* de cerdos miden 20–24 μm por 18–21 μm y los ooquistes de *C. ohioensis* en perros miden 20–27 μm por 15–24 μm en comparación con los ooquistes de *C. canis* que miden 34–40 μm por 28–32 μm (Dubey & Lindsay, 2019). Sin embargo, los ooquistes de *C. ohioensis* se superponen en tamaño con *C. burrowsi* y *C. neorivolta* en perros (Lindsay et al., 1997), por lo cual, estas 3 especies se agruparon en el complejo *C. ohioensis*.

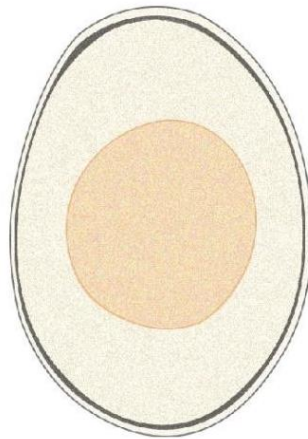


Figura 1. Ooquiste inmaduro de *Cystoisospora animal*

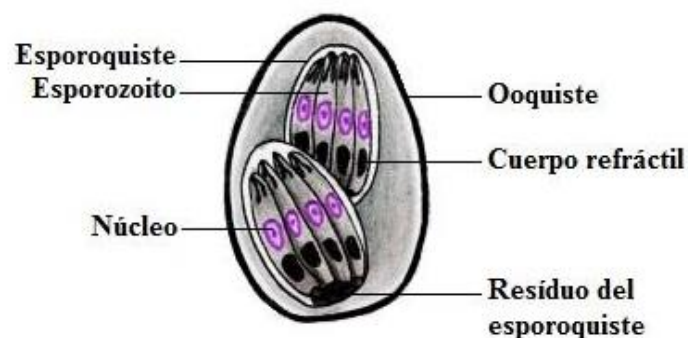


Figura 2. Ooquiste esporulado de *Cystoisospora animal*

Transmisión y formas de diseminación

Los perros y gatos adquieren el parásito a través de la ingestión de ooquistes esporulados del ambiente o de hospedadores paraténicos, como los roedores. La fuente más probable de infección en los cachorros son los ooquistes excretados por sus madres. Aunque se encontraron estadios de *Cystoisospora* en órganos extraintestinales, no hay pruebas de una transmisión lactogénica o congénita. Se desconoce el papel de los hospedadores paraténicos en la epidemiología natural de la transmisión de los coccidios (Dubey & Lindsay, 2019). Los perros, cerdos, roedores, camellos, vacas y otros pueden ser hospedadores paraténicos de *C. felis*.

En una experiencia de laboratorio, animales infectados con ooquistes *C. ohioensis* liberaron ooquistes en heces y también generaron quistes tisulares en bazo y ganglios linfáticos mesentéricos. En cambio, los animales alimentados con quistes tisulares en tejidos de hospedadores paraténicos, sólo liberaron ooquistes (Dubey & Mehlhorn, 1978). Se han reportado *C. canis* y *C. ohioensis* en ratones, ovejas, camellos, asnos, cerdos y búfalos de agua y coyotes. Se cree que los cánidos salvajes comparten los ooquistes de *C. canis* y *C. ohioensis* con el perro. Los ooquistes de *Cystoisospora* spp. se observan en general a partir de las 4 semanas de edad. Las mayores frecuencias de perros infectados se dan a los 4 meses de edad, mientras que, los perros de más de un año rara vez excretan ooquistes (Dubey & Lindsay, 2019).

Ciclo biológico

Cystoisospora spp. es un parásito intracelular obligado y desarrolla un ciclo de vida heteroxeno facultativo. Los cachorros suelen infectarse al ingerir ooquistes de *Cystoisospora* spp. esporulados de su entorno, pero también pueden infectarse al comer un hospedador paraténico. El periodo de prepatencia de *C. canis* es de 9-11 días, el complejo *C. ohioensis* de 4-9 días (Dubey & Lindsay, 2019), el de *C. felis* y *C. rivolta* 4 a 7 días (Dubey, 2018) y el de *C. suis* 5 días (Bowman, 2009). La pared del ooquiste se rompe y los esporozoítos se liberan en el tracto intestinal. Invaden las células epiteliales del intestino delgado, se transforman en trofozoítos e inician la reproducción asexual (merogonia o esquizogonia), que tiene lugar en varios ciclos repetidos. Algunos esporozoítos de *C. canis* y *C. felis* migran a los ganglios linfáticos mesentéricos u otros tejidos y forman quistes. Se sabe que *C. canis*, *C. neorrivolta* y *C. burrowsi* parasitan los enterocitos a nivel de la lámina propia, mientras que *C. ohioensis* ocupa el epitelio superficial del intestino delgado (principalmente yeyuno e íleon), ciego y raramente el colon (Dubey, 1978a; 2019). El modo de división de los esquizontes de *C. canis* y *C. felis* no está aún del todo claro. Se sabe que *Cystoisospora* spp. se multiplican por diferentes tipos de división, incluyendo la endodiogonia y merogonia. Por lo tanto (Dubey, 1978b) propuso el término "tipos" en lugar de generaciones

asexuales, debido a las numerosas generaciones observadas dentro de una misma célula hospedadora, en la vacuola parasitófora. Este tipo de división es diferente de una serie de generaciones asexuales en las especies de *Eimeria*.

A los ciclos asexuales les sigue la fase de reproducción sexual: gametogonia. Los merozoitos se diferencian en macro y microgametocitos, se produce la singamia, que da un cigoto 2n. El resultado final del ciclo es un ooquiste, que se expulsa en las heces. Estos ooquistes pueden llegar a ser 200.000 por gramo de heces. En el ambiente, los ooquistes se esporulan (fase de esporogonia) en unos días, dependiendo de las condiciones (a 20°C tardan 48 hs.) y se vuelven infecciosos para sus próximos hospedadores. Los ooquistes son viables e infecciosos durante meses (Saari et al., 2019) (Figura 3).

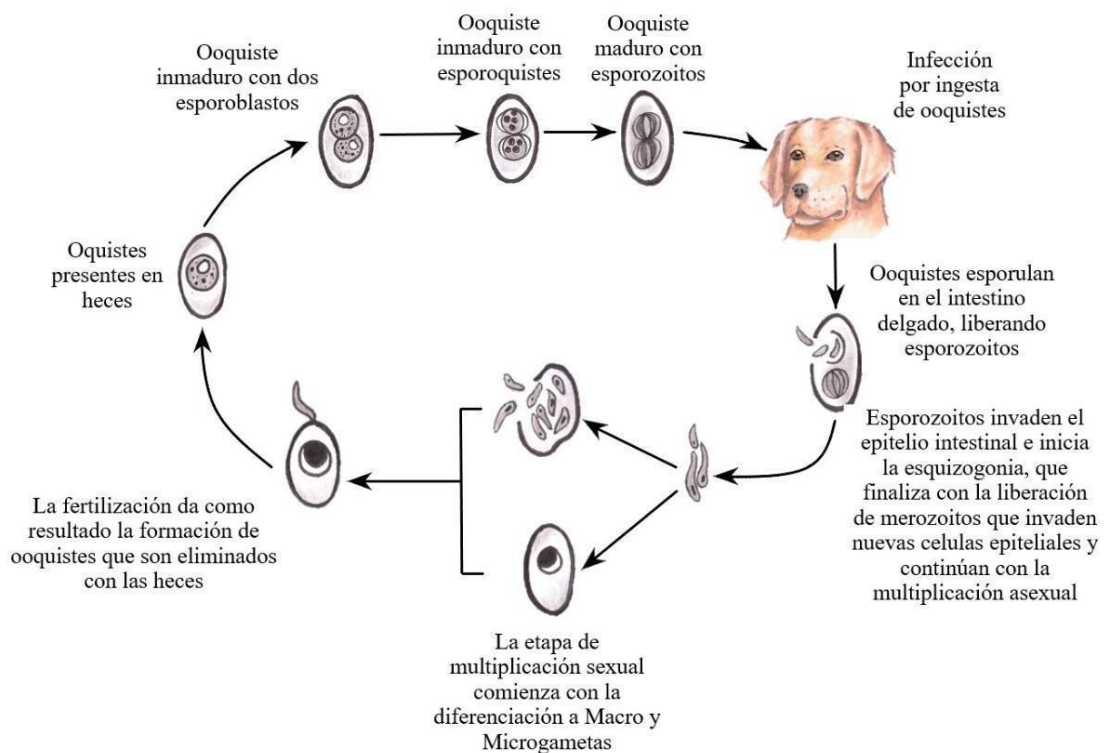


Figura 3. Ciclo biológico de *Cystoisospora* spp.

Patogenia

La gravedad del cuadro clínico dependerá del alcance de las lesiones intestinales y éstas a su vez resultan de la cantidad de ooquistes ingeridos, su patogenicidad y la respuesta inmune del hospedador. En función de esto, se desarrollará una enfermedad más o menos grave. Las lesiones se deben más bien a la inflamación como reacción del hospedador y no tanto a secreciones del parásito (Mitchel et al., 2007).

Los signos clínicos se deben a la destrucción de las células epiteliales intestinales. El daño del epitelio da lugar a la disminución de la superficie de absorción del intestino, o a un daño epitelial de espesor total, que se extiende al tejido conectivo subyacente de la mucosa. Esto puede ir acompañado de hemorragia en el lumen del intestino e inflamación. En casos severos, se observa necrosis de la mucosa intestinal, atrofia de las vellosidades, hipertrofia de las criptas y focos de inflamación, con un exudado fibrinoleucocítico (Mitchel et al., 2007). Houk et al., (2013) demostraron que los perros que habían eliminado previamente *C. ohioensis* no eran inmunes a *C. canis*. En los gatos, *C. rivolta* es más patógeno que *C. felis*, quizás relacionado con la localización del desarrollo; *C. felis* se multiplica en los enterocitos epiteliales superficiales (tasa de recambio rápida) en comparación con *C. rivolta* que puede multiplicarse en los enterocitos de las glándulas de Lieberkühn (células germinales que afectan a la reproducción de enterocitos).

Signología clínica

Los ooquistes de coccidios pueden encontrarse en las heces de perros clínicamente sanos, así como en animales con diarrea. La mayoría de los perros desarrollan una fuerte inmunidad contra la infección y apenas excretan pequeñas cantidades de ooquistes como adultos asintomáticos. Los animales clínicamente afectados son neonatos, muy jóvenes, o están inmunodeprimidos y desarrollan una diarrea verde-grisácea, que puede variar de blanda a acuosa y puede contener sangre o moco. A menudo estos síntomas se autolimitan, aunque a veces duran semanas. En los animales gravemente afectados o estresados pueden observarse vómitos, diarrea grave, anorexia, depresión, deshidratación, letargo, pérdida de peso y muerte. Los ooquistes de coccidios suelen propagarse por transmisión fecal-oral (Datz, 2011).

Los signos clínicos se manifiestan típicamente en cachorros menores de 4 meses de edad. El crecimiento y desarrollo del cachorro pueden verse afectados, incluso en los casos subclínicos. Los coccidios son patógenos oportunistas. Si son patógenos, su virulencia puede verse influida por varios factores de estrés, como condiciones de vida o de alimentación (por ejemplo, cuando se introducen alimentos sólidos en los cachorros). Las coinfecciones con virus, bacterias y otros parásitos son comunes en los perros que muestran signos clínicos (Saari et al., 2019).

Infecciones por *C. ohioensis* en crías inoculadas desarrollaron diarrea. Histológicamente se observaron las vellosidades atrofiadas, con necrosis y descamación de las puntas de las vellosidades. Se informaron infecciones con *C. neorivolta* y *C. burrowsi* asintomáticas (Dubey & Lindsay, 2019).

Cystoisospora suis es agente de coccidiosis neonatal en lechones de 1 a 2 semanas de vida (Bowman, 2009). Los signos clínicos incluyen diarrea, deshidratación y pérdida de peso. La morbilidad es alta y la mortalidad baja o moderada. La susceptibilidad a la infección baja rápidamente con la edad y la infección otorga inmunidad a infecciones futuras, aunque la salud de los lechones puede deteriorarse significativamente por co-infecciones bacterianas o virales. El cuadro clínico generalmente cede en 2 semanas.

Distribución geográfica

Cystoisospora es de distribución cosmopolita, endémica de regiones tropicales y subtropicales. En el caso de *C. canis*, las poblaciones caninas densas, como las de las perreras, son propicias para la transmisión.

Especies

Cystoisospora canis, complejo *C. ohioensis* (*C. ohioensis*, *C. neorivolta*, *C. burrowsi*), *C. cati*, *C. rivolta*, *C. suis*.

Diagnóstico

Los ooquistes fecales se detectan con métodos de flotación. Como la diarrea puede comenzar antes de la secreción de ooquistes y la eliminación de ooquistes puede ser intermitente, es recomendable analizar varias muestras fecales, o la toma de una muestra seriada. Cuando se encuentran ooquistes en las heces, se recomienda esporularlos, para comprobar que realmente son del tipo *Cystoisospora* (dos esporoquistes en cada ooquiste) (Imagen 1). La esporulación tiene lugar en condiciones húmedas y ricas en oxígeno, en una placa de Petri con dicromato de potasio. Hay que tener en cuenta que los estudios que se basan en microscopía para la detección es probable que subestimen la prevalencia del organismo estudiado, ya que estudios anteriores han demostrado que la PCR puede detectar muchos más positivos que la microscopía (Ryan et al., 2005).

Los perros suelen practicar la coprofagia y es muy común encontrar ooquistes de *Eimeria* spp. (con cuatro esporoquistes en un ooquiste esporulado) de liebres, aves o rumiantes, en las heces caninas. Estos no infectan a los perros, no causan efectos adversos y no requieren intervención.

Los esquizontes, merozoitos y ooquistes parcialmente formados pueden encontrarse en frotis realizados en solución salina normal (no en agua) (Dubey & Lindsay, 2019).

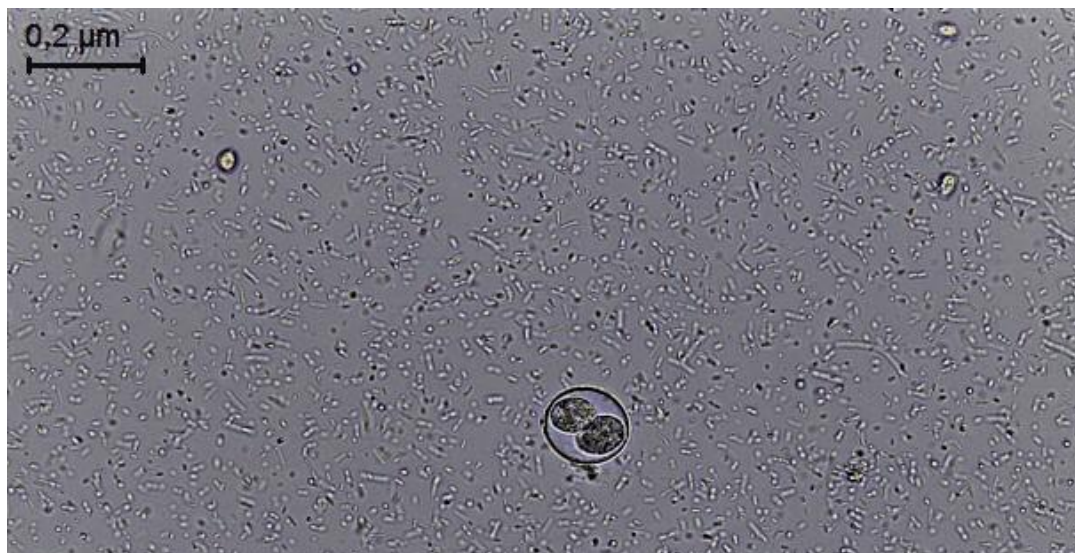


Imagen 1. Ooquiste de *C. canis* esporulado

Tratamiento

El tratamiento puede no ser necesario, ya que las infecciones suelen ser autolimitadas y clínicamente insignificantes. El tratamiento puede ayudar a limitar el número de ooquistes que se liberan en una perrera y puede ser necesario en casos de enfermedad clínica prolongada (Hall, 2013). Otros indican el tratamiento para todos los cachorros que hayan estado en contacto con perros con coccidiosis (toda la camada). El tratamiento temprano minimiza el daño epitelial en el intestino. En muchos casos, el manejo de las condiciones estresantes subyacentes (por ejemplo, el hacinamiento, el transporte, la desnutrición y otros parásitos), disminuirá o eliminará la infección por coccidios. Se han utilizado como opciones de tratamiento la sulfadimetoxina (50-60 mg/kg cada 24 hs durante 10-20 días), trimetoprim/sulfametoxazol (30 mg/kg cada 8 hs durante 10 días), o el toltrazuril (20 mg/kg en única dosis o repetir a los 15 o 20 días). Actualmente los más utilizados son toltrazuril y ponazuril (20 mg/kg dos veces, 1 a 7 días con un intervalo de 1 a 7 días o en 50 mg/kg una vez). Como terapia de apoyo, se puede utilizar la rehidratación y el tratamiento antimicrobiano, si se sospecha de una infección bacteriana secundaria. Los perros deben permanecer en el interior y no ser alimentados con carne cruda. Las medidas higiénicas generales deben ser practicadas en las perrerías para minimizar la diseminación de los ooquistes (Dubey & Lindsay, 2019). En cerdos se utiliza el toltrazuril como tratamiento de *C. suis*. Como *C. suis* induce daños intestinales durante la prepatencia, es decir, antes de que los ooquistes sean excretados heces, hay que aplicar un tratamiento eficaz a los lechones expuestos a la infección antes de que el parásito pueda ser diagnosticado coprológicamente (Mundt et al., 2007). No existen vacunas y la rápida aparición de resistencia a todos los anticoccidiales introducidos en las *Eimeria* de los pollos, explica la urgencia en desarrollar estrategias de intervención nuevas y sostenibles contra *C. suis* para combatir la cistosisporosis porcina neonatal en el futuro (Shrestha et al., 2015).

Profilaxis

Evitar el estrés y mantener una buena higiene en el entorno de los cachorros es importante para la profilaxis. Las heces deben eliminarse sin demora y las superficies deben secarse después de lavarlas. Aunque los desinfectantes generales que no dañan a los humanos son ineficaces para matar los ooquistes de coccidios, eliminan muchos otros contaminantes. La desinfección con vapor o productos químicos como el 10% de amoníaco puede aumentar la eficacia de la limpieza, pero los ooquistes suelen ser muy resistentes a los desinfectantes comunes, lo que subraya la importancia de la limpieza mecánica. El calor y la sequedad ayudan a matar y controlar los ooquistes ambientales. El personal que manipula cachorros infectados debe mantener una buena higiene para evitar la transferencia de la infección entre los perros y las instalaciones de la perrera. El tratamiento del equipamiento con agua caliente (> 70 °C) es el más eficaz para eliminar los ooquistes de coccidios no esporulados. Se debe intentar minimizar el estrés durante el transporte de los cachorros (Dubey & Lindsay, 2019). La profilaxis de cistisosporas felinas debe incluir la limpieza diaria y desinfección de las cajas de arena de los gatos utilizando agua caliente (>70°C) y desinfección general. Nunca se debe alimentar a los gatos con carne cruda y deben mantenerse en el interior para evitar la caza (Dubey, 2018).

Para prevenir la exposición temprana de los lechones a *C. suis*, la reducción o inactivación de los ooquistes infecciosos es clave para el control de la cistisosporosis. Las estrategias de higiene eficientes incluyen la limpieza con vapor y la aplicación de un desinfectante con eficacia anticoccidial (Straberg & Dauschies, 2007).

Importancia en salud pública

La infección de gatos crónicamente infectados por *T. gondii* con *C. felis* induce la reexcreción de ooquistes de *T. gondii* en ausencia de signos clínicos. La recaída inducida por *C. felis* es específica porque *C. rivolta* no induce la recaída de la infección por *T. gondii* y el efecto puede bloquearse mediante la inmunización de los gatos con *C. felis* antes de la infección por *T. gondii*. Tanto *C. felis* como *T. gondii* pueden adquirirse simultáneamente si los hospedadores intermedios están infectados con estos parásitos. El mecanismo de interacción de *C. felis* y *T. gondii* no se conoce, pero estos organismos comparten algunos antígenos (Dubey, 2018).

Como los lechones que padecen cistisosporosis suelen presentar un retraso en el desarrollo, la infección puede dar lugar a importantes pérdidas de producción. Las pérdidas económicas asociadas a la coccidiosis en el ganado porcino se deben principalmente a rendimiento, el retraso en el crecimiento, la mortalidad y el costo del tratamiento (Hinney et al., 2020).

Referencias

- Barta, J.R. Schrenzel, M.D. Carreno, R. Rideout, B.A. (2005). The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology*. 91: 726-727.
- Bowman, D.D. (2009). *Georgys' Parasitology por veterinarians*. 9th Ed. Edit. Elsevier. 452 pp.
- Carreno, R.A. Schnitzler, B.E. Jeffries, A.C. Tenter, A.M. Johnson, A.M. & Barta, J.R. (1998). Phylogenetic analysis of coccidia based on 18S rDNA sequence comparison indicates that *Isospora* is most closely related to *Toxoplasma* and *Neospora*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 45: 184–188.
- Datz, C. (2011). *Small Animal Pediatrics || Parasitic and Protozoal Diseases*. (19): 154-160.
- Dubey, J.P. (1978a). Life cycle of *Isospora ohioensis* in dogs. *Parasitology*. 77: 1-11.
- Dubey, J.P. (1978b). Pathogenicity of *Isospora ohioensis* infection in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 173: 192-197.
- Dubey, J.P. & Mehlhorn, H. (1978). Extraintestinal stages of *Isospora ohioensis* from dogs in mice. *The Journal of parasitology*. 689-695.
- Dubey, J.P. (2018). A review of *Cystoisospora felis* and *C. rivolta*-induced coccidiosis in cats. *Veterinary Parasitology*. 15, 263: 34-48.
- Dubey, J.P. (2019). Re-evaluation of merogony of a *Cystoisospora ohioensis*-like coccidian and its distinction from gametogony in the intestine of a naturally infected dog. *Parasitology*. 146 (6): 740-745.
- Dubey, J.P. & Lindsay D.S. (2019). Coccidiosis in dogs. 100 years of progress. *Veterinary Parasitology*. 266: 34-55.
- Franzen, C. Muller, A. Bialek, R. Diehl, V. Salzberger, B. & Fatkenheuer, G. (2000). Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isospora belli* as based on ribosomal RNA sequences. *Parasitology Research*. 86: 669–676.
- Frenkel, J.K. (1977). *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. *Journal of Parasitology*. 63: 611–628.
- Hall, E.J. (2013). Small Intestine. In *Canine and Feline Gastroenterology*. (57): 651-728.
- Hinney, B. Cvjetkovic, V. Espigares, D. Vanhara, J. Waehner, C. Ruttkowski, B. Selista, R. Sperling, D. & Joachim, A. (2020). *Cystoisospora suis* Control in Europe Is Not Always Effective. *Frontiers in veterinary science*. 7:113.
- Houk, A.E., O'Connor, T., Pena, H.F., Gennari, S.M., Zajac, A.M. & Lindsay, D.S. (2013). experimentally induced clinical *Cystoisospora canis* coccidiosis in dogs with prior natural patent *Cystoisospora ohioensis*-like or *C. canis* infections. *Journal of Parasitology*. 99(5): 892-895.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. & Blagburn, B.L. (1997). Biology of *Isospora* spp. from humans, non-human primates, and domestic animals. *Clinical Microbiology Reviews*. 10(1), 19-34.

- Mitchell, S.M., Zajac, A.M., Charles, S., Duncan, R.B. & Lindsay, D.S. (2007). *Cystoisospora canis* Nemeséri, 1959 (syn. *Isospora canis*), infections in dogs: clinical signs, pathogenesis, and reproducible clinical disease in beagle dogs fed oocysts. *Journal of Parasitology*. 93(2): 345-352.
- Mundt, H.C., Mundt-Wüstenberg, S., Dauschies, A., & Joachim, A. (2007). Efficacy of various anticoccidials against experimental porcine neonatal isosporosis. *Parasitology research*. 100(2): 401-411.
- Nemzek, J.A., Lester, P. A., Wolfe, A.M., Dysko, R.C., & Myers Jr, D.D. (2015). Biology and diseases of dogs. *In Laboratory animal medicine*. (pp. 511-554). Academic Press.
- Ryan, U. M., Bath, C., Robertson, I., Read, C., Elliot, A., McInnes, L., ... & Besier, B. (2005). Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(9): 4992-4997.
- Saari, S. Näreaho, A. & Nikander, S. (2019). *Protozoa*. *In Canine Parasites and Parasitic Diseases*. (2): 5–34.
- Shrestha, A., Abd-Elfattah, A., Freudenschuss, B., Hinney, B., Palmieri, N., Ruttkowski, B. & Joachim, A. (2015). *Cystoisospora suis*—A model of mammalian cystoisosporosis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2: 68.
- Soulsby, E.J.L. (1987). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. 7 Ed. Editorial. Intermédica Recuperado de: http://redbiblio.unne.edu.ar/pdf/0602-004365_1.pdf
- Straberg, E. & Dauschies, A. (2007). Control of piglet coccidiosis by chemical disinfection with a cresol-based product (Neopredisan 135-1®). *Parasitology research*. 101(3): 599-604.

CAPÍTULO 4

Sarcocystis spp. Sarcocystosis humana

Marta Cecilia Minvielle

Generalidades

La sarcocystosis humana es una zoonosis asociada a la ingesta de carne bovina o porcina insuficientemente cocida, que generalmente cursa de manera asintomática en el ser humano. Sin embargo, se han reportado casos de obstrucción intestinal y enteritis necrotizante y puede dar cuadros musculares con miositis, dolor y debilidad muscular.

Los seres humanos sirven como hospedadores definitivos para *Sarcocystis hominis* (también denominado *S. bovihominis*), cuyos hospedadores intermediarios son bovinos y búfalos de agua; y *S. suihominis*, cuyos hospedadores intermediarios son los cerdos y jabalíes. El consumo de carne cruda o poco cocida infectada con la etapa quística intracelular del parásito conduce a sarcocystosis intestinal no invasiva, con diarrea acuosa, náuseas y otros síntomas gastrointestinales en humanos.

Los tejidos de muchas especies de animales domésticos, mamíferos salvajes, aves y reptiles que se comen como carne en todo el mundo contienen sarcoquistes capaces de infectar hospedadores finales no identificados. Por lo tanto, puede haber especies indocumentadas adicionales para las cuales los humanos pueden servir como hospedadores definitivos.

Accidentalmente, los seres humanos también pueden convertirse en hospedadores intermediarios de *Sarcocystis* spp. Los primeros casos en humanos de sarcocystosis invasiva (1975-1992) fueron hallazgos de autopsias/biopsias en diferentes grupos étnicos de Asia. Los brotes recurrentes de sarcocystosis muscular a partir de 2011 entre los turistas que visitaron las islas de Malasia (sudeste asiático), han centrado la atención internacional hacia esta forma clínica que era considerada rara en humanos. Aunque podrían existir otras especies, solo se ha reportado a *S. nesbitti* con hospedadores intermediarios humanos y primates no humanos y hospedador definitivo una serpiente (Esposito et al., 2014).

Morfología

Este parásito comparte las características de los coccidios apicomplexa, con fases sexuadas y asexuadas de reproducción. En la materia fecal del hospedador definitivo (el hombre), los ooquistes tienen un tamaño promedio de 13 x 21 μm y presentan una cubierta ooquistica muy tenue

y delicada, por lo que durante la defecación o el tránsito intestinal se rompe con facilidad; liberando los esporoquistes que contienen cuatro esporozoítos más un cuerpo residual birrefringente. Los esporoquistes de *S. hominis* miden de 13-17 x 7,7-10,8 μm y los de *S. suihominis* de 11,6-13,9 x 10-10,8 μm y son infectivos cuando se excretan.

En los hospedadores intermediarios (ganado vacuno y porcino), los sarcoquistes (30-130 μm) se encuentran en la musculatura esquelética del cuello, esófago, muslo, intercostales y diafragma. Presentan tres tipos de merozoítos: merozoíto ameboideo, merozoíto redondo o metrocito y el bradizoíto de forma semicurva, siendo esta última fase la infectante para el hospedador definitivo. Los sarcoquistes son de forma ovoide o esférica, poseen una cubierta con digitaciones externas que varían en número, largo y grosor. De esta cubierta se desprenden tabiques incompletos dirigidos al centro, entre los que se ubican los paquetes de bradizoítos que miden de 6-20 μm de largo por 4-9 μm de ancho.

Los sarcoquistes que se presentan en humanos como hospedadores intermediarios accidentales, pueden o no tener tabiques internos que forman compartimentos. Los septos y las citofaenas pueden ser difíciles de distinguir por microscopía de luz y se ven mejor por microscopía electrónica (Fayer et al., 2015).

Transmisión y formas de diseminación

S. hominis y *S. suihominis* usan a los humanos como hospedadores definitivos y producen sarcocystosis intestinal humana. Los ooquistes/esporoquistes son eliminados en las heces luego de 7-14 días post infección y puede extenderse hasta seis meses. Estos son ingeridos principalmente por el ganado bovino y porcino, en los cuales se desarrollan los sarcoquistes musculares (el ganado bovino actúa como hospedador intermediario para *S. hominis* y el porcino para *S. suihominis*). La ingesta por parte de un humano de carne vacuna o porcina cruda o mal cocida con sarcoquistes completa el ciclo.

Los humanos también pueden convertirse en hospedadores accidentales de especies de *Sarcocystis* spp. no humanas, tras la ingesta accidental de los ooquistes/esporoquistes contenidos en agua/alimentos contaminados con materia fecal de animales; originando la infección muscular. En este caso, las personas que actúan como hospedadores intermediarios, no pueden propagar la infección a otras personas.

Los insectos como moscas y cucarachas también pueden actuar como vectores mecánicos de ooquistes/esporoquistes, diseminando la infección (Tappe et al., 2013).

Ciclo biológico

En sarcocystosis humana intestinal, el hombre actúa como hospedador definitivo. Este se infecta al ingerir carne cruda o mal cocida de un animal cuyos músculos u otros tejidos contienen

sarcoquistes. Al pasar por el estómago se disgrega la pared quística y los merozoítos al llegar al intestino delgado, penetran en las vellosidades intestinales y se multiplican en el espacio subepitelial. En aproximadamente seis horas, dentro de cada célula, el merozoíto se diferencia a gametocito, que puede ser microgametocito o macrogametocito. Estas dos fases del parásito continúan su diferenciación a macrogameto y microgameto, los cuales, al producirse la fecundación, darán origen al cigoto. Este se rodea de una cubierta y dará origen al ooquiste. Cada ooquiste sale de la célula infectada y se desplaza por el lumen intestinal donde se desarrollan dos esporoquistes y en el interior de cada uno, cuatro esporozoítos. Durante el trayecto por intestino grueso, la cubierta de algunos ooquistes puede deteriorarse, como consecuencia en la materia fecal se eliminan algunos ooquistes y numerosos esporoquistes. Estos elementos contaminan el ambiente y son infectantes para el hospedador intermediario. Se observan en materia fecal una a dos semanas después de haber ingerido el sarcoquiste.

Los hospedadores intermediarios (bovinos y porcinos) se infectan al ingerir alimentos contaminados con materia fecal con ooquistes/esporoquistes. Al pasar por el estómago se degradan las cubiertas y en el duodeno, los esporozoítos infectan células endoteliales de arterias de nódulos linfáticos mesentéricos, donde realizan la primera esquizogonia y originan merozoítos. Estos lisan la célula y se vuelcan a sangre y realizan una segunda esquizogonia especialmente en capilares de todo el cuerpo. Los merozoítos que se generan en la segunda esquizogonia se liberan y llevan a cabo la tercera esquizogonia en músculo estriado, incluyendo diafragma, corazón y lengua, e incluso músculo liso y sistema nervioso central. En estos tejidos el protozoo no queda en contacto con el citoplasma de la célula, ya que se separa mediante una vacuola parasitófora, que posteriormente va a constituir la pared de un quiste. Dentro del mismo, el parásito se divide por endopoligenia y adopta una forma redondeada (metrocito) y sintetiza una cubierta gruesa originando el sarcoquiste. Un sarcoquiste con metrocitos es inmaduro y no es infectivo para el hospedador definitivo. El sarcoquiste continúa su maduración engrosando la cubierta y produciendo merozoítos. Todo este proceso puede durar dos o tres meses desde la ingestión del alimento contaminado. Un sarcoquiste puede conservar su viabilidad por meses. Este sarcoquiste maduro con merozoítos es la forma infectante para el hombre si ingiere el alimento crudo o poco cocido (Fayer et al., 2015).

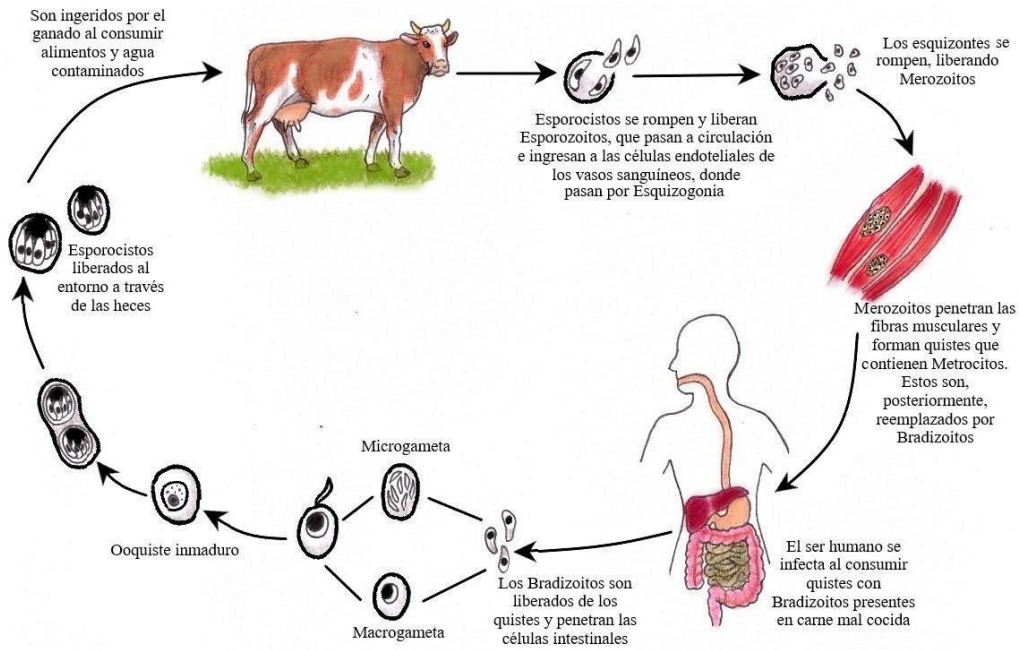


Figura 1: ciclo evolutivo de sarcocystosis intestinal humana.

En sarcocystosis humana muscular el hombre actúa como hospedador accidental de especies de *Sarcocystis* spp. no asociadas generalmente a la infección humana; al ingerir alimentos contaminados con ooquistes y/o esporocistos. En este caso el humano se comporta como hospedador intermediario. Los sarcoquistes que se generan se localizan especialmente en el tejido muscular estriado del hombre. Han sido descritos en músculos de extremidades, lengua, esófago, diafragma y corazón, pero también en el tejido neural del cerebro, médula espinal y fibras de Purkinje. Basados en la secuenciación del DNA ribosomal 18S, se ha identificado a *S. nesbitti* cuyo hospedador definitivo es una serpiente, como agente etiológico de sarcocystosis humana accidental.

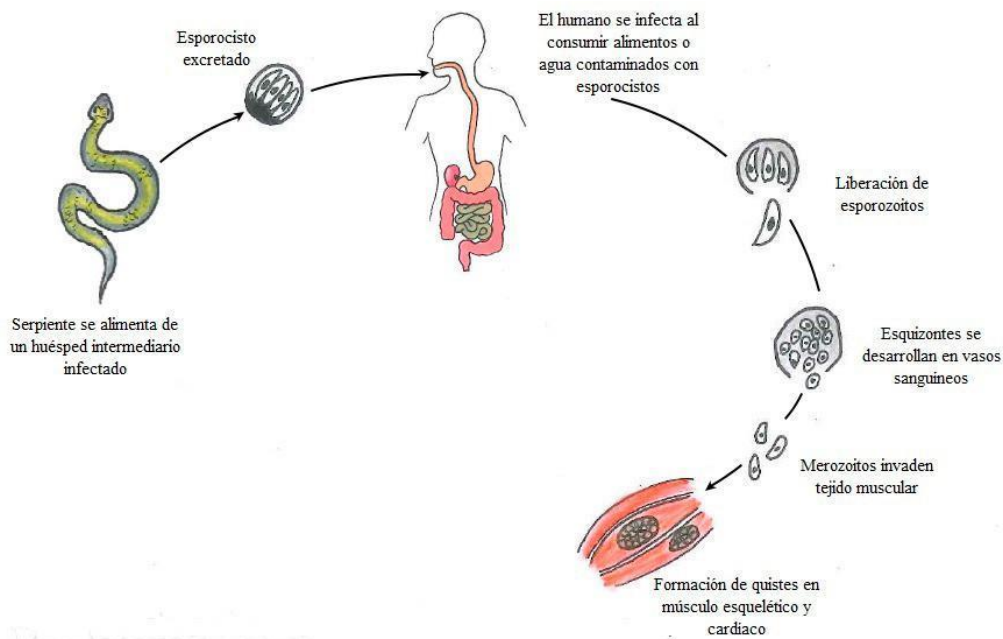


Figura 2: ciclo evolutivo de sarcocystosis humana accidental

Patogenia

En sarcocystosis intestinal humana, el parásito se encuentra en el intestino delgado, a nivel de la lámina propia. En estas células el parásito se reproduce y libera metabolitos que inducen una respuesta inflamatoria, originando una enteritis con presencia de eosinófilos y polimorfonucleares. Puede agravarse con necrosis ocasionada por una reacción autoinmune. Estos fenómenos provocan reacción abdominal, meteorismo, diarrea y con menor frecuencia, vómitos.

En sarcocystosis muscular humana el parásito libera metabolitos antigénicos con reacción inflamatoria e inmunológica que provoca necrosis tisular. También producen vasculitis con extravasación capilar, debido a la coagulación intravascular. La necrosis a nivel muscular conduce a una miositis eosinofílica. El paciente presenta fiebre, mialgias, edema subcutáneo, prurito no intenso y linfadenopatía. Los niveles de creatina quinasa muscular se elevan. La infección puede desarrollarse también sin síntomas.

Respecto a la respuesta inmune hacia el parásito, diversas investigaciones han demostrado que se produce respuesta tanto de linfocitos B como linfocitos T, siendo la respuesta celular muy importante. Las células endoteliales infectadas pueden funcionar como células presentadoras de antígenos durante la fase vascular de la proliferación del parásito. Al presente, los procesos de respuesta inmune específica contra estas infecciones son motivo de investigación (Fayer et al., 2015).

Signología clínica

En el hombre la enfermedad intestinal suele ser asintomática. Se ha demostrado, en ensayos efectuados con voluntarios, que 3- 6 horas después de la ingestión de carne bovina (cruda o poco cocida) con *S. hominis* se presentaban síntomas que incluyen náuseas, diarrea y dolor abdominal. (Kozubsky, 2017). La diarrea y el dolor abdominal se repiten a los 14-18 días después de la ingestión experimental, coincidiendo con la máxima eliminación de esporoquistes en la materia fecal. En algunos pacientes se presentaron cuadros de disnea y taquicardia. El cuadro clínico es más pronunciado al ingerir carne de cerdo con quistes de *S. suis/hominis*. Habitualmente la infección sintomática se produce cuando se consume carne con una elevada carga parasitaria. Puede presentarse deshidratación como consecuencia de la diarrea y los vómitos.

En el caso de la infección muscular humana se pueden presentar mialgias, fiebre, exantema, cardiomiopatía, broncoespasmo y nódulos subcutáneos, junto con eosinofilia y elevación de enzimas musculares, con un periodo de incubación que puede variar entre 9-28 días. En algunos pacientes, la enfermedad en fase posterior puede incluir miositis aguda más severa (generalmente circunscripta), típicamente localizada en los muslos o en la región facial/cervical, asociada con dolor y edema (Harris et al., 2015).

Distribución geográfica

La mayoría de los reportes de sarcocystosis intestinal en humanos proviene de países europeos, incluyendo Holanda, Alemania, Polonia, Eslovaquia, Francia y España. En Asia se han reportado infecciones en China, Tíbet, Laos y Tailandia. Otros casos se han notificado en Australia, Jordania, Argentina y Brasil. Estudios recientes de prevalencia basados en la morfología y los datos moleculares sobre *S. hominis* en bovinos revelaron prevalencias de 6,2 a 97,4, 53,5 y 94% en Europa, Asia y Sudamérica, respectivamente.

Hasta el siglo XXI, fueron reportados menos de 100 casos humanos diagnosticados con sarcocystosis muscular, de los cuales casi el 50% en todo el mundo se encontraban en Malasia. En 2011 y 2012 fueron reportadas dos oleadas de infección que involucraron a 99 turistas, que en su mayoría eran europeos. Hasta 2013 se informaron como sarcoquistes intramusculares de especies desconocidas. Desde entonces, los estudios de dos brotes posteriores en Malasia han identificado a *S. nesbitti* como la especie causal capaz de infectar a humanos (Fayer et al., 2015).

Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad intestinal humana consiste en la observación de ooquistes/esporoquistes en heces, a partir de los 7-14 días después de la ingestión de carne cruda o mal cocida contaminada con los sarcoquistes. Este período prepatente implica que *Sarcocystis* puede no ser observado en las heces en la primera etapa de la infección intestinal, por lo cual son necesarios exámenes de heces por varios días después de haber ingerido la carne. Los métodos de concentración recomendados son los de flotación. La cubierta del ooquiste puede ser difícil de observar, pero el uso de tinciones, como la tinción periódica con ácido de Schiff puede permitir su detección. Debemos sospechar sarcocystosis intestinal en pacientes con gastroenteritis con antecedentes de ingesta de carne bovina o porcina insuficientemente cocida o cruda (Poulsen & Stensvold, 2014).

En el caso de sarcocystosis muscular humana se pueden encontrar sarcoquistes mediante examinación microscópica de biopsias musculares. En ocasiones, se pueden visualizar sarcoquistes en los músculos mediante tomografía axial computarizada o resonancia magnética). También puede ser útil realizar exámenes complementarios para detectar eosinofilia y determinación de creatina quinasa. Entre las pruebas serológicas empleadas se encuentran las técnicas IFI, ELISA y western blot, con resultados controvertidos. No detectan sarcocystosis intestinal. Un problema inherente a la detección de anticuerpos en el diagnóstico, es que no se puede diferenciar entre estadios tempranos y tardíos de la infección. También se dispone de diagnóstico molecular por PCR y más recientemente, la secuenciación de ADN ribosómico 18S realizada en muestras de biopsia muscular humana con sarcoquistes donde se ha identificado a *S. nesbitti*. Debemos sospechar sarcocystosis muscular en pacientes que hayan viajado al Sudeste Asiático

con dolor muscular, creatina quinasa elevada, eosinofilia y evidencia histológica de miositis en una biopsia muscular (Kwok & Yonghan, 2019).

Tratamiento

La sarcocystosis intestinal generalmente es autolimitada y debe realizarse un tratamiento sintomático con dieta equilibrada. Debe evitarse la deshidratación y en casos de necrosis se produce un cuadro de abdomen agudo que requiere intervención quirúrgica con extirpación de la región intestinal afectada. Un tratamiento que ha ofrecido buenos resultados es el cotrimoxazol en pacientes con trastornos de la inmunidad.

La miositis sintomática puede tratarse con agentes antiparasitarios como metronidazol, cotrimoxazol y albendazol. Se pueden usar corticoesteroides para reducir la inflamación (Fayer et al., 2015).

Profilaxis

La infección intestinal humana puede ser evitada mediante la adecuada cocción de la carne, o por el congelamiento de la misma, acciones que inactivan a los bradizoítos del sarcoquiste. Estos quistes pierden su infectividad después de cocinar la carne a 60, 70 y 100°C durante de 20, 15 y 5 minutos, respectivamente. El congelamiento a -4, -20°C por 48 y 24 horas respectivamente, también resulta efectivo. También es importante la adecuada eliminación de las excretas humanas y control de vectores (moscas, cucarachas), para evitar la transmisión del protozoo a los hospedadores intermediarios.

La prevención para que los humanos no se infecten como hospedadores intermediarios accidentales, es extremar las medidas de precaución para evitar la ingestión de esporoquistes, que frecuentemente se encuentran en fuentes de agua contaminada o alimentos lavados o regados con agua contaminada. La cloración del agua puede no inactivar esporoquistes y se recomienda hervir el agua o tomar solo embotellada y evitar la ingesta de alimentos crudos o mal cocidos (Italiano et al., 2014).

Referencias

Esposito D., Stich A., Epelboin L., Malvy, D., Han, P.H., Bottieau, E. et al. (2014). Acute muscular sarcocystosis: an international investigation among travelers returning from Tioman Island, Malaysia, 2011–2012. *Clinical Infectious Diseases*. 59(10): 1401–1410.

- Fayer R., Esposito D. & Dubeya J. (2015). Human infections with *Sarcocystis* species. *Clinical Microbiology Reviews*. 28 (2): 295-311.
- Harris V., van Vugt M., Aronica E., de Bree G., Stijnis C., Goorhuis A. & Grobusch M. (2015). Human extraintestinal sarcocystosis: what we know, and what we don't know? *Current Infectious Disease Reports*. 17 (42): 1-9.
- Italiano C., Thong Wong K., Abu Bakar S. (2014). *Sarcocystis nesbitti* causes acute, relapsing febrile myositis with a high attack rate: description of large outbreak of muscular Sarcocystis in Pangkor Island, Malaysia, 2012. *PLOS. Neglected Tropical Diseases*. 8 (5):1-9.
- Kozubsky L. (2017). Sarcocystosis intestinal. En Kozubsky L., Costas M. *Parasitología humana para bioquímicos* (pp 105-109). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. ISBN 978-950-34-1574-0.
- Kwok C. & Yonghan E. (2019). Atypical presentation of human acute muscular sarcocystosis: *Sarcocystis nesbitti* confirmed on molecular testing. *American Journal of Case Reports*. 19 (20): 499-502.
- Poulsen C. & Stensvold C. (2014). Current status of epidemiology and diagnosis of human sarcocystosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 52 (10): 3524–3530.
- Tappe D., Abdullah S., Heo C., Kannan Kutty M. & Latif, B. (2013). Human and animal invasive muscular sarcocystosis in Malaysia – recent cases, review and hypotheses. *Tropical Biomedicine*. 30(3): 355–366.

CAPÍTULO 5

Sarcocystis spp. Sarcocystosis animal

Gastón Moré

Generalidades

Se define como Sarcocystosis a la infección ocasionada por protozoos Apicomplexa del género *Sarcocystis*, que en general cursa de una forma leve o asintomática, aunque puede ocasionar también signología sistémica, decaimiento, anemia, trastornos neurológicos, aborto y hasta la muerte de los animales (Dubey et al., 2016).

Estos protozoos presentan un ciclo indirecto obligado, generalmente alternando herbívoros como hospedadores intermediarios (HI) y carnívoros como hospedadores definitivos (HD), aunque pueden ser hospedadores otros mamíferos, aves, peces y animales poiquiloterms. En los HI se multiplican asexualmente y forman quistes en los músculos, lo que dio origen al nombre del género (del griego *sarkos* = músculo y *kystis* = vesícula o quiste). Por lo antes expuesto, estos protozoos son los representantes de un gran grupo conocido vulgarmente como “coccidios formadores de quistes”. Actualmente se reconocen alrededor de 250 especies del género *Sarcocystis* (Dubey et al., 2016), en el presente capítulo abordaremos en detalle las especies que producen quistes musculares en bovinos y camélidos sudamericanos o CSA (llama, alpaca, guanaco y vicuña).

Morfología

Los protozoos o zoitos de este género presentan la morfología de banana o gajo de naranja característica de los del *phylum* o tipo Apicomplexa. Tienen dimensiones variables en relación a las especies, pero en términos generales son más grandes que otros del mismo *phylum*, pudiendo medir hasta 15 μm de largo. Presentan un complejo apical completo, típico de los protozoos parásitos intracelulares obligados. La estructura de los ooquistes esporulados del tipo *Iso-spora* (2 esporocistos con 4 esporozoitos cada uno) y su morfología es muy similar entre las diferentes especies. La pared de los ooquistes es muy delgada y frágil, siendo frecuente la observación de los esporocistos individuales. Los esporocistos son ovoides de entre 10 y 14 μm de largo, contienen 4 esporozoitos y un cuerpo residual refringente.

Los quistes musculares son intracelulares, presentan una pared bien definida formada por modificaciones de la vacuola parasitófora. Esta pared representa la interfaz de comunicación de los protozoos con el citoplasma de la célula hospedadora y contiene protrusiones de forma y tamaño variables. La estructura de estas protrusiones es característica para algunas especies o grupos de especies (Dubey et al., 2016). La mayoría de las *Sarcocystis* spp. producen quistes fusiformes y microscópicos, con septos o tabiques en su interior. Unas pocas especies producen quistes macroscópicos que contienen entre 10 y 20 millones de bradizoitos cada uno (Dubey et al., 2016; Regensburger et al., 2015).

Ciclo biológico. Transmisión y formas de diseminación

El ciclo biológico es del tipo heteroxeno o indirecto obligado, en general asociado a cadenas tróficas del tipo predator-presa. En los HD los protozoos se multiplican sexualmente en células del intestino (gametogonia), una vez fusionadas las gametas y formados los ooquistes, estos ingresan a la lámina propia. En este sitio los ooquistes maduran o esporulan (esporogonia) y luego son expulsados a la luz intestinal. La pared de los ooquistes frecuentemente se rompe, por lo que se eliminan esporocistos con las heces. Estos son la fuente de infección para los HI, que los ingieren junto con el alimento o el agua. Los esporocistos tienen demostrada resistencia en el ambiente, pudiendo subsistir viables por años en condiciones de abundante humedad o en medios líquidos (Dubey et al., 2016; Scioscia et al., 2017).

Los HI se infectan al ingerir esporocistos presentes en agua o alimentos contaminados con heces o restos fecales de hospedadores definitivos. Con la acción de los jugos gástricos y de las enzimas pancreáticas se degrada la pared de los esporocistos, liberándose a los esporozoitos en la luz del intestino delgado. Los esporozoitos atraviesan la pared intestinal y se multiplican asexualmente dentro de células endoteliales (primer merogonia). Luego se distribuyen vía sanguínea a todo el organismo realizando una segunda merogonia en células endoteliales de capilares. Por último, ingresan a células musculares estriadas y en menor medida en células del músculo liso y sistema nervioso. La división asexual (tercer merogonia) en estas células es lenta, dando lugar a células globosas denominadas metrocitos, que por sucesivas divisiones generan bradizoitos con forma de banana. Los quistes tabicados son considerados maduros o infectantes cuando presentan un predominio de bradizoitos. La formación de quistes musculares maduros se produce en 2-3 meses postinfección, y una vez formados se asume que pueden subsistir por toda la vida del hospedador (Dubey et al., 2016).

El ciclo se completa cuando los hospedadores definitivos apropiados de cada especie ingieren músculos, carne o carroña conteniendo quistes maduros (Figura 1).

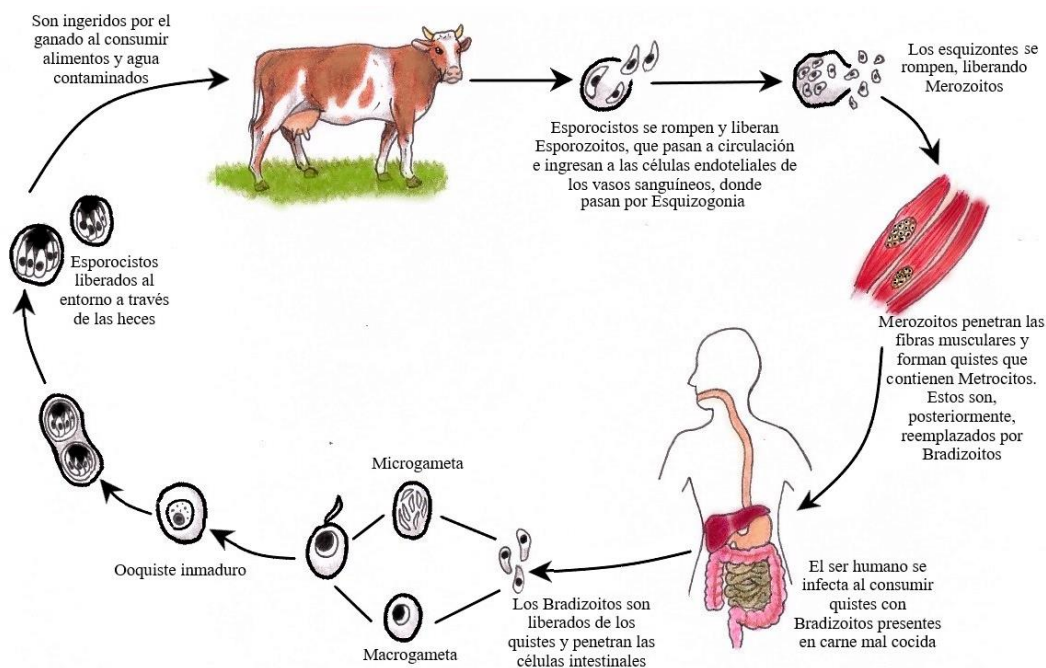


Figura 1. Ciclo biológico de *Sarcocystis* spp.

Distribución Geográfica

La sarcocystosis es una infección parasitaria de distribución mundial. En particular, la infección en bovinos y CSA se halla reportada con variada prevalencia en diferentes regiones (Dubey et al., 2016). En estos HI se pueden evidenciar varias especies de *Sarcocystis* formando quistes en sus músculos, algunas de las cuales tienen prevalencias cercanas al 100% de los animales analizados. En Argentina se han llevado adelante estudios de identificación, diferenciación y prevalencia de las diferentes especies de *Sarcocystis* que afectan a los HI antes mencionados (Moré et al., 2011; Moré et al., 2013; Moré et al., 2016, Regensburger et al., 2015).

Especies

Las diferentes especies de *Sarcocystis* forman quistes en los músculos de HI herbívoros (presa) y se reproducen sexualmente en el intestino de HD carnívoros, omnívoros, carroñeros o caníbales (predadores). La mayoría de las especies tienen una elevada especificidad de HI, mientras que la especificidad de HD está relacionada con animales de una familia (cánidos, félidos, etc.). A continuación se describen como modelos las especies que utilizan bovinos y CSA como HI.

La sarcocystosis en bovinos es causada por alguna de las siguientes especies: *S. cruzi*, *S. hirsuta*, *S. hominis*, *S. rommeli* y *S. heydorni* (Dubey et al., 2016). Además, recientemente se denominaron *S. bovini* y *S. bovifelis* pero su validez está en discusión (Gjerde et al., 2013). Se ha mencionado la especie *S. sinensis* como formadora de quistes en músculos de bovinos, aunque recientemente su

nominación fue declarada nula y reemplazada por *S. rommeli* (Dubey et al., 2015). Los cánidos son hospedadores definitivos de *S. cruzi*, los félidos de *S. hirsuta* y los primates de *S. hominis* y *S. heydorni*. No hay certezas de los hospedadores definitivos para las especies identificadas como *S. rommeli*, *S. bovini* y *S. bovifelis* (se asumen félidos pero no fue demostrado) (Dubey et al., 2015; Gjerde et al., 2015). Todas las especies producen quistes microscópicos intracelulares alargados y tabicados, principalmente en músculos estriados, que en el caso de *S. hirsuta* pueden llegar a ser macroscópicos. Los quistes presentan diferencias morfológicas y ultraestructurales que permiten la diferenciación de especies. Por ejemplo, los quistes de *S. cruzi* y *S. heydorni* tienen paredes delgadas (menos de 1 μm) y miden de 300 a 800 μm de largo. Las demás especies presentan quistes con paredes gruesas (más de 3 μm), miden de 400 a 1200 μm de largo, y hasta 2,5 mm en el caso de *S. hirsuta* (Dubey et al., 2016).

En los músculos estriados de los CSA pueden encontrarse al menos 2 especies: *S. aucheniae* y *S. masoni* (Moré et al., 2016; Regensburger et al., 2015). Los HD de ambas especies serían cánidos, aunque para el caso de *S. aucheniae* existen sospechas de que otros hospedadores podrían estar involucrados (Moré et al., 2016). Los quistes de *S. aucheniae* son macroscópicos (miden hasta 1,2 cm), con paredes de hasta 10 μm y generalmente se encuentran recubiertos por una pared secundaria o cápsula de tejido conectivo (Imagen 1). Es frecuente que estos quistes tengan un centro líquido al corte (producto de la lisis de los bradizoitos en el interior) y que se calcifiquen. Se asume que la membrana de la célula hospedadora se rompe, exponiendo la superficie del quiste al sistema inmune, lo que conlleva a la inflamación, encapsulamiento y degradación de los mismos en el tiempo. Los quistes de *S. masoni* son microscópicos (hasta 800 μm de largo), con paredes de hasta 3,5 μm y se encuentran en todos los músculos estriados, aunque con mayor concentración en músculo cardíaco (Imagen 2). Esta especie fue también denominada como *S. lamacanis* y *S. lamacenis*, nombres que fueron declarados nulos en una revisión crítica de las especies de *Sarcocystis* en el año 2016 (Dubey et al., 2016; Moré et al., 2016).

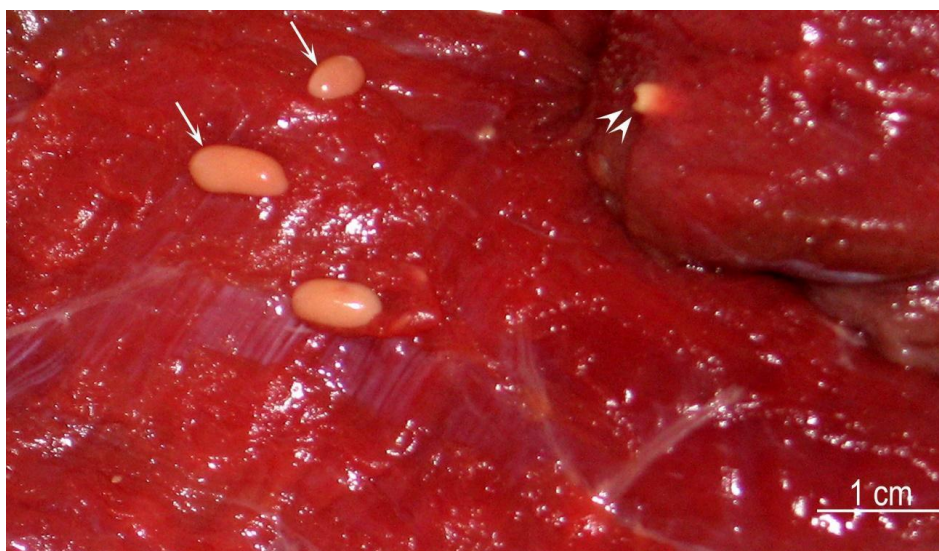


Imagen 1. Quistes macroscópicos de *S. aucheniae* en músculos de llama. Se observan quistes en la superficie (flechas) y embebidos (punta de flechas). Tomado y adaptado de Moré et al., 2016.

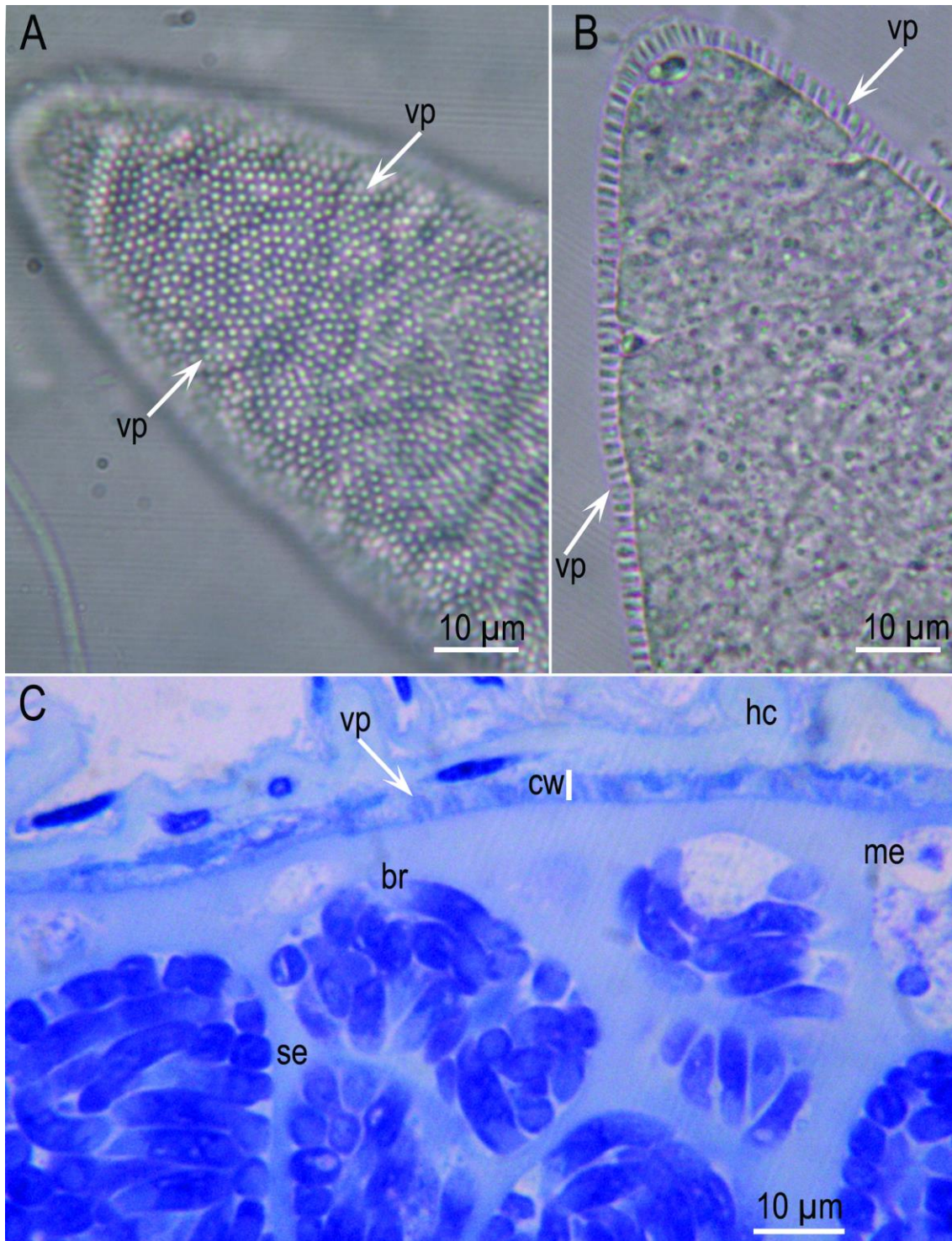


Imagen 2. Quistes microscópicos de *S. masoni* en músculos de llama. (A) y (B): extremidad o punta de un quiste sin tinción. (A): enfoque superficial de la pared del quiste mostrando las puntas de las protrusiones (vp). (B): enfoque del espesor de la pared, se observa el aspecto estriado formado por las protrusiones. (C): corte semifino (1 µm) teñido con azul de toluidina. Se observa parte del citoplasma de la célula hospedadora (hc), la pared del quiste (cw) y sus protrusiones (vp), los septos internos (se) que separan grupos de bradizoitos alargados (br) y algunos metrocitos globosos (me). Tomado y adaptado de Moré et al., 2016.

Patogenia y signología clínica

La signología y patogenidad varían según la especie de *Sarcocystis* causal de la infección y del tipo de hospedador del que se trate.

Sarcocystosis bovina

La infección frecuentemente sigue un curso crónico y asintomático, con formación de quistes tisulares, aunque puede cursar de forma aguda con sintomatología sistémica y miositis en infecciones con altas cargas de esporocistos de *S. cruzi* (Dubey et al., 2016). También se ha demostrado la disminución en la ganancia diaria de peso en terneros infectados con esta especie (Moré et al., 2010). La signología aguda está vinculada a la multiplicación rápida de los protozoos en células endoteliales, las cuales se rompen ocasionando microtrombos, insuficiencia circulatoria en extremidades y hasta coagulación intravascular diseminada y muerte. En algunos casos se ha observado miositis eosinofílica asociada a la presencia de quistes de diferentes *Sarcocystis* spp. En los casos de detección de quistes macroscópicos o de miositis eosinofílica en la inspección de carcazas en mataderos o frigoríficos, se indica el decomiso. También se han registrado decomisos y depreciaciones en carnes exportadas de Argentina y Brasil a destinos Europeos por considerarse la posible presencia de especies zoonóticas (*S. hominis* y *S. heydorni* con humanos y primates como HD) (Dubey et al., 2016; Moré et al., 2013).

Sarcocystosis en CSA

La infección es esencialmente asintomática con formación de quistes musculares. Existen limitados reportes de cuadros agudos de signología sistémica y aborto en alpacas y llamas (Dubey et al., 2016) El principal problema en la comercialización de carnes de CSA es la presencia de quistes visibles de *S. aucheniae*. Se ha demostrado que entre el 24 y el 100% de los CSA adultos de diferentes países puede estar infectado con esta especie, generando decomisos en niveles que hacen inviable la comercialización (Dubey et al., 2016; Moré et al., 2016; Regensburger et al., 2015). La ingesta de carne insuficientemente cocida o cruda, conteniendo quistes de *S. aucheniae*, produce un cuadro digestivo o intoxicación alimentaria atribuida a proteínas contenidas en los quistes.

Sarcocystosis en HD

En general la infección en los HD cursa de manera asintomática, excepto en el humano (*S. hominis*) y en cánidos infectados con *S. masoni* donde se evidencian diarrea (que pueden llegar a ser hemorrágica), dolor abdominal y náusea. La signología suele ser autolimitante, y luego de un período de prepatencia de unos 9-11 días pueden evidenciarse esporocistos en la materia fecal (Dubey et al., 2016; Scioscia et al., 2017).

Diagnóstico

La observación de quistes macroscópicos, que a la compresión y observación microscópica evidencian bradizoítos, prácticamente confirma el diagnóstico de *S. hirsuta* y *S. aucheniae* en músculos/carne de bovinos y CSA, respectivamente.

Para la identificación de quistes microscópicos en músculos/carne puede procederse a un examen microscópico en fresco por compresión de pequeñas porciones de tejido o mediante homogeneización y centrifugación. Este examen permite la identificación morfológica de quistes y su diferenciación en quistes de paredes finas (menos de 1 μm) y paredes gruesas (más de 3 μm). La histopatología permite la identificación de quistes en muestras fijadas y en algunos casos la observación de la estructura de la pared de los mismos (Moré et al., 2011; Moré et al., 2016). Además, la ultraestructura de la pared de los quistes es característica de cada especie o grupo de especies, por lo que el uso de Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) o de barrido permiten la diferenciación. Existe una clave de identificación de la morfología de las paredes de los quistes mediante MET, que describe 82 estructuras de paredes y sus protrusiones, distribuidas en 42 tipos y subtipos (Dubey et al., 2016). La digestión artificial de músculos permite la identificación de bradizoítos, aunque se pierden los caracteres específicos de los quistes y sus paredes.

También es posible diferenciar especies a nivel molecular mediante identificación de diferencias en el ADN por diferentes técnicas de PCR y/o secuenciación (Gjerde et al., 2013; Moré et al., 2013; Scioscia et al., 2017).

Los esporocistos eliminados por los HD son muy similares y pueden ponerse en evidencia mediante técnicas copro-parasitológicas de flotación (Dubey et al., 2016). Asimismo, pueden ponerse en evidencia por raspados de mucosa del intestino delgado durante la necropsia, procediendo a la flotación del material como con materia fecal (Figura 3) (Scioscia et al., 2017). La correcta identificación a nivel de especie sólo puede llevarse adelante mediante estudios de infecciones experimentales o a través de análisis moleculares (preferentemente PCR y secuenciación) (Scioscia et al., 2017).

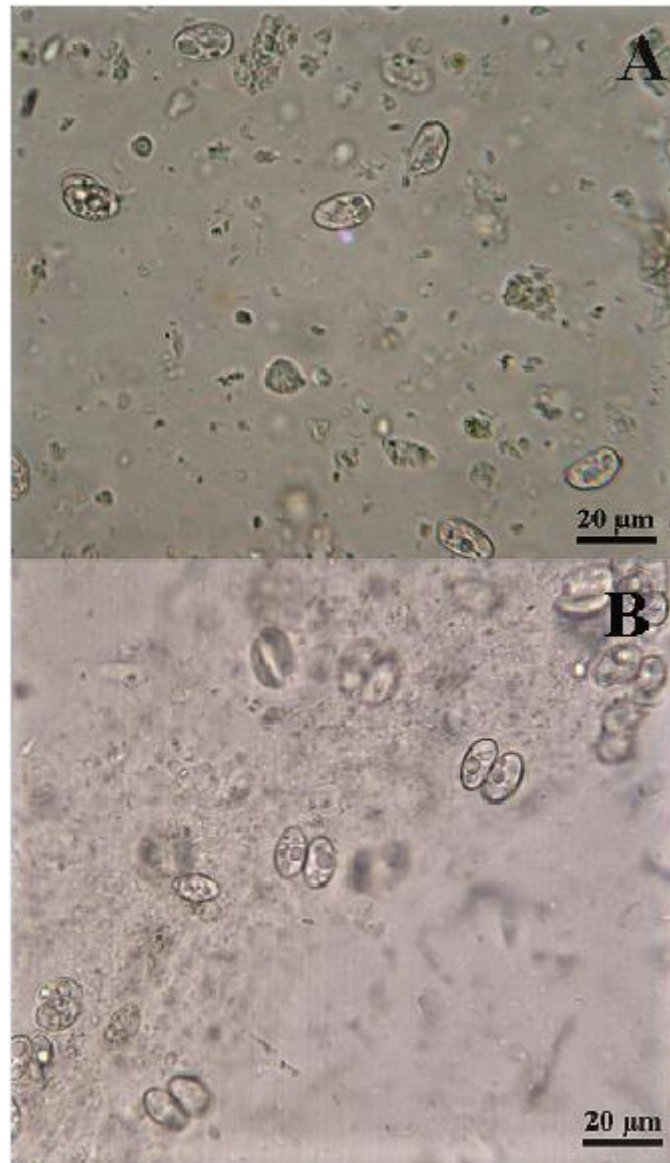


Figura 4. Microscopía óptica de la técnica coproparasitológica de flotación con sacarosa de muestras de materia fecal (A) y raspado de mucosa del intestino delgado (B) de zorro gris pampeano. Se observan principalmente esporocistos en A y ooquistes en B. Tomado y adaptado de Scioscia et al., 2017.

Tratamiento y Profilaxis

No existen tratamientos efectivos para eliminar los quistes musculares. Las sulfonamidas y el toltrazuril y sus derivados han demostrado una buena efectividad *in vitro* y son útiles para el tratamiento de infecciones agudas o activas, tanto de HI como HD (Dubey et al., 2016). Como las infecciones sintomáticas en bovinos y CSA son poco frecuentes, no existen protocolos de tratamiento validados para la sarcocystosis en estas especies. En el caso de los cánidos y humanos con signología digestiva sospechados de actuar como HD de *Sarcocystis* spp., existen

tratamientos comerciales indicados como “anticoccidianos”, en general conteniendo las drogas antes mencionadas.

En ausencia de vacunas efectivas, la profilaxis se basa en disminuir o evitar la continuidad del ciclo biológico. Para esto se recomienda evitar que los cánidos u otros potenciales HD (incluido el hombre) ingieran carne cruda, mal cocida o carroña de los diferentes HI. Asimismo, evitar que las deyecciones de los potenciales HD tomen contacto con el ambiente, agua o alimento de los bovinos y CSA (Dubey et al., 2016; Moré et al., 2016).

Importancia en salud pública

La ingesta de carne bovina cruda o “jugosa” con quistes de especies zoonóticas (*S. hominis* y *S. heydorni*) puede producir una sintomatología digestiva leve y autolimitante (Dubey et al., 2016). La Comunidad Económica Europea emitió la resolución (EC) No. 852/2004, por la que sugiere la inspección de carnes en busca de especies zoonóticas de *Sarcocystis*. En base a esta resolución se han generado unos pocos decomisos y depreciaciones que han llevado a conflictos en la comercialización, sobre todo de carnes bovinas exportadas de Argentina y Brasil (Moré et al., 2013).

Para el caso de los quistes macroscópicos de *S. aucheniae* ocurre el rechazo o decomiso por aspecto, aunque el nivel de infección en los animales hace difícil el decomiso de la mayoría de lo faenado (Moré et al., 2016; Regensburger et al., 2015). Los cuadros digestivos ocasionados por la ingesta de carnes con *S. aucheniae* indican que se trataría de una intoxicación alimentaria. La cocción adecuada inactivaría las proteínas implicadas, por lo que la carne con quistes es depreciada y recomendada para termoprocesados (Dubey et al., 2016). Se están analizando diferentes protocolos de inactivación para permitir los procesados y comercialización de carnes y derivados de CSA de forma inocua.

Referencias

- Dubey, J.P., Calero-Bernal, R., Rosenthal, B.M., Speer, C.A. & Fayer, R. (2016). *Sarcocystosis of Animals and Humans*. CRC Press, Boca Raton FL, USA.
- Dubey, J.P., van Wilpe, E., Calero-Bernal, R., Verma, S.K. & Fayer, R. (2015). *Sarcocystis heydorni*, n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) with cattle (*Bos taurus*) and human (*Homo sapiens*) cycle. *Parasitology Research*. 114(11): 4143-4147. doi:10.1007/s00436-015-4645-2
- Gjerde, B. (2013). Phylogenetic relationships among *Sarcocystis* species in cervids, cattle and sheep inferred from the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. *International Journal of Parasitology*. 43 (7): 579-91. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.02.004>.

- Moré, G., Abrahamovich, P., Jurado, S., Bacigalupe, D., Marin, J.C., Rambeaud, M., Venturini, L. & Venturini M.C. (2011). Prevalence of *Sarcocystis* spp. in Argentinean cattle. *Veterinary Parasitology*. 177 (1-2): 162-5. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.036>.
- Moré G., Bacigalupe D., Basso W., Rambeaud M., Venturini M.C. & Venturini L. (2010). Serologic profiles for *Sarcocystis* sp. and *Neospora caninum* and productive performance in naturally infected beef calves. *Parasitology Research*. 106: 689-693.
- Moré, G., Regensburger, C., Gos, M.L., Pardini, L., Verma, S.K., Ctibor, J., Serrano-Martínez, M.E., Dubey, J.P. & Venturini, M.C. (2016). *Sarcocystis masoni*, n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae), and redescription of *Sarcocystis aucheniae* from llama (*Lama glama*), guanaco (*Lama guanicoe*) and alpaca (*Vicugna pacos*). *Parasitology*. 143(5): 617-626. doi:10.1017/S003118201600007X.
- Moré, G., Schares, S., Maksimov, A., Conraths, F.J., Venturini, M.C. & Schares, G. (2013). Development of a multiplex real time PCR to differentiate *Sarcocystis* spp. affecting cattle. *Veterinary Parasitology*. 197: 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.024>.
- Regensburger, C., Gos, M.L., Ctibor, J. & Moré, G. (2015). Morphological and molecular characteristics of *Sarcocystis aucheniae* isolated from meat of Guanaco (*Lama guanicoe*). *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 2: 118–121.
- Scioscia N.P., Gos M.L., Denegri G.M. & Moré G. (2017). Molecular characterization of *Sarcocystis* spp. in intestine mucosal scrapings and fecal samples of Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*). *Parasitology International*. 66: 622-26.

CAPÍTULO 6

Cryptosporidium spp. Criptosporidiosis

Betina Cecilia Pezzani

Generalidades

La criptosporidiosis es una enfermedad diarreica cosmopolita causada por un protozoo zoonótico del género *Cryptosporidium*, de transmisión hídrica principalmente. Los niños, los animales neonatos y los individuos inmunocomprometidos son particularmente susceptibles. En individuos inmunocompetentes suele ser autolimitada. El género *Cryptosporidium*, ha sido objeto de importantes revisiones en los últimos años, tanto a nivel taxonómico, con la identificación de nuevas especies y sus principales reservorios, como por la contribución de esta información al conocimiento de la epidemiología de la infección en humanos (Del Coco *et al.*, 2009).

Morfología

La forma infectiva y único estado exógeno de *Cryptosporidium* corresponde al ooquiste, elemento de resistencia del parásito que permite la diseminación de la infección (Figura 1). Éste es esférico u ovoide, mide entre 5,5 y 6,5 μm de diámetro y contiene en su interior 4 esporozoítos periféricos y un cuerpo residual central. El ooquiste presenta una pared que puede ser fina o gruesa, lo que estaría relacionado con diferentes vías de desarrollo esporogónico y de infección. Dicha pared está compuesta por tres capas visibles al microscopio electrónico. La capa externa, de 5 nm de espesor, presenta abundante material filamentoso y glicoproteínas ácidas; puede ser parcialmente removida por efecto del hipoclorito de sodio. Está separada por 5 nm de distancia de una capa central electrodensa, rígida, de 10 nm de espesor, de composición lipídica que le confiere propiedades de ácido alcohol resistencia. La capa interna, de composición glicoproteica, presenta 20 nm de espesor. Una característica única que distingue al género es la presencia de una línea de sutura en la pared del ooquiste, la cual durante el desenquistamiento, permite la salida de los esporozoítos.

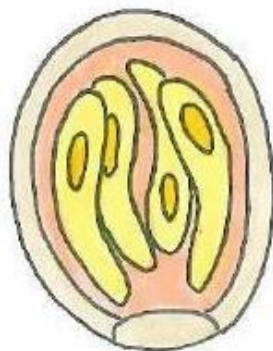


Figura 1. Quiste de *Cryptosporidium* sp.

La pared del ooquiste, rica en uniones disulfuro, permite mantener la capacidad infectiva del parásito. Los esporozoítos presentan más de 20 proteínas en su superficie, las cuales median acciones de adherencia e invasión a la célula hospedadora. Los micronemas, las roptrias y los gránulos densos conforman el denominado complejo apical. Son estructuras que contienen una compleja mezcla de proteínas que se secretan a nivel del extremo apical del zoíto. Sus funciones incluyen adhesión específica a la célula hospedadora, locomoción, desplazamiento y formación de la vacuola parasitófora, nicho ecológico del parásito.

Se han identificado estadios de multiplicación en medios libres de células. Estudios recientes muestran que determinados biofilms son capaces de actuar como reservorios para ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, presentando la habilidad para permitir la multiplicación del parásito que desarrolla estadios tales como esporozoítos, trofozoítos y merontes. Además, mediante análisis genómicos se detectó la falta de apicoplasto, organela que interviene en la síntesis de ácidos grasos típica de los apicomplexa (Hernández Gallo et al., 2018).

Transmisión y formas de diseminación

La infección puede transmitirse de animal a persona, de persona a persona, a través del agua y los alimentos contaminados con material fecal, o por contacto con superficies ambientales contaminadas. La transmisión animal ha sido claramente documentada con los dos genotipos predominantes de *C. parvum*. En la actualidad se recurre a la biología molecular para identificar especies, genotipos y subtipos de *Cryptosporidium*. La criptosporidiosis humana ha sido clásicamente considerada una antropozoonosis que tiene como reservorios principales a bovinos y al hombre, aunque existe cierta controversia con respecto a la importancia que desempeñan los animales en la transmisión a humanos. La mayor parte de las especies y genotipos demuestran adaptación y no necesariamente especificidad de hospedador. Es común que se produzca transmisión cruzada, sobre todo cuando los animales comparten un mismo hábitat (Del Coco et al., 2009). Los grandes brotes se han asociado fundamentalmente al agua, ya sea aguas de bebida (de grifo, lagos, arroyos), o por contacto con agua de piscinas. Se han demostrado pocos brotes por ingesta de alimentos y sólo un brote en Maine, EEUU, fue definitivamente asociado con jugo

fresco de manzana. La alta prevalencia de animales infectados aconseja prudencia en la ingesta de leche no pasteurizada, incluso en población sana (Tzipori & Ward, 2002).

Cryptosporidium hominis (anteriormente conocido como *C. parvum* genotipo I), afecta únicamente al hombre y ha sido responsable de muchos brotes en todo el mundo, se asocia a una mayor intensidad y duración de la parasitosis. *C. parvum* (anteriormente conocido como *C. parvum* genotipo II), principal implicado en Europa, es capaz de infectar también a todas las especies de mamíferos, especialmente a animales recién nacidos. Otras especies de *Cryptosporidium* no se consideraban hasta hace poco patógenas para el hombre. Sin embargo, en los últimos años, se han descritos casos de infección en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) por *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. ubiquitum*, *C. cuniculus*, *C. vitatorum*, *C. chipmunk* genotipo I, *C.* genotipo de visón y *C. muris*.

Las enfermedades transmitidas a través del agua, como la criptosporidiosis, están influenciadas por factores biológicos, ambientales y comunitarios. La elevada incidencia de la infección en la población y en los animales, el alto porcentaje de excreción de quistes y la estabilidad e infectividad de los mismos [dosis infectiva del 50% (ID50): 10-1042 ooquistes] son los factores biológicos que contribuyen a la alta concentración de parásitos en las aguas ambientales y a la diseminación de la enfermedad. La procedencia del agua es uno de los factores ambientales clave; así, por ejemplo, las aguas residuales y las que reciben excrementos de ganado tienen una concentración diez a cien veces mayor de ooquistes (Dillingham et al., 2002).

Del tipo de tratamiento del agua potable (filtración y desinfección) y de la precisión del mismo dependerá el impacto del patógeno en el agua. Brotes transmitidos por el agua se han descrito por todo el mundo. En general, puede decirse que las lluvias torrenciales son una importante variable en los brotes por aguas de bebida. Las aguas de bebida responsables de estos brotes incluyen aguas superficiales (lagos, ríos, arroyos), pozos y manantiales. Sin embargo, sucede que, aunque en la mayoría de los países ocurren brotes, muy pocos han sido identificados como causados por *Cryptosporidium*. El mayor brote documentado es el de Milwaukee, EEUU, en 1993; la combinación de una primavera muy lluviosa y el deshielo, con fallos en los procesos de floculación y filtración en una planta de tratamiento de agua, llevaron a la contaminación del lago Michigan, provocando 403.000 casos aproximadamente y 67 muertes (Mac Kenzie et al., 1994). Asociados a agua de bebida se han descrito otros brotes en EEUU, Canadá, Japón y Brasil. En Europa se han documentado en los últimos años más de 20 brotes, la mayoría en Inglaterra y Gales, asociados a lluvias torrenciales. Se han demostrado elevados niveles de contaminación por *Cryptosporidium* y *Giardia* en estudios realizados sobre agua de bebida en Holanda, Canadá y Australia, en diversos lugares de Asia. Otros brotes importantes se han relacionado con piscinas y parques acuáticos.

Ciclo Biológico

A pesar de las similitudes en su ciclo de vida, varias características distinguen al género *Cryptosporidium* del resto de los coccidios: la relativa especificidad de hospedador, su capacidad

de autoinfección endógena, la localización intracelular y extracitoplasmática y su resistencia a terapéutica antiparasitaria.

Cryptosporidium presenta un ciclo evolutivo monoxeno con una etapa asexuada y otra sexual, ambas se llevan a cabo dentro de las células del epitelio intestinal donde el yeyuno es la localización preferencial (Figura 2). Sin embargo, en pacientes inmunosuprimidos es capaz de diseminarse a lo largo de todo el tracto digestivo, vías biliares, hígado, vesícula biliar, páncreas y tracto respiratorio. Los ooquistes contienen 4 esporozoítos y son excretados por los hospedadores infectados a través de las heces y otras rutas posibles como son las secreciones respiratorias. Después de la ingestión (y posiblemente inhalación) por un hospedador susceptible se da lugar a la eclosión de los ooquistes. Los esporozoítos son liberados y parasitan las células epiteliales del tracto gastrointestinal u otros tejidos del tracto respiratorio. En estas células, el parásito presenta la multiplicación asexual (esquizogonia o merogonia) y posteriormente la multiplicación sexual (gametogonia), produciendo microgametos (masculinos) y macrogametos (femeninos). Después de la fertilización de los macrogametos por los microgametos, se desarrollan los ooquistes que esporulan en el hospedador infectado. Se producen dos tipos diferentes de ooquistes, unos de pared gruesa, que comúnmente son excretados por el hospedador, y los ooquistes de pared delgada, que están involucrados en la autoinfección. Los ooquistes son infectantes al ser excretados, permitiendo la transmisión fecal-oral directa e inmediata. Mantienen su viabilidad a temperaturas entre 4°C y 22°C y sobreviven a -20°C. Temperaturas superiores pueden acelerar su tiempo de degradación, al igual que los procesos de congelación rápida (Tzipori & Ward, 2002; Vanathy et al., 2017).

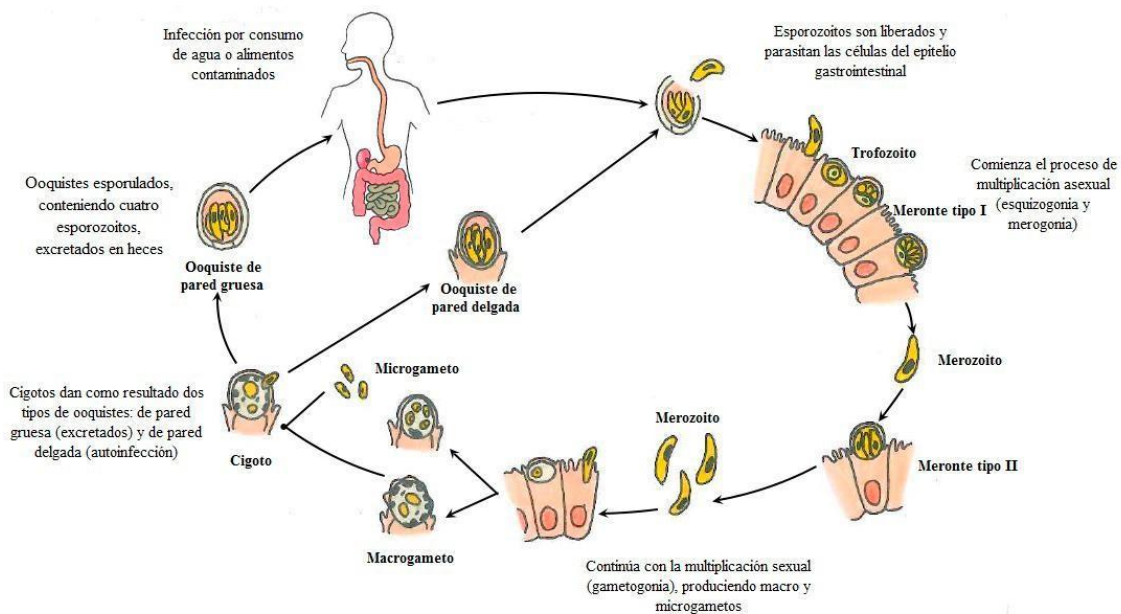


Figura 2. Ciclo biológico de *Cryptosporidium*.

Patogenia y signología clínica

Durante la interacción con el enterocito, las proteínas de superficie del esporozoíto y las proteínas secretadas por las organelas especializadas del complejo apical facilitan la adhesión, invasión y estimulan la formación de la vacuola parasitófora. *Cryptosporidium* ingresa por el sector apical de la superficie epitelial intestinal, situándose en la célula hospedadora a nivel de la red de filamentos de actina y proteínas asociadas a ésta, estimulando la polimerización y acumulación en la interfase parásito-citoplasma celular, para que protruya la membrana plasmática. A esto se le agrega la conexión entre una vacuola anterior del complejo apical del esporozoíto y el citoplasma de la célula, hasta finalmente conformar la vacuola parasitófora, de ubicación intracelular, pero extracitoplasmática. En la base de dicha vacuola, una banda electrodensa conformada por elementos del citoesqueleto facilita el ingreso de nutrientes desde la célula hospedadora hacia el parásito. La manera en que las células regulan el aumento de su tamaño ante la presencia de la vacuola parasitófora es a través de la modificación de la permeabilidad de membrana al agua y a ciertos iones. *Cryptosporidium* recluta un co-transportador de Na⁺/glucosa y una acuoporina a nivel del sitio de adhesión. Esto permite el ingreso de glucosa y agua a la célula hospedadora y de esta manera se logra mayor protrusión de la membrana plasmática. Los diferentes estadios parasitarios desplazan el borde de las microvellosidades y eventualmente llevan a la pérdida de la superficie intestinal. Se reduce el tamaño de las vellosidades y aumenta de longitud las criptas intestinales por la aceleración de la división celular, a fin de compensar la muerte celular. La pérdida combinada del tamaño de las vellosidades y del borde microvellositario disminuye la absorción de fluidos, electrolitos y nutrientes y conduce a la pérdida de enzimas digestivas de membrana, lo cual contribuye a la malabsorción y desnutrición. Por otro lado, se produce pasaje de agua y electrolitos hacia la luz intestinal provocando una diarrea secretoria. Por la profusa diarrea experimentada por algunos pacientes, se ha hipotetizado que *C. parvum* produciría una enterotoxina (Hunter & Nichols, 2002).

En pacientes inmunosuprimidos se puede presentar la forma diseminada, en cuyo caso es posible encontrar ooquistes del parásito en todo el tracto digestivo (faringe, esófago, estómago, duodeno, colon y recto), como así también en pulmones, por lo cual, los ooquistes se pueden encontrar en esputo (Tzipori & Ward, 2002).

Distribución geográfica

Mientras *C. hominis* y *C. parvum* son dominantes en los países industrializados, solamente *C. hominis* lo es en países en desarrollo. Ambas especies son las responsables de la mayoría de los brotes investigados. Sin embargo, se diferencian entre sí en la virulencia, siendo *C. hominis* causante de la mayoría de las presentaciones clínicas estudiadas.

La prevalencia de este microorganismo es variable, en función de las características socio-económicas de la población, ya que es más frecuente en los lugares con problemas de infraestructura en las canalizaciones de agua potable, en las piscinas, en la eliminación de aguas residuales o con estrecho contacto con animales (Vanathy et al, 2017). Se encuentra en las heces de 1% a 3% de los habitantes de los países desarrollados (Europa y América del Norte), en el 5% de los países asiáticos, en el 10% de los países africanos y en el 40% de los países de Sudamérica. Se reporta que tiene una morbilidad del 1% al 30% y una mortalidad de 0,7% al 20%. En niños con diarrea, se evidencia en el 7% de los casos en países desarrollados, mientras que la proporción es mayor al 12% en países en vías de desarrollo. En Córdoba, Argentina, se ha estimado una prevalencia de 24 a 31,2% en pacientes con diarrea. Dentro de los factores de riesgo asociados a la infección de *Cryptosporidium* y al desarrollo de su sintomatología: inmunosupresión, malos hábitos de higiene personal, malas condiciones sanitarias, pobreza, consumo de alimentos mal manejados, consumo de agua no ozonificada, sexualidad asociada a prácticas anales e interacción con animales (Rose, 1997).

Diagnóstico

El diagnóstico de cryptosporidiosis intestinal se efectúa mediante la búsqueda e identificación de ooquistes en materia fecal. Las muestras pueden remitirse frescas, preservadas en formol al 10% u otros conservantes. La utilización de métodos de concentración de materia fecal aumenta la sensibilidad del diagnóstico microscópico. Algunos autores consideran que las técnicas de sedimentación son las más efectivas. Para la identificación de los ooquistes al microscopio óptico, suelen utilizarse las técnicas de coloración de Ziehl Neelsen y Kinyoun modificadas (Imagen 1).

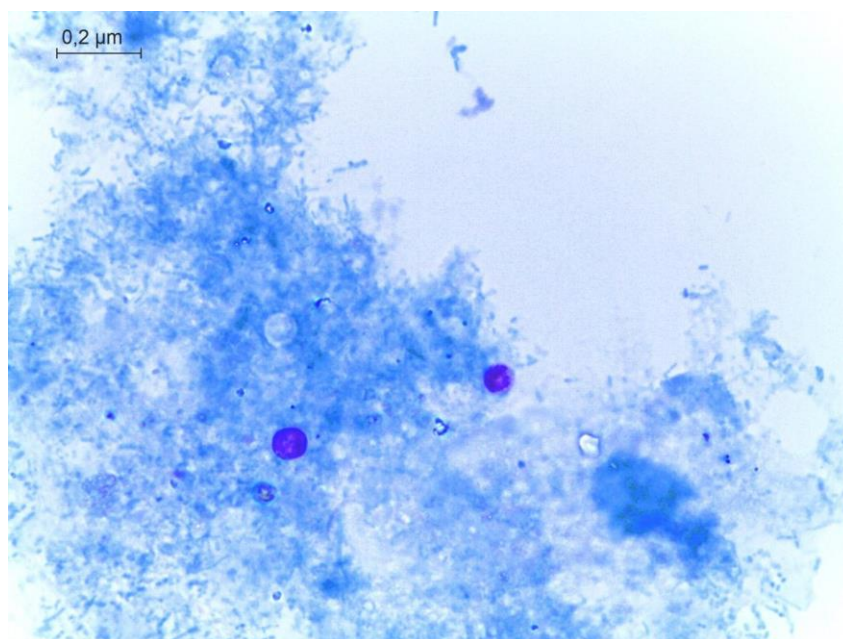


Imagen 1. Técnicas de Ziehl Neelsen para el diagnóstico de cryptosporidiosis. 100X.

Las tinciones fluorocrómicas son sensibles pero complejas y requieren de microscopio de inmunofluorescencia. La ventaja es que no solo detectan ooquistes, sino que también permite establecer su viabilidad. Los test directos de anticuerpos fluorescentes (MeriFluor de Meridian; Crypto IF de TechLab) son ampliamente utilizados debido a su elevada sensibilidad y especificidad. Las tinciones fluorocrómicas (DAPI, PI) son sensibles, complejas y permiten también establecer la viabilidad de los ooquistes.

Otro método utilizado es la detección de antígenos solubles de *Cryptosporidium* por ELISA, aunque su especificidad es relativa por presentar reacciones cruzadas con otros microorganismos. Los ensayos inmunocromatográficos (ImmunoCard STAT de Meridian; ColorPAC® de Becton Dickinson) son test de diagnóstico rápido muy implementados, sencillos de realizar, con sensibilidad y especificidad elevadas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), son útiles para diferenciar las especies y genotipos de *Cryptosporidium*. La técnica Real Time-PCR (RT PCR) es otro método determinante de la viabilidad parasitaria. Aunque las técnicas moleculares resulten útiles en la epidemiología y en la taxonomía de *Cryptosporidium*, probablemente no desplacen a la microscopía o los ensayos inmunobiológicos en el diagnóstico de la infección.

La respuesta inmune humoral contra *Cryptosporidium* spp. puede ser detectada en la fase aguda de la infección en el suero de los pacientes convalecientes.

En hospedadores inmunocompetentes, la confirmación de criptosporidiosis por detección del parásito en heces solo puede realizarse en un período muy corto de tiempo, es decir, la fase aguda de la enfermedad. La serología en cambio, ofrece la ventaja de confirmar la infección semanas o meses después de padecer la enfermedad, pero su valor diagnóstico es escaso si se desea detectar infección reciente.

Los anticuerpos específicos anti *Cryptosporidium* de tipo IgG, IgM o ambos se encuentran en el 95% de los pacientes con criptosporidiosis dentro de las dos semanas de la presentación de la enfermedad. Si bien está el método de ELISA desarrollado, son más sensibles y específicas las técnicas basadas en la detección de anticuerpos por Inmunoblot, que identifica la respuesta inmune contra los antígenos de 27 kDa y 17 kDa presentes en la superficie de los esporozoítos y que desencadenan una respuesta inmune mediada por anticuerpos tipo IgG y tipo IgG e IgA, respectivamente, lo cual puede ser útil en investigaciones epidemiológicas (Del Coco et al., 2009).

Tratamiento

Numerosos estudios se han llevado a cabo para encontrar una quimioterapia específica contra *Cryptosporidium*. Si bien más de 200 drogas han sido testeadas tanto in vivo como in vitro, ninguna resultó efectiva en el tratamiento de la infección. En los pacientes inmunocompetentes, en quienes la infección se autolimita, la terapéutica de sostén por rehidratación oral y/o intravenosa constituye el tratamiento de elección. La nitazoxanida ha dado resultados alentadores en el manejo de diarrea por criptosporidiosis en pacientes inmunocompetentes y ha sido aprobada

por la FDA para el tratamiento de cryptosporidiosis en niños inmunocompetentes menores de doce años de edad. Las personas inmunocomprometidas y con un estado precario de salud están en alto riesgo de contraer la enfermedad en forma severa. Para personas con SIDA, la terapia anti-retroviral mejora el estado inmune, también reduce la excreción de ooquistes y disminuye la diarrea asociada a cryptosporidiosis.

Profilaxis

En los pacientes inmunodeprimidos deben minimizarse los riesgos de contagio. La prevención de la cryptosporidiosis incluye la información sobre las distintas vías de transmisión de la infección y además, el consejo sobre la práctica de ciertas medidas preventivas.

Agua y alimentos: Hervir el agua al menos 1 min, almacenarla en recipientes limpios y con tapa. Filtrar el agua del grifo con filtros caseros con poro de 1 μm . Beber agua embotellada, no es recomendable consumir cubitos de hielo fabricados a partir de agua del grifo. No se debe beber agua directamente de ríos, lagos, piscinas, parques acuáticos, fuentes ornamentales y playas, incluso de agua salada. Pelar la fruta y lavar los vegetales que vayan a ser consumidos crudos. Es conveniente conocer que los productos lácteos pasteurizados aseguran la erradicación total de *Cryptosporidium*, pues el calor destruye los ooquistes y que las bebidas carbonatadas embotelladas o enlatadas, tales como soda o cerveza, son por lo general calentadas o filtradas en forma suficiente para eliminar los quistes.

Otras precauciones: Lavado de manos con agua y jabón: Después de ir al baño o de cambiar pañales. Después de manejar animales o de limpiar sus excrementos. Después de trabajar con la tierra o tocar objetos que pudieran estar contaminados con material fecal. Antes de preparar, servir, o comer alimentos. *En los hospitales:* Utilización de guantes y lavado de manos tras quitarse los guantes. Aislamiento del paciente infectado por el VIH en habitaciones individuales. *Relaciones sexuales:* Evitar el contacto anal-oral. Lavado de manos después de un acto con riesgo de contagio (Tzipori & Ward, 2002; Dillingham et al., 2002; Hunter & Nichols, 2002).

Importancia en Salud Pública

Aunque *Cryptosporidium* fue descrito por primera vez en el ratón de laboratorio por Tyzzer en 1907, la importancia médica y veterinaria de este protozoo se intensificó enormemente en las últimas tres décadas. Si bien en la década del 70 se puso en evidencia la gravedad de *Cryptosporidium* en mamíferos, principalmente en terneros, en 1980 se define como causa primaria grave, de brotes y casos esporádicos de diarrea en ciertos mamíferos. A partir de 1983, con el inicio de la epidemia de SIDA, *Cryptosporidium* surgió como una enfermedad potencialmente mortal en esta subpoblación. En 1993, alcanzó el dominio público cuando se hizo ampliamente reconocido como la causa más grave, y difícil de controlar, de diarrea relacionada con el agua.

Hasta entonces, *Cryptosporidium* se consideraba un protozoo oportunista que causaba algunos o ningún síntoma.

Referencias

- Del Coco, V.F., Córdoba, M.A. & Basualdo, J.A. (2009). Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Revista Argentina de Microbiología*. 41: 185-96.
- Dillingham, R.A., Lima, A.A. & Guerran, R.L. (2002). Current focus Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection* 4: 1059–1066.
- Hernández Gallo, N., Hernández Flórez L.J. & Cortés Vecino, J.A. (2018). Ensayo Cryptosporidiosis and "One Health". *Revista de Salud Pública*. 20 (1).
- Hunter, P.R. & Nichols G. (2002). Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*. 15: 145–54.
- Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., et al. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*. 331:161-167.
- Rose, J.B. (1997). Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. *Annual Review of Public Health*. 18 (1): 35-61.
- Tzipori, S. & Ward, H. (2002). Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes and Infection* 4: 1047-1058.
- Vanathy, K, Subhash Chandra, P., Jharna M., Hamide, A. & Krishnamurthy, S. (2017). Cryptosporidiosis: A mini review. *Tropical Parasitology*. 7(2): 72–80. doi: 10.4103/tp.TP_25_17. 2017.

CAPÍTULO 7

Eimeria tenella y otras Eimerias aviares

Valeria V. Corbalán

Generalidades

Los coccidios son parásitos intracelulares obligados, principalmente de vertebrados, que pertenecen al Phylum Apicomplexa. Tienen gran importancia sanitaria y socioeconómica, dado que son causantes de enfermedades que afectan gravemente tanto a las poblaciones humanas como animales (García, 2008). El estudio de la estructura de este grupo no fue posible hasta la aparición del microscopio electrónico, que reveló la existencia de una característica exclusiva del phylum: el complejo apical. Se trata de un órgano situado en el polo apical del organismo, constituido por estructuras que permiten la adhesión e invasión de las células hospedadoras (Gómez, 2004). Además, los coccidios se caracterizan porque al final de su ciclo de vida se constituyen formas de resistencia que se conocen con el nombre de ooquistes, que cuando están completamente maduros contienen cuatro o más organismos infectantes llamados esporozoítos. Algunas especies de coccidios son monoxenas, es decir, realizan el ciclo en un único hospedador. Otros en cambio, son heteroxenos y utilizan dos hospedadores para completar su ciclo. Teniendo en cuenta estas particularidades, se aprecian ciertas diferencias en el ciclo vital. En las especies monoxenas la pared del ooquiste es gruesa y resistente a los factores externos, ya que debe proteger a los esporozoítos que se desarrollan en su interior, durante el paso al nuevo hospedador. Este es el caso del género *Eimeria* (Soulsby, 1987).

Son, con escasas excepciones, parásitos intracelulares de las células epiteliales del intestino, con un solo hospedador, en el que experimentan multiplicación asexual (esquizogonia, merogonia) y sexual (gametogonia). De la unión de los gametos se produce un cigoto que, por un proceso de esporogonia, forma un número variable de esporas (esporocistos), que contienen uno o más esporozoítos. La esporogonia tiene lugar fuera del hospedador. Comprenden especies de ciclo biológico directo (monoxenas).

Género: *Eimeria* (Schneider, 1875) el ooquiste contiene cuatro esporocistos, con dos esporozoítos cada uno.

La mayoría de los coccidios de importancia en animales domésticos pertenecen al género *Eimeria* (Tabla 1). La siguiente revisión estará basada en este género, pero haciendo hincapié en los coccidios de las aves domésticas.

Ovinos	Pavos	Conejos	Bovinos	Cerdos
<i>E. arlongi</i>	<i>E. adenoides</i> <i>E. meleagrimitis</i>	<i>E. stiedae</i>	<i>E. bovis</i>	<i>E. scabra</i> <i>E. debiliecki</i> <i>E. porci</i>
<i>E. parva</i>		<i>E. perforans</i>	<i>E. zuerni</i>	
<i>E. ninakohlyakimovae</i>		<i>E. flavescens</i>	<i>E. alabanensis</i>	
		<i>E. intestinalis</i>	<i>E. auburnensis</i>	
		<i>E. Piriformis</i>	<i>E. ellipsoidalis</i>	

Tabla 1. Principales especies de Eimeria en los animales domésticos

Morfología

Las especies de coccidios se identifican con base en la morfología del ooquiste, la especificidad de hospedador, la especificidad inmunitaria, el aspecto y localización de lesiones macroscópicas en el hospedador natural y la duración del periodo de prepatencia. La especificidad de hospedador del género Eimeria en aves y mamíferos es muy estricta. Por eso, los ooquistes de Eimeria de las diferentes especies de aves o animales pueden considerarse como especies distintas, aun cuando pueden tener ooquistes de apariencia similar (Calnek, 2000).

La taxonomía se basa generalmente en la morfología del estadio del ooquiste esporulado. El ooquiste, que contiene un cigoto, es expulsado de los tejidos del hospedador y sale al exterior con las heces. Es la fase de resistencia del ciclo biológico y en condiciones apropiadas, forma el ooquiste infectante maduro.

Las formas más comunes de los ooquistes son las esféricas, subesféricas, ovoides o elipsoidales y varían de tamaño según las especies de Eimeria (Figura 1). La pared del ooquiste está compuesta por dos capas: la capa interna que contiene una sustancia quitinosa que confiere resistencia (Soulsby, 1987) y por fuera de la capa externa, hay una membrana llamada “velo” que recubre la pared y se ve sólo por microscopía electrónica en ooquistes obtenidos de raspados de mucosa intestinal. El velo se pierde cuando los ooquistes se excretan del hospedador, por lo tanto, se cree que el velo exterior no juega ningún papel en la protección de los ooquistes durante el paso fuera del hospedador o en el ambiente (Mai, 2009). Ciertas especies presentan, además, un micrópilo en un extremo, que frecuentemente es puntiagudo. Este micrópilo puede estar recubierto por un casquete y en ocasiones, suele proyectarse de la pared quística hacia el exterior una estructura, el casquete polar (Trejo Huitrón, 2018).

En el ooquiste esporulado de Eimeria hay 4 esporocistos, que tienen forma ovoide, más o menos alargada, con un extremo más puntiagudo que el otro (Figura 1). En el extremo más puntiagudo se encuentra el cuerpo de Stieda y en algunas formas aparece un micrópilo en el mismo lugar. También en el ooquiste pueden presentarse un cuerpo residual ooquistico y un gránulo polar. Cada esporocisto contiene dos esporozoítos, ambos tienen un citoplasma granular y un núcleo central. Típicamente, los esporozoítos son encorvados, con forma de coma y contienen

una vacuola homogénea redondeada en un extremo. Puede presentarse un cuerpo residual secundario (Soulsby, 1987).

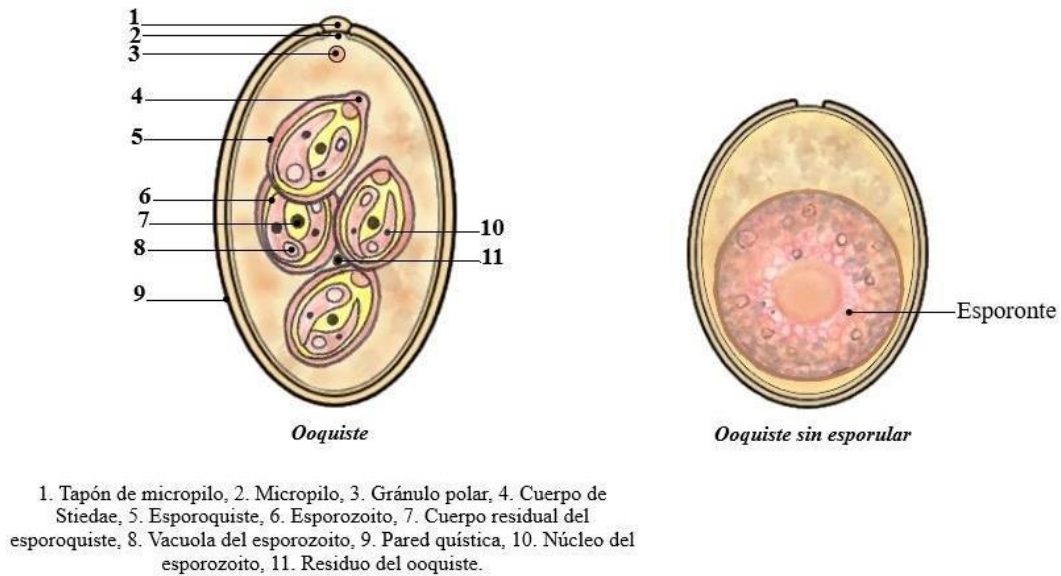


Figura 1: Esquema de morfología de un ooquiste esporulado (izquierda); ooquiste sin esporular (derecha).

Coccidiosis en aves domésticas

La coccidiosis es una enfermedad causada por protozoarios del Phylum Apicomplexa, género *Eimeria*, caracterizados por producir diversos grados de enteritis que afectan en forma negativa la producción y desarrollo de las aves, causando graves pérdidas económicas, debido al retraso en el crecimiento, pobre conversión alimenticia, mala pigmentación, alta morbilidad y mortalidad de las aves (Escobar Grimaldi, 2010). En avicultura, esta enfermedad tiene carácter universal, pudiendo encontrarse en cualquier lugar donde se críen aves. Su amplia difusión, capacidad reproductiva del agente etiológico y sobre todo su carácter resistente, han hecho que este parásito esté presente en la mayoría de las instalaciones avícolas y la necesidad de control sea continua (Rubio, 2008).

Los parásitos protozoarios del género *Eimeria* en las aves se multiplican en el intestino y ocasionan daño tisular, con interrupción resultante de los procesos digestivos o absorción de nutrientes, deshidratación, pérdida de sangre y aumento en la susceptibilidad a otros patógenos infecciosos. De manera histórica, el inicio de la coccidiosis con diarrea sanguinolenta y alta mortalidad inspiró temor en los productores de aves y aficionados (Calnek, 2000).

Como muchas enfermedades parasitarias, la coccidiosis es en gran parte una enfermedad de animales jóvenes, debido a que se desarrolla inmunidad con rapidez después de la exposición y da protección ante brotes posteriores de la enfermedad. No hay inmunidad cruzada entre las especies de *Eimeria* en las aves y los posteriores brotes pueden deberse a especies diferentes.

El ciclo de vida directo y corto y el alto potencial reproductivo de los coccidios en aves domésticas, intensifican el potencial de brotes graves de la enfermedad en las modernas granjas avícolas, donde se pueden criar de 15.000 a 30.000 aves en confinamiento total (Calnek, 2000).

La coccidiosis puede afectar cualquier tipo de producción avícola y clase de instalaciones. La enfermedad puede ser leve, resultante de la ingestión de pocos ooquistes y pasar inadvertida; o ser grave, como resultado de la ingestión de millones de ooquistes. La mayor parte de las infecciones son relativamente leves, pero debido al potencial para dar brotes graves y las pérdidas financieras resultantes, se aplica medicación continua a casi todos los animales jóvenes en la industria avícola, con bajas concentraciones de anticoccidianos, que previenen la infección o reducen las infecciones a un bajo grado inmunizante (Calnek, 2000).

Distribución

En avicultura, la coccidiosis tiene carácter universal, pudiendo encontrarse en cualquier lugar donde se críen aves. Su amplia difusión, capacidad reproductiva del agente etiológico y sobre todo su carácter resistente, han hecho que este parásito esté presente en la mayoría de las instalaciones avícolas y la necesidad de control sea continua (Rubio, 2008).

Su estricta especificidad de hospedador elimina a las aves silvestres como fuentes de infección. Los medios más comunes de diseminación son mecánicos, por personal que se traslada entre los galpones y/o granjas. Las infecciones son de resolución espontánea y dependen en gran parte de la cantidad de ooquistes ingeridos y del estado inmunitario del ave. Investigaciones en Norte y Sudamérica mostraron coccidios en casi todas las granjas productoras de pollos de engorde (broilers o pollos parrilleros). También se citaron muy altos porcentajes de parvadas positivas en Europa (Braunius, 1986). Por lo general, los ooquistes en la cama o en las heces de pollos de engorde son más numerosos en las 4 a 5 semanas de edad y en general disminuyen luego de este periodo. Se hallan pocos ooquistes después de retirar las aves de las granjas, debido a que la cama o las excretas son ambientes deficientes para su supervivencia. La naturaleza ubicua de los coccidios de aves excluye la posibilidad de eliminarlos o prevenirlos mediante cuarentena, desinfección o sanidad (Calnek, 2000).

En gallinas ponedoras de huevos comerciales, en pollos de engorde y en reproductores, se han estudiado las siguientes especies:

- *Eimeria tenella* (Railliet y Lucet, 1891; Fantham, 1909).
- *Eimeria acervulina* (Tyzzer, 1929)
- *Eimeria brunetti* (Levine, 1942)
- *Eimeria maxima* (Tyzzer, 1929)
- *Eimeria necatrix* (Johnson, 1930)
- *Eimeria mitis* (Tyzzer, 1929)
- *Eimeria praecox* (Johnson, 1930)

De estas especies, las cinco primeras se consideran patógenas, ya que desarrollan formas clínicas y las dos últimas apatógenas, pues no desarrollan manifestaciones clínicas significativas, aunque su presencia implica disminución de la ganancia de peso y del índice de conversión (Pereira Gómez, 2018).

Las siete especies de *Eimeria* tienen un ciclo biológico similar (siempre de localización intestinal), pero se diferencian en aspectos como el fragmento intestinal que parasitan, número de esquizogonias, tamaño de los esquizontes, número de merozoítos, o situación intracelular de los diferentes estadios evolutivos (Campos Rodríguez, 2011).

Por lo general, las infecciones con *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. maxima* se observan a las 3 a 6 semanas de edad y *E. necatrix* a las 8 a 18 semanas de edad. Pocas veces las ponedoras y reproductoras padecen coccidiosis, debido a la previa exposición a coccidios y la inmunidad resultante. En muy pocos casos, una parvada puede no estar expuesta a una especie en particular, o la inmunidad puede disminuir debido a otras enfermedades. Los brotes de cualquier especie en ponedoras pueden reducir o eliminar la producción de huevos durante varias semanas (Calnek, 2000).

Eimeria tenella

La coccidiosis provocada por *E. tenella* es la mejor conocida entre los tipos aviarios, en parte debido a la grave enfermedad que ocasiona y por su relevante diseminación en pollos de engorde comerciales. Esta especie se encuentra en ciegos y tejidos intestinales adyacentes, lo que origina una grave enfermedad cuyos signos son hemorragia, alta morbilidad y mortalidad, pérdidas en la ganancia de peso, emaciación y otros signos atribuidos a la coccidiosis. Su distribución es cosmopolita. El diagnóstico depende del hallazgo de las lesiones en los ciegos con agrupamientos de grandes esquizontes o (más tarde) ooquistes (Calnek, 2000).

Morfología

Ooquistes

Ovoides, de 22,9 μm por 19,16 μm , variando entre 14,2 a 31,2 por 9,5 a 24,8 μm . La pared del ooquiste es lisa y carece de micropilo. El tiempo de esporulación es de 18 horas a 29°C, 21 horas a 26- 28°C, 24 horas a 20°C, de 24 a 48 horas a temperatura ambiente y no esporula por debajo de 8°C (Soulsby, 1987).

Ciclo biológico

La principal característica del ciclo de *Eimeria* spp. es la existencia de un ciclo exógeno: esporulación del ooquiste en un ambiente apropiado y de un ciclo endógeno: multiplicación del parásito en el tubo digestivo del animal y formación del cigoto (Escobar Grimaldi, 2010).

Los ooquistes esporulados (formas de resistencia infectantes) de *E. tenella* son ingeridos por las aves y deben liberarse de sus paredes protectoras para poder parasitar las células, en un proceso que se denomina desenquistamiento. Se precisan dos estímulos independientes para que se produzca la ruptura de la pared del ooquiste esporulado (del Cacho, 2014). El primero está determinado por el anhídrido carbónico (que puede realizarse por la acción mecánica de la molleja o estómago muscular del pollo o pollita) y el segundo se debe a la tripsina y la bilis en el intestino delgado. Los esporozoítos liberados invaden la superficie epitelial del ciego. Seguidamente, son fagocitados por los macrófagos en la lámina propia y transportados por ellos hasta las glándulas de Lieberkühn. En este lugar, abandonan a los macrófagos y penetran en las células epiteliales que cubren las glándulas (Soulsby, 1987).

En la célula epitelial, el esporozoíto se redondea y se convierte en trofozoíto. Los esquizontes de primera generación maduros se localizan en la base de las criptas de las glándulas cecales. Miden 24 por 17 μm , la célula del hospedador se hipertrofia hasta alcanzar varias veces el tamaño normal, de forma que se proyecta hasta la luz de la glándula. Se producen aproximadamente 900 merozoítos de primera generación, de 2 a 4 μm de largo por 1 a 1,5 μm de ancho. Los esquizontes de primera generación se liberan a la luz de la glándula aproximadamente 60-72 horas después de la infección y los merozoítos penetran en otras células epiteliales, se redondean y forman la segunda generación de esquizontes jóvenes. Las células parasitadas aumentan de tamaño, se separan y liberan de su posición en el epitelio. Migran hasta los tejidos subepiteliales, donde se producen los esquizontes de segunda generación maduros (Quiroz, 2005). Las colonias de esquizontes de segunda generación son visibles por primera vez hacia las 72 horas y las de esquizontes maduros, a las 96 horas. Estos contienen de 200 a 350 merozoítos de segunda generación, puede producirse una hemorragia masiva en la luz del ciego, aproximadamente a las 96 horas de la infección (Soulsby, 1987).

Los merozoítos de segunda generación penetran en otras células epiteliales e inician una tercera esquizogonia, o la fase gametogónica, la mayoría emprenden este último proceso (Quiroz, 2005). Los esquizontes de tercera generación se localizan lejos del núcleo de la célula, son de menor tamaño que las fases previas (Soulsby, 1987).

Las fases gametogónicas aparecen inicialmente como trofozoítos redondeados. En general los microgametos (formas masculinas) son más numerosos y más pequeños que los macrogametos (formas femeninas). Al principio en el macrogameto joven aparecen pequeños gránulos, los cuales se encargarán de la constitución de la pared del ooquiste tras la fertilización del macrogameto (Quiroz, 2005). La fertilización por el microgameto puede tener lugar por cualquier punto de la superficie del macrogameto. Se constituye un cigoto, y la pared quística es depositada alrededor del mismo. Cuando esta se completa, el ooquiste es expulsado de los tejidos y

pasa al exterior. Los microgametos son finos, ligeramente curvados, con un extremo anterior puntiagudo en el que aparecen dos flagelos para la locomoción (Soulsby, 1987).

El periodo de prepatencia es de 7 días, aumentando la producción de ooquistes hasta alcanzar un máximo hacia el día décimo y descendiendo luego rápidamente (Soulsby, 1987).

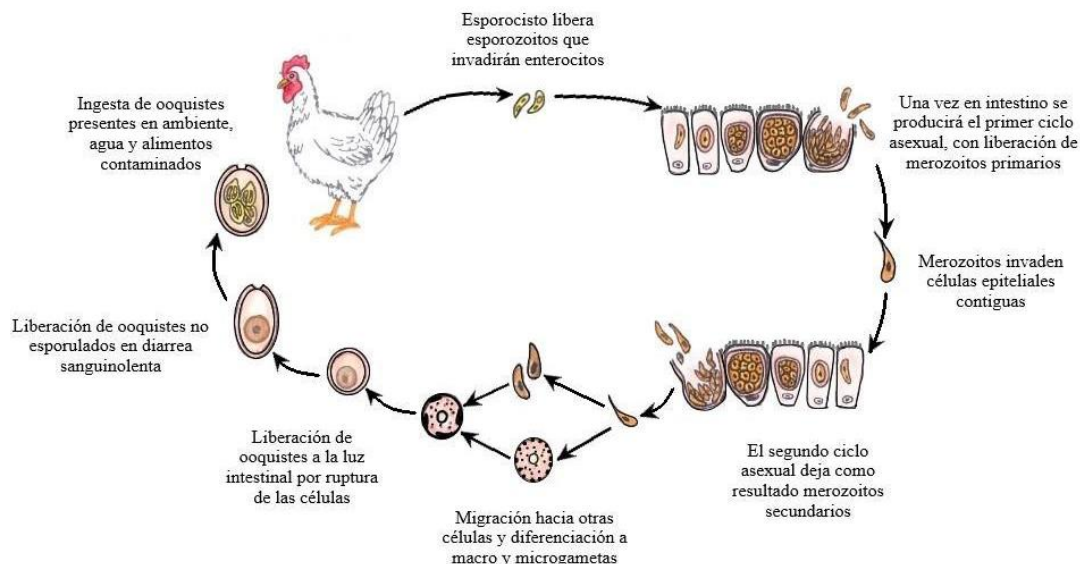


Figura 2. Ciclo de vida de *Eimeria tenella*.

Patogenia

La coccidiosis cecal debida a *E. tenella* presenta su mayor frecuencia en aves jóvenes, especialmente las de 4 semanas de edad. Las aves de más edad suelen ser inmunes, como resultado de infecciones previas. En líneas generales, la coccidiosis cecal clínica sólo se presenta cuando se producen infecciones masivas en periodos de tiempo relativamente cortos. Cuando se trata de un galpón, la coccidiosis se hace patente aproximadamente a las 72 horas de la infección. Los animales están tristes, dejan de comer, se agrupan para darse calor y hacia las 96 horas, aparecen las deyecciones manchadas de sangre (Soulsby, 1987). Las hemorragias más intensas tienen lugar el quinto o sexto día de infección, donde la pérdida de sangre puede reducir la cuenta eritrocitaria y el valor del hematocrito hasta en 50%. Hacia el octavo-noveno día, las aves mueren o empiezan a recuperarse (Calnek, 2000). La mortalidad es máxima entre el cuarto y el sexto día, presentándose la muerte de forma inesperada, como consecuencia de la excesiva pérdida de sangre (Soulsby, 1987), gangrena o ruptura de las bolsas cecales (Calnek, 2000).

Los cambios patológicos se deben principalmente a la segunda generación de esquizontes. Estos se desarrollan en la parte profunda de la lámina propia, por lo que la mucosa se altera en gran medida cuando maduran los esquizontes y se liberan los merozoitos. Las lesiones son detectables durante los tres primeros días post infección (Calnek, 2000). A nivel microscópico, al-

rededor de las criptas intestinales pueden observarse infiltrados de células mononucleares y granulocitos, edema y adelgazamiento de la mucosa. En pollos, un elevado porcentaje del infiltrado celular está compuesto por linfocitos, los cuales son visibles a menudo como largos agregados en criptas y lámina propia (Yuño, 2008).

En la necropsia de aquellos que muestran diarrea hemorrágica se observa tiflitis hemorrágica, con los ciegos notablemente dilatados. En la mucosa se observan desde petequias a hemorragias, dependiendo de la gravedad del proceso (Pereira Gómez, 2018). Al cuarto día se aprecian lesiones más importantes, consistentes en puntos hemorrágicos marcados. Hacia los días quinto y sexto, los ciegos se dilatan y su contenido incluye sangre parcialmente coagulada y sin coagular, esquizontes y merozoitos. A partir del séptimo día, se hallan en la mucosa fases gametogónicas. Asimismo, por esta época, el contenido cecal se hace más consistente y caseoso, adhiriéndose a la membrana mucosa. Al octavo día, el tapón caseoso endurecido llena completamente la luz de los ciegos (Soulby, 1987). Esta masa se desprende de la membrana mucosa hacia los 8 o 10 días y puede eliminarse con las heces. En este momento, la pared cecal está todavía engrosada, pero ha perdido su aspecto hemorrágico intenso y tras la expulsión de la masa, tiene lugar la regeneración de la mucosa y la retracción de la pared, si bien puede persistir cierto grado de fibrosis durante algún tiempo. Es frecuente que bacterias como *Clostridium* spp. o *Salmonella* spp. produzcan la muerte de las aves (Calnek, 2000).

Transmisión

La ingestión de ooquistes esporulados viables es la única manera natural de transmisión. Los pollos infectados pueden eliminar ooquistes en las heces por varios días o semanas y los mismos llegan a ser infectantes por medio de un proceso de esporulación en dos días. Las aves susceptibles en la misma parvada pueden ingerir las formas infectantes por picoteo de la cama. Los ooquistes se pueden diseminar de manera mecánica por muchos animales diferentes, insectos (*Alphitobius* spp.), equipo contaminado, aves silvestres y polvo (Escobar Grimaldi, 2010). Por lo general, se considera que los ooquistes son resistentes a los ambientes extremos y desinfectantes, aunque el tiempo de supervivencia varía con las condiciones ambientales. Aunque los ooquistes pueden sobrevivir por muchas semanas en el suelo y en condiciones óptimas, la supervivencia en la cama de las aves está limitada a pocos días, debido al amoníaco liberado por las deyecciones y la acción de mohos y bacterias. Los ooquistes mueren con rapidez por exposición a altas, bajas temperaturas o resequead; los mata con mucha rapidez la exposición a 55 °C o el congelamiento. Aun los 37 °C son fatales cuando son continuos por 2 a 3 días. La amenaza de la coccidiosis es menor en clima cálido y seco y mucho mayor en clima frío y húmedo (Calnek, 2000).

Diagnóstico

Las características inmunológicas de la enfermedad hacen necesaria la utilización de técnicas directas de diagnóstico, bien en el laboratorio (recuento e identificación de ooquistes) o clínicamente (diagnóstico y valoración de lesiones) (Escobar Grimaldi, 2010).

Frecuentemente se recurre al recuento de ooquistes como un sistema fiable para conocer y evaluar la situación en que se encuentra una granja, zona o integración frente a la coccidiosis. La realización de un recuento de ooquistes exige una toma de muestras correcta: se toman como mínimo 20 heces representativas de las que hay en cada zona del galpón, haciéndolo en un recorrido en zigzag por la misma, de forma que al final tengamos una muestra de todos los puntos (Faus, 2007). Los lugares más adecuados para comprobar la presencia de los coccidios son aquellos sitios que proporcionan las condiciones óptimas para la supervivencia y esporulación de ooquistes, como los bebederos y comederos (Escobar Grimaldi, 2010).

La coccidiosis no resulta fácil de diagnosticar, pues sus síntomas se asemejan mucho a los de otras enfermedades muy comunes en las aves. La única forma de hacer un diagnóstico sobre coccidiosis, sin lugar a dudas, es mediante el examen al microscopio de los tejidos de la pared intestinal y del contenido de los intestinos. El erizamiento de las plumas, el estado abatido del animal, la falta de apetito, la diarrea, son algunos de los síntomas que produce la coccidiosis, pero que coinciden con los de otras enfermedades. También se produce la pérdida de pigmento en la piel. La única forma que da total garantía para saber si existe coccidiosis o no es ver el intestino del ave. Si tiene lesiones, ya sean erosiones u opacidades, podemos decir que se trata de un supuesto caso de coccidiosis, cosa que se verificará viendo los coccidios al microscopio (Escobar Grimaldi, 2010).

Como se mencionó anteriormente, el diagnóstico de las diferentes especies de *Eimeria* en las aves domésticas se realiza por el hallazgo de ooquistes en muestras de heces. Como consecuencia de que estos pueden hallarse en pequeño número, se realiza un método de concentración de ooquistes, aunque lo mejor es a partir de aves muertas por medio de necropsia inmediata (Escobar Grimaldi, 2010). Los intentos por identificar lesiones características en aves muertas en una hora o más fracasan por los cambios posmortem que comienzan muy rápido en el intestino. El hallazgo de pocos ooquistes por medio del examen al microscopio de raspados de intestino indica la presencia de la infección, pero no un diagnóstico de coccidiosis clínica (Calnek, 2000). Por todo lo anterior se concluye que el diagnóstico se basa tanto en el hallazgo de lesiones típicas en la necropsia de aves en la parvada, como a la confirmación de las etapas por medio de técnicas de laboratorio y posterior visualización de los ooquistes al microscopio óptico (Imagen 1 y 2).



Imagen 1. Ooquiste de Eimeria sp. sin esporular



Imagen 2. Ooquiste de Eimeria sp. esporulado.

Lesiones

La manera más fiable de controlar la coccidiosis es mediante los resultados zootécnicos, y usando la lectura de lesiones como el mejor instrumento que permite conocer en cada momento cual es el nivel de coccidiosis que tiene una granja (Figura 3). No debemos olvidar que un cierto nivel de coccidios es deseable y necesario si queremos despertar la inmunidad del ave, pero sin llegar a una coccidiosis (Faus, 2007).

Por lo general, la gravedad de las lesiones es proporcional al número de ooquistes ingeridos por el ave y se correlaciona con otros parámetros tales como pérdida de peso y calificación de deyecciones. El sistema empleado con frecuencia lo desarrollaron Johnson y Reid (1970). Por este sistema se le asigna a un ave una calificación de 0 a 4 donde 0 = normal y 4 = a los casos más graves. En el campo la calificación de lesiones es valiosa, por lo general para medir la gravedad de las infecciones. Aun cuando haya varias especies de coccidios al mismo tiempo, sólo se marcan cuatro secciones separadas del intestino; éstas son:

- el duodeno (superior),
- la parte media del intestino del duodeno hasta el divertículo del saco vitelino,
- intestino delgado inferior del divertículo del saco vitelino a las uniones cecales,
- los ciegos (Calnek, 2000).

Prevención y control

El temprano énfasis en la quimioterapia se centró en el tratamiento de brotes con sulfonamidas u otros compuestos después de que se manifestaran los signos de infección. Pronto surgió el concepto de medicina preventiva, cuando se dieron cuenta que la mayor parte del daño se da una vez que se diseminan los signos de coccidiosis en una parvada. En la actualidad, casi todas las parvadas de pollos de engorde reciben fármacos para prevención y el tratamiento se utiliza como último recurso (Calnek, 2000).

Un fármaco puede ser eficaz contra una o varias especies de *Eimeria*, pero hay muy pocos fármacos igualmente eficaces contra todas las especies. Los productos anticoccidiales de acuerdo a su modo de acción sobre los coccidios, se pueden dividir en: coccidiostatos (inhiben o detienen el desarrollo de los coccidios) y coccidicidas (dañan o destruyen irreversiblemente a los parásitos) (Guiner, 2018).

Los productos coccidiostatos, al no eliminar completamente los ooquistes, permiten el desarrollo de inmunidad en el ave. Detienen el desarrollo de ciertos estadios del parásito de manera reversible y su retirada conllevará que los coccidios puedan completar de nuevo su ciclo de vida. Los productos coccidicidas, en cambio, al dañar irreversiblemente o destruir los parásitos, inhiben el desarrollo de la inmunidad. Este daño lo realizan en la mayoría de los estadios del parásito. Los términos coccidiostato y coccidicida son confundidos frecuentemente (Guiner, 2018).

Clasificación de productos anticoccidiales

Los primeros medicamentos fueron las sulfamidas (sulfametazina, sulfaguanidina y sulfaquinoxalina); luego se introdujeron en el mercado otras moléculas como los nitrofuranos (actualmente prohibidos en animales para consumo humano). Las drogas disponibles en la actualidad son más de 15, las que pueden clasificarse en compuestos de síntesis química (halofuginona,

nicarbazina, dilclazuril) y antibióticos ionóforos producidos por fermentación (monensina, salinomicina, lasalocid, narasina) (Yuño, 2008).

Los productos anticoccidiales los podemos dividir según su origen en tres categorías:

- Compuestos sintéticos. Tienen un modo de acción específico en el metabolismo de los coccidios. Ejemplo de ellos son: nicarbacina, amprolio, decoquinato, diclazuril, robenidina, halofuginona, toltrazuril y diclazuril.
- Ionóforos o antibióticos poliéter. destruyen a los coccidios interfiriendo el balance de distintos iones. Dentro de los ionóforos monovalentes se encuentran la monensina, narasina, y salinomicina. La maduramicina y semduramicina son ionóforos monovalentes glicósidos, y el lasalocid es el representante de los ionóforos divalentes.
- Mezcla de productos. Existe un aditivo comercial registrado que incluye la mezcla de un compuesto sintético y un ionóforo -nicarbacina/narasina (Guiner, 2018).

Las especies de *Eimeria* responsables de la coccidiosis son capaces de desarrollar resistencias frente a todos los fármacos descritos. La formación de cepas resistentes se ve facilitada cuando se usan dosis bajas durante largos períodos de tiempo. Cuando se producen brotes clínicos debido al desarrollo de resistencias es recomendable realizar una prueba de sensibilidad anticoccidiósica para establecer el tratamiento adecuado (Pereira Gómez, 2018).

Para evitar la aparición de resistencias se han propuesto dos pautas de tratamiento preventivo:

- El sistema rotacional: propone cambiar el coccidiostato cada 4-6 meses de producción.
- El sistema dual: consiste en cambiar el coccidiostato a la mitad de un ciclo de cría (entre 21-25 días de vida) (Chapman, 2014).

El tratamiento curativo se aplica en caso de que se desencadene un brote clínico de coccidiosis aviar. Se utilizan los mismos fármacos que se han propuesto en el tratamiento preventivo y se añaden al agua de bebida de las aves durante 5 días. Se administran dosis que varían desde el 0,1% (sulfamidas) hasta el 0,01% (amprolio) (Chapman, 2014).

Para evitar la resistencia existen programas de rotación de drogas o bien la inmunización. En contraste con las investigaciones actuales, cuyo interés es el desarrollo de vacunas, existe un escaso interés en generar nuevas drogas anticoccidianas. Las políticas europeas sobre medicación de animales para consumo son cada vez más estrictas en cuanto al uso de quimioterapia profiláctica y en consecuencia hay un creciente interés en el control inmunológico de la coccidiosis (Yuño, 2008).

En el año 1952 apareció en el mercado la primera vacuna para coccidios disponible para la industria avícola. A partir de ese momento proliferaron otras alternativas para inmunizar las aves de producción, que incluyen cepas vivas o no atenuadas y atenuadas por selección de cepas precoces o por pasaje en embrión de pollo. Además, se desarrolló la primera vacuna a subunidades. Se considera que las vacunas vivas confieren inmunidad primaria en las primeras dosis y la posterior replicación de los ooquistes genera inmunidad por estímulos subsiguientes (Yuño, 2008).

Eimeria necatrix

Hospedador: gallina y pollo doméstico. Distribución universal, extraordinariamente común. El desarrollo asexual tiene lugar en el intestino delgado y el ciclo gametogónico en los ciegos. Esta especie es uno de los agentes patógenos más importantes del intestino delgado de las aves. Ooquistes: semejantes a los de *E. tenella*, ovoides, de 16,7 µm por 14,2 µm con extremos de 13,2 a 22,7 µm por 11,3 a 18,3 µm. La pared de los ooquistes es lisa, incolora y sin micropilo. El tiempo de esporulación es de 2 días, pero puede ser de 18 horas a 29°C (Soulsby, 1987).

Eimeria acervulina

Hospedador: aves domésticas. Distribución universal. Muy corriente. Es menos patógena que las dos especies anteriores, siendo responsable de la coccidiosis intestinal subaguda o crónica en las aves de más edad y en pollitas a punto de comenzar la puesta. Las fases de desarrollo tienen lugar en la porción anterior del intestino delgado. Ooquistes: ovoides de 19,5 por 14,3 µm, con un intervalo de 17,7 a 22,2 µm por 13,7 a 16,3 µm. La pared de los ooquistes es lisa, más delgada en el polo estrecho, con micropilo poco apreciable. El tiempo de esporulación es de 25 horas a temperatura ambiente y de 17 horas a 28°C (Soulsby, 1987).

Eimeria maxima

Hospedador: aves domésticas. Distribución universal. Corriente. Fases de desarrollo en el intestino delgado. Ooquistes grandes, ovoides, de 29 por 23 µm, con un intervalo de 21,4 a 42,5 µm por 16,5 a 29,8 µm, la pared del ooquiste ligeramente amarillenta, puede ser rugosa, en algunos carente de micropilo. El tiempo de esporulación es de 2 días (Soulsby, 1987).

Eimeria brunetti

Hospedador: aves domésticas. Distribución universal. Esporádica. Las fases de desarrollo tienen lugar en el intestino delgado, ciegos y cloaca. Ooquistes: ovoides, de 26,8 por 21,7 µm con un intervalo de 20,7 a 30,3 µm por 18,1- 24,2 µm. La pared de los ooquistes es lisa y carece de micropilo. El tiempo de esporulación es de uno a dos días a temperatura ambiente y 18 horas a 24°C (Soulsby, 1987).

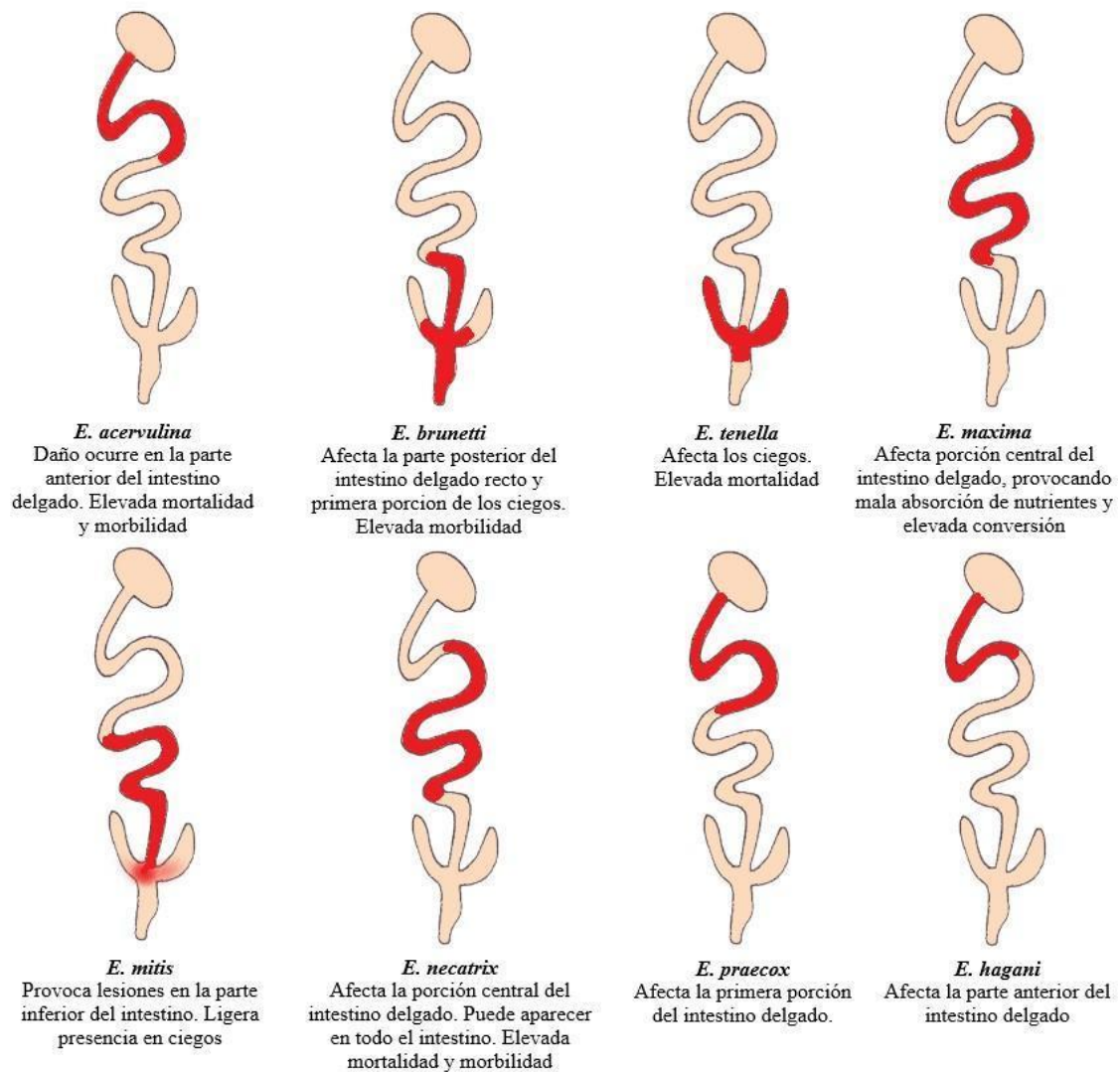


Figura 3. Ubicación de las lesiones en las principales especies de coccidios que afectan a las aves domésticas.

Referencias

- Braunius, W.W. (1986). Incidence of Eimeria species in broilers in relation to the use of anticoccidial drugs. In *Georgia Coccidiosis Conference, Athens, Georgia (USA)*. p. 19-21.
- Calnek, B.W. (2000). *Enfermedades de las aves*. 2da. Ed. Manual moderno. D.F. Cap 34. p 891-905.
- Rodríguez, R.C. (2011). La coccidiosis en el pollo de carne. Métodos actuales de control. *Selecciones avícolas*.
- Chapman H.D. (2014). Vaccination of chickens against coccidiosis ameliorates drug resistance in commercial poultry production. *International Journal of Parasitology*. 4: 214–217.
- Del Cacho, E. (2009). Mecanismos inmunológicos de la coccidiosis aviar. En *XLVI Symposium Científico de Avicultura*. p. 121-132.

- Escobar Grimaldi, M.J., López Rivas, A.J. & Ramírez López, P.E. Tesis de grado. *Determinación de fuentes de transmisión de coccidiosis (Eimeria spp) en aves de la línea hy line brown desarrolladas en jaula en dos granjas de El Paisnal, Departamento de San Salvador*. El Salvador. Universidad de El Salvador.
- Faus, C. (2007). La coccidiosis, una vieja enfermedad, aún de actualidad. *Selecciones avícolas*, 49(12): 783-787.
- García, I., Muñoz, B., Aguirre, A., Polo, I., García, A. & Refoyo, P. (2008). *Manual de laboratorio de Parasitología, Coccidios intestinales y tisulares*, España. Reduca. Serie Parasitología, 1(1): 38-48.
- Gómez i Grau, F. (2004). Tesis doctoral: *Estudio sobre la toxoplasmosis en Andorra y el Alt Urgell*. Universidad de Barcelona. p. 13-18.
- Guiner A. (2018). Control de la coccidiosis mediante anticoccidiales en el pienso. *Revista Aviculture América Latina*. Recuperado de: [https://avicultura.info/control-de-la-coccidiosis -mediante-anticoccidiales-en-el-pienso/](https://avicultura.info/control-de-la-coccidiosis-mediante-anticoccidiales-en-el-pienso/)
- Johnson, J. & Reid, W.M. (1970). Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Experimental parasitology*. 28(1): 30-36.
- Lee, J.J., Leedale, G.F., Bradbury, P. (2000). *The Illustrated Guide to the Protozoa*. 2nd. Ed. Society of Protozoologists. Blackwell Publishers. p. 1374.
- Mai, K., Sharman, P.A., Walker, R.A., Katrib, M., Souza, D.D., McConville, M.J. & Smith, N.C. (2009). Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 104 (2): 281-289.
- Pereira Gómez, M.A (2018). *Vacunación de coccidiosis aviar*. Trabajo fin de grado de veterinaria. Facultad de veterinaria, Universidad de Zaragoza, p. 2-10. <https://zaguan.unizar.es/record/69550/files/TAZ-TFG-2018-120.pdf>.
- Quiroz, H. (2005). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos*. S.A. de C.V. México DF. Edit. Limusa.
- Rubio, J. (2008). Coccidiosis aviar: una actualización a los métodos de control. Laboratorio Hipra SA (en línea) *Jornadas profesionales de avicultura*. www.wpsa-aeca.com.
- Soulsby, E.J.L. (1987). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. 7ma. Ed. Edit. Intermédica S.A.
- Trejo Huitrón, G. (2018). Tesis de Maestría. *Identificación morfológica y molecular de Eimeria spp. en ovinos de la región sur-oriente del estado de México*. Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma del Estado de México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/99650>.
- Yuño, M.M., Gogorza, L.M. (2008). Coccidiosis aviar: respuesta inmune y mecanismos de control en la industria avícola. *Revista Veterinaria*, 19 (1): 61-66.

CAPÍTULO 8

Cyclospora cayetanensis. Ciclosporosis humana

Leonora Kozubsky

Generalidades

Al presente se han identificado al menos 22 especies del género *Cyclospora* que producen infecciones en diversos animales como serpientes, topos, miriápodos, aves, roedores, monos, pero solamente *Cyclospora cayetanensis* se ha documentado como causante de infección en el hombre. La prevalencia global de *C. cayetanensis* en humanos es del orden de 3,6%. Otra especie como

C. papionis se detectó en el 17,9% de babuinos capturados en Kenia y *C. macacae* en el 6,8% de monos rhesus en China.

En el hombre la mayoría de las infecciones se contraen por la vía fecal-oral. La ciclosporosis es endémica en países tropicales y subtropicales, pero se han registrado numerosos brotes en zonas no endémicas en los últimos 20 años. Muchos de ellos estuvieron asociados al consumo de aguas no tratadas y verduras crudas como lechuga, frambuesa, cilantro, albahaca, cebolla de verdeo, entre otras, contaminadas con ooquistes maduros. Otros se relacionaron con viajeros a zonas endémicas como Nepal, Perú, Guatemala, República Dominicana, México, Haití, etc. En general se ha observado un aumento de brotes en estaciones cálidas y lluviosas, manifestando un comportamiento estacional. No se descarta la transmisión a través de vectores mecánicos como insectos y fómites.

Ciclo biológico

Cyclospora cayetanensis tiene un ciclo vital monoxénico que incluye una fase sexuada (gametogonia) y otra asexual (esquizogonia) que se llevan a cabo en el mismo hospedador, aunque los ooquistes maduran (esporulación) fuera del mismo. Es un protozoo intracelular obligado, desarrollándose en los enterocitos del intestino delgado dentro de una vacuola parasitófora. El ciclo se inicia con la ingesta de ooquistes maduros que liberan esporozoítos, los cuales ingresan a las células hospedadoras. En ellas, mediante esquizogonia o reproducción asexual, se forman esquizontes o merontes que contienen merozoítos. Mediante este proceso se forman merontes de tipo I y de tipo II con 8 a 12 y 4 merozoítos respectivamente. Al lisarse el enterocito, se

liberan los merozoítos. Los provenientes de los merontes de tipo I tienen capacidad para invadir nuevas células y llevar a cabo otra esquizogonia, mientras que los segundos conducen a la formación de gametocitos. El gametocito masculino fertiliza al femenino produciendo un cigoto y finalmente a partir de éste y como producto de reproducción sexual, se forman ooquistes que se eliminan inmaduros con las heces, a diferencia de lo que ocurre con otro coccidio como *Cryptosporidium* (Almeria et al., 2019; Li et al., 2020).

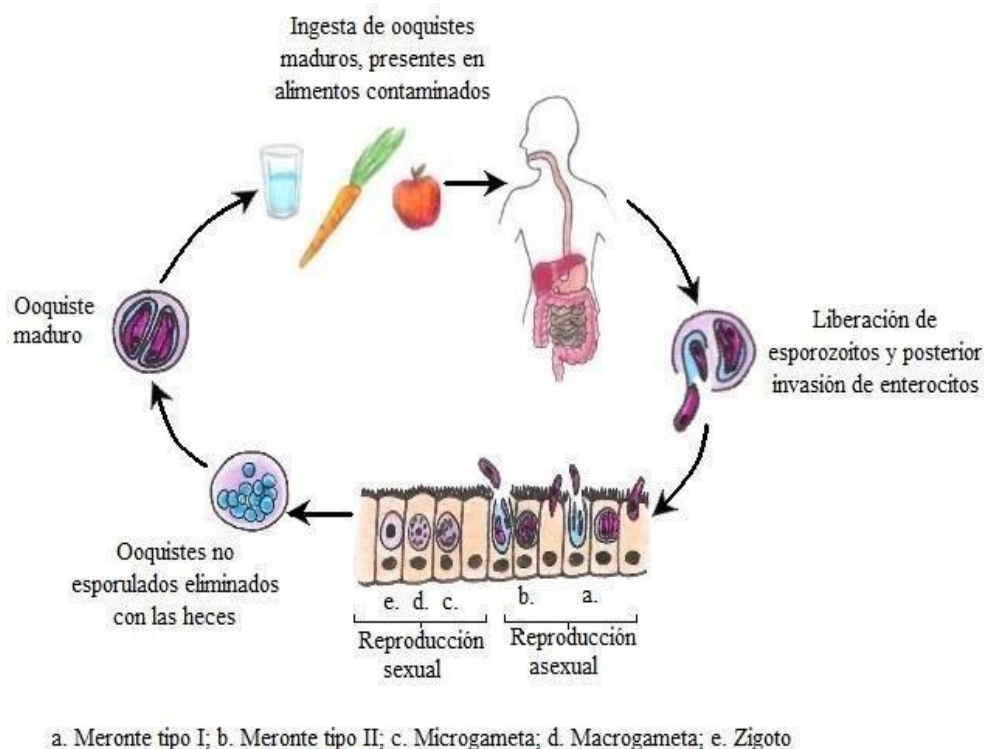


Figura 1. Ciclo biológico de *C. cayetanensis*

Estos ooquistes son esféricos, hialinos, no refráctiles y miden de 8 a 10 μm de diámetro con doble pared de 63 y 50 nm de espesor. Una vez en el exterior sufren un proceso de maduración o esporulación, transformándose en infectivos al cabo de 5 a 13 días según las condiciones ambientales (humedad, temperatura, disponibilidad de oxígeno). Una vez en el ambiente, los ooquistes maduran, formando finalmente ooquistes infectivos que contienen 2 esporozoítos con 2 esporozoítos cada uno, respondiendo a la relación 1:2:2. Los esporozoítos miden 1,2 μm de ancho por 9 μm de longitud y presentan un complejo apical constituido por roptrias y micronemas. Tanto los ooquistes maduros como los inmaduros presentan una envoltura fibrilar de 63 nm de espesor, por debajo de la cual se localiza una pared de 50 nm de espesor.

La dosis infectiva no se conoce exactamente, pero extrapolando del conocimiento de algunos brotes epidémicos y del comportamiento comparativo de otros coccidios intestinales, se supone que es baja, del orden de 10 a 100 ooquistes maduros. El contagio se produce por vía oral mediante la ingestión de ooquistes maduros que pueden estar presentes en frutas o verduras, así

como de agua de bebida contaminada (Hadjilouka & Tsaltas, 2020). Una vez ingeridos, el desengastamiento se produce por la acción de jugos digestivos, liberándose los esporozoítos que invaden a los enterocitos y desarrollándose entonces los ciclos asexual y sexual.

Los ooquistes se rompen en condiciones de desecación en 15 minutos, pero son resistentes a los desinfectantes comúnmente usados y al tratamiento de clorinado empleado en la potabilización del agua. Pueden sobrevivir en medio acuoso 2 meses a 4°C y 7 días a 37°C. No resisten el calentamiento a 60°C durante una hora y el congelamiento a -18°C durante 24 horas puede anular su capacidad de esporulación. Los métodos de filtración del agua de consumo pueden ser útiles para prevenir la exposición a los ooquistes del parásito, así como también someterla a ebullición.

Patogenia

En el duodeno distal y yeyuno, localización habitual de este protozoario, se observa por endoscopia, eritema e inflamación. Las biopsias muestran un aplanamiento de las vellosidades con hiperplasia de las criptas. Este compromiso del intestino delgado proximal produce defectos de absorción. Se ha propuesto una cascada de sucesos que se desarrollan cuando los parásitos intracelulares obligados invaden a los enterocitos. Luego de que los esporozoítos ingresan en los enterocitos, éstos liberan citoquinas (IL-8) que activan a fagocitos locales; estos atraen y reclutan a otros fagocitos desde el torrente sanguíneo hacia la lámina propia. Los leucocitos activados liberan factores solubles que incrementan la secreción intestinal de cloruros y agua e inhiben su absorción. Algunos mediadores, como la histamina, la serotonina y la adenosina, afectan la secreción y absorción porque actúan de manera indirecta sobre las células epiteliales.

Además, el factor activador de plaquetas, prostaglandinas y leucotrienos ejerce su acción sobre la inervación entérica, que induce la secreción intestinal mediada por neurotransmisores. Por otra parte, la invasión, multiplicación y liberación de los parásitos daña directamente los enterocitos al someterlos a la lisis celular. En forma adicional, los linfocitos T activados afectan el crecimiento de las células epiteliales y producen atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas, sucesos que llevan, por un lado, al aumento del peristaltismo y por otro, a la disminución de la absorción de nutrientes (Archelli & Kozubsky, 2012).

Signología clínica

Producida la infección, el período de incubación varía entre 2 a 11 días. La infección puede cursar en forma asintomática o sintomática. Los síntomas incluyen diarrea acuosa y profusa con un promedio de 7 deposiciones diarias, acompañada de dolor abdominal, náuseas, vómitos, fatiga, astenia, fiebre y pérdida del apetito. Estos síntomas, así como la infección, se autolimitan

luego de aproximadamente 50 días en pacientes inmunocompetentes. Se han observado recidivas en algunos de ellos. La resolución de los síntomas se produce de forma abrupta y se asocia con la desaparición de los ooquistes en materia fecal. En general la sintomatología se presenta más florida en infantes y en adultos mayores, y más moderada o asintomática en niños de mayor edad y adultos jóvenes.

En inmunocomprometidos, al igual que en otras coccidiosis intestinales, la sintomatología mencionada suele ser más prolongada, insidiosa, con tendencia a la cronicidad y muy severa, produciéndose malabsorción y significativa pérdida ponderal. Los cuadros graves en individuos con SIDA se vinculan con mayor frecuencia a pacientes con porcentajes de linfocitos T CD4+ menores que 200 células/mm³.

Se han reportado en pacientes con tuberculosis la presencia de ooquistes de *Cyclospora* en esputo y en heces en forma concomitante, lo que sugeriría la posibilidad de diseminación broncopulmonar (Di Gliullo et al., 2000). Aunque *C. cayetanensis* es un patógeno intestinal primario, también ha sido relacionado con la producción de colecistitis alitiásica en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana y con los síndromes de Reiter (artritis reactiva) y de Guillain-Barré.

Diagnóstico

El estadio diagnóstico es el ooquiste inmaduro, no esporulado que se elimina en forma discontinua con las heces. Por esta razón se sugiere la recolección de muestras fecales seriadas (3 días alternados o 5 continuos) con conservantes y en fresco. El examen microscópico a partir de heces no conservadas permite la observación de estructuras esféricas de 8-10 µm, hialinas, no refráctiles, que contienen una estructura semejante a una mórula de color verdoso, de aproximadamente 6-7 µm de diámetro, con varios glóbulos, de aspecto lipídico, de unos 2 µm dispuestos en racimo o roseta. La morfología interna es observable en las heces en agua, ya que la adición de conservantes provoca la coalescencia de los glóbulos intramurales y da lugar a un número variable de cuerpos irregulares mal definidos (Imagen 1). Se pueden buscar los ooquistes en preparaciones húmedas, previo enriquecimiento por métodos de sedimentación y flotación a fin de maximizar su recuperación.

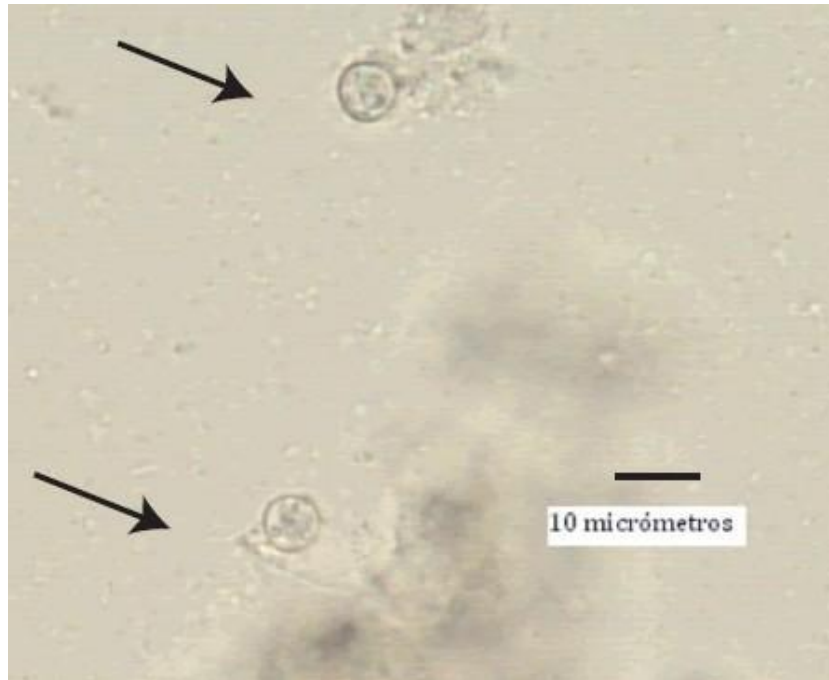


Imagen 1. Ooquistes de *C. cayetanensis* en una preparación húmeda. 40X. Cortesía E. Portiansky.

Son impermeables al lugol, pero pueden efectuarse tinciones como la de Ziehl Neelsen u otras tinciones ácido alcohol resistentes de fundamento similar. En este caso aparecen como esferas ácido alcohol resistentes variables, coloreadas desde rojo intenso a pálido, con un aspecto “vidriado” (Imagen 2). Este ooquiste inmaduro debe ser diferenciado de los de otros coccidios intestinales, fundamentalmente por su forma y tamaño, ya que comparten comportamientos tintoriales semejantes siendo ácido- alcohol resistentes.

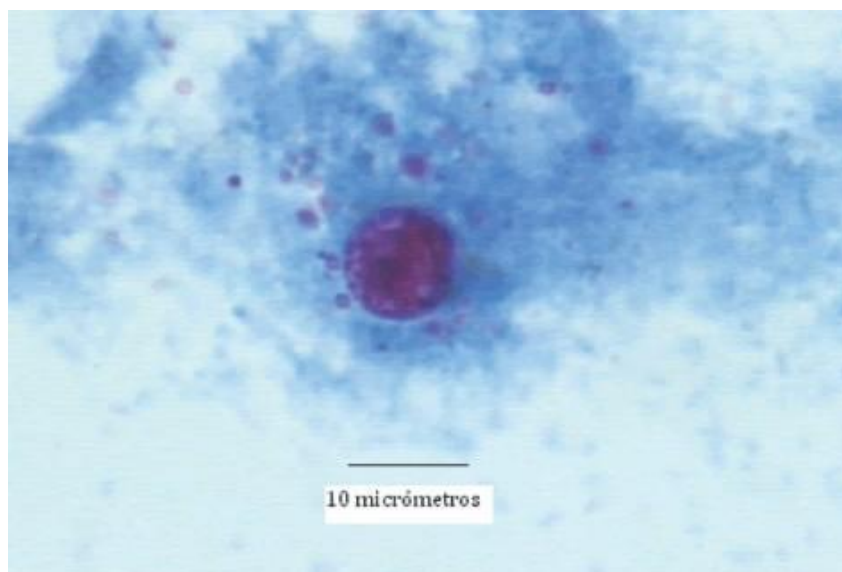


Imagen 2. Ooquiste de *C. cayetanensis*. Coloración de Ziehl Neelsen. 100X. Cortesía E. Portiansky.

Otras coloraciones empleadas habitualmente para la tinción de protozoos como Giemsa, tricrómica, Gram cromotropo, no tiñen a los ooquistes de *Cyclospora*.

Cuando se tratan los ooquistes con fluorocromos como auranina-rojo de tiazina, se observa la pared con fluorescencia variable.

Es importante recordar que los ooquistes de *C. cayetanensis* son esféricos y miden 8-10 µm de diámetro, los de *Cryptosporidium* spp., esféricos de 4 µm de diámetro y los de *Cystoisospora belli* son elipsoidales de 20 a 30 µm de longitud por 10-19 µm de ancho.

Para el diagnóstico puede aprovecharse otra característica particular del parásito como es su capacidad de autofluorescer, observándose a los ooquistes de color azul brillante cuando los preparados húmedos se exponen a la luz UV con filtros de excitación en el rango de 330 a 380 nm o verdes con filtros de 450 a 490 nm (Li et al, 2020; CDC, 2021).

Los ooquistes inmaduros pueden madurarse in vitro incubando una muestra en fresco en solución de dicromato de potasio al 2,5 ó 5% durante 5 a 15 días a 25-37°C, luego de lo cual se obtendrán los ooquistes maduros con dos esporoquistes, conteniendo dos esporozoitos en cada uno de ellos.

También puede efectuarse una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *C. cayetanensis*, método que puede aplicarse tanto a muestras de materia fecal como de aguas, suelo y alimentos contaminados con el parásito, con una sensibilidad del orden de 40 ooquistes por 100 g de muestra (Resendiz-Nava et al., 2020).

Sobre la base de las propiedades morfológicas y de autofluorescencia de los ooquistes se han desarrollado métodos de detección en diversos materiales mediante citometría de flujo, pero aún no se han adaptado al laboratorio clínico. Estudios comparativos entre esta metodología y la PCR, han demostrado presentar una sensibilidad semejante (Temesgen et al., 2019).

Si bien los relevamientos serológicos facilitarían los estudios epidemiológicos, especialmente en los brotes, no se encuentran disponibles aún equipos comerciales. Se han desarrollado algunos con la metodología de ELISA para detectar anticuerpos IgM e IgG contra *C. cayetanensis*, pero los resultados no han sido concluyentes en cuanto a la definición del estado de infección de los pacientes.

Tratamiento

El tratamiento de elección se basa en trimetoprima (160 mg) y sulfametoxazol (800 mg). En general la diarrea y la eliminación de ooquistes cesan entre los 2 y 6 días de tratamiento. Además, deben implementarse en caso necesario, medidas de soporte para mantener el equilibrio hidroelectrolítico y reposo (Li et al., 2020).

Profilaxis

Las medidas de prevención están enfocadas a las principales fuentes de infección: agua, alimentos y suelo contaminados y son similares a las aplicadas para otros parásitos intestinales. En caso de brote epidémico es recomendable hervir el agua de bebida.

Son importantes los programas de educación y saneamiento ambiental, con adecuada eliminación de excretas humanas, tratamiento de residuos cloacales y control de aguas de riego, bebida y lavado de hortalizas y frutas de consumo crudo.

En cuanto a individuos inmunocomprometidos, la prevención debe ser muy cuidadosa por la persistencia y severidad de los cuadros diarreicos, que a su vez contribuyen a magnificar la diseminación parasitaria.

Referencias

- Almeria, S., Cinar, H.N. & Dubey, J.P. (2019). *Cyclospora cayetanensis* and Cyclosporiasis: An Update. *Microorganisms*. 7(9):317.
- Archelli, S., & Kozubsky, L.E. (2012). *Cyclospora cayetanensis*: Un coccidio emergente. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 46(4): 683-688.
- Centers for Disease Control (CDC). (2017). Cyclosporiasis. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/parasites/cyclosporiasis/index.html>
- Di Giulio, A.B., Cribari, M.S., Bava, A.J., Cicconetti, J.S., & Collazos, R. (2000). *Cyclospora cayetanensis* in sputum and stool samples. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 42(2): 115-117.
- Hadjilouka, A. & Tsaltas, D. (2020). *Cyclospora Cayetanensis*—Major Outbreaks from Ready to Eat Fresh Fruits and Vegetables. *Foods*. 9(11): 1703.
- Li, J., Cui, Z., Qi, M. & Zhang, L. (2020). Advances in Cyclosporiasis Diagnosis and Therapeutic Intervention. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 10: 43. doi: 10.3389/fcimb.2020.00043.
- Li, J., Wang, R., Chen, Y., Xiao, L. & Zhang, L. (2020). *Cyclospora cayetanensis* infection in humans: Biological characteristics, clinical features, epidemiology, detection method and treatment. *Parasitology*. 147(2): 160-170.
- Resendiz-Nava, C.N., Orozco-Mosqueda, G.E., Mercado-Silva, E.M., Flores-Robles, S., Silva-Rojas, H.V. & Nava, G.M. (2020). A molecular tool for rapid detection and traceability of *Cyclospora cayetanensis* in fresh berries and berry farm soils. *Foods*. 9(3): 261.
- Temesgen, T.T., Tysnes, K.R. & Robertson, L.J. (2019). A New Protocol for Molecular Detection of *Cyclospora cayetanensis* as contaminants of berry fruits. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 10:1939.

CAPÍTULO 9

Hepatozoon sp. Hepatozoonosis canina

Franca Mastrantonio y Diego Fernando Eiras

Generalidades

Las especies pertenecientes al género *Hepatozoon* sp. corresponden a parásitos protozoarios que parasitan las células sanguíneas de un hospedador vertebrado. Según su taxonomía se ubican dentro del phylum Apicomplexa, clase Conoidasida, subclase Coccidia, familia Hepatozoidae. Comprende al menos 340 especies que infectan gran variedad de hospedadores como mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Baneth, 1998; 2011), para los cuales una gran variedad de invertebrados (garrapatas, mosquitos, pulgas, triatominos, moscas tsetsé y piojos) actúan como vector específico (Modrý, 2017).

Pocas especies son de importancia médico veterinaria. Actualmente dos especies han sido encontradas afectando a los caninos: *Hepatozoon canis*, considerada una especie de baja a moderada patogenicidad y *Hepatozoon americanum*, especie altamente patógena.

La especie *Hepatozoon canis* fue descubierta por primera vez en India en 1904 y nombrada como "*Leucocytozoon*" al encontrarse dentro de los leucocitos (Bentley, 1905). Miller (1908) lo denominó "*Hepatozoon*" ya que la primer especie descrita, *Hepatozoon muris*, realizaba parte de su ciclo biológico en el hígado de las ratas (Smith, 1996). En Argentina, la Hepatozoonosis canina fue descrita por primera vez por Silva et al. (1999) en un perro de raza Ovejero Alemán macho de 3 años de edad. La especie presente es considerada como *H. canis* debido a un estudio de caracterización molecular realizado por Eiras en 2007 (Eiras et al., 2007). Hasta la fecha no se ha reportado *H. americanum* en Argentina.

Morfología

Gamonte

Se observan como estructuras de coloración clara o celeste, de forma ovalada o elipsoidal, con extremos redondeados, de un tamaño entre 8 y 12 μm de largo y de 3 a 6 μm de ancho, el cual comprime el núcleo de la célula hospedadora (Imagen 1) (Martínez, 2017).

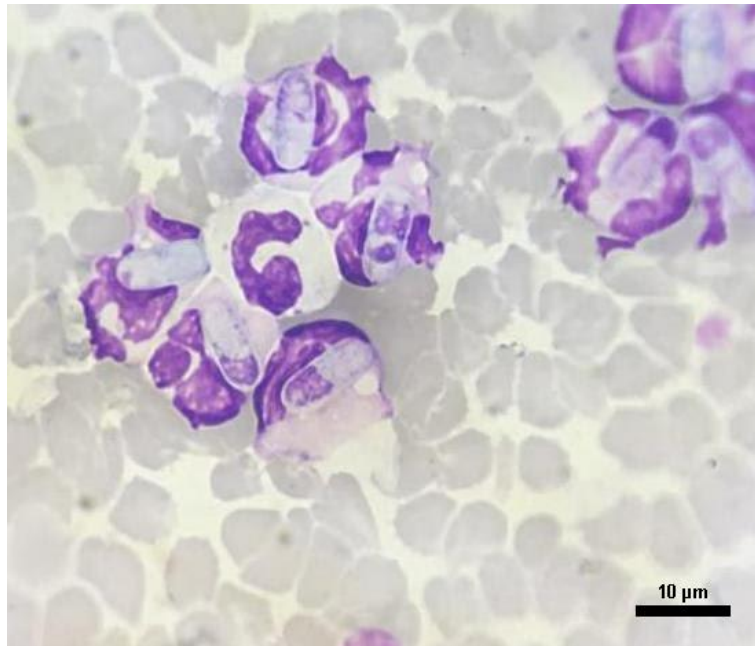


Imagen 1. Gamontes circulantes de *H. canis*. Frotis sanguíneo coloreado. 100X.

Meronte

Se observan como estructuras redondas u ovaladas de 30 μm de diámetro en diferentes estadios de maduración. Los micromerontes contienen aproximadamente 20 a 30 micromerozoítos, dispuestos alrededor de una estructura redonda central, formando una estructura quística denominada “en rayo de rueda” (Imagen 2). Los macromerontes, en cambio, contienen hasta cuatro macromerozoítos más grandes (Baneth, 2011).



Imagen 2. Micromeronte tisular de *H. canis* en nódulo linfático canino. 40X.

Transmisión y formas de diseminación

Es una enfermedad transmitida por garrapatas, se adquiere mediante la ingestión de éstas o sus partes, infectadas con ooquistes maduros (Smith, 1996). La transferencia salival, por picadura de la garrapata, no ha sido demostrada (Baneth et al., 2003; 2007). Además, han sido descritas otras formas de transmisión, como la transplacentaria, la cual se demostró por técnicas moleculares, hallando el parásito en tejidos fetales y líquido amniótico (Ewing, 2003; Baneth, 2011; Baneth et al., 2013).

Las garrapatas implicadas en la transmisión corresponden al complejo *Rhipicephalus sanguineus s.l.*, sin embargo, actualmente se ha notificado a *Amblyomma ovale* como vector posiblemente implicado en la transmisión (Forlano et al., 2005; Rubini et al., 2008). Esta especie es considerada un parásito común en caninos de áreas rurales y boscosas del norte argentino (Baneth, 2011; Nava, et al., 2017).

Ciclo biológico

El ciclo de vida es heteroxeno, compuesto por un hospedador definitivo (garrapata), donde ocurre la reproducción sexual con posterior esporogonia y un hospedador intermediario donde ocurre la reproducción asexual. La garrapata ingiere sangre infectada con gamontes durante la picadura, los cuales se liberan de la célula que los contiene en el intestino y se diferencian en gametas masculinas y femeninas, proceso que se conoce como gametogénesis. La posterior fertilización y formación del cigoto da lugar al ooquiste, el cual migra hacia el hemocele, lugar donde ocurre la esporogonia con formación de esporozoítos infecciosos contenidos dentro de los esporocistos. El ooquiste es incapaz de migrar a la parte anterior del aparato digestivo (glándulas salivales u otras estructuras alimentarias) y debido a que no hay un mecanismo donde los esporozoítos formados puedan atravesar los tejidos, el hospedador intermediario debe ingerir al artrópodo para poder infectarse (Craig, 2001). De ese modo, los esporozoítos infecciosos, se liberan en el intestino del hospedador y penetran su pared, invaden las células sanguíneas y se diseminan de forma hematológica o linfática hacia órganos hemolinfáticos (médula ósea, bazo, linfonódulos) u otros órganos internos (principalmente hígado, riñones, pulmones) (Droleskey et al., 1993). En los tejidos, tiene lugar la merogonia, formando dos tipos de merontes, por división asexual de merozoítos, los cuales son liberados a la circulación sanguínea una vez que el meronte ha madurado (Baneth, 2011). Los macromerontes producen merontes secundarios en otros tejidos, mientras que los micromerontes invaden los neutrófilos y monocitos y en el proceso de gamontogonia, se transforman en gamontes (Smith, 1996). Una vez en la circulación sanguínea, los gamontes están disponibles para ser ingeridos por la garrapata, completando así el ciclo, que concluye en 81 días (Baneth, 2007) (Figura 1).

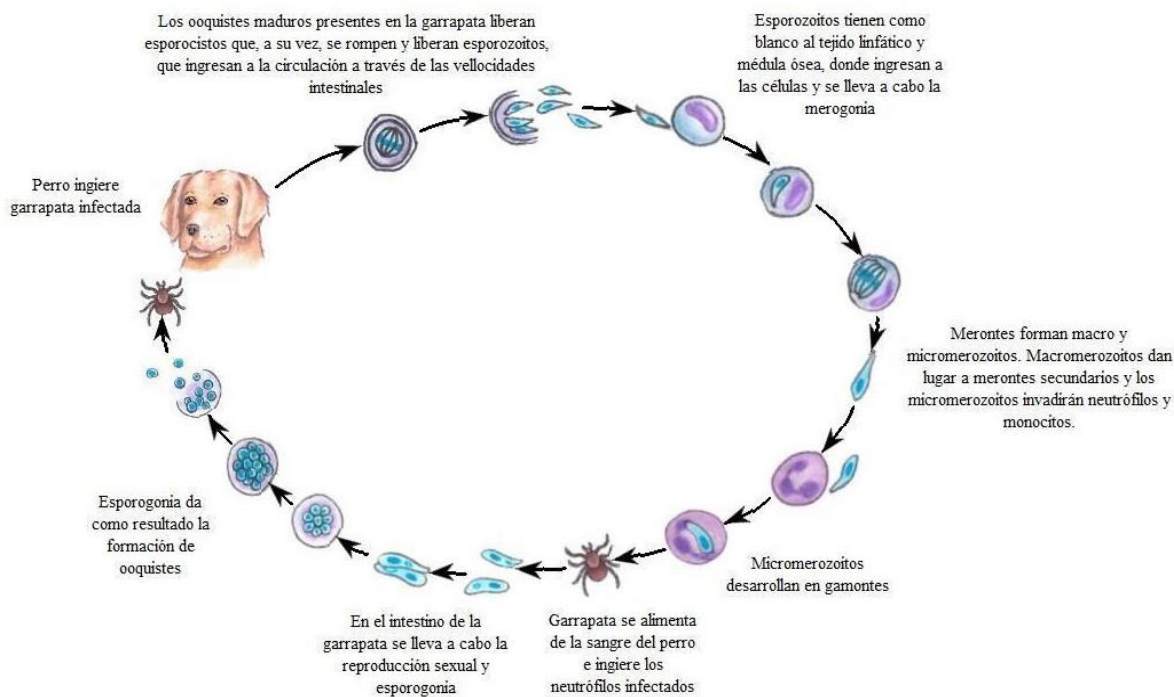


Figura 1. Ciclo biológico de la Hepatozoonosis canina

Patogenia y signología clínica

Actualmente se clasifica a la Hepatozoonosis canina como una enfermedad sistémica, crónica (Gavazza et al., 2003) y en general subclínica en caninos inmunocompetentes, detectándose en animales que gozan de buen estado físico de salud, lo que indica que puede haber portadores sanos del parásito (Giannelli et al., 2017). El curso de la enfermedad es prolongado y comprende períodos de remisión y recaídas.

La forma clínica se presenta generalmente en animales menores a los 4-6 meses de edad (con un sistema inmune inmaduro), gerontes y en condiciones de inmunosupresión (ej.: tratamientos con corticoides), o en coinfecciones con otros agentes infecciosos, como por ejemplo, virus distemper, parvovirus, rickettsias (*Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*), u otros parásitos (*Babesia vogeli*, *Dirofilaria immitis*, *Leishmania infantum-chagasi*, *Toxoplasma gondii*) (Irwin, 2002; Baneth, 2011).

La signología es inespecífica y varía de acuerdo al grado de parasitemia presente. Las formas parasitarias encontradas en los tejidos producen lesión tisular e inflamación (Baneth, 2008). Comúnmente se describe fiebre, anemia, depresión y anorexia. En casos graves se describe letargo severo, caquexia y emaciación (Elias et al., 1988; Baneth, 1997; 2003).

Asociado a la inflamación de los músculos extra-oculares se observa descarga ocular mucopurulenta con disminución de la producción lagrimal (Scodellaro, 2015).

Se puede presentar debilidad en miembros posteriores, que puede ir desde hiperestesia muscular hasta parálisis. Bitton et al. (2012), describen un caso clínico de un canino hembra de 5

meses de edad con dolor al caminar y reacio a la flexión de las articulaciones de las patas traseras. La radiografía mostraba una marcada reacción perióstica de huesos largos y el frotis sanguíneo; a su vez, un alto porcentaje de neutrófilos parasitados con gamontes de *H. canis*.

En Argentina Iveli et al. (2015) describieron un caso de poliartritis en un canino macho de 5 meses de edad con decaimiento y dolor generalizado de 24 horas de evolución además de intenso dolor a la palpación-presión de la región lumbar. En este estudio se encontraron merontes inmaduros en la cápsula articular junto con infiltrado mononuclear en ausencia de lesiones óseas. Esta lesión, aunque atípica, se debe tener en cuenta debido a la posible localización de los merontes en los diferentes tejidos.

Distribución geográfica

La enfermedad tiene amplia distribución mundial debido a que su principal vector *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata marrón del perro, se encuentra ampliamente difundida.

En Argentina, la enfermedad se encuentra en expansión, durante más de veinte años y hasta la fecha, se han documentado hallazgos en las Provincias de Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Chubut, La Pampa, Mendoza, Salta, San Luis, Santa Fe (Martínez, 2017). Es endémica en la Provincia de Buenos Aires (Scodellaro, 2017).

Diagnóstico

Laboratorio clínico

En el laboratorio clínico, el hemograma muestra anemia normocítica normocrómica arregenerativa, el leucograma puede ser normal en parasitemias bajas, o presentar leucocitosis con neutrofilia extrema en parasitemias altas. En un trabajo realizado por Vezzani et al. (2017) sobre un total de 2.328 muestras positivas, los caninos registraron panleucopenia en un 5,4% de los casos; la anemia estuvo presente en 56,9% (de tipo arregenerativa en un 69,7%). En cuanto al leucograma el 36,3% de los pacientes presentaron leucocitosis (principalmente neutrofilia con desplazamiento a la izquierda en un 97,4%) y 7,5% leucopenia. El leucograma inflamatorio estaba presente en 74,1%. Un 46,4% presentaron eosinofilia y 17,8% monocitosis.

En cuanto a la bioquímica sanguínea se ha observado principalmente hiperproteinemia con hipoalbuminemia e hiperglobulinemia pudiendo estar altas las enzimas creatina quinasa (CK) y fosfatasa alcalina (FAS).

Alteraciones anatomopatológicas

Las alteraciones macroscópicas incluyen esplenomegalia y hepatomegalia, con un patrón difuso de pequeños focos necróticos blancos de 1 a 2 mm de diámetro. También es posible encontrar linfadenomegalia. La neumonía puede ser evidente (Baneth, 2012).

Las lesiones microscópicas incluyen reacción inflamatoria leve a grave, dependiendo del caso, como hepatitis, neumonía y glomerulonefritis (Baneth & Weigler 1997; Baneth et al., 2003; Baneth, 2011).

Diagnóstico parasitario

El diagnóstico directo se realiza observando los gamontes dentro del citoplasma de los neutrófilos y en menor medida de monocitos sanguíneos, a través de la realización de frotis sanguíneos (Imagen 3). La principal desventaja de esta técnica es que las formas parasitarias no siempre son detectables en sangre, debido a los ciclos de parasitemia intermitente, o que su número es bajo (del 1 al 5% de los neutrófilos están parasitados) (Baneth et al., 2003). Un resultado negativo con signología compatible, podría indicar ausencia de parasitemia, baja parasitemia o estado temporal sin parasitemia a pesar de la infección del tejido, no necesariamente ausencia de infección, ya que puede haber resultados falsos negativos (Eiras et al., 2007). Algunos autores indican que la técnica de capa flogística o buffy-coat podría tener mayor sensibilidad para el hallazgo de formas parasitarias y debe ser elegida ante la sospecha clínica (Otranto et al., 2011). El buffy-coat se obtiene a partir de la centrifugación de sangre en tubos de microhematocrito realizando un extendido a partir de la capa de glóbulos blancos. Las tinciones utilizadas son llamadas tinciones de Romanowsky y generalmente los frotis teñidos con May Grunwald-Giemsa o Tinción 15 son las más utilizadas. Luego de teñidos deben ser visualizados al microscopio óptico con 40x. Sin embargo, debido a que la carga parasitaria es variable, ambas técnicas podrían no ser efectivas en aquellos animales que poseen infecciones subclínicas (Modrý, 2017).

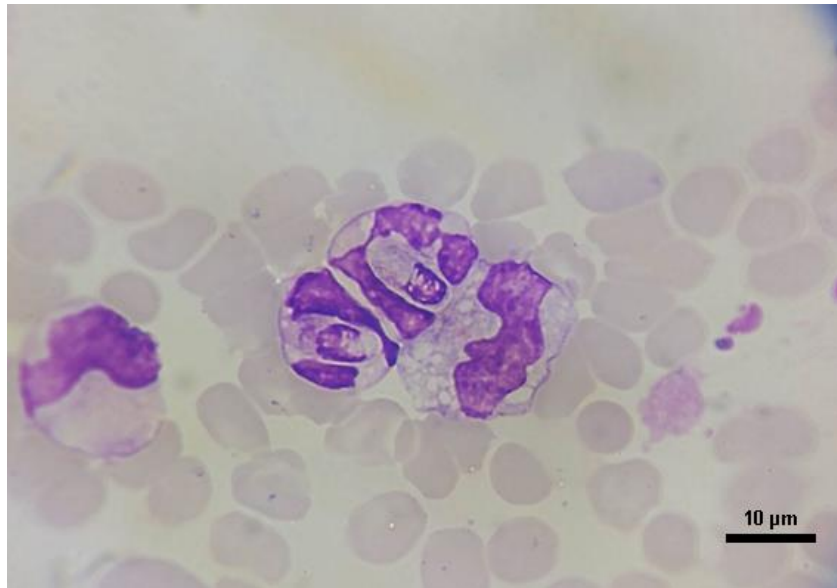


Imagen 3. *H. canis*. Gamontes circulantes junto a monocito activado. Frotis sanguíneo coloreado. 100X.

Es posible también el diagnóstico directo a través de estudios citológicos (mediante aspiración con aguja fina o impronta) o histopatológicos (biopsias o recolección post-mortem) de órganos hemolinfáticos u otros tejidos, como hígado pulmón o riñón. En este caso debemos observar la presencia de merontes junto con las correspondientes alteraciones anatomopatológicas (Imagen 4).

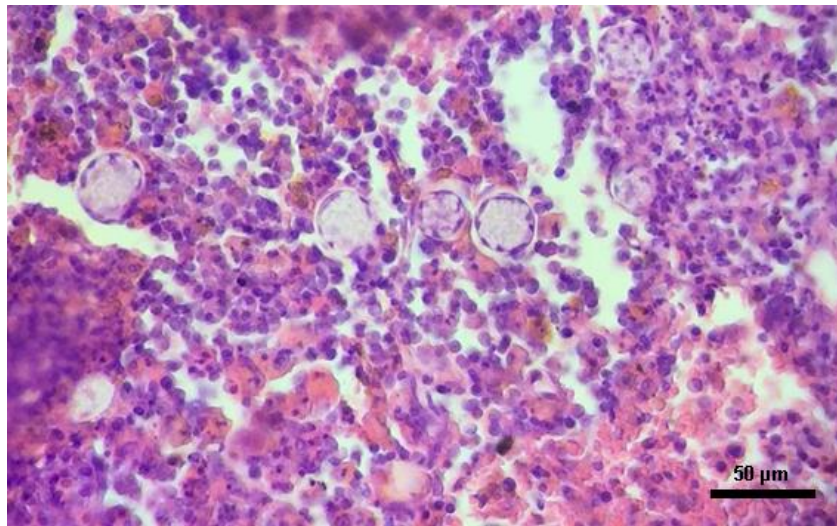


Imagen 4. *H. canis*. Macromerontes tisulares en nódulo linfático canino. 40X.

También es posible aplicar técnicas moleculares como la PCR. Diversos autores han demostrado que esta técnica es mucho más sensible que el examen microscópico (Vojta et al., 2009), incluso cuando se utilizan ambas técnicas microscópicas combinadas (Otranto et al., 2011), además es posible cuantificar la carga parasitaria.

El **diagnóstico indirecto** se basa en la detección de anticuerpos anti-*H. canis* a partir de las técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Éstos no son utilizados de rutina y se usan generalmente con fines epidemiológicos.

Tratamiento

La enfermedad está considerada como una enfermedad parasitológicamente incurable debido a la imposibilidad de eliminar las formas asexuales que permanecen viables en los tejidos. Sin embargo, en la mayoría de los casos, es clínicamente tratable (Palomeque, 2019).

Los objetivos básicos de la terapia están centrados en la eliminación de la parasitemia mediante el uso de drogas específicas (Scodellaro, 2017). Se han utilizado diversas drogas con distintos resultados. En la actualidad el tratamiento más difundido corresponde a la administración de Toltrazuril a dosis de 14 mg/kg por vía oral cada 24 horas durante 7 días consecutivos para luego realizar el seguimiento mediante control hematológico a los 14 o 28 días de iniciado el tratamiento. Gavazza et al. (2003) aconseja realizar el examen por frotis sanguíneo hasta no encontrar gamontes en dos o tres muestras consecutivas tomadas con dos semanas de diferencia. En caso de volver a encontrar formas parasitarias en los glóbulos blancos se debe repetir el tratamiento.

Además, se describen protocolos combinados de Toltrazuril durante 7 días y sulfadimetoxina durante 15 días (Iveli et al., 2015). Ya no se aconseja el tratamiento con dipropionato de imidocarb o doxiciclina.

Profilaxis

En pequeños animales se debe reducir el riesgo de contacto e infestación limitando el acceso a zonas con una alta densidad de garrapatas o en épocas del año donde se sabe que la actividad de la garrapata es más alta (Mikunda et al., 2017). Además, se debe realizar el control de ectoparásitos mediante la inspección regular de la piel y el pelaje, sumado a un uso correcto de fármacos ixodicidas, complementado con el correspondiente control ambiental.

Importancia en salud pública

Si bien la enfermedad no es considerada zoonosis, mundialmente hay estudios referidos al tema. Se han publicado dos casos de hepatozoonosis humana, uno en Rusia (Wei et al., 2016) y el segundo de ellos en Filipinas (Craig, 2001). Sin embargo “(...) es poco probable que constituya un patógeno significativo para las personas inmunocompetentes” (Baneth, 2008).

Otras especies de Hepatozoon de importancia veterinaria

Hepatozoon americanum

Esta especie se informó por primera vez en 1978, sospechado como cepa particularmente virulenta de *H. canis* (Mathew et al., 2000), denominándose en un principio como “*cepa Texas*” de *H. canis*. Fue Vincent-Johnson en 1997 quien lo describió como una nueva especie (Mathew et al., 1998).

Es transmitida por *Amblyomma maculatum*. Además, se ha documentado otra forma de transmisión a partir de la ingestión de hospedadores paraténicos (roedores), quienes hospedan quistes tisulares en la musculatura (Little et al., 2009).

Se encuentra solo en el sureste de los Estados Unidos debido a la distribución del vector involucrado. Esta especie no se encuentra actualmente en Argentina.

Está caracterizada como una enfermedad debilitante y mortal, ya que los órganos blanco son el tejido muscular esquelético y cardíaco, donde se depositan capas concéntricas de material mucopolisacárido para formar una estructura quística de 250-500 µm de diámetro denominada “*piel de cebolla*” (Baneth et al., 2003). La activación de quistes latentes y su posterior ruptura ocasiona altas y bajas en el curso de la enfermedad y la aparición de recidivas luego del tratamiento.

La enfermedad se caracteriza por fiebre, caquexia, depresión, grados variables de dolor muscular inducido por miositis y atrofia muscular generalizada. Puede afectar también la médula espinal, los huesos (dolor óseo inducido por reacción perióstica estimulada por la miositis adyacente) y las articulaciones, viéndose dificultada la marcha (Harmelin et al., 1992). Se observan como trastornos motores rigidez, debilidad generalizada, paresia, ataxia de patas traseras e incapacidad de incorporarse.

El laboratorio clínico muestra una anemia normocítica normocrómica regenerativa, leucocitosis desde 20.000-200.000 cel/µl con neutrofilia con desvío a la izquierda e hipoalbuminemia. Para su diagnóstico es necesaria una biopsia muscular mediante la observación histopatológica del parásito formando quistes. Esto es debido a la baja parasitemia (menor al 0,1% de los neutrófilos se encuentran parasitados) que se presenta durante la enfermedad clínica, por lo que el frotis de sangre entera no representaría una prueba fiable debido a su baja sensibilidad (Baneth et al., 2003; Modrý, 2017).

Hepatozoonosis en felinos

En felinos se han reportado las especies *H. felis* y *H. silvestris* además de infecciones producidas por *H. canis* (Gianelli et al., 2017). La enfermedad es principalmente de presentación subclínica y se estima que podría estar asociado a co-infecciones con el virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficiencia felina y leishmaniasis.

Referencias

- Baneth, G. (2008). Hepatozoonosis. En: Greene CE. *Enfermedades infecciosas del perro y del gato*. (p. 766-779). Buenos Aires: 3ra Ed., Editorial Inter-Médica.
- Baneth, G. (2011). Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Veterinary Parasitology* 181(1): 3–11.
- Baneth, G. (2012). *Hepatozoon canis* infection. En: Greene CE. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (p. 750-773). United States of America: 4th Ed. Editorial Elsevier.
- Baneth, G., Mathew, J.S., Shkap, V., Macintire, D.K., Barta, J.R. & Ewing, S.A. (2003). Canine hepatozoonosis: Two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon* spp. *Trends in Parasitology*. 19(1): 27–31.
- Baneth, G., Samish, M. & Shkap, V. (2007). Life Cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the Tick *Rhipicephalus sanguineus* and Domestic Dog (*Canis familiaris*). *Journal of Parasitology*. 93(2): 283-299.
- Baneth, G., Sheiner, A. Eyal, O., Hahn, S., Beaufile, J.P., Anug, Y. & Talmi-Frank, D. (2013). Redescription of *Hepatozoon felis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) based on phylogenetic analysis, tissue and blood form morphology, and possible transplacental transmission. *Parasites & Vectors*. 6(1), p. 1–10.
- Baneth, G. Shkap, V. Samish, M. Pipano, E. Savitsky, I. (1998) Antibody response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. *Veterinary Parasitology*.; 74(2–4), 299–305.
- Bentley, C.A. (1905). Preliminary Note upon a Leucocytozoan of the dog, A Leucocytozoan of the Dog. *British medical journal*. 1:988.
- Bitton, E., Bibring, U., Bruchim, Y. & Baneth, G. (2012). Hepatozoonosis in a Dog with Skeletal and Joint Involvement: A Case Report and Review of the Literature. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 67 (2): 120-126.
- Craig, T.M. (2001). *Hepatozoon* spp. and Hepatozoonosis En: Samuel, W.M. Pybus, M.J. Kocan, A.A. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. South State Avenue, Ames, Iowa, 2da Ed. Editorial Iowa State University Press All. p. 462-467.
- Droleskey, R.E., Mercer, S.H., DeLoach, J.R. & Craig, T.M. (1993). Ultrastructure of *Hepatozoon canis* in the dog. *Veterinary Parasitology*. 50(1–2): 83–99.
- Eiras, D.F., Basabe, J., Scodellaro, C.F., Banach, D.B., Matos, M.L., Krimer, A. & Baneth, G. (2007). First molecular characterization of canine hepatozoonosis in Argentina: evaluation of asymptomatic *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires. *Veterinary Parasitology*. 149(3-4): 275-279.
- Ewing, S.A. & Panciera R.J. (2003). American Canine Hepatozoonosis. *Clinical Microbiology Reviews*. *American Society for Microbiology*. 16(4): 688–697.
- Gavazza, A., Bizzeti, M. & Papini, R. (2003). Observations on dogs found naturally infected with *Hepatozoon canis* in Italy. *Revue de médecine vétérinaire*. 154 (8-9): 565-571.

- Giannelli, A., Latrofa, M.S., Nachum-Biala, Y., Hodzi, A., Greco, G., Attanasi, A., Annoscia, G., Otranto, D. & Baneth, G. (2017). Three different Hepatozoon species in domestic cats from southern Italy. *Thicks and tick-borne diseases*. 8(5): 721–724.
- Harmelin, A., Dubey, J.P., Yakobson, B., Nyska, A. & Orgad, U. (1992). Concurrent *Hepatozoon canis* and *Toxoplasma gondii* infections in a dog. *Veterinary Parasitology*. 43: 131–136.
- Irwin, P.J. (2002). Companion animal parasitology: a clinical perspective. *International Journal for Parasitology*. 32: 581–593.
- Iveli, S., Casas, L., Machuca, M. Eiras, D. & Del Amo, A. (2015). Poliartritis asociada a hepatozoonosis canina: descripción de un caso. *Analecta Veterinaria*. 35(4): 25–29.
- Little, S.E., Allen, K.E., Johnson, E.M., Panciera, R.J., Reichard, M.V. & Ewing, S.A. (2009). New developments in canine hepatozoonosis in North America: A review. *Parasites & Vectors*. 2(1): 4-7.
- Martínez, P.N. (2017). Identificación de *Hepatozoon* sp. en la población canina del Gran Mendoza a partir de muestras ingresadas a Diagnovet Laboratorio Veterinario durante el período 2015-2016. Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio. Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/64980>.
- Mathew, J.S., Ewing, S.A., Panciera, R.J. & Woods, J.P. (1998). Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* Vincent-Johnson *et al.*, 1997 to dogs by the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* Koch. *Veterinary Parasitology*. 80(1): 1–14.
- Mathew, J.S., Van Den Bussche, R.A., Ewing, S.A., Malayer, J.R., Latha, B.R. & Panciera, R.J. (2000). Phylogenetic Relationships of Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleorina) Based on Molecular, Morphologic, and Life-Cycle Characters. *The Journal of Parasitology*. 86(2): 366–372.
- Miller, W.W. (1908). *Hepatozoon perniciosus*. A haemogregarina pathogenic for white rats, with a description of the sexual cycle in the host, a mite (*Lelaps Echidninus*). *Hygienic Laboratory*. N° 46, Washington.
- Modrý, D., Beck, R., Hrazdilová, K. & Baneth, G. (2017). A review of methods for detection of Hepatozoon infection in carnivores and arthropod vectors. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 17(1): 66–72.
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Weigl, S., Latrofa, M.S., Stanneck, D., Decapriaris, D., Capelli, G. & Baneth, G. (2011). Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasites & Vectors*. 4:55.
- Palomeque, S.M. (2019). Hepatozoonosis canina: hallazgos hematológicos y bioquímicos en perros de la ciudad de Córdoba, Argentina. Trabajo de Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/85663>.
- Rubini, A.S., Paduan, K.dS., Lopes, V.V.A. & O'Dwyer, L.H. (2008). Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in dogs from rural area of Sao Paulo state, Brazil. *Parasitology Research*. 102(5): 895–899.

- Scodellaro, C.F. (2015). Estudio retrospectivo de caracterización de la hepatozoonosis canina en Buenos Aires. Especialización en Diagnóstico de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/51142>.
- Smith, T.G. (1996). The Genus Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleina). *The Journal of Parasitology*. 82(4): 565–585.
- Vezzani, D., Scodellaro, C.F. & Eiras, D.F. (2017). Hematological and epidemiological characterization of *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 8:90-93.
- Vojta, L., Mrljak, V., Curkovic, S., Zivicnjak, T., Marinculic, A. & Beck, R. (2009). Molecular epidemiology of canine hepatozoonosis in Croatia. *International Journal for Parasitology*. 39(10):1129–1136.
- Wei, F., Song, M., Liu, H., Wang, B., Wang, S., Wang, Z., Ma, H. Li, Z., Zeng, Z., Qian, J. & Liu, Q. (2016). Molecular Detection and Characterization of Zoonotic and Veterinary Pathogens in Ticks from Northeastern China. *Frontiers in Microbiology*. 7:1913.

Reino Protista

Clado o Superphylum Alveolata

Phylum Apicomplexa

Clase Aconoidasida

Orden Haemosporida

Familia Plasmodiidae

Género *Plasmodium*

Familia Haemoproteidae

Género *Haemoproteus*

Familia Leucocytozoidae

Género *Leucocytozoon*

Orden Piroplasmida

Familia Babesiidae

Género *Babesia*

Familia Theileriidae

Género *Rangelia*

CAPÍTULO 10

Plasmodium spp. Paludismo

Gustavo J. Fernández

Generalidades

El paludismo o malaria es una enfermedad parasitaria aguda, producida por un protozoario del género *Plasmodium* que se transmite por la picadura de mosquitos infectados del género *Anopheles*. Se caracteriza por accesos febriles intermitentes (acceso palúdico), esplenomegalia y anemia, que pueden aparecer luego de 15 a 45 días post-infección, dependiendo la especie parasitaria. En poco tiempo puede generar casos letales si no es tratada en forma oportuna con antipalúdicos eficaces (Atías, 1998).

En el mundo más del 90% de los casos y defunciones ocurren en África. La OMS recomienda una estrategia multidimensional para prevenir, controlar y eliminar el paludismo. En las últimas décadas en América ha disminuido su impacto en la salud; países como Chile, Uruguay, Paraguay y Argentina han sido declarados por la OMS como Países libres de paludismo autóctono.

Se pueden implementar medidas de prevención relacionadas a evitar la picadura del vector y a la protección de viajeros a zonas endémicas.

Las especies que afectan al hombre en la mayoría de los casos son *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale*, pudiendo generar infecciones únicas o mixtas en zonas endémicas; más del 90% de las infecciones son generadas *P. vivax* y *P. falciparum*. Recientemente se ha descrito una quinta especie *Plasmodium knowlesi* que ha generado casos en Malasia y otras áreas del sur asiático, Faust et al., 1974; Botero & Restrepo, 2012).

Son nombres alternativos de paludismo, malaria, enfermedad del pantano, fiebre romana.

Ciclo biológico

La biología de los plasmodios se desarrolla en dos hospedadores con alta especificidad, fenómeno complejo que depende de numerosos factores tanto extra como intracelular, en los que inclusive desarrolla diferentes tipos de reproducción sexual o asexual:

Hospedador invertebrado Diferentes especies de mosquitos del género *Anopheles* o zancudos en los que desarrolla la reproducción sexual o esporogónica. Las hembras hematófagas, con hábitos nocturnos o crepusculares se infectan o transmiten esta enfermedad al alimentarse. Las

investigaciones sobre aspectos ecológicos de mosquitos relacionados al paludismo son relevantes al momento de considerar la íntima relación existente entre dichos aspectos y la aparición de enfermos palúdicos, (Salomón, 2009). *Anopheles pseudopunctipennis* y *Anopheles darlingi* presentan una distribución en zonas selváticas del Norte Argentino (principalmente provincias de Salta y Misiones), y junto a otras especies, fueron los transmisores de paludismo o malaria en la década anterior. Estudios comparativos de abundancia y distribución espacial de anofelinos en zonas silvestres modificadas por el hombre y peridomicilio, demostraron una mayor presencia de estas especies, representando un alto riesgo para la transmisión del paludismo, (Dantur et al., 2005; Juri et al., 2013).

Hospedador vertebrado El hombre, en el cual se desarrolla la reproducción asexual o esquizogónica en dos fases: fase hepática, el parásito se desarrolla en los hepatocitos y la fase hemática, afectando a los eritrocitos.

-Ciclo Asexuado o Esquizogonia: se desarrolla en el hombre, cuando es picado por una hembra de *Anopheles*, que, durante el proceso de alimentación, succiona, libera sustancias para favorecer la succión y libera esporozoitos con su saliva. Estas formas parasitarias son finas, ahusadas muy delgadas de 12 a 15 micras de longitud, poseen extremos adaptados para penetrar las células blanco, los hepatocitos. Al liberarse desde la picadura al torrente sanguíneo, llegan al hígado donde se reproducen rápidamente por esquizogonia en los hepatocitos, originando los merozoítos tisulares. Esta fase se llama esquizogonia exoeritrocítica. Es de destacar que en *P. vivax* y *P. ovale* producen una etapa latente (hipnozoítos) que puede persistir en el hígado y causar recaídas al invadir el torrente sanguíneo semanas o incluso años después. Luego de 4 a 7 días son liberados a la circulación, donde afectarán por su tropismo a los eritrocitos; en estos se multiplica en horas, modificando la naturaleza eritrocitaria sensiblemente, generando más tarde su ruptura o hemólisis con manifestaciones clínicas de manera cíclica.

Los merozoítos al penetrar se transforman en trofozoito joven o inmaduro, con un citoplasma circular, una gran vacuola central y el núcleo polar, morfología similar a un anillo con una piedra engarzada (Figura 1); digiere nutrientes como glucosa y electrolitos, fracciona la hemoglobina generando gránulos de pigmentación negra o parduzca “pigmento malárico o hemozoína” (Figura 2).

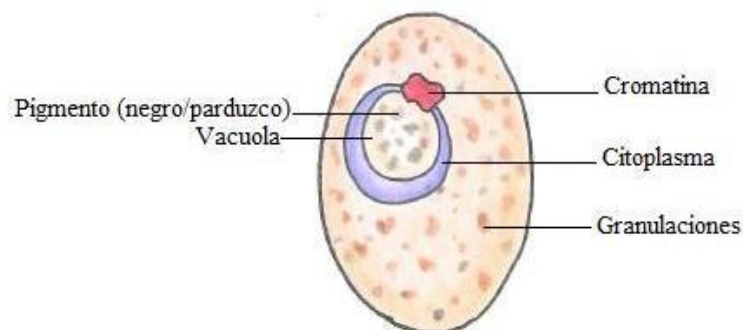


Figura 1. Trofozoito de *Plasmodium* sp.

Plasmodium	Trofozito joven	Trofozito maduro	Esquizonte	Gametocito femenino	Gametocito masculino
<i>P. vivax</i>					
<i>P. falciparum</i>					
<i>P. malariae</i>					
<i>P. ovale</i>					

Figura 2. Morfología comparada de las diferentes especies de Plasmodium.

Los parásitos juveniles se desarrollan y alcanzan la capacidad de multiplicarse por esquizogonia mediante la fragmentación del núcleo y citoplasma, constituyendo pequeñas células, los esquizontes en número que varía entre 4 y 72 dependiendo la especie. Los merozoítos resultantes de la esquizogonia son liberados al torrente sanguíneo infectando nuevos eritrocitos donde continúa el ciclo. Cada ciclo esquizogónico dura 48 horas para *P. vivax*, *P. falciparum*, y *P. ovale*, y 72 hs para *Plasmodium malariae*. Al romperse los eritrocitos se liberan los parásitos y los residuos citoplasmáticos que son fagocitados por macrófagos, principalmente. Este proceso cíclico sigue una a dos semanas en forma de infección inaparente (periodo prepatente) y cuando alcanzan un número significativo, muchos hematíes estallan juntos en el mismo día y aparecen las manifestaciones clínicas o acceso malárico; este acceso se produce por la liberación de merozoítos al plasma. Luego de varios pasajes por multiplicación eritrocitaria, algunos parásitos se diferencian en estadios eritrocíticos sexuales (gametocitos), los gametocitos, masculinos o microgametocitos y femeninos o macrogametocitos.

-Ciclo Sexuado o Esporogonia:

Los gametocitos eritrocíticos sexuales, masculinos y femeninos, son ingeridos por la hembra de *Anopheles* durante su alimentación y en el tubo digestivo desarrollan los gametos. El masculino emite microgametos flagelados, uno de los cuales penetra al gameto femenino, originando el ooquineto, cigoto llamado así por ser móvil; el cual penetra la pared del estómago conformando el esporoquiste. En su interior el parásito se multiplicará originando esporozoítos fusiformes; este proceso dura de 1 a 4 semanas y a su término, el esporoquiste se rompe, liberando esporozoítos que invaden cavidades y las glándulas salivales para salir junto a la saliva que secreta la hembra durante su alimentación, reiniciando así el ciclo biológico (Figura 3). La inoculación de los esporozoítos en un nuevo huésped humano perpetúa el ciclo de vida de la malaria (Trudel, 2005).

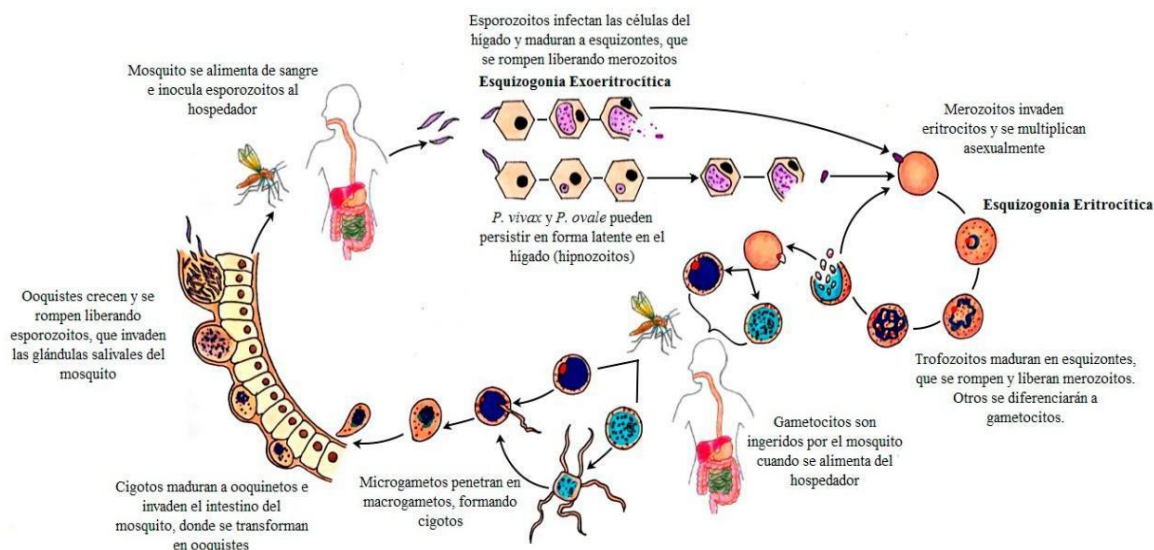


Figura 3: Ciclo biológico en el hospedador vertebrado y en el invertebrado.

Patogenia

La presencia de parásitos en los eritrocitos y su consecuente hemólisis, genera el principal mecanismo de daño tisular y desencadenante de la fisiopatología del paludismo. Productos residuales de esta hemólisis, además del propio daño a los eritrocitos que genera una anemia que progresa rápidamente a grave, impacta en órganos como el hígado, bazo y médula, que reaccionan tratando de compensar este cuadro con su función de eliminación de residuos y la reposición de la población celular afectada desde la hematopoyesis. La anemia producida es hemolítica, normocítica y normocrómica, (Lopez Paez et al.; Ash & Orihel, 2010). Este efecto lítico del eritrocito por la expulsión de los merozoítos, libera además de los parásitos, electrolitos, restos celulares y de hemoglobina, que junto a pirógenos liberados por leucocitos estimulados al detectar los plasmodios en circulación, son en gran parte, responsables de los accesos febriles palúdicos, (Faust et al., 1974; Ash & Orihel, 2010).

Cuadros de fiebre elevada, sostenida y cíclica, generan dificultad para la circulación sanguínea en los órganos, alterando el funcionamiento de la micro circulación que puede obstruirse mediante bloqueo de los capilares y la consecuente anoxia local de los órganos, iniciando así un proceso de injuria, que, en algunos órganos como cerebro, hígado y riñón, pueden deteriorar el estado general de manera importante, produciendo un cuadro grave, (Faust et al., 1974; Ash & Orihel, 1990).

Un fenómeno que se presenta es el desarrollado por células del sistema retículo endotelial del bazo, hígado y médula ósea, donde aumenta la fagocitosis de los eritrocitos parasitados, generando así un importante depósito de pigmento melánico o hemozoína, oscureciendo estas vísceras, que mediante anatomía patológica evidencian un daño tisular, (Faust et al., 1974; Ash & Orihel, 1990).

Aunque la acción de los plasmodios inicia el proceso patológico, los acontecimientos que surgen al avanzar la enfermedad relacionados a respuestas humorales y celulares, son los que producen los daños tisulares y consecuentemente, los cuadros graves y letales, (Faust et al., 1974; Ash & Orihel, 1990).

Signología clínica

La malaria puede presentar periodos de incubación que varían de 10 a 45 días, dependiendo la especie del parásito involucrada; también el periodo prepatente depende de las especies y puede durar de 7 a 16 días.

Se manifiesta principalmente debido a la acción del parásito en la fase eritrocítica (etapa aguda o clínica), dado que la fase hepática tisular previa o pre eritrocítica y la tisular residual, luego de la desaparición de los plasmodios en la sangre, son asintomáticas (etapa crónica o subclínica) (Mandell et al., 1998).

Los síntomas iniciales son fiebre continua, cefalea, mialgias, puede presentarse diarrea, vómito y decaimiento. Luego del periodo de incubación se presentan los accesos febriles intermitentes. De las cuatro especies de parásitos de malaria, sólo *P. falciparum* suele causar formas graves de la enfermedad y muerte. Tanto *P. vivax* como *P. ovale* causan ataques agudos que incapacitan temporalmente y debilitan al paciente, pero raramente llevan a la muerte y *P. malariae* es generalmente más benigno y puede persistir como infección asintomática durante varias décadas. La duración de la infección, si no existe tratamiento, en *P. malariae* puede superar los veinte años, (Mandell et al., 1998; Gorodner & Merino, 2008).

Los accesos febriles tienen un comportamiento particular, se inician con escalofríos de media a una hora de duración, luego dejan sensación de frío intenso. La temperatura sube rápidamente alcanzando 40-41°C, por lo que el paciente experimenta sensación de calor durante tres a seis horas. Luego desciende, genera sudoración profusa y posterior recuperación. Sigue un periodo apirético, describiendo de esta manera picos en intervalos de tiempo propios de la especie parasitaria, (Faust et al., 1984; Mandell et al., 1998).

La importancia clínica de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale* radica en la posibilidad de generar forma latente en el hígado con los denominados hipnozoítos; estos pueden no ser eliminados con el tratamiento (su tratamiento específico es la primaquina) y generar recaída un año más tarde.

La importancia clínica de *Plasmodium falciparum* se origina en su potencial para afectar a numerosos eritrocitos y producir hemólisis severa y rápida, con un daño en órganos como el bazo, donde la acumulación de pigmento genera congestión celular de los capilares sinusoidales, dilatación de los senos, trombosis en capilares y focos de necrosis. En el hígado se produce degeneración por la congestión y necrosis centrolobulillar como consecuencia de la anoxia focal. En los riñones el depósito del pigmento malárico, congestiona la zona cortical y medular, dando glomerulonefritis aguda y pasajera, pero puede evolucionar negativamente.

En cerebro puede generar lesiones graves por diferentes factores como la congestión de los microvasos que pueden producir oclusión y hemorragias con formación de un granuloma alrededor del vaso trombosado, el “granuloma malarico” o malaria cerebral, (Faust et al., 1974; Ash & Orihel, 1990).

La importancia clínica de *Plasmodium malariae* se debe a su afección renal, generando un síndrome nefrótico (proteinuria intensa, hipoalbuminemia y edema) por lesión glomerular, daño basado en acción del complejo antígeno-anticuerpo específico (Mandell et al., 1998).

Plasmodium malariae causa la llamada “fiebre cuartana”, *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale* la “terciana benigna” y *Plasmodium falciparum* la “terciana grave”, que puede producir la muerte por anemia grave, daño cerebral o insuficiencia renal si no es tratada a tiempo por los antipalúdicos (Imagen 3 a 5).



Imagen 1. Curva febril en infección por *P. malariae*

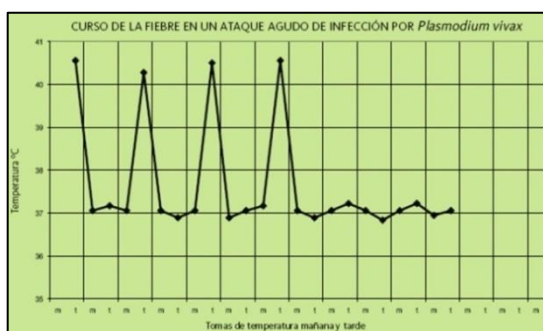


Imagen 2. Curva febril en infección por *P. vivax*



Imagen 3. Curva febril en infección por *P. falciparum*

En las áreas altamente endémicas de malaria (donde cada residente puede recibir varias decenas de picaduras infectantes por año), las formas graves, con alto riesgo de muerte, ocurren generalmente en niños menores de cinco años o en visitantes de áreas indemnes; los supervivientes sufren cada vez menos de la enfermedad hasta llegar a tolerar al parásito. Al tomar muestras de sangre a niños jugando en la calle en un país de África es frecuente encontrar *P. falciparum* (Nájera et al., 2009).

Al evolucionar la enfermedad hacia cuadros más complejos, aparecen otros signos y síntomas que preceden a los accesos febriles como diarrea sanguinolenta, síntomas respiratorios, renales y hepáticos, con ictericia y anemia progresiva. La esplenomegalia puede presentarse y es un signo importante de avance de la enfermedad. Sin tratamiento las formas clínicas pueden evolucionar a graves y en el caso de *P. falciparum* generar complicaciones perniciosas, como ocurre en el neupaludismo (cefalea intensa, somnolencia, confusión mental, delirio, coma), la malaria gastrointestinal (diarrea aguda severa coleriforme o disentérica), shock palúdico (hipotensión e insuficiencia cardiovascular), insuficiencia renal aguda (con oliguria y hemoglobinuria), edema pulmonar agudo e inclusive una forma hiperpirética (fiebre alta, excitación, delirio y convulsiones), que pueden llevar a la muerte, Mandell et al., 1998; Gorodner & Merino, 2008).

Diagnóstico

Para el diagnóstico de paludismo debemos considerar la epidemiología, la clínica y el laboratorio que dará información confirmatoria del diagnóstico y también información sobre la etiología y la carga parasitaria, importante para el tratamiento y seguimiento.

Diagnóstico clínico-epidemiológico

En cuanto a la epidemiología, se debe sospechar de paludismo ante aquel paciente que presenta fiebre sin foco aparente, fiebre paroxística, escalofríos y sudoración. Se deberá investigar antecedentes de exposición (últimos 15 días, en áreas con transmisión activa), ocupación, turismo, desplazamientos, etc.; nexo epidemiológico (tiempo y lugar) con personas que hayan sufrido paludismo; antecedentes de haber recibido transfusión sanguínea, tejidos u órganos de un paciente con antecedentes de peso epidemiológico; antecedentes de medicación antipalúdica en las últimas cuatro semanas y antecedentes de haber tenido paludismo (recaída de *P. vivax* hasta 5 años) (Chin, 2001).

El diagnóstico clínico diferencial de paludismo se debe realizar con una gran variedad de cuadros febriles infecciosos que tienen un curso agudo y manifestaciones clínicas generales, en especial los que cursan con fiebre y esplenomegalia como leishmaniasis visceral, toxoplasmosis aguda, fiebre tifoidea, endocarditis infecciosa, enfermedad de Chagas en fase aguda, tuberculosis miliar, brucelosis y arbovirosis como dengue, Zika y Chikungunya. Cuando el cuadro cursa

con ictericia, especialmente en un caso compatible con paludismo complicado, habría que considerar como diagnóstico diferencial la posibilidad de una hepatitis grave, leptospirosis icterohe-morrágica, fiebre amarilla, septicemia o colangitis. Es prioridad ante la sospecha de paludismo la realización de una prueba diagnóstica parasitológica para confirmar los casos, (Mandell et al., 1998; Chin, 2001).

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio se realiza con diferentes métodos, como el examen directo de frotis y gota gruesa y las pruebas de diagnóstico rápido (TDR). Estas son las principales herramientas de diagnóstico para la confirmación y el manejo de casos clínicos sospechosos de paludismo en todas las situaciones epidemiológicas, incluyendo áreas de baja transmisión, debido a su alto desempeño en la detección de casos de paludismo, su amplia disponibilidad y su relativo bajo costo. Así también, las TDR y la microscopía son herramientas apropiadas para la vigilancia rutinaria del paludismo en la mayoría de las áreas endémicas para esta enfermedad, (Faust et al., 1974; Botero & Restrepo, 2012; Juri et al, 2014).

Examen microscópico directo

De acuerdo a recomendaciones de las normas internacionales esta técnica es la de referencia o Gold standard para efectuar la confirmación diagnóstica de paludismo. Este examen consiste en la identificación microscópica de los parásitos en forma directa con la utilización del microscopio óptico desde muestras de gota gruesa y extendido hemático obtenidas por punción del pulpejo del dedo, como principal recomendación de toma de muestra. Las dos muestras se toman en un solo portaobjetos: gota gruesa, para identificar las estructuras parasitarias, y extendido hemático, para la identificación de especie, (Centro de Control y Prevención de Enfermedades División de Enfermedades Parasitarias y Paludismo, 2020).

La muestra se colorea con May Gründwald-Giemsa para diferenciar aspectos morfológicos de las células y los estadíos parasitarios intra o extra eritrocíticos. Se considera positivo ante la identificación de cualquier estadio del parásito, confirmando el caso. Este método nos permite identificar especies, estadíos (trofozoíto joven, trofozoíto maduro, esquizonte joven, esquizonte maduro, gametocito) y recuento parasitario (parásitos/ μ l), (Trudel, 2005). Cada uno de los estadíos del parásito intracelular en el eritrocito, presenta detalles morfológicos típicos para identificarlos por especie (Cuadro 1).

	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>
Glóbulo rojo infectado	Tamaño aumentado; puntos de Schüffner presentes	Tamaño aumentado; puede ser oval con fimbrias; puntos de Schüffner presentes	Tamaño normal o menor de lo normal	Tamaño normal; pueden observarse hendiduras de Maurer
Fase de anillo (trofozoito precoz)	Bastante grande; uno o dos puntos de cromatina; puede haber dos anillos por eritrocito	Compacto; raramente dos anillos por eritrocito	Compacto; raramente dos anillos por eritrocito	Pequeño y delicado; a menudo dos puntos de cromatina; a menudo dos o más anillos por eritrocito; formas adheridas frecuentes
Trofozoito tardío	Grande; ameboide; pigmento en forma de bastones finos	Pequeño; no ameboide; pigmento granuloso	Pequeño; compacto; a menudo en forma de banda; pigmento granuloso	Tamaño moderado; generalmente compacto; pigmento en gránulos
Esquizonte maduro	Grande; merozoitos grandes (12-24); pigmento coalescente	Más pequeño que <i>P. vivax</i> ; merozoitos (6-12 merozoitos); pigmento más oscuro que en <i>P. vivax</i>	Pequeño; merozoitos grandes (6-12); aspecto de "margarita" característico; pigmento granuloso	Raro en la sangre periférica; merozoitos pequeños (8-26); masa única de pigmento
Gametocitos	Esféricos; compactos; núcleo único; pigmento difuso y granuloso	Parecidos a <i>P. vivax</i> , pero más pequeño	Parecidos a <i>P. vivax</i> pero más pequeños, menos numerosos y sin puntos de Schüffner	En forma semilunar, núcleo único

Cuadro 1: Características morfológicas de los hematíes según especie de *Plasmodium*.
Fuente: Turrientes, M. C., & López-Vélez, R. (2000).

En caso de resultado positivo, posterior al tratamiento específico y adecuado por especie parasitaria infectante, el seguimiento del paciente se realiza con la toma seriada de gota gruesa y extendido hemático, observadas por microscopía óptica para evaluar la eficacia del tratamiento. Las muestras tomadas los días 1 a 3 tienen por objeto detectar la falla terapéutica temprana, entre otras aplicaciones del método parasitológico directo, (Deschutter et al., 2014; Brandt et al., 2018).

Pruebas de diagnóstico rápido

Estas pruebas de diagnóstico rápido se basan en la detección de antígenos derivados de los parásitos palúdicos en sangre lisada, utilizando métodos inmunocromatográficos. La mayoría emplea tiras reactivas que contienen anticuerpos monoclonales anti-antígenos parasitarios. Existen varios Kits comerciales capaces de detectar las cuatro especies de *Plasmodium* que infectan al hombre, dependiendo de los antígenos sobre los que se elaboran.

Una de las principales aplicaciones de estos métodos es el diagnóstico en vigilancia epidemiológica o en búsqueda de casos, como así también se puede implementar en puestos sanitarios sin laboratorio.

Diagnóstico por biología molecular

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método de alta sensibilidad, dado que se trata de un proceso exponencial que permite que pequeñas cantidades de ADN sean detectadas después de la amplificación, permitiendo así la detección de agentes presentes en escasas cantidades de una muestra. Además, posee una alta especificidad ya que emplea oligonucleótidos (primers) específicos que, a través del apareamiento de bases con un ADN complementario, se alinean sólo a la secuencia blanco deseada.

La PCR se usa para identificación *P. falciparum*, con una sensibilidad equivalente a la microscopía; para *P. vivax* la sensibilidad no es tan alta, generando a veces falsos negativos y requiriendo técnicas de hibridación para la detección del producto amplificado.

La aplicabilidad de estas técnicas puede ser considerada útil en las formas con baja parasitemia, en estudios epidemiológicos, en el seguimiento de la terapéutica antipalúdica y en la investigación del paludismo postransfusional, (Nájera et al., 2009; Chin, 2001; Deschutter et al., 2014).

Métodos indirectos

La detección de anticuerpos tipo IgG o IgM contra antígenos del parásito, no es un método de uso rutinario por requerir insumos y equipamiento de alto costo. Su principal uso es en estudios epidemiológicos donde se requiere conocer el estado de inmunidad al paludismo de una población y en el tamizaje para paludismo en algunos bancos de sangre. Los anticuerpos aparecen a los pocos días, se incrementan significativamente en pocas semanas y persisten por meses o inclusive años en pacientes semi inmunes que habitan zonas endémicas. Esta detección es sensible como para el manejo del paciente con sospecha de paludismo agudo.

La técnica de inmunofluorescencia (IF) se considera la prueba serológica estándar para paludismo, sin embargo, es difícil de hacer rutinariamente en escenarios clínicos. Otro método utilizado es el Enzimoimmunoensayo (ELISA) preparado para detectar *P. falciparum* y *P. vivax*. La sensibilidad y la especificidad de la IF es de 70,5 % y 99,6 % respectivamente mientras que para ELISA es de 84,2% y 99,6%, (Nájera et al., 2009; Chin, 2001; Deschutter et al., 2014).

Distribución geográfica

Por registros de la antigüedad se estima su origen en África, diseminada más tarde por el movimiento de las expediciones a la India, Asia Sur-Oriental y costa del Mediterráneo. En el pasado, la malaria era común en las áreas de pantano cercanas a Roma y por ende su nombre se deriva del italiano, (mal-aria) o "mal aire", también se conocía como fiebre romana, (Nájera et al., 2009).

En la actualidad, unos 500 millones de personas están expuestas a la malaria endémica en África, India, Asia Sur-Oriental y América del Sur y se estima que anualmente causa dos y medio millones de muertes, un millón de estas en niños.

En 2016, se estima que hubo 216 millones de casos de paludismo en todo el mundo. La mayoría se registraron en la Región de África de la OMS (90%), seguidos por la Región de Asia Sur-Oriental (7%) y la Región del Mediterráneo Oriental (2%). Se estima que la tasa de incidencia del paludismo disminuyó en un 18% a nivel mundial, de 76 a 63 casos por cada 1000 habitantes en riesgo, entre 2010 y 2016. La región de Asia Sur-Oriental registró el mayor descenso (48%) seguida por las Américas (22%) y la región africana (20%), (OMS “Viajes Internacionales y Salud”: Situación a 1 de enero de 2012, 2012; Angeleri et al., 2018).

Los parásitos requieren, para desarrollarse en el mosquito, una temperatura superior a los 16°C; por ello en climas tropicales su ciclo puede ser continuo, mientras que en climas templados la transmisión es estacional. La infección es más frecuente en el mundo rural, zonas suburbanas y en concentraciones no urbanizadas con malas condiciones higiénico-sanitarias. En América, después de un descenso de casos de paludismo (2005 a 2014) desde de 2015 al 2017 se observó un nuevo aumento notificado por más de varios países. La Argentina redujo el paludismo significativamente; desde el 2005 la tendencia de casos de paludismo por *P. vivax* se mantuvo descendente hasta 2007, donde se registró un pico máximo de 295 casos autóctonos, el 95% de los cuales (281/295) correspondieron al brote de la provincia de Misiones. Luego de este brote, los casos en el país descendieron progresivamente hasta la eliminación de la transmisión local y certificación por parte de la OMS en el 2018, como país libre de paludismo (Brandt et al., 2018) (Gráfico 1).

En el 2010 se notificaron en la Argentina, los últimos casos autóctonos por *P. vivax* para alcanzar en el 2018 la certificación por parte de la OMS como país libre de paludismo, situación que comparte con los países limítrofes de Chile, Paraguay y Uruguay.

Tratamiento

Los esquemas de tratamiento se actualizan periódicamente y dependen de la especie y estado del parásito y del estado clínico; es también importante conocer la eficacia del antiparasitario, dado que por naturaleza existe resistencia en algunas especies de plasmodios.

En el tratamiento para paludismo no complicado por *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi* se puede utilizar la Cloroquina (esquizonticida y gametocida sanguíneo, elimina parásitos circulantes durante la fase sanguínea evitando la patogenia y manifestaciones clínicas) siempre que no exista resistencia y se debe investigar antecedentes de viaje, origen del paciente, etc., antes de instaurar el mismo; si se sospecha resistencia, esquema combinado con derivados de artemisinina (TCA) artemeter & lumefantrina, (Mandell et al., 1998; Brandt et al., 2018; Angeleri et al., 2018).

En el caso de paludismo por *P. vivax* y *P. ovale*, es prioritario eliminar los hipnozoítos (fase hepática), realizar un ciclo completo con primaquina (hipnozoitocida) que asegura la erradicación de las formas latentes, responsables de las recaídas, (Mandell et al., 1998; Brandt et al., 2018; Angeleri et al., 2018).

En el caso de tratamiento para paludismo no complicado por *P. falciparum*, existen diferentes combinaciones de antipalúdicos (tratamientos combinados con base en la artemisinina). En Argentina, la combinación disponible es artemeter + lumefantrina, (Brandt et al., 2018; Angeleri et al., 2018).

Profilaxis

Las poblaciones expuestas de zona endémica deberán evitar las picaduras por anofelinos, para lo cual deberán implementar medidas de protección en las viviendas como el uso de telas mosquiteras, repelentes líquidos o termo evaporables, espirales, etc.; y personales como la aplicación de repelentes líquidos, aceites, cremas, etc.; es importante evitar exposición a las picaduras evitando circular en zonas de criaderos del mosquito y en horarios del crepusculares.

En relación al viajero, deberá informarse sobre la situación del paludismo en la región a visitar y realizar quimioprofilaxis en la mayoría de los casos (OMS, 2013).

Referencias

- Acha, P.N. & Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*: Volumen III. Parasitosis. Publicación Científica y Técnica N°. 580. Organización Panamericana de la Salud. 3 Ed. Washington, D.C. EUA.
- Angeleri, P.; Brandt, L.; Basilio, M.; Provecho, Y.; Ochoa, C.; Gómez, A.; Hertlein, C.; Lloveras, S. & Mañana, A. (2018). *Guía para el manejo clínico de casos de paludismo en Argentina en contexto de eliminación*. Ministerio de Salud Pública de la Nación. Buenos Aires. Argentina.
- Ash, L.R. & Orihel, T.C. (1990). *Atlas de Patologías de las Enfermedades Parasitarias*. 3er. Edición.
- Ash, L.R. & Orihel, T.C. (2010). *Atlas de Parasitología humana*. Edit. Médica Panamericana.
- Atías, A. (1998). *Parasitología médica*. Edit. Mediterráneo. 616 pp.
- Botero, D. & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis humanas*. Corporación para investigaciones Biológicas CIB.
- Brandt, L.; Basilio, M.; Provecho, Y.; Ochoa, C.; Mañana, A. & Introiini, V. (2018). *Plan de prevención del restablecimiento de Paludismo en la Argentina*. Min. de Salud Pública de la Nación. Recuperado de: <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/paludismo/files/2019/03/Plan-de-Prevenci%C3%B3n-del-restablecimiento-del-paludismo-en-Argentina.pdf>.

- Centro de Control y Prevención de Enfermedades CDC. División de Enfermedades Parasitarias y Paludismo. (2020). Recuperado de: www.cdc.gov/parasites/ y <https://www.cdc.gov/dpdx/index.html>.
- Chin, J. (2001). *El control de las enfermedades transmisibles*. Organización Panamericana de la Salud.
- Dantur Juri, M.J., Zaidenberg, M. & Almiron, W.R. (2005). Distribución espacial de *Anopheles pseudopunctipennis* en las Yungas de Salta, Argentina.
- Deschutter, J.E.; Silva, G.A; Galarza, R.F; Martínez, R.A.; Capaccio, P.N. & Grenon, S.L. (2014). *Enfermedades hemoparasitarias y ectoparasitarias de importancia regional*. Posadas. Edit. Universitaria.
- PAHO. *Estrategia para la toma de decisiones en el marco del manejo integrado de vectores de Malaria* (2013). AMII/ RAVREDA. OPS. Recuperado de: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/31362>
- Faust, E.C., Russell, P.F. & Jung, R.C. (1974). Parasitología clínica. In *Parasitología clínica*. pp. 888-888.
- Flisser Steinbruch, A. (2006). *Aprendizaje de la Parasitología: basado en problemas*. ETM. 610 pp.
- Gorodner, J.O. & Merino, D.E. (2008). Patologías regionales y enfermedades emergentes. In *Patologías regionales y enfermedades emergentes*. pp. 208-208.
- Juri, M.J.D., Galante, G.B., Zaidenberg, M., Almirón, W.R., Claps, G.L. & Santana, M. (2014). Longitudinal study of the species composition and spatio-temporal abundance of *Anopheles* larvae in a malaria risk area in Argentina. *Florida Entomologist*. 1167-1181.
- López Páez, M.C.; Corredor Arjona, A.; Nicholls Orejuela, S.N.; Duque Beltrán, S.; Reyes Harker, S.; Rodríguez Toro B. (2012). *Atlas de Parasitología*. 2da. Ed. Edit. Moderno, Colombia. 262 pp.
- Louise Trudel, M. (2005). *Identification morphologique des parasites de la Malaria*, Institut National de santé publique du Québec, Québec. Canadá. 30 pp.
- Mandell, G.L; Bennett, J.E. & Dolin, R. (1998). *Enfermedades infecciosas. Principios y prácticas*. 4ta. Ed. Buenos Aires, Argentina. Edit. Panamericana. 3960 pp.
- OMS. (2012). *Viajes Internacionales y Salud: Situación a 1 de enero de 2012*. Sanidad. Organización Mundial de la Salud. Recuperado de: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/docs/viajes_internacionales_y_salud_2012.pdf.
- OMS. (2018). *Reglamento Sanitario Internacional*. Comités de Emergencias. RSI. Recuperado de: <http://www.who.int/features/qa/39/es/>
- Salomón, O.D. (2010). *Actualización en Artrópodos de Interés Sanitario II*. Publicaciones Argentinas 2004-2009 Ministerio de Salud de la Nación ANLIS - CENDIE 1ra Edición Bs. As.
- Turrientes, M.C. & López-Vélez, R. (2000). *Aspectos prácticos del diagnóstico de laboratorio y profilaxis de la malaria*. Madrid: Unidad de Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal.
- World Health Organization. (1995). *Techniques de base pour le diagnostic microscopique du paludisme*. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- Zaman, V. (1988). *Atlas color de parasitología clínica*. 2da. Ed. Editorial Médica Panamericana.

CAPÍTULO 11

Haemoproteus spp. Haemoproteosis

María Florencia Unzaga

Generalidades

Los hemosporídeos son un grupo de protistas obligados, que habitan anfibios, reptiles, aves y mamíferos siendo transmitidos por vectores, insectos dípteros chupadores de sangre. Se describen más de 1300 linajes genéticos únicos de estos parásitos sanguíneos aviares que se hallan distribuidos en más de 40 países (Clark et al., 2014; Valkiūnas, 2005). Los hemosporídeos constituyen un conjunto de protozoos apicomplexa muy estudiados ya que, incluyen el *Plasmodium* agente de la malaria, una de las enfermedades más frecuentes en humanos con gran prevalencia en países de clima cálido. En este sentido, los hemosporídeos de los pájaros juegan un rol importante como modelo de estudio en la malaria humana ya que, han permitido realizar un gran número de investigaciones científicas en relación tanto a comprender el ciclo de vida parasitario como a desarrollar drogas o vacunas para su tratamiento y control. Asimismo, el estudio de los hemoparásitos aviares es de valor en el campo de la ecología brindando una oportunidad única de realizar investigaciones tanto en poblaciones de vida libre como en individuos en cautividad (Valkiūnas, 2005).

Otros géneros de hemoparásitos como *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* y *Garniidae* se pueden hallar en gran cantidad de familias aviares ocasionando descenso en los índices productivos y alta mortalidad en animales silvestres (Hussein et al., 2016).

Los *Haemoproteus* se encuentran entre los parásitos sanguíneos más comunes y mundialmente distribuidos. Aunque todavía se desconoce en gran medida la significación clínica de estos microorganismos como potenciales agentes de enfermedades en poblaciones de aves silvestres, algunas especies de *Haemoproteus* pueden ser altamente patógenos, causando severa miositis en diferentes tipos de aves o afectar órganos vitales como hígado y pulmones (Atkinson et al., 2008).

La mayoría de las especies de *Haemoproteus* son específicas en cuanto a la especie de ave hospedadora (Campbell et al., 2008).

En el presente libro describiremos la hemoproteosis teniendo en cuenta a *Pseudolynchia canariensis* como insecto hospedador definitivo y a la paloma como hospedador aviar y por ello, haremos referencia a las características de *Haemoproteus columbae* (Trigueros Venegas, 2015).

Morfología

Haemoproteus solo aparecen en la sangre periférica de las aves como gametocitos. En *Haemoproteus columbae* como en el resto de los hemoproteídos, los gametocitos varían morfológicamente pudiendo observarse ya sea como pequeños anillos, formas alargadas similares a salchichas o media lunas que rodean parcialmente el núcleo de los glóbulos rojos, dando lugar a la formación de las denominadas formas “halter”. Los gametocitos maduros ocupan más de la mitad del citoplasma del eritrocito invadido, desplazando el núcleo celular. Los gametocitos de *Haemoproteus columbae* contienen gránulos de pigmento amarillo- amarronado, refráctiles (hemozoína), que son depósitos de hierro producto de la liberación de la hemoglobina cuando las células son habitadas por las formas parasitarias. Los eritrocitos infectados con este hemosporídeo son más grandes de lo normal, motivo por el cual la célula se muestra más frágil y propensa a cambios patológicos.

Con respecto al tamaño, se describe a los macrogametocitos como estructuras de 13 a 15 μm x 3.5 a 6.5 μm y a los microgametocitos de 10 a 12 μm x 1.5 a 5 μm , según lo observado por distintos autores.

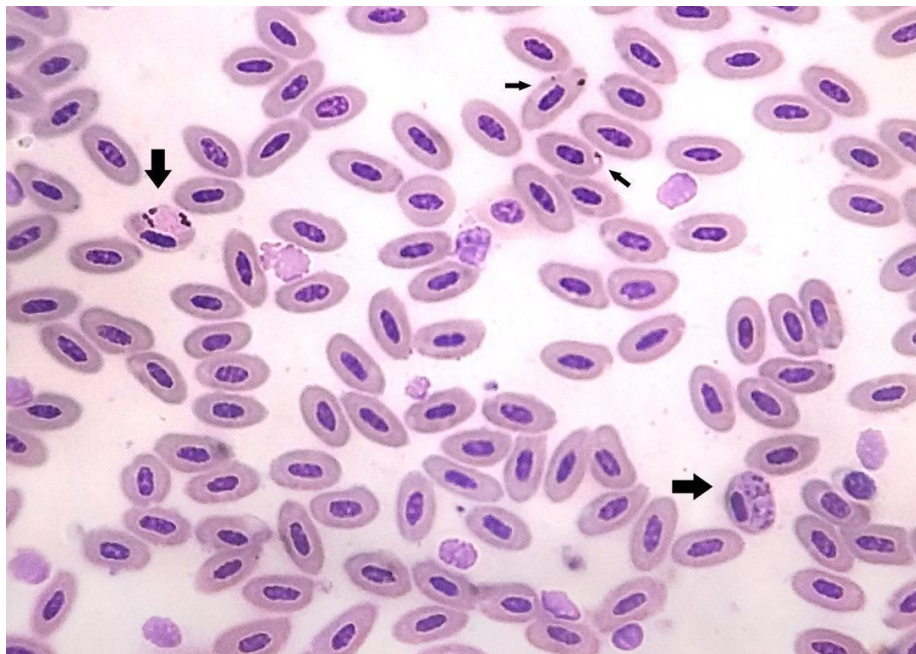


Imagen 1. Eritrocitos parasitados con gametocitos de *Haemoproteus* (flechas). 100X.
Colección de la Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos. FCV-UNLP.

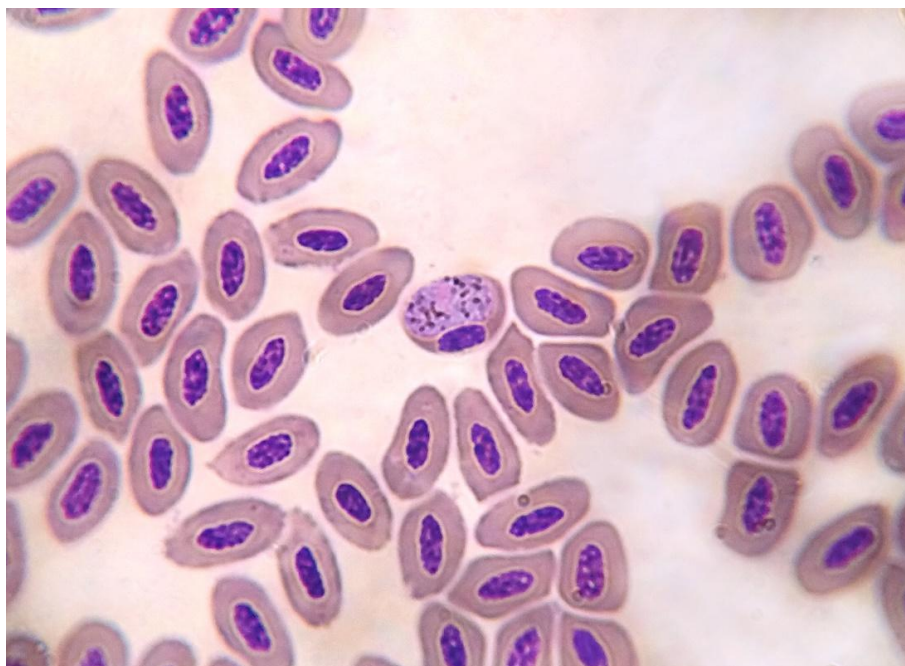


Imagen 2. Gránulos de hemozoína en el citoplasma del gametocito. 100X.
Colección de la Cátedra de Patología de Aves y Pílferos. FCV-UNLP.

En ocasiones, podemos encontrar macrogametocitos y microgametocitos en frotis sanguíneos de aves cuyas muestras fueron tomadas varias horas antes de realizar las observaciones al microscopio. Los macrogametos extra-eritrocíticos son circulares y de aspecto similar a los encontrados dentro de los glóbulos rojos. Los microgametos son estructuras pequeñas con forma de huso (Campbell et al., 2007; Trigueros Venegas, 2015).

Para identificar las distintas especies de *Haemoproteus* suelen utilizarse indicadores morfológicos tales como el tamaño, nivel de desplazamiento y cantidad de gránulos que posee el parásito, el grado de alargamiento de la célula hospedadora y el modo en el que éste rodea el núcleo de la misma.

Transmisión y formas de diseminación

Haemoproteus son transmitidos por insectos vectores chupadores de sangre como moscas hipobóscidas como *Pseudolynchia canariensis* y en algunos casos, dípteros del género *Culicoides*. El insecto hospedador ingiere los gametocitos de *Haemoproteus* mientras se está alimentando de un ave hospedadora infectada. Los gametocitos llevan a cabo una serie de etapas de desarrollo para convertirse en esporozoítos dentro de las glándulas salivales del insecto vector. Cuando éste último vuelve a picar un ave, le transmite los esporozoítos, comenzando así la infección del animal hospedador. De este modo, los esporozoítos penetran las células endoteliales vasculares de diferentes tejidos tales como pulmón, hígado, médula ósea y bazo de las aves, iniciando entonces la esquizogonia (Campbell et al., 2007).

Ciclo biológico

El ciclo de vida de los hemosporídeos de las aves es complejo ya que, durante su desarrollo cambian de hospedadores y formas de reproducción, evolucionando en distintos estadios desde el punto de vista morfológico y funcional (Valkūnias, 2005). El esquema general de su ciclo biológico ha sido bien descrito tomándose como procesos fundamentales el hecho de desarrollarse en dos grupos de hospedadores: vertebrados (aves), que actúan como hospedadores intermedios e insectos vectores chupadores de sangre (dípteros), en los que se lleva a cabo la reproducción sexual cumpliendo los mismos el rol de hospedadores definitivos (Figura 1).

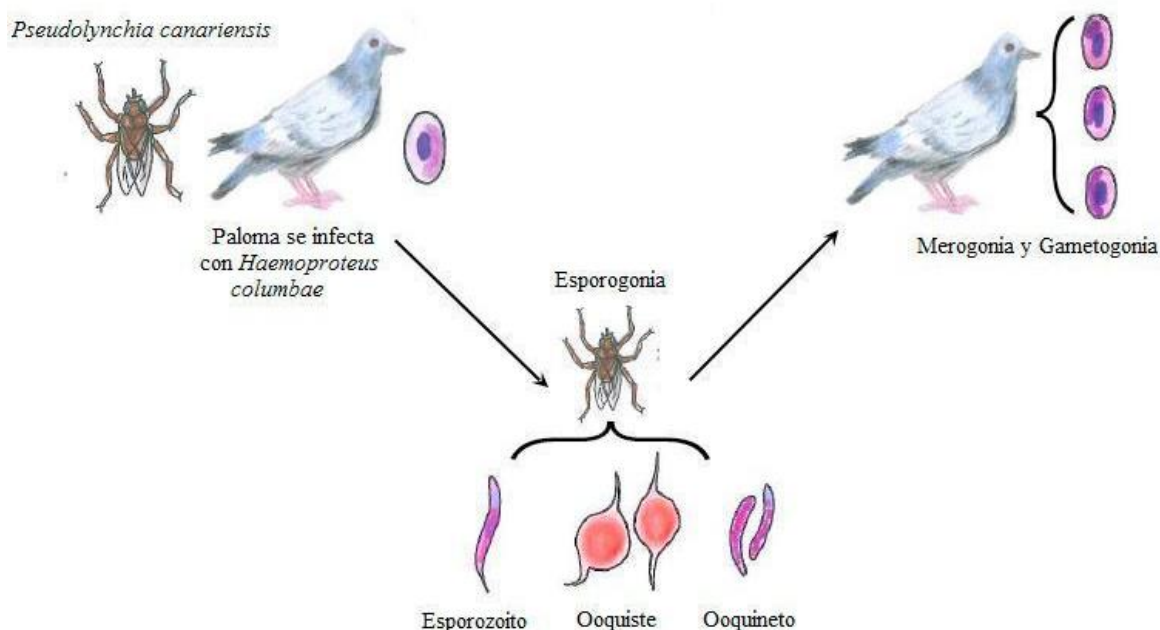


Figura 1. Ciclo biológico de los hemosporídeos.

Como mencionáramos al describir mecanismos de transmisión de la hemoproteosis, los insectos vectores chupadores de sangre inoculan esporozoítos al ave cuando se alimentan de la misma, desencadenando la reproducción asexual en las células de diversos tejidos del hospedador intermedio y originando merontes-eritrocitarios o esquizontes. Así, en el animal hospedador ocurren muchas etapas de división asexual conocidas como merogonia o esquizogonia dando origen a merozoítos que se distribuyen en todo el organismo.

Cabe destacar que, según diversos autores, la primera descripción sobre las formas exo-eritocíticas de hemosporídeos fue realizada en Brasil por Aragão en 1908, quien describió la presencia de merontes de *Haemoproteus columbae* en las células endoteliales de pulmón de palomas.

Si hablamos de *Haemoproteus columbae* diremos que, éste produce merozoítos que invaden los eritrocitos de la paloma hospedadora y sus gametocitos pueden hallarse dentro los mismos. Como los esporozoítos de *Haemoproteus columbae* se alojan en las células endoteliales de la

paloma, cuando éstas se necrosan producto de la invasión del parásito, los merozoítos son liberados al torrente sanguíneo penetrando los eritrocitos y transformándose en gametocitos, los cuales son ingeridos por insectos hospedadores completando así el ciclo (Campbell et al., 2007).

Los gamontes o gametocitos poseen la potencia sexual de producir gametas que se clasifican como macrogametocitos y microgametocitos. Estos aparecen por primera vez a los 30 días post infección. Los macrogametocitos se diferencian con facilidad de los microgametocitos por sus particularidades morfológicas ya que, suelen tener un citoplasma que se tiñe intensamente y un núcleo compacto de contorno neto. Además, el núcleo de estas gametas posee un nucléolo, a diferencia de los microgametocitos en el que dicho nucléolo no se encuentra presente. Otra característica de los *Haemoproteus* es que poseen gránulos de pigmento (hemozoína) que suele ubicarse hacia el final del cuerpo de los microgametos, depósitos que raramente se encuentran en los macrogametos.

Rápidamente luego de picar un ave infectada, los gametocitos inician la gametogénesis en el intestino medio de los vectores definitivos y como resultado de la reproducción sexual, estos se liberan de las células hospedadoras. Se infiere que uno de los principales estímulos para el comienzo de la gametogénesis, es la variación en la concentración de oxígeno y dióxido de carbono, cuando la sangre pasa del animal hospedador al vector. Un macrogametocito produce otro macrogameto circular mientras que, los microgametocitos sufren un proceso de exflagelación, lo que deriva en la formación de ocho microgametos móviles con apariencia de hilo. La fertilización ocurre extracelularmente. El cigoto se convierte en un ooquinetto móvil y alargado, que penetra el epitelio del intestino medio y desarrollará en un ooquiste, el cual estará rodeado de una pared capsular hecha con materiales del hospedador. Durante dicha esporogonia se desarrollan numerosos esporozoítos (Valkūnias, 2005), que son liberados al hemocele del vector pasando así a sus glándulas salivales, para ser inoculados en un nuevo hospedador intermediario (Trigueros Venegas, 2015).

Patogenia y signología clínica

Una vez producida la infección de una paloma con *Haemoproteus columbae*, ocurren una serie de eventos en el hospedador intermediario afectado, que incluyen distintas etapas que caracterizan esta parasitosis. Así podemos describir, el tiempo de prepatencia en el cual el parásito evoluciona más allá del torrente sanguíneo, el período agudo caracterizado por un aumento de la parasitemia y la presencia de formas parasitarias en la sangre, el momento más álgido de la enfermedad cuando la parasitemia alcanza su pico máximo y los períodos crónicos y de latencia cuando la parasitemia desciende marcadamente cuando se desencadena la respuesta inmune del hospedador.

Por lo general, los hemoparásitos permanecen varios años y/o durante toda la vida en las aves parasitadas, siendo una fuente permanente de infección para los vectores. Es frecuente que en la etapa de postura las aves sean más propensas a padecer hemospiridiosis ya que,

el gasto energético que supone la reproducción es un factor predisponente para que desciende el estatus inmunitario de los hospedadores intermediarios siendo más susceptibles a la picadura del vector; como así también, se debe tener en cuenta este hecho en la transmisión de los parásitos a la descendencia.

El nivel de parasitosis de las aves puede usarse como un indicador del estado sanitario, teniendo en cuenta la evolución de las mismas, luego de estar expuestas a traumas o padecer enfermedades. Se ha visto que a medida que los animales se recuperan de las injurias desciende el grado de parasitemia, lo que probablemente vaya de la mano con el aumento de la inmunidad del ave cuando las mismas se hallan libres de hemoparásitos.

Aunque la presencia de parásitos sanguíneos puede no derivar en cuadros clínicos relevantes en aves silvestres, los mismos pueden ocasionar anemias severas y hasta letales ya sea, que se hallen infecciones simples o mixtas, cuando los animales son infectados por más de un género parasitario (Campbell et al., 2007).

Con respecto a la paloma, *Haemoproteus columbae* es de interés como entidad parasitaria, al examinar poblaciones tanto de animales silvestres como en cautiverio. Como mencionamos anteriormente, los ejemplares adultos cursan esta parasitosis en forma asintomática, subclínica o con cuadros clínicos que no revisten gravedad. Sin embargo, este hemosporídeo puede ser la causa de patologías con considerable índice de mortalidad cuando afecta pichones o aves muy jóvenes en sus nidos en especial, si los individuos presentan enfermedades concomitantes que interfieren su inmunidad. Por lo dicho, el estrés y los factores externos que puedan interferir en el sistema de defensa de las palomas pueden derivar en alteraciones de los índices productivos, reproductivos y la performance deportiva de las mismas, como suele verse en el desempeño de las palomas de carrera cuando están infectadas con *Haemoproteus columbae* (Harrison et al., 1994).

La hemoproteosis puede cursar con signos inespecíficos como anorexia, palidez de las mucosas, diarrea, postración y depresión en palomas como así también, originar presentaciones clínicas en las que se destaca la anemia hemolítica que sufre los animales. Es probable que dicha anemia sea consecuencia de la lisis de los eritrocitos parasitados ya que, la presencia de *Haemoproteus* dentro de los mismos deriva en la fragilidad de las células sanguíneas. De este modo, esta parasitosis produce cambios hematológicos destacándose, anemia y leucocitosis.

En las aves necropsiadas se puede observar hepatomegalia, esplenomegalia, edema pulmonar, hipertrofia de la molleja y de los riñones, lesiones macroscópicas que también pueden confirmarse en ejemplares vivos mediante estudios radiológicos (Harrison et al., 1994). Cuando se realizan estudios histopatológicos, podemos encontrar esquizontes en las células endoteliales de pulmón, hígado, bazo, riñón, músculo esquelético y cardíaco, de las palomas parasitadas. Como consecuencia de las lesiones vasculares originadas por la presencia de *Haemoproteus columbae* en hígado, se ha descrito lesiones endoteliales de los vasos portales y degeneración de hepatocitos y en el caso de dicha parasitosis pulmonar, neumonías intersticiales que causaron altos niveles de mortalidad en palomas.

Distribución Geográfica

La diversidad de especies de hemosporídeos puede deberse a diferentes grados de especialización en el hospedador, una estrategia en cuanto al modo de vida que les permite compartir recursos de la naturaleza y coexistir entre las distintas especies parasitarias. Los estudios realizados por diferentes autores hacen pensar que, los *Haemoproteus* tienden a ser especie-específicos, lo que explicaría la multiplicidad de estos parásitos sanguíneos en los continentes dependiendo de la biodiversidad aviar. Así ocurre que, la abundancia de posibles hospedadores intermediarios favorece la presencia de nichos parasitarios y el tiempo de permanencia de los mismos en la naturaleza, hace que se hallen mayores reportes de infecciones secundarias o mixtas con *Haemoproteus* frente a otros hemoproteídos (Clark et al., 2014).

Se han determinado poblaciones aviares libres de hemoparásitos en distintas partes del mundo, mientras que en otras latitudes, suelen hallarse infecciones mixtas cuando se realizan frotis sanguíneos. Las aves en libertad cursan con parasitosis de presentación estacional observándose distintos grados de parasitemia. Factores como la edad y los efectos colaterales del cautiverio pueden afectar el hallazgo de hemosporídeos en los ejemplares estudiados. Así, es más común hallar *Haemoproteus* en animales que viven en cautividad por más de un año, que en los pichones (Campbell et al., 2007).

Los *Haemoproteus* son los parásitos sanguíneos más frecuentemente hallados en pájaros, habiendo sido reportado en más de un 70 % de las especies aviares conocidas, en especial en regiones tropicales y subtropicales. Este hecho también es válido cuando analizamos el hábitat de sus posibles vectores en la naturaleza, tanto la mosca *Pseudolynchia canariensis* como los dípteros del género *Culicoides*. (Clark et al., 2014; Hussein et al., 2016). Sud América constituye una excepción de diversidad geográfica para el desarrollo de los distintos linajes de *Haemoproteus* frente a lo visto para *Plasmodium* sp. La falta de hemoproteídos en algunos archipiélagos tales como Hawai o la Polinesia Francesa puede deberse a la ausencia de vectores apropiados. Por otro lado, los parásitos de este género son muy frecuentes en poblaciones de pájaros de la región Sub-Sahariana o Europa Oeste.

Los estudios sobre diversidad de distribución de *Haemoproteus* son importantes para entender el desarrollo de la hemoproteosis en la naturaleza, en especial para conocer los factores de virulencia y el índice de mortalidad causados por la acción de estos agentes patógenos, tanto en los hospedadores intermediarios como en los definitivos (Clark et al., 2014).

Especies

Se describe a los hemosporídeos aviares como agentes de baja patogenicidad, que pueden afectar ejemplares de las familias columbiformes, anseriformes, paseriformes y falconiformes, entre los grupos de aves más conocidas (Trigueros Venegas, 2015).

Se puede considerar a *Haemoproteus columbae* como la especie de estos parásitos sanguíneos más importante, por ser el primer hemoproteído descrito en el mundo por Krause en 1890. Sin embargo, existen una cantidad de otros agentes de este grupo que afectan diferentes tipos de aves con manifestaciones subclínicas, hallados en distintas partes del mundo.

Así, en el trópico peruano se ha identificado a *Haemoproteus nettionis* el cual produce parasitemia en patos domésticos Muscovy (*Cairina moschata*) y patos de Pekin (*Anas platyrhynchos*), cursando en general asintóticamente, aunque, manifestando en algunos casos signología respiratoria a causa de neumonitis. También se observó la presencia de lesiones en hígado, bazo y fibras cardíacas.

En Colombia se determinó la presencia de *Haemoproteus macrovacuolatus* en patos silvestres llamados Iguaza Común (*Dendrocygna autumnalis*). Este hemoparásito se caracteriza por tener uno o varios macrogametocitos ovalados grandes con vacuolas redondeadas conspicuas, una característica única en los hemoproteídos descritos en las aves (Matta et al., 2001).

Otras especies que podemos considerar son *Haemoproteus sacharovi* encontrado en tórtolas, *Haemoproteus lophortyx* en codornices, *Haemoproteus meleagridis* en pavos y *Haemoproteus handai* en distintas variedades de psitácidos.

Hay reportes de otros *Haemoproteus* que infectan galliformes tales como *Haemoproteus mansoni*, siendo su hospedador definitivo el mosquito *Culicoides sphagnumensis*.

Diversos autores han descrito la presencia de *Haemoproteus velans*, *Haemoproteus fringillae*, *Haemoproteus danilewskii*, *Haemoproteus balmorali*, *Haemoproteus dolniki*, *Haemoproteus tartakovskiyi*, *Haemoproteus belopoloskiyi* y *Haemoproteus lanii*, habitando distintas aves del orden paseriforme (Bennet et al., 1990).

Diagnóstico

El diagnóstico de la presencia de *Haemoproteus columbae* en palomas, suele realizarse observando al microscopio óptico frotis sanguíneos obtenidos de las mismas por punción axilar, usando dos tipos de coloraciones. Las muestras teñidas con Giemsa revelan el citoplasma del glóbulo rojo celeste claro mientras que el núcleo celular y los gametocitos se ven azules. Cuando se usa la técnica de Wright el citoplasma del eritrocito se tiñe de color rosa claro, el núcleo rosado oscuro, observándose los macrogametocitos con un citoplasma celeste y núcleo rosado con gránulos oscuros, distribuidos por todo el citoplasma. En los microgametocitos los gránulos se hallan concentrados en el citoplasma de los polos.

Según diversos autores es importante el estudio de los ejemplares parasitados mediante determinaciones sanguíneas que incluyen cantidad de hemoglobina, porcentaje de hematocrito y recuento total de glóbulos rojos y blancos, para valorar clínicamente el nivel de parasitosis (Trigueros Venegas, 2015).

Asimismo, el diagnóstico de hemoproteosis en la paloma puede realizarse mediante el hallazgo de esquizontes de *Haemoproteus columbae* en muestras citológicas o histopatológicas

de tejidos infectados. Dichos esquizontes se observan como quistes grandes y circulares que contienen numerosos cuerpos multinucleados que liberan gran cantidad de merozoítos (Campbell et al., 2007).

Como hemos visto el modo de vida, la morfología y clasificación de hemosporídeos aviares ha sido estudiado con microscopía óptica, el diagnóstico de hemoproteosis puede también realizarse mediante pruebas serológicas como ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) y PCR (reacción en cadena de polimerasa), (Clark et al., 2014). Si bien, en la actualidad se han identificado más de 100 especies de hemoproteídos utilizando estudios de morfometría de frotis coloreados como describiéramos anteriormente, la innovación tecnológica mediante pruebas de PCR ha permitido mediante el estudio del ADN, tener mayor eficacia y precisión en el hallazgo de nuevas especies con el conocimiento de la genética parasitaria y la especificidad de hospedadores, especialmente en los casos clínicos de ejemplares con bajos niveles de parasitemia. No obstante, la observación microscópica de frotis sanguíneos sigue siendo la herramienta fundamental para el diagnóstico de hemosporídeos.

Tratamiento

Debido a que la mayor parte de las especies de *Haemoproteus*, son apatógenos para sus hospedadores aviares, no es habitual realizar tratamientos para los mismos. Incluso al momento de plantear esquemas de tratamiento, debe tenerse en cuenta la complejidad tanto en el control de aves silvestres, como la relación costo/ beneficio al utilizar medicamentos en ejemplares en cautiverio. En el caso de *Haemoproteus columbae* que afecta a la paloma pudiendo causar los cuadros clínicos descritos en el presente trabajo, es de interés el tratamiento con drogas anti-maláricas. Así la quinacrina es eficaz frente a gamontes jóvenes y la primaquina ha demostrado disminuir los índices de mortalidad de los ejemplares frente a los animales no tratados. Además, entre los criadores de palomas de carrera sigue siendo muy difundido en algunos países el uso tanto de cloroquina como la administración de quinacrina. Diversos autores han propuesto esquemas de terapias basados en el uso de combinaciones de sulfonamidas y primetamina: sulfametoxin + pirimetamina o sulfaquinoxalina + trimetoprima. Para el tratamiento de gallos de riña se ha ensayado la administración de sulfato de cloroquina (Atkinson et al., 2008; Harrison et al., 1994; Triguero Venegas, 2015).

Profilaxis

Para proteger a las aves de posibles parasitosis causadas por las distintas especies de *Haemoproteus* es necesario emplear una serie de principios de bioseguridad.

Cuando nos referimos a evitar cuadros clínicos en palomas, se tratará de evitar el contacto con el díptero vector *Pseudolynchia canariensis* el cual transmite *Haemoproteus columbae*,

colocando mallas o mosquiteros en las granjas y fumigando frecuentemente con insecticidas provocando el descenso de la masa poblacional del mismo. Además, se recomienda evitar fuentes de agua que estén al descubierto donde los vectores pueden multiplicarse ya sea, pozos, estanques o recipientes cercanos a los galpones; así como, el control biológico de las aguas con peces controladores o consumidores de larvas. Muchos criadores de aves recurren al uso de fármacos antimaláricos en el agua de bebida como mecanismo para prevenir la infestación con hemosporídeos.

Los procedimientos que hemos comentado son válidos para el control de otros vectores que transmiten estos parásitos sanguíneos en distintas especies aviares, como los dípteros del género *Culicoides*.

Importancia en salud pública

No se han reportado casos de *haemoproteosis* en humanos y ninguna de las especies de este hemoparásito es relevante para la salud pública.

Referencias

- Aragao, H.B. (1908). Sobre o cyclo evolutivo e a transmissao do *Haemoproteus columbae*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 11: 416-419.
- Atkinson, C.T., Thomas, N.J. & Hunter, D.B. Ed. (2009). *Parasitic diseases of wild birds*. EE.UU. John Wiley & Sons.
- Bell, J.A. Weckstein, J.D. Fecchio, A. & Vasyl, V.T. (2015). A new real-time PCR protocol for detection of avian haemosporidians. *Parasites & vectors*. 8: 383.
- Bennett, G.F. & Peirce, M.A. (1990). The haemoproteid parasites of the pigeons and doves (family columbidae). *Journal of Natural History* 24: 311-325.
- Campbell, T.W. Ellis, C.K. (2007). *Avian and exotic animal hematology and cytology*. ISBN-13: 978-0-8138-1811-5.
- Clark, N.J. Clegg, S.M. & Lima, M.R. (2014). A review of global diversity in avian Haemosporidians (Plasmodium and culicoides: Haemosporida): New Insights from molecular data. *International Journal for Parasitology*. 44: 329-338.
- Ritchie, B.W., Harrison, G.J. & Harrison, L.R. (1994). *Avian medicine: principles and application*. Wingers Publ. Inc., Lake Worth, FL.
- Hussein, N.M. & Abdelrahim, E.A. (2016). *Haemoproteus columbae* infection and its histopathological effects on pigeons in Qena Governorate, Egypt. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 11(1): 79-90.
- Matta, N.E. & Rodriguez, O.A. (2001). Hemoparásitos aviares. *Acta Biológica Colombiana*, 6(1). pp. 27-34.

Serena Montoro, M.A. (2015). *Detección de hemoparásitos en sangre de aves*. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaen.

Trigueros Venegas, A. (2015). *Hemoparasitosis de las aves domésticas en el trópico peruano*. Perú. Pucallpa FMV-UNMSM.

Valkiunas, G. (2005). *Avian malaria parasites and other haemosporidia* CRC Press. Florida, Boca Raton.

CAPÍTULO 12

Leucocytozoon spp. Leucocytozoonosis

Sergio I. Garijo

Generalidades

La leucocytozoonosis es una parasitosis de las aves producida por especies de Haemosporida (Apicomplexa) pertenecientes a la familia Leucocytozoidae, de ciclo indirecto y de distribución mundial, transmitida por vectores dípteros hematófagos. Luego de que Vasily Danilevsky publicara su artículo "About Blood Parasites (Haematozoa)" en 1884 y sentara las bases para el desarrollo de una nueva disciplina, la hemoprotozoología, se esparce por el mundo el creciente interés por la investigación de los parásitos sanguíneos. *Leucocytozoon* fue reportado por primera vez por Sakharoff en 1893, en un estudio realizado en especies de Corvidae en Rusia, al que siguieron otros reportes, y en 1904 Berestneff utilizó por primera vez el nombre de género *Leucocytozoon*, y describió varias especies en Strigiformes y Corvidae. Desde entonces se han descrito muchas especies pertenecientes al género, el cual está estrechamente relacionado con otros géneros de Haemosporida, tales como *Plasmodium* y *Haemoproteus*, pero las especies de *Leucocytozoon* únicamente se han encontrado en aves, entre otras diferencias significativas con los demás géneros. Las especies reportadas, se han encontrado en múltiples hospedadores aviares pertenecientes a varias familias alrededor del globo, pero se discute aún la significancia patológica de muchas de ellas. Sin embargo, algunas especies han sido asociadas a brotes de enfermedad, e incluso muertes en aviarios, zoológicos y granjas alrededor del mundo, y algunas familias de aves han sido consideradas como grupos susceptibles o de riesgo, tales como especies de Galliformes, Anseriformes, Columbiformes y rapaces (Bennett et al., 1993b; Valkiūnas, 2005).

Morfología

El método habitual de reconocimiento de la enfermedad, generalmente se basa en la detección del parásito durante la observación de extendidos de sangre periférica, hallándose siempre dentro del citoplasma de células hemáticas. Como se verá más adelante al tratar el ciclo de vida, los organismos leucocitozoideos presentan grandes variaciones morfológicas a lo largo de las

distintas fases de su complejo ciclo vital, por lo que en este apartado se detallarán las características principales de los gametocitos, que son los estadios presentes en las células sanguíneas, ya que de éstos usualmente se vale el parasitólogo o hematólogo para identificar al género.

Los gametocitos de *Leucocytozoon* pueden parasitar eritroblastos, eritrocitos y leucocitos mononucleares (Fallis, et al., 1951; Cook, 1954; Desser, 1967; Valkiūnas, 2005), y son relativamente fáciles de distinguir de aquellos de otros haemosporidios, por varias características. Las más notables son su gran tamaño, que usualmente provoca importante deformación de la célula hospedadora y la ausencia de gránulos de pigmento hemozoina, presente en *Plasmodium* y *Haemoproteus*.

Las formas encontradas en las células de la sangre circulante, son el microgametocito (masculino) y el macrogametocito (femenino). Estos son morfológicamente variables según la especie y en general se presentan en formas redondeadas o fusiformes (Valkiūnas, 2005) y pueden variar en tamaño de 12 a 14 μm de ancho por 20 a 22 μm de largo (Soulsby, 1982). Con tinciones hemáticas tipo Romanowsky, los macrogametocitos en general se tiñen intensamente azules, con núcleo basofílico y pueden contener algunas vacuolas citoplásmicas, mientras que los microgametocitos generalmente son algo más pequeños y de tinción más clara, con núcleo difuso de color rosa pálido. Los gametocitos de algunas especies, pueden presentar inclusiones en forma de polvo citoplásmico azurófilo levemente refráctil, denominado valutín, cuya naturaleza no ha sido estudiada en detalle (Valkiūnas, 2005). Las células hospedadoras que contienen gametocitos presentan contornos notablemente distorsionados, con escaso citoplasma, a veces con prolongaciones ahusadas y núcleos usualmente desplazados y elongados en forma de banda a lo largo del eje (Figura 1).

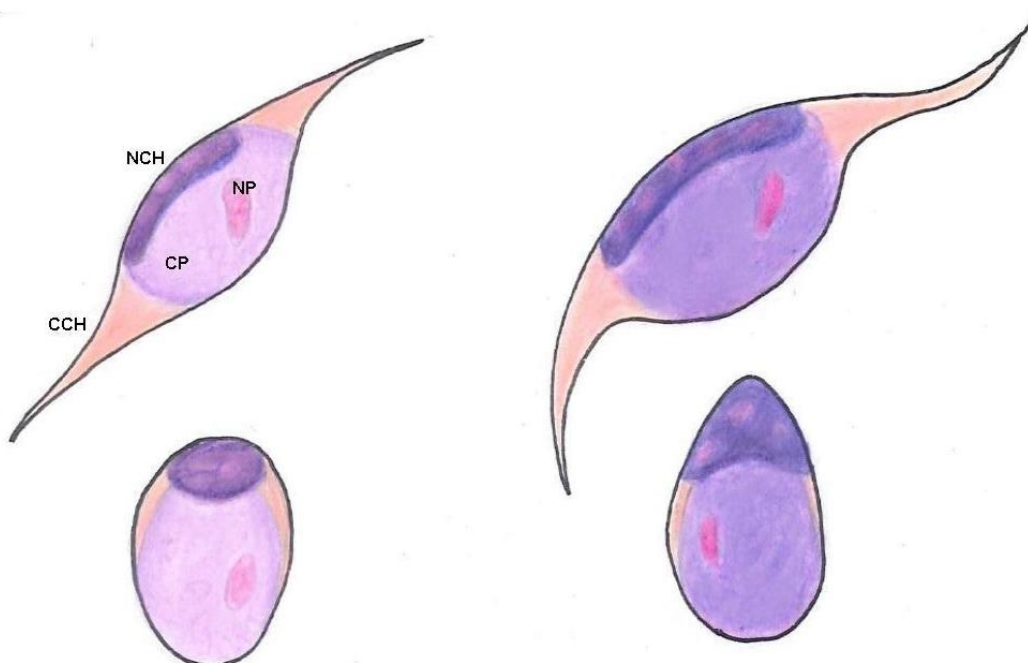


Figura 1. Aspecto de gametocitos fusiformes (izquierda) y redondeados (derecha) con tinciones tipo Romanowsky. CCH y NCH= citoplasma y núcleo de la célula hospedadora. CP y NP= citoplasma y núcleo del parásito.

Especies

Se han reportado gran cantidad de especies de *Leucocytozoon* a lo largo de los años. Esto se debió principalmente a la premisa utilizada por los primeros investigadores de que “nuevo hospedador” era igual a “nueva especie”, lo cual llevó a una enorme cantidad de descripciones de nuevas especies, de las que hoy más de la mitad se consideran sinonimias. Es cierto que una especie de leucocitozoideo no puede transmitirse entre aves de órdenes diferentes, pero si infectar a más de una especie aviar dentro de la misma familia y menos frecuentemente a varias de ellas (Valkiūnas, 2005). Como se tratará más adelante, en las últimas décadas, la utilización de herramientas moleculares y genéticas han contribuido enormemente a echar luz sobre este tópico.

Actualmente son reconocidas 41 especies de *Leucocytozoon* (Valkiūnas, 2005; Valkiūnas et al., 2010; Matta et al., 2014a; Lotta, 2016), la mayoría de las cuales son consideradas de muy baja o ninguna patogenicidad, dado que su hallazgo en el hospedador no siempre pudo ser bien correlacionado con signología clínica específica. Por otra parte, otras son reconocidas como capaces de provocar enfermedad severa e incluso la muerte en aves domésticas y silvestres. Estos son algunos de los leucocitozoideos considerados con potencial patogénico y sus principales hospedadores susceptibles:

- *Leucocytozoon simondi* (Patos, gansos y cisnes)
- *Leucocytozoon toddi* (Aves rapaces)
- *Leucocytozoon smithi* (Pavos)
- *Leucocytozoon marchouxi* (Columbiformes)
- *Leucocytozoon macleani* (Pollos y faisanes)
- *Leucocytozoon (Akiba) caulleryi* (Pollos, principalmente aves de postura)
- *Leucocytozoon struthionis* (Avestruces)
- *Leucocytozoon danilewskyi* (Búhos)

Mientras estas especies afectan usualmente en áreas endémicas determinadas, generalmente en forma de parches definidos alrededor del globo, otras, aunque menos patógenas, se destacan por mostrar una distribución más cosmopolita, como *L. dubreuilii*, que se ha reportado en más de 60 especies de passeriformes en las regiones Holártica, Etíope y Oriental con algunos registros en la Neotropical y la Australiana, o *L. fringillinarum*, que se ha registrado en todas las regiones zoogeográficas, excepto la Antártica en más de 200 especies de passeriformes.

Los registros de las especies de leucocitozoideos, así como secuencias génicas y linajes genéticos, se encuentran almacenados en grandes bases de datos públicas como GenBank y Ma-IAvi, siendo ésta última, además, la depositaria de la mayor parte del conocimiento actual sobre malarias aviares.

Transmisión y formas de diseminación

Como se mencionó anteriormente, la transmisión de esta parasitosis es a través de vectores Dípteros hematófagos. Todos los leucocitozoideos son transmitidos por especies de “mosca negra” de la familia Simuliidae, con la excepción de *Leucocytozoon caulleryi*, cuyo vector es *Culicoides arakawae* (Akiba, 1960). Debido a las necesidades de su ciclo de desarrollo, los simúlidos habitan siempre en hábitats acuáticos con agua fluyendo permanentemente, necesaria para el desarrollo de sus estadios larvales, aunque son capaces de volar grandes distancias para alimentarse de sus hospedadores aviares. No es posible la transmisión del parásito entre hospedadores aviares, ni siquiera por subinoculación de sangre (Valkiūnas, 2005), debido a que, como se verá en el próximo apartado, no ocurre merogonia en las células hemáticas.

Dado que la parasitosis solo se transmite a través de vectores infectados, la diseminación de la misma, depende de la disponibilidad de simúlidos susceptibles de llevar a cabo la esporogonia de los leucocitozoideos y esto depende de factores ecogeográficos y ambientales más que de la abundancia del vector (Valkiūnas, 2005). Esto explica por qué en algunas zonas de abundante avifauna residente y con disponibilidad de vectores potenciales, la leucocytozoonosis tiene baja o nula prevalencia, aun cuando aves migratorias portadoras convivan en la zona en determinados momentos del año. Las altas temperaturas, parecen ser restrictivas para que los leucocitozoideos completen el desarrollo de la esporogonia en el simúlido hospedador, por lo que la parasitosis tendrá mayor difusión en zonas de veranos no tan cálidos, con altitudes mayores de 2.400 metros y a latitudes extremas (Valkiūnas, 2005; Lotta, 2016; Fecchio et al., 2019). Algunas especies de simúlidos pueden transmitir más de una especie de *Leucocytozoon*, y a su vez, algunos leucocitozoideos pueden ser transmitidos por más de una especie de simúlido (Forrester y Greiner, 2008).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de los leucocitozoideos, ha sido estudiado en profundidad en cerca de un tercio de las especies conocidas. Uno de los mejor estudiados es el ciclo vital de *Leucocytozoon simondi* (Desser, 1967; Desser et al., 1968; Khan et al., 1969; Eide and Fallis, 1972), que afecta anseriformes, y al igual que en Valkiūnas 2005, se describirá aquí su ciclo vital como modelo para los leucocitozoideos en general, a excepción de *Leucocytozoon caulleryi*, que como se mencionó, utiliza Culicoides como vectores.

La infección en los hospedadores aviares, comienza con la picadura de vectores hematófagos de la familia Simuliidae, clásicamente citados en la bibliografía como moscas negras o más conocidas en nuestro medio como jejenes. Mientras estos se alimentan, inyectan en el ave los esporozoitos alojados en las glándulas salivares. Una vez diseminados en el torrente sanguíneo, gradualmente van penetrando en células de diversos tejidos y órganos. Típicamente *L. simondi*

invade los hepatocitos. Otros leucocitozoideos tienen afinidad por células endoteliales, bazo, células del sistema histiocitario, cerebro, pulmón u otros órganos. Una vez que los esporozoitos han penetrado en las células hospedadoras, comienzan a dividirse e inician la primera generación de merontes. El meronte gradualmente va creciendo, aumentando la cantidad de citoplasma y su núcleo se fragmenta. Posteriormente comienzan a aparecer invaginaciones, fracturas y múltiples fragmentaciones nucleares. Las sucesivas divisiones continúan y luego se fractura en secciones separadas por membranas que contienen múltiples núcleos en su interior. En esta etapa recibe el nombre de citómero. Posteriormente a la conformación del citómero, se desarrollan en su interior los sincicios multinucleados y los merozoítos con núcleo único. Durante éste proceso hay un notable agrandamiento del núcleo de la célula hospedadora. Se completaría aquí la fase exoeritrocítica, o etapa de merogonia primaria, que dura para *L. simondi* entre 4 y 5 días. Una vez maduros, muchos merozoítos y sincicios entran al torrente sanguíneo. Los merozoítos penetran en eritrocitos maduros o inmaduros y comienzan a transformarse en gametocitos (macrogametocitos femeninos y microgametocitos masculinos), que tendrán formas redondeadas al igual que su célula hospedadora. La prepatencia hasta aquí es de alrededor de 5 días y estos gametocitos estarán maduros en aproximadamente dos días más.

Los sincicios en cambio, son dispersados a través del torrente sanguíneo y fagocitados por macrófagos en formaciones linfoides, bazo, cerebro, hígado, y otros tejidos, iniciando en éstos una segunda merogonia. En estos merontes de segunda generación, se producen divisiones mucho más activas, llegando a generar grandes conglomerados con miles de esporozoitos denominados megalomerontes (Huff, 1942). Típicamente, el megalomeronte se presenta con un enorme tamaño que oscila entre 50 y más de 400 μm , con el núcleo de la célula hospedera notablemente hipertrofiado, al que algunos han llamado cuerpo central del megalomeronte (Valkiūnas, 2005). Se los puede hallar en cualquier parte del organismo del ave, pero fundamentalmente estarán en linfonodos y en el bazo. Muchos de los merozoítos que éstos producen penetran en linfocitos y otros leucocitos y también se desarrollarán a gametocitos machos o hembras, pero a diferencia de los anteriores, no solo agrandan la célula hospedadora, sino que provocan en ella una marcada distorsión del contorno, produciendo las formas elongadas o fusiformes durante su maduración. Muchos otros esporozoitos son reabsorbidos por el sistema reticuloendotelial, pero entonces bajan su velocidad de multiplicación, produciendo megalomerontes en forma periódica y asegurando así una parasitemia crónica. Tanto los gametocitos de formas redondeadas como aquellos elongados o fusiformes, son igualmente infectivos para el insecto vector.

Cabe señalar que se ha descrito hasta aquí un esquema general del desarrollo de leucocitozoideos en hospedadores aviares, basado en el ciclo de *L. simondi*, sin embargo, pueden presentarse importantes diferencias entre las distintas especies. Como ejemplos de ello, se puede mencionar que, en el ciclo de algunas especies, no se producen megalomerontes durante el desarrollo, como *L. fringillinarum* y *L. dubreuili*; o que algunas especies sólo producen gametocitos de formas redondeadas, mientras que otras sólo producen los fusiformes.

La fase sexual del ciclo vital o gametogonia, se inicia cuando un nuevo simúlido se alimenta de la sangre del ave conteniendo gametocitos maduros. Una vez dentro del intestino del vector, los gametocitos se diferencian en gametos femeninos y masculinos. Estos últimos, mediante un proceso denominado exflagelación, primero adoptan una forma estrellada y dividen su cromatina nuclear, para finalmente dividirse resultando en ocho microgametos fértiles a partir de cada gameto masculino. Todavía en la luz del intestino medio del vector, estos microgametos fertilizan a los macrogametos (femeninos) produciendo cigotes. Poco después el cigote inmóvil evoluciona a una forma móvil denominada ookinete. Este atraviesa activamente el epitelio del intestino medio hasta la membrana basal, donde se aloja extracelularmente y se transforma en ooquiste, dando comienzo a la etapa de esporogonia. Una vez maduros, los esporozoitos se liberan del ooquiste y atraviesan la membrana basal hacia el hemocele, migrando a través de la hemolinfa del hospedador para finalmente alojarse en las glándulas salivales. Allí permanecen hasta que el simúlido se alimente de una nueva ave y reinicie el ciclo (Figura 2).

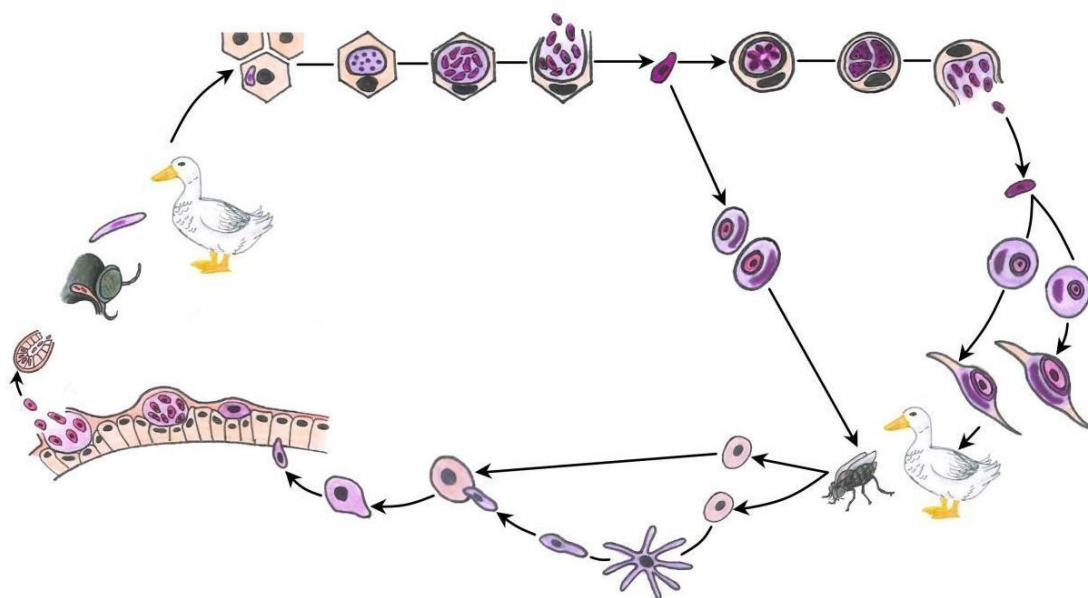


Figura 2. Representación esquemática del ciclo biológico de *Leucocytozoon simondi*

Patogenia y signología clínica

El impacto real que los leucocitozoideos pueden tener sobre las aves, es ampliamente variable entre las especies conocidas, e influenciado por múltiples factores, tales como la especie y edad del hospedador, biología y distribución de los vectores, factores geográficos y ambientales, etc. En cualquier caso, cuando la parasitosis produce efectos sobre la salud del ave, éstos pueden ser mejor comprendidos cuando se analizan las fases del ciclo evolutivo en el hospedador aviar (Forrester y Greiner, 2008).

En las infecciones en medio silvestre, generalmente hay una baja inoculación de esporozoitos, el número de merontes de primera generación es relativamente bajo y con poca respuesta inflamatoria, por lo que habrá escasa o nula signología clínica en esta etapa. Sin embargo, en ocasiones, grandes números de merontes pueden provocar bloqueo de sinusoides hepáticos, pero aún así, con escasa respuesta inflamatoria (Newberne, 1957; Wehr, 1962; Desser, 1967). Al final de este periodo de 4 a 5 días post infección (prepatencia), comienzan a aparecer los primeros gametocitos en la sangre circulante asociado al inicio de un paulatino descenso en el hematocrito, pero aún sin manifestaciones clínicas significativas. Cuando comienza a aparecer signología clínica, ésta usualmente se asocia a cambios patológicos debidos al desarrollo de merontes de segunda generación o megalomerontes en hígado, bazo, cerebro, pulmón y otros órganos (Newberne, 1957; Desser & Fallis, 1967b; Akiba, 1970; Miller et al., 1983). Como fue mencionado anteriormente, no todas las especies de leucocitozoideos desarrollan megalomerontes. Entre las que sí lo hacen, se encuentran por ejemplo *L. danilewskyi*, *L. (Akiba) caulleryi*, *L. simondi* y *L. sakharoffi*. Para el caso de *L. simondi*, entre el día 9 y 12 post infección, se produce la ruptura de los megalomerontes y nueva liberación de merozoitos al torrente sanguíneo, lo cual coincide con el pico más alto de fragilidad eritrocitaria y anemia. Se cree que esta anemia puede deberse a un factor anti-eritrocítico producido por los merontes o sus células hospedadoras, en lugar de deberse a la acción directa de los gametocitos sobre los eritrocitos, dado que un porcentaje de la hemólisis se produce en hematíes no infectados y este pico de anemia antecede al pico más alto de parasitemia (Kocan, 1968; Forrester & Greiner, 2008). El porcentaje más alto de mortalidad ocurre en patitos a los 12 días post infección, cuando alcanzan el pico mayor de anemia y se ha producido la ruptura de la mayoría de los megalomerontes (Kocan & Clark 1966; Maley & Desser, 1977; Valkiūnas, 2005). Aquellas especies de *Leucocytozoon* que no producen megalomerontes, tales como *L. dubreuilii* y *L. fringillinarum*, generalmente inducen en las aves cambios patológicos de mucha menor severidad (Khan & Fallis, 1970a). Además de la injuria a los órganos, que los estadios multiplicativos producen en los tejidos para la generación de los gametocitos hemáticos, también pueden ocurrir cambios patológicos derivados de la propia parasitemia. Los gametocitos circulantes pueden formar grandes complejos “parasito-célula hospedadora” que pueden alcanzar 40 µm de largo y pueden ocasionar severos cambios patológicos en el ave, como es el caso de *L. smithi*, cuyos gametocitos bloquean los alvéolos y sobrecargan los pulmones, alterando la función respiratoria y provocando signos similares a los de una neumonía (Siccardi et al., 1974).

Los signos clínicos serán marcadamente variables dependiendo de múltiples factores, pero los más importantes son la especie de leucocitozoideo, el estado general e inmunológico del ave hospedera y la carga parasitaria. Muchas especies de leucocitozoideos producirán en el hospedador signos inespecíficos o incluso inaparentes. En cambio, otras, que son claramente patógenas como *L. simondi*, producen cuadros clínicos bien manifiestos que en ocasiones tienen importantes porcentajes de mortalidad. Para este ejemplo, los signos clínicos se presentan súbitamente en patos y gansos jóvenes y en muchos de ellos se puede producir la muerte en uno o dos días. Estos presentan anorexia, letargia, taquipnea (si hay gran cantidad de megalomerontes

pulmonares) y eventualmente signos neurológicos y muerte. Otros presentarán signos menos pronunciados como letargia y pérdida del temor a los humanos, con una progresión algo más lenta y menor mortalidad. En adultos el desarrollo de la enfermedad es más paulatino, las aves pierden peso y se muestran letárgicas pero muy pocas mueren. La anemia es el signo corriente y pueden mostrar también anorexia, diarrea, respiración dificultosa y convulsiones (Khan & Fallis, 1968; Desser, 1967).

Otro ejemplo de especie significativamente patógena que se puede mencionar, es el de *L. smithi*, que produce cuadro clínico agudo en pavos, con anorexia, debilidad de los miembros, emaciación y alto porcentaje de mortalidad en pavitos, sumado a una fase crónica con bronquitis persistente y aves que superan el cuadro con desaparición de los signos, pero permanecen como portadores. Se destaca, además, que han sucedido brotes devastadores en granjas de pavos instaladas en zonas endémicas del sudeste de Estados Unidos (Kissam et al., 1973, 1975). Otro ejemplo de cuadro clínico, es el que produce *L. toddi*, que induce en rapaces una signología con franco predominio de manifestaciones neurológicas, como pérdida de velocidad, vocalización, desorientación, vuelo errático o en círculos, ceguera y convulsiones, además de signos similares a los de otras Leucocytozoonosis (Raidal & Jaensch 2000; Tarello, 2006).

Distribución geográfica

Es ampliamente aceptado que la principal área de distribución de *Leucocytozoon* sp. se encuentra en la región Holártica, la cual tiene la mayor riqueza de especies y la más alta prevalencia de infecciones con leucocitozoideos. En las altas y medias latitudes de la región Hoártica, la prevalencia de especies de leucocitozoideos en varias especies y poblaciones de aves puede llegar al 25% (Greiner et al., 1975; Valkiūnas, 1989d; Valkiūnas et al., 1990; Valkiūnas & Lezhova, 1990a). Sin embargo, aunque con mucha menor frecuencia, los leucocitozoideos se han reportado en todas las zooregiones del planeta con excepción de la Antártica.

En Sudamérica, son escasos los reportes de infecciones por leucocitozoideos en los últimos años, entre los cuales se describió una nueva especie, *L. quynzae*, que parasita a un colibrí (*Heliangelus amethysticollis*) de Cundinamarca, Colombia (Matta, 2014). Solamente las especies de *Leucocytozoon* de distribución mundial, tales como *L. fringillinarum*, *L. danilewskyi*, o *L. marchouxii* son las que ingresan al Neotrópico, a la vez que existe una marcada carencia de especies endémicas, lo que podría deberse a una escasa presencia de vectores ornitófilos susceptibles (Valkiūnas, 2005). Sin embargo, se han reportado prevalencias relativamente altas, en algunas zonas de Perú y Colombia, por encima de los 2.200 metros de altura (Galen & Witt, 2014; Lotta et al., 2016), o en tierras bajas de Chile (Forrester et al., 2001; Merino et al., 2008).

Curiosamente en Amazonia, una de las regiones con mayor biodiversidad del planeta y con importante abundancia de vectores potenciales, se han registrado prevalencias tan bajas como del 0,06% de infecciones por *Leucocytozoon*, en 3.449 aves de 195 especies muestreadas en 3 sitios diferentes de la Selva Lluviosa Atlántica de Sao Paulo (Bennett & Lopes, 1980). Por otra

parte, el trabajo de Fecchio et al. (2019), arrojó una prevalencia de 9.3 % en la región Andino-Patagónica, además de explicar que tan grandes diferencias podrían deberse a que las altas temperaturas parecen ser restrictivas para el desarrollo de leucocitozoideos en el vector. Finalmente, la evidencia acumulada en los últimos años sobre la zooregión Neotropical, parece indicar que en Sudamérica, tanto la riqueza de especies como la frecuencia de infecciones aviares, parecen seguir un patrón inverso al de otras enfermedades malariales, ambas aumentan cuanto mayor es la altitud y la latitud, es decir, alejándose del trópico (Merino et al., 2008; Lotta et al., 2016; Fecchio et al., 2019).

Diagnóstico

La observación de gametocitos en extendidos de sangre periférica de aves, apropiadamente teñidos, ha sido el método diagnóstico más empleado a lo largo de la historia. Haciendo uso de del conocimiento acumulado en la literatura, es posible arribar a diagnósticos válidos aplicando un apropiado manejo y tinción de las muestras, utilizando los datos de las descripciones morfológicas y morfométricas de los parásitos y sus células hospedadoras y aplicando las claves de identificación de especies (Valkiūnas, 2005; Valkiūnas et al., 2010).

Dado que los hallazgos de las formas hemáticas identifican “portadores” pero no “enfermos”, los mismos siempre deberían ser correlacionados con los hallazgos clínicos y toda vez que sea posible, con los de necropsia e histopatológicos, para confirmar leucocytozoonosis como enfermedad.

Las lesiones macroscópicas observables en la necropsia pueden ser muy diversas, dependiendo de la especie de *Leucocytozoon* y del hospedador aviar evaluado, pero en general, son bastante constantes la esplenomegalia y las alteraciones hepáticas.

En la histopatología se observará el desarrollo en los tejidos de grandes esquizontes o de megalomerontes de gran tamaño, con miles de merozoitos en su interior, rodeados de una cápsula fibrosa, con una clara reacción inflamatoria alrededor, con infiltrados de heterófilos, macrófagos y células plasmáticas. También pueden observarse hemorragias en los sitios de ruptura de los megalomerontes y dilatación de capilares sanguíneos, por la presencia de gametocitos en pulmón hígado y bazo (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

En las décadas recientes se han sumado además herramientas moleculares y genéticas que han contribuido enormemente a definir tanto el estatus de especies y subespecies, así como sus linajes genéticos. Gran parte de estos test aplicados al diagnóstico, son realizados por reacción de cadena de polimerasa (PCR) y se basan en modificaciones de las técnicas desarrolladas para detección de haemosporidios, que consisten en la detección de un fragmento de RNA mitocondrial de la pequeña unidad (18S) o la detección de genes del citocromo b mitocondrial, permitiendo diferenciar a *Leucocytozoon* de *Haemoproteus* y *Plasmodium*. Entre ellas, se pueden mencionar el protocolo de Hellgren et al., (2004), o técnicas más modernas que combinan PCR real-time con PCR anidada de las muestras positivas (Bell et al., 2015; Fecchio et al., 2018).

Existen en la actualidad escasos primers comerciales para tests PCR y solo para algunas de las especies que afectan la actividad productiva.

En cuanto a diagnóstico serológico, los estudios han sido en general escasos y prácticamente solo enfocados a especies que afectan la producción avícola, tales como inmunofluorescencia, ELISA y aglutinación en látex, por mencionar algunos (Forrester & Greiner, 2008), ninguno con sensibilidad ni especificidad óptimos para el uso masivo.

Tratamiento

No se conocen tratamientos curativos probadamente eficaces contra la leucocytozoonosis. Drogas utilizadas en tratamientos antimalariales en general, tales como primaquina, trimetoprima-sulfametoxazol, Clopidol o Melarsomina, son algunas de las que han sido utilizadas por distintos investigadores con resultados parcialmente promisorios. En algunos casos se lograron importantes mejoras de la signología clínica general, reducción de la anemia o disminución de la parasitemia, mientras que también se han alcanzado significativas reducciones en los porcentajes de morbilidad o mortalidad (Forrester & Greiner, 2008), pero no se ha encontrado hasta la fecha un protocolo terapéutico capaz de la total eliminación de la infección de la sangre y los tejidos del ave.

Profilaxis

En general las prácticas profilácticas se basan en procurar la reducción de vectores en el ámbito de las explotaciones comerciales, como el uso de repelentes en los recintos o incluso sobre las plumas de las aves para disminuir el ataque de los simúlidos. Algunos organofosforados como el Temefos han sido utilizados en los cursos de agua para el control del desarrollo de larvas (Forrester & Greiner, 2008).

Algunas de las drogas mencionadas anteriormente solas o combinadas, han sido también adicionadas al alimento de las aves con propósitos preventivos, pero también con éxitos parciales.

Importancia en salud pública

No existen reportes de leucocytozoonosis en humanos, y ninguna de las especies de *Leucocytozoon* reviste importancia para la salud pública.

Referencias

- Akiba, K. 1960. Studies on *Leucocytozoon* disease of chickens. II. On the transmission of *L. caulleryi* by *Culicoides arakawae*. *Japanese Journal of Veterinary Science* 22:309–317.
- Bell, J.A., Weckstein, J.D., Fecchio, A. & Tkach, V.V. (2015). A new realtime PCR protocol for detection of avian haemosporidians. *Parasites & Vectors*. 8:383.
- Bennett, G.F., Peirce, M.A., Ashford, R.W. (1993b). Avian Haematozoa: mortality and pathogenicity. *Journal of Natural History*. 27:993–1001.
- Bennet, G.F. & Lopez, O.D. (1980). Blood parasites of some birds from Sao Paulo State, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 75:117–134
- Berestneff, N. (1904). Über das *Leucocytozoon danilewskyi*. *Archiv für Protistenkunde*. 3:376–386.
- Cook, A.R. (1954). The gametocyte development of *Leucocytozoon simondi*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 21:1–9.
- Desser, S.S. (1967). Schizogony and gametogony of *Leucocytozoon simondi* and associated reactions in the avian host. *Journal of Protozoology*. 14:244–254.
- Desser, S.S. & Fallis, A.M. (1967b). The cytological development and encapsulation of megalo-schizonts of *Leucocytozoon simondi*. *Ibidem*. 45: 1061–1065.
- Desser, S.S., Fallis, A.M. & Garnham, P.C.C. (1968). Relapses in ducks chronically infected with *Leucocytozoon simondi* and *Parahaemoproteus nettionis*. *Canadian Journal of Zoology*. 46(2): 281-285.
- Eide, A. & Fallis, A.M. (1972). Experimental studies of the life cycle of *Leucocytozoon simondi* in ducks in Norway. *The Journal of Protozoology*. 19: 414–416.
- Fallis, A.M. Davies, D.M. & Vickers, M.A. (1951). Life history of *Leucocytozoon simondi* Mathes and Leger in natural and experimental infections and blood changes produced in the avian host. *Canadian Journal of Zoology*. 29: 305-328.
- Fecchio, A. Bell, J.A. Bosholn, M. et al. (2019). An inverse latitudinal gradient in infection probability and phylogenetic diversity for *Leucocytozoon* blood parasites in New World birds. *Journal of Animal Ecology*. 00:1–13.
- Fecchio, A., Silveira, P., Weckstein, J., Dispoto, J., Anciaes, M., Bosholn, M., Tkach, V. & Bell, J. (2018). First Record of *Leucocytozoon* (Haemosporida: Leucocytozoidae) in Amazonia: Evidence for Rarity in Neotropical Lowlands or Lack of Sampling for This Parasite Genus?. *Journal of Parasitology*. 104. 10.1645/17-182.
- Forrester, D. & Greiner, E. (2008). Leucocytozoonosis. In: Atkinson, C., Thomas, N.B. Ed. *Parasitic diseases of wild birds*. Wiley-Blackwell, Ames. pp 54–107.
- Forrester, D., Foster, G. & Morrison, J. (2001). *Leucocytozoon toddi* and *Haemoproteus tinnunculi* (Protozoa: Haemosporina) in the Chimango Caracara (*Milvago chimango*) in Southern Chile. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 96: 1023-4.
- Galen, S.C. & Witt, C.C. (2014). Diverse avian malaria and other haemosporidian parasites in Andean house wrens: Evidence for regional codiversification by host switching. *Journal of Avian Biology*. 45(4): 374–386.

- Greiner, E.C., Bennett, G.F., White, E.M. & Coombs, R.F. (1975). Distribution of the avian hematozoa of North America. *Canadian Journal of Zoology*. 53:1762–1787.
- Hellgren, O., Waldenström, J. & Bensch, S. (2004). A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *Journal of Parasitology*. 90(4): 797– 802.
- Huff, C.G. (1942). Schizogony and gametocyte development in *Leucocytozoon simondi*, and comparison with *Plasmodium* and *Haemoproteus*. *Journal of Infectious Disease*. 71: 18–32.
- Khan, R.A. & Fallis, A.M. (1968). Comparison of infections with *Leucocytozoon simondi* in black ducks (*Anas rubripes*), mallards (*Anas platyrhynchos*), and white Pekins (*Anas bochas*). *Canadian Journal of Zoology*. 46:773–780.
- Khan, R.A. & Fallis, A.M. (1970a). Life cycles of *Leucocytozoon dubreuilii* Mathis and Leger, 1911 and *L. fringillinarum* Woodcock, 1920 (Haemosporidia: Leucocytozoon). *Journal of Protozoology*. 7:642–658.
- Khan, R.A. & Fallis, A.M. (1969). Endogenous stages of *Parahaemoproteus fringillae* (Labbé, 1894) and *Leucocytozoon fringillinarum* Woodcock, 1910. *Canadian Journal of Zoology*. 47: 37–39.
- Kissam, J.B., Noblet, R. & Moore, H.S. (1973). Simulium: field evaluation of Abate larvicide for control in an area endemic for *Leucocytozoon smithi* in turkeys. *Journal of Economic Entomology*. 6:426–428.
- Kissam, J.D., Noblet, R. & Garris, G.I. (1975). Large-scale aerial treatment of an endemic area with Abate granular larvicide to control black flies (Diptera: Simuliidae) and suppress *Leucocytozoon smithi*. *Journal of Medical Entomology*. 12:359–362.
- Kocan, R.M. (1968) Anemia and mechanism of erythrocyte destruction in ducks with acute *Leucocytozoon* infections. *Journal of Protozoology*. 15: 455–462.
- Lotta, I.A., Matta, N.E., Torres, R.D., Sandino, M.M. & Moncada, L.I. (2013). *Leucocytozoon fringill* in a rum and *Leucocytozoon dubreuilii* in *Turdus fuscater* from a Colombian páramo ecosystem. *Journal of Parasitology*. 99:359–362.
- Lotta, I.A., Pacheco, M.A., Escalante, A.A., González, A.D., Mantilla, J.S., Moncada, L.I. & Matta, N.E. (2016). *Leucocytozoon* diversity and possible vectors in the Neotropical highlands of Colombia. *Protist Journal*. 167(2): 185–204.
- Maley, G.J.M. & Desser, S.S. (1977). Anemia in *Leucocytozoon simondi* infections. I. Quantification of anemia, gametocytemia, and osmotic fragility of erythrocytes in naturally infected Pekin ducklings. *Canadian Journal of Zoology*. 55: 355–358.
- Matta, N.E., Lotta, I.A., Valkiūnas, G., González, A.D., Pacheco, M.A., Escalante, A.A. et al., (2014a). Description of *Leucocytozoon quynzaesp.* nov. (Haemosporida, Leucocytozoidae) from hummingbirds, with re-marks on distribution and possible vectors of leucocytozoids in South America. *Parasitology Researches*. 113:457–468.
- Merino, S., Moreno, J., Vásquez, R.A., Martínez, J., Sánchez Monsálvez, I., Estados, C.F. & McGehee, S. (2008). Haematozoa in forest birds from southern Chile: Latitudinal gradients in prevalence and parasite lineage richness. *Austral Ecology*. 33(3): 329–340.

- Miller, R.E., Trampel, D.W., Desser, S.S. & Boever, W.J. (1983). *Leucocytozoon simondi* infection in European and American eiders. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 183: 1241–1244.
- Nakamura, K., Ogiso, M., Shibahara, T., Kasuga, H. & Isobe, T. (2001). Pathogenicity of *Leucocytozoon caulleryi* for Specific Pathogen-Free Laying Hens. *The Journal of parasitology*. 87: 1202-4.
- Newberne, J.W. (1957). Studies on the histopathology of *Leucocytozoon simondi* infection. *American Journal of Veterinary Research*. 18:191–199.
- Raidal, S.R. & Jaensch, S.M. (2000). Central nervous disease and blindness in *Nankeen Kestrels* (*Falco cenchroides*) due to a novel *Leucocytozoon*-like infection. *Avian Pathology*. 29:51–56.
- Sakharoff, N. (1893). Recherches sur les hematozoaires des oiseaux. *Annales de l'Institut Pasteur*, Paris 7: 801–811.
- Siccardi, F.J., Rutherford, H.O. & Derieux, W.T. (1974). Pathology and prevention of *Leucocytozoon smithi* infection in turkeys. *Avian Diseases*. 18: 21–32.
- Soulsby, E.J.L. (1982). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th Edition. Balliere, London. Tindall and Cassel. 809 p.
- Tarello, W. (2006). *Leucocytozoon toddi* in falcons from Kuwait: Epidemiology, clinical signs and response to melarsomine. *Parasite*. 13:179.
- Valkiūnas, G.A. (1989). Occurrence and morphology of two types of *Leucocytozoon toddi* gametocytes in some Palearctic Falconiformes. *Lietuvos TSR MA Darbai. C Serija*. 4:46–50.
- Valkiūnas, G. (2005). Avian malaria parasites and other haemosporidia. *CRC, Boca Raton*.
- Valkiūnas, G., lezhova, T., Loiseau, C., Thomas, S. & Sehgal, R. (2009). Nested cytochrome b polymerase chain reaction diagnostics detect sporozoites of hemosporidian parasites in peripheral blood of naturally infected birds. *Journal of Parasitology*. 95:1512–1525.
- Valkiūnas, G. & lezhova, T. (2018). Keys to avian malaria parasites. *Malaria Journal*. 17:212.
- Valkiūnas, G., Zehindjiev, P., Dimitrov, D., Križanauskienė, A., Lezhova, T.A. & Bensch, S. (2008). Polymerase chain reaction-based identification of *Plasmodium* (Huffia) *elongatum*, with remarks on species identity of haemosporidian lineages deposited in GenBank. *Parasitology Research*. 102:1185–1193
- Wehr, E.E. (1962). Studies on leucocytozoonosis of turkeys, with notes on schizogony, transmission, and control of *Leucocytozoon smithi*. *Avian Diseases*. 6: 195–210

CAPÍTULO 13

Babesia spp. Babesiosis humana

Mara Maydana

Generalidades

La babesiosis, también denominada piroplasmosis, es una zoonosis emergente causada por parásitos protozoarios del género *Babesia* que invaden y lisan glóbulos rojos. Se transmite principalmente por garrapatas que actúan como vectores después de adquirir la infección a partir de mamíferos que varían según la especie de *Babesia* implicada. La transmisión persona a persona ocurre ocasionalmente por transfusión de sangre y rara vez por trasplante de órganos o vía transplacentaria. La mayoría de los reportes de casos de babesiosis humana provienen de Estados Unidos de América. La especie implicada es principalmente *Babesia microti*. Existen reportes de *Babesia duncani* en la costa oeste y algunos casos de *B. divergens*. En Europa y Asia oriental los principales agentes etiológicos son *Babesia divergens* y *Babesia venatorum*, respectivamente.

Morfología

Babesia spp. pertenece al filo Apicomplexa, orden Piroplasmida y familia Babesiidae. Son protozoos intraeritrocitarios de los cuales se conocen más de 100 especies que infectan a los vertebrados, incluidos mamíferos y algunas especies de aves (Acha & Szyfres, 2003). Sólo escasas especies afectan al hombre. Con el avance de los métodos de diagnóstico molecular, el orden Piroplasmida se clasificó en cinco clados, dentro de los cuales las especies de *Babesia* que infectan al hombre se ubican en cuatro de ellos.

Las especies de *Babesia* se observan en los eritrocitos típicamente como estructuras anulares, pleomorfas, aunque también pueden ser piriformes (de donde deriva el nombre piroplasma), fusiformes, redondeadas o ameboides. Se presentan solas, en pares o en múltiplos de dos, según la especie (Ash & Orihel, 2010).

Sobre la base de la morfología, *Babesia* spp. se dividen en especies pequeñas (de 1,0 a 2,5 µm de largo) que incluyen *B. bovis*, *B. microti*, *B. divergens*, entre otros y especies grandes (de 2,5 a 5,0 µm de largo) como *B. bigemina*, *B. canis*, etc.

En el frotis *Babesia microti*, actualmente reconocido como un complejo de especies que a su vez se divide en subclados, los microorganismos pleomorfos en forma anular pueden ser muy parecidos a los primeros estadios de *P. falciparum*. Sin embargo, suelen tener uno, dos o cuatro masas de cromatina y pueden estar ordenadas en un patrón en Cruz de Malta.

Transmisión

La babesiosis humana se adquiere principalmente por mordedura de garrapata de cuerpo duro del género *Ixodes*. En EEUU, la especie involucrada frecuentemente es *Ixodes scapularis* y la infección ocurre entre mayo y septiembre en el hemisferio norte. La ninfa de *Ixodes scapularis* es el estadio en los artrópodos más importante para la transmisión de la infección, aunque las garrapatas adultas también actúan como vectores.

La babesiosis puede transmitirse por transfusión de hemoderivados de donantes asintomáticos, en su mayoría por concentrados de glóbulos rojos. La incidencia en los Estados Unidos es de 1,1 casos por millón de unidades de glóbulos rojos distribuidas, aunque en las regiones donde la infección es endémica la incidencia es mayor (Gray & Herwaldt, 2019). Representa una de las principales causas de infección postransfusional. La babesiosis transmitida por transfusión generalmente se informa en áreas endémicas, pero puede ocurrir por hemoderivados contaminados, donados a áreas no endémicas.

Se ha descrito la transmisión de la infección por *B. microti* mediante el trasplante de órganos sólidos en dos receptores de trasplante renal (Brennan et al., 2016).

La transmisión transplacentaria ha sido documentada en los Estados Unidos, donde se han notificado al menos 10 casos de infección congénita por *B. microti*. En 9 de esos casos, los bebés nacieron a término y los síntomas se desarrollaron entre la tercera y la sexta semana de edad. No hubo antecedentes de mordeduras de garrapatas en los recién nacidos (Saetre et al., 2018).

Ciclo biológico

Las garrapatas de cuerpo duro del género *Ixodes* son los hospedadores definitivos que actúan como vectores de las especies de *Babesia*, que se distribuyen en una amplia variedad de hospedadores mamíferos, incluido el ser humano. Los roedores silvestres constituyen los principales hospedadores animales de la infección por *B. microti* y los bovinos para *B. divergens* (Apt Baruch, 2013) (Figura 1).

Durante la ingestión de sangre, una garrapata infectada con *Babesia* spp. introduce esporozoítos en el mamífero hospedador. Los esporozoítos entran en los eritrocitos y se reproducen asexualmente (gemación). Al lisar el eritrocito, liberan a la sangre merozoítos. En la sangre, algunos merozoítos se diferencian en gametos masculinos y femeninos. El hospedador definitivo es la garrapata, que al alimentarse ingiere los gametos. Una vez ingeridos, los gametos se unen

y experimentan un ciclo esporogónico que resulta en esporozoítos. Si bien la transmisión transovárica ha sido documentada para *Babesia* spp., no se produce en especies como *B. microti*. Los seres humanos entran en el ciclo cuando son mordidos por garrapatas infectadas que introducen esporozoítos en el hospedador humano. Los esporozoítos entran en los eritrocitos y experimentan una replicación asexual (gemación). No se describieron ciclos exo eritrocíticos para *Babesia* spp. La multiplicación de los parásitos en etapa sanguínea es responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

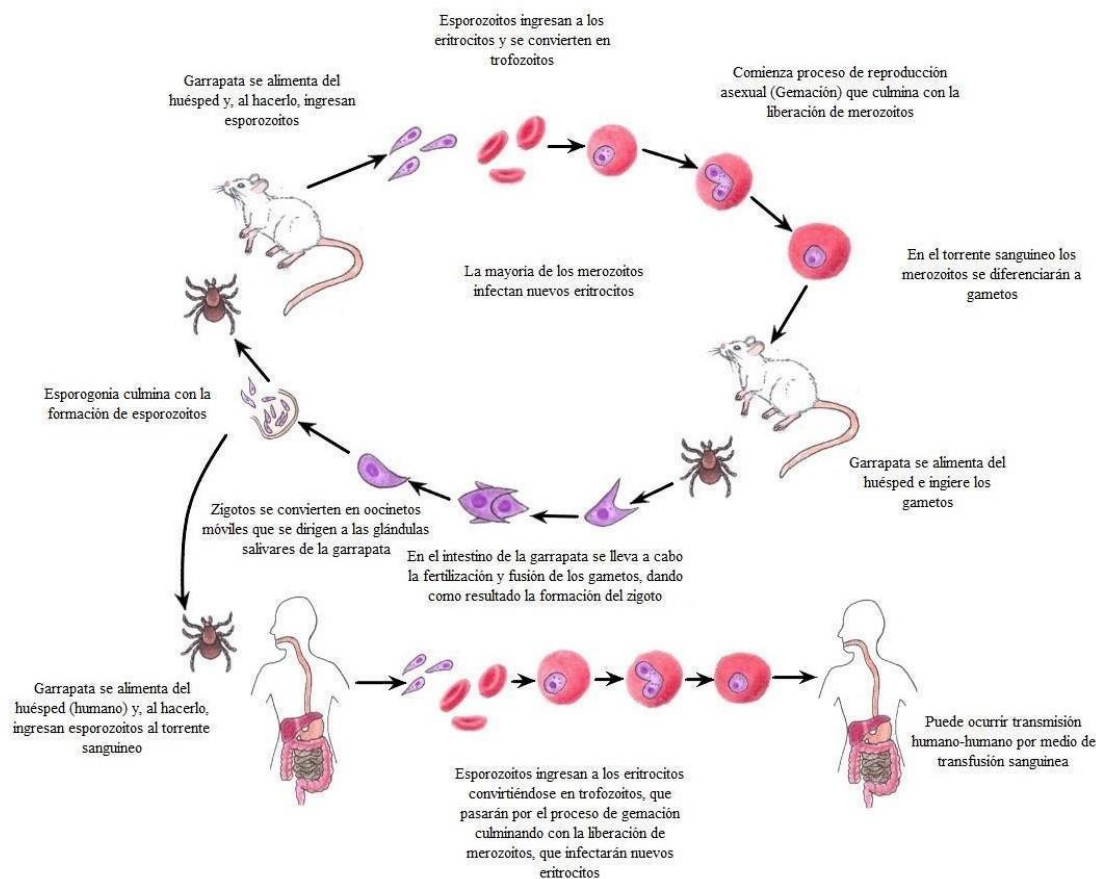


Figura 1. Ciclo biológico, babesiosis humana

Patogenia

El bazo presenta un papel fundamental en la protección contra la infección por *Babesia* spp. porque contiene macrófagos, que ingieren y eliminan los eritrocitos infectados (Atfás, 1998). Por este motivo, la asplenia anatómica o funcional es un factor de riesgo importante para la babesiosis grave. La eliminación continua de glóbulos rojos infectados por los fagocitos que residen en el bazo, produce esplenomegalia y riesgo de ruptura esplénica.

El rol de los anticuerpos en la defensa del hospedador contra *Babesia* spp. no se comprende completamente. Si bien los anticuerpos no son críticos para eliminar los parásitos en hospedadores inmunocompetentes, en pacientes inmunodeprimidos con riesgo de babesiosis persistente o recurrente la resolución de la parasitemia suele coincidir con la seroconversión.

Las células T CD4 + son fundamentales para la inmunidad del hospedador en la babesiosis, que suele ser grave en personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Signología clínica

Las manifestaciones clínicas de la babesiosis varían de infección subclínica a enfermedad fulminante. En pacientes esplenectomizados o inmunosuprimidos la enfermedad presenta una evolución más grave, con complicaciones o recaídas. Por lo general, una a tres semanas después de la picadura de garrapatas infectadas y entre una a nueve semanas (se ha reportado hasta 6 meses) después de recibir hemoderivados contaminados, los pacientes presentan fiebre que puede llegar a 40°C, malestar general, anorexia, cefalea, mialgias, artralgias y dolores abdominales. Las náuseas o vómitos y la diarrea pueden predecir un curso clínico desfavorable.

En el examen físico, la fiebre es el signo más frecuente. Puede ir acompañada de esplenomegalia o hepatomegalia, ictericia, ocasionalmente por eritema faríngeo, retinopatía con hemorragias en astilla e infartos de retina.

Los hallazgos de laboratorio son consistentes con anemia hemolítica leve a moderada, que incluyen disminución del hematocrito, niveles bajos de hemoglobina, caída del valor de haptoglobina, recuento elevado de reticulocitos y nivel elevado de lactato deshidrogenasa. La trombocitopenia es común. El recuento de glóbulos blancos se encuentra normal, aumentado o disminuido; puede producirse neutropenia. Las enzimas hepáticas a veces se encuentran elevadas, al igual que los niveles de bilirrubina total e indirecta y el valor de creatinina sérica.

El síndrome de distress respiratorio (SDRA) y la coagulación intravascular diseminada (CID) son las complicaciones más frecuentes, seguido por insuficiencia cardíaca congestiva e insuficiencia renal y se observan en pacientes esplenectomizados, oncológicos, con VIH, enfermedad pulmonar o cardíaca crónica. Otros grupos de riesgo son recién nacidos, mayores de 50 años y pacientes trasplantados. La rotura esplénica es una complicación infrecuente, es espontánea y se considera que es el resultado de una eritrofagocitosis excesiva.

La tasa de mortalidad oscila entre 3 y 9% en pacientes hospitalizados y es de aproximadamente 20% entre aquellos con factores de riesgo para babesiosis grave.

La enfermedad generalmente dura 1 o 2 semanas, pero la astenia puede prolongarse durante meses. La parasitemia asintomática puede detectarse meses hasta más de un año si el paciente no recibe tratamiento. La babesiosis recidivante, a pesar de un ciclo estándar de terapia antimicrobiana, ocurre típicamente en pacientes inmunocomprometidos, con probable deterioro de la producción de anticuerpos contra *Babesia* spp. Estos incluyen pacientes con linfoma de células

B u otras afecciones tratadas con rituximab, neoplasias malignas que también tienen asplenia, trasplante de órganos o células madre y personas viviendo con VIH / SIDA.

Distribución geográfica

En los Estados Unidos, *B. microti* es el agente identificado con mayor frecuencia (noreste y medio oeste) y puede ocurrir en personas no esplenectomizadas (Farrar et al., 2013). Se ha aislado *Babesia duncani* en pacientes en Washington y California. En Europa, la mayoría de los casos notificados se deben a *B. divergens* y ocurren en pacientes esplenectomizados. En Asia se han reportado casos de *B. microti*, *B. venatorum* y *B. crassa*. Se han informado casos esporádicos de babesiosis en África, Australia y Sudamérica (Figura 2).

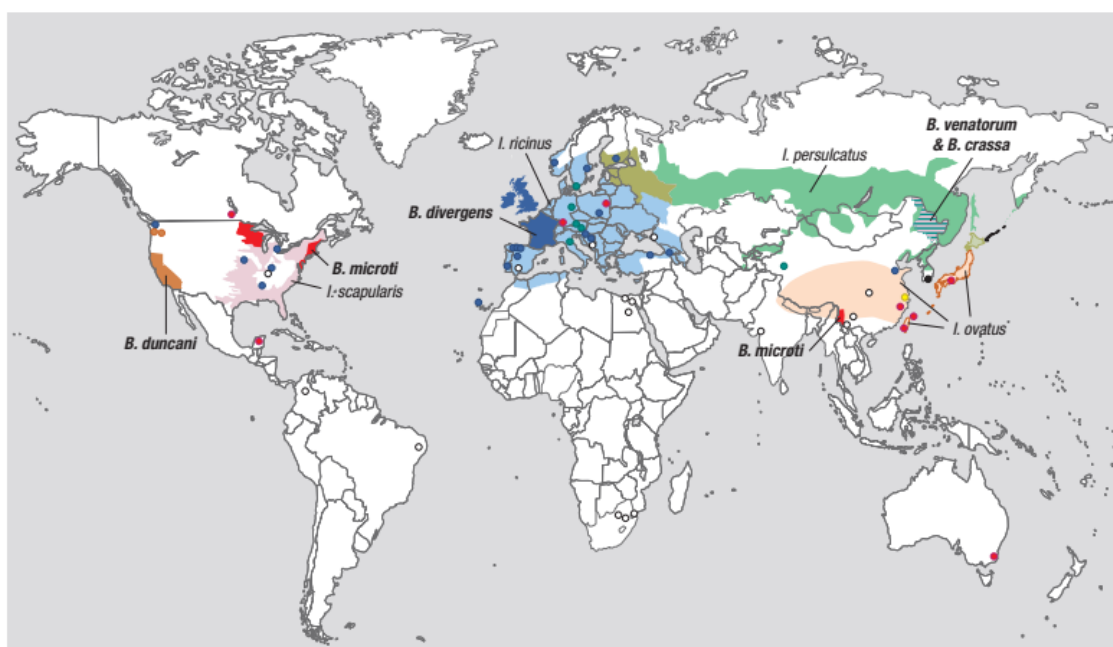


Figura 2. Distribución geográfica de la babesiosis humana y sus vectores garrapatas (Ryan et al., 2019)

Los colores oscuros indican áreas donde la babesiosis humana es endémica o esporádica (definido por ≥ 5 casos), mientras que los colores claros indican zonas donde están presentes los vectores (garrapatas), pero la babesiosis humana es muy poco frecuente (< 5 casos), indocumentada o ausente. Los círculos representan casos únicos, excepto en tres lugares (México, Montenegro y el este de Polonia) donde todos los pacientes fueron diagnosticados en el mismo hospital. Los colores distinguen los agentes etiológicos: rojo para *Babesia microti*, naranja para *Babesia duncani*, azul para *Babesia divergens*, verde para *Babesia venatorum*, rosa para *Babesia crassa*, negro para KO1 y amarillo para *Babesia* spp. Los círculos blancos representan casos

causados por aislamientos de *Babesia* spp. que no se caracterizaron a nivel molecular. En América del Sur, se han reportado infecciones sintomáticas en Brasil y Colombia. Se omiten las infecciones asintomáticas y los casos de babesiosis asociados a viajes (Bennett et al., 2015).

Diagnóstico

La babesiosis debe considerarse en todo paciente con un síndrome febril inexplicable que ha residido o viajado a un área donde la infección es endémica en los 2 meses anteriores, o que ha recibido una transfusión de sangre en los 6 meses anteriores. El diagnóstico requiere una fuerte sospecha clínica debido a la falta de un síntoma o signo clínico fácilmente reconocible, como el exantema del eritema migratorio de la enfermedad de Lyme. Dado que las garrapatas *I. scapularis* pueden transmitir *B. microti*, *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma phagocytophilum*, se debe sospechar babesiosis en los pacientes a quienes se ha realizado diagnóstico de enfermedad de Lyme o Anaplasmosis y desarrollan una enfermedad más grave, o que tienen una mala respuesta a la terapia antimicrobiana estándar.

Generalmente, el diagnóstico definitivo se realiza mediante identificación microscópica de *Babesia* spp. en frotis de sangre con tinción de Giemsa (Imagen 1) o Wright. Los trofozoítos de *B. microti* aparecen en forma de anillo pleomórfico (redondos, ovalados, piriformes) y son indistinguibles de los trofozoítos de *B. duncani*.

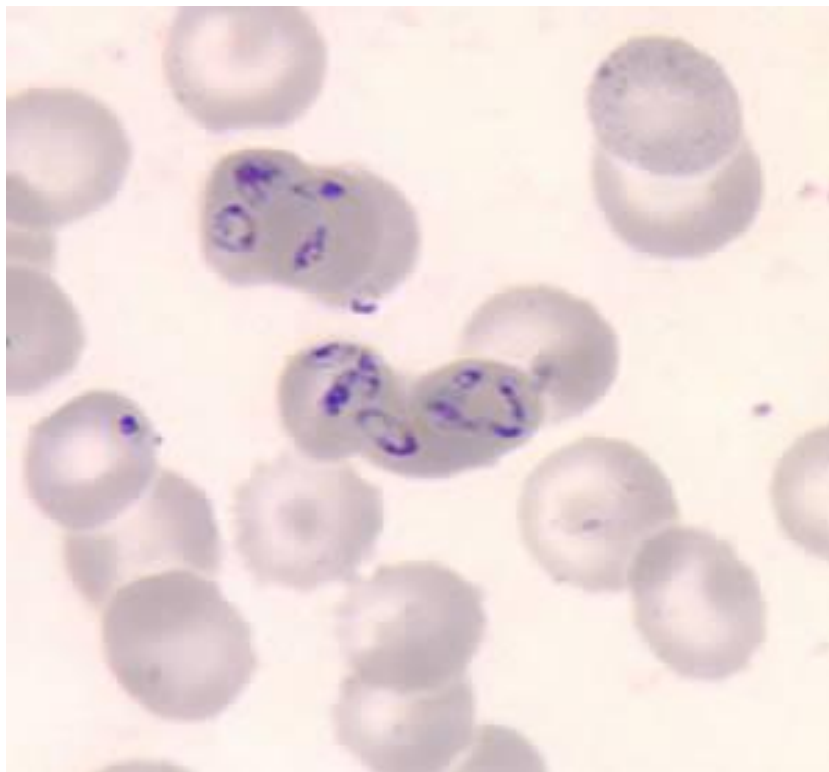


Imagen 1. *Babesia* spp. en frotis sanguíneo coloreado con Giemsa. 100X. CDC. DPDx.

Los merozoítos en tétradas que están dispuestas en forma de cruz (Cruz de Malta) es un signo patognomónico de babesiosis causada por *B. microti* o *B. duncani* (Imagen 2). En *B. divergens* se observan típicamente como pares en forma de pera. Aunque las formas anulares de *Babesia* spp. pueden parecerse a las de *P. falciparum*, la malaria puede ser excluida como diagnóstico diferencial sobre la base de un historial de viajes y una revisión cuidadosa del frotis sanguíneo.

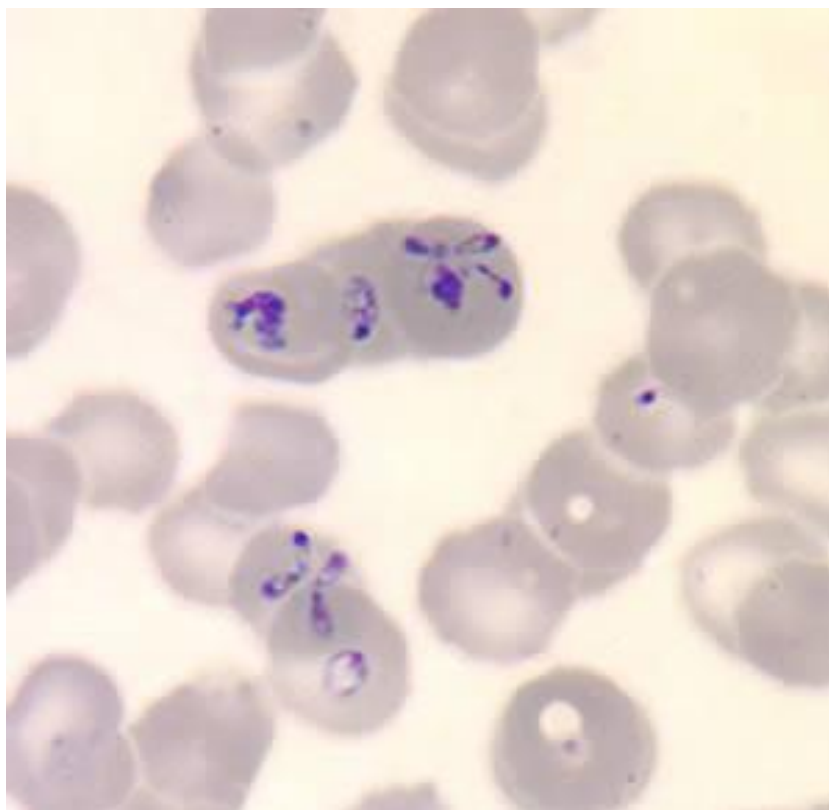


Imagen 2. *Babesia* spp. en frotis sanguíneo coloreado con Giemsa. 100X. CDC. DPDx.

El diagnóstico de babesiosis se puede establecer mediante la amplificación del ADN de *Babesia* spp. basada en la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR es especialmente útil en el contexto de una parasitemia de bajo nivel (portadores asintomáticos, al inicio de los síntomas y signos o durante la convalecencia). También permite la identificación de especies y la cuantificación de parásitos. La PCR es más sensible que la microscopía. El ADN del parásito puede detectarse mediante PCR durante varios meses tras la finalización de la terapia con antibióticos y la resolución de los síntomas (Vannier & Krause, 2015).

El ensayo estándar para la detección de anticuerpos contra *Babesia* spp. es la inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos IgM generalmente se detectan por primera vez 2 semanas después del inicio de la enfermedad. Un aumento de cuatro veces en el título de IgG confirma una infección reciente. Los títulos a menudo exceden 1:1024 durante la fase aguda de la enfermedad y declinan a 1:64 o menos en 8 a 12 meses. Las pruebas para detección de anticuerpos contra *B. microti* no detectan anticuerpos contra *B. duncani*, *B. divergens* o *B. venatorum*. La serología debe interpretarse

con precaución porque la aparición de los síntomas a veces precede al aumento del título de anticuerpos y porque los anticuerpos pueden persistir más allá de la resolución de la infección, lo que dificulta la distinción entre la infección actual y la reciente o pasada.

Tratamiento

El tratamiento con terapia antimicrobiana está justificado para individuos sintomáticos con infección leve a moderada por babesiosis confirmada por microscopía o PCR. El régimen preferido consiste en azitromicina más atovacuona por vía oral; clindamicina más quinina administrada por vía oral es una opción alternativa. La duración de la terapia es de 7 a 10 días.

Los síntomas y signos generalmente comienzan a remitir dentro de las 48 horas posteriores al inicio del tratamiento antimicrobiano y se resuelven en una o dos semanas. La fatiga puede persistir, pero generalmente se resuelve dentro de los tres meses posteriores al inicio del tratamiento. Los pacientes con babesiosis leve a moderada rara vez experimentan complicaciones.

Los pacientes inmunodeprimidos con enfermedad grave deben internarse para la administración de terapia antimicrobiana y control clínico de posibles complicaciones. El tratamiento antimicrobiano para pacientes inmunodeprimidos con enfermedad grave consiste en azitromicina endovenosa más atovacuona oral. Un régimen antimicrobiano alternativo es la clindamicina IV más quinina oral.

Los parámetros de laboratorio, hemograma completo, función renal y la función hepática deben evaluarse periódicamente hasta su normalización. La parasitemia se controla diariamente hasta que sea menor a 4% y los síntomas hayan remitido. A partir de entonces, continúa el seguimiento con frotis cada 2 o 3 días hasta que dejen de verse parásitos en el frotis.

Se debe considerar la exanguinotransfusión parcial o completa de glóbulos rojos para pacientes con parasitemia de alto grado (mayor al 10%) o anemia grave (hemoglobina <10 g / dl), debido a que reduce la parasitemia, corrige la anemia y elimina los mediadores inflamatorios y los subproductos tóxicos de la lisis de los eritrocitos (Mareedu et al., 2017).

Profilaxis

La mejor forma de prevenir la babesiosis es evitando áreas donde se encuentran las garrapatas. En caso de vivir o visitar zonas habitadas por garrapatas, se sugiere tomar las siguientes precauciones:

- Caminar por senderos despejados, evitando las áreas con maleza, hierbas o matorrales.
- Usar pantalones largos, camisas de manga larga y calcetines cuando se esté al aire libre. Colocar las perneras del pantalón dentro de los calcetines.
- Aplicar repelentes sobre la piel y la ropa, siguiendo las instrucciones presentes en la etiqueta del producto.

- Ducharse, rápidamente luego de haber estado al aire libre.
- Revisar todo el cuerpo en busca de garrapatas después de estar al aire libre. En caso de hallar algún ejemplar adherido, quitarlo rápidamente.
- Las personas con riesgo de babesiosis grave (p. Ej., esplenectomizados e inmunodeprimidos) deben evitar las áreas endémicas de *Babesia* spp. de mayo a septiembre, cuando las garrapatas presentan mayor actividad.

En marzo 2018, la FDA aprobó una prueba de ácidos nucleicos y un inmunoensayo para la detección de *B. microti* en sangre entera humana y plasma humano, respectivamente. Estas dos pruebas, cuando se combinan, prometen reducir drásticamente la incidencia de la infección asociada a transfusiones sanguíneas en áreas endémicas.

Por el momento no se dispone de vacunas para la prevención de esta enfermedad.

Importancia en salud pública

La babesiosis de los seres humanos es una zoonosis transmitida por garrapatas y se considera enfermedad de Notificación Obligatoria a la Autoridad Sanitaria correspondiente. Los antecedentes del paciente que reflejen una posible exposición a garrapatas y la ausencia de viajes a áreas conocidas de paludismo pueden ser sugestivos de babesiosis. Dada la creciente confluencia de garrapatas *Ixodes* spp., *Babesia* spp. y la presencia de individuos en riesgo de babesiosis graves en áreas cada vez mayores, los profesionales médicos deben estar alertas a la posibilidad de casos de esta enfermedad parasitaria.

Referencias

- Acha, P.N. & Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: clamidiosis, rickettsiosis y virosis*. 3. Pan American Health Organization.
- Apt Baruch W.L. (2013). *Parasitología humana*. 1 Ed. México. Edit. McGraw-Hill- Interamericana.
- Ash, L.R. & Orihel, T.C. (2010). *Atlas de parasitología humana/Atlas of Human Parasitology*. Edit. Médica Panamericana.
- Atías, A. (1998). *Parasitología Médica*. 1 Ed. Chile. Edit. Mediterráneo.
- Bennett, J.E., Dolin, R. & Blaser, M.J. (2015). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th Ed. Edit. Elsevier. 229 pp.
- Botero, D. & Restrepo, M. (2003). *Parasitosis humanas*. 4 ta Ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. 506 pp.
- Brennan, M.B., Herwaldt, B.L., Kazmierczak, J.J., Weiss, J.W., Klein, C L., Leith, C.P., ... & Gauthier, G. M. (2016). Transmission of *Babesia microti* parasites by solid organ transplantation. *Emerging infectious diseases*. 22(11): 1869.

- DPDX – Laboratory Identification of parasites of public health concern. (2017). CDC. <https://www.cdc.gov/dpdx/babesiosis/index.html>
- Farrar, J., Hotez, P.J., Junghanss, T., Kang, G., Laloo, D. & White, N.J. (2013). *Manson's Tropical Diseases*. E-Book. Elsevier health sciences.
- Gray, E.B. & Herwaldt, B.L. (2019). *Babesiosis Surveillance-United States, 2011-2015*. CDC Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries. 68 (6) 16 pp.
- Mareedu, N., Schotthoefer, A.M., Tompkins, J., Hall, M.C., Fritsche, T.R. & Frost, H.M. (2017). Risk factors for severe infection, hospitalization, and prolonged antimicrobial therapy in patients with babesiosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 97(4): 1218-1225.
- Ryan, E.T., Hill, D.R., Solomon, T., Endy, T.P. & Aronson, N. (2019). *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. E-Book. Elsevier Health Sciences.
- Saetre, K., Godhwani, N., Maria, M., Patel, D., Wang, G., Li, K.I., ... & Nolan, S.M. (2018). Congenital babesiosis after maternal infection with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti*. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 7(1): e1-e5.
- Vannier, E. & Krause, P.J. (2015). Babesiosis in China, an emerging threat. *The Lancet Infectious Diseases*. 15(2): 137-139.

CAPÍTULO 14

Babesia spp. Babesiosis bovina

Emanuel Ortega

Generalidades

Las especies del género *Babesia* comúnmente encontradas en el bovino son *B. bigemina*, *B. bovis* y *B. divergens* aunque también han sido reportadas, en menor medida, *B. major*, *B. ovata*, *B. occultans* y *B. jakimovi* (Spickler, 2018).

B. bovis y *B. bigemina* en conjunto con *Anaplasma marginale* (bacteria del orden Rickettsiales), son causantes de la enfermedad denominada “Tristeza bovina” o “Fiebre del ganado” descrita por Victor Babes en 1888. Parasitan los glóbulos rojos de los bovinos, causando un síndrome hemolítico agudo acompañado de fiebre, ictericia y anemia. El curso puede ser sobreagudo, agudo y crónico.

La babesiosis bovina ha tenido un gran impacto económico debido a la pérdida productiva que se produce en los animales infectados (Mosqueda et al., 2012). Las pérdidas pueden ser considerables, especialmente cuando animales sin inmunidad se trasladan a un área endémica (Spickler, 2018).

Morfología y especies (extraído de Mehlhorn, 1984)

Mediante microscopía óptica y de acuerdo al tamaño del trofozoíto dentro de los glóbulos rojos del hospedador, se las clasifica en dos grandes grupos.

Babesias grandes

Organismos de un tamaño de 2,5 a 5 μm , en este grupo se encuentran *B. bigemina* y *B. major*.

Babesia bigemina

Mide de 4 a 5 μm de largo por 2 a 3 μm de ancho, presenta forma de pera y se encuentra unida en pareja formando ángulo agudo dentro de los glóbulos rojos. Puede aparecer de diferentes formas según el estado de desarrollo del parásito (redondo, oval o irregular).

Babesia major

Presenta formas piriformes de 3 µm de largo por 1,5 µm de ancho formando un ángulo menor a 90°, pueden existir formas redondeadas de 1,8 µm de diámetro. Se localizan en el centro del glóbulo rojo.

Babesias pequeñas

Organismos de un tamaño de 1 a 2,5 µm, comprende a *B. bovis* y *B. divergens*.

Babesia bovis

Mide 2,4 µm de largo por 1,5 µm de ancho, presenta forma anular (vacuola central con un núcleo en uno de los polos = anillo de sello).

Babesia divergens

Mide 1,5 µm de largo por 0,5 µm de ancho, presentan formas divergentes de a pares, ubicadas en el margen de los glóbulos rojos. Pueden presentar formas piriformes, también circulares y algunas con una vacuola y tamaño de hasta 2 µm de diámetro.

Mediante microscopía electrónica de transmisión se observan organelas propias de una célula eucariota, además de dos membranas, una membrana externa que está en contacto directo con el glóbulo rojo y una membrana interna, propia del parásito. En su extremo romo posee el complejo apical el cual está formado por un anillo polar, roptrias y micronemas.

Transmisión y formas de diseminación

La transmisión se realiza principalmente a través de la picadura de la garrapata en cuya saliva se encuentra la forma de diseminación, el esporozoíto, el cual se ubica en los acinos salivales. También se han descrito otras formas de transmisión como por ejemplo la transmisión por picadura de tábanos, o por el mal uso de material de trabajo (agujas, descornadores y castradores).

Ciclo Biológico

El hospedador invertebrado (garrapata) ingiere sangre infectada con gamontes inmaduros, los cuales maduran en el intestino y se diferencian mediante el proceso de gametogonia en gametos femeninos y masculinos. Estos se fusionan formando el cigoto u ooquinetto, que ingresa a las células epiteliales del intestino, desplazándose hacia los acinos salivales a través de la hemolinfa. Dentro de la glándula salival se produce la esporogonia donde el cigoto se transforma en esporoblasto y desarrolla esporozoítos. Mediante la picadura de la garrapata, los esporozoítos se introducen en el flujo sanguíneo del hospedador (bovino), invadiendo a los glóbulos rojos y evolucionan a trofozoítos. El

organismo en un primer momento, sólo está cubierto por una fina membrana externa, ya que ha perdido su complejo apical y se alimenta por pinocitosis de componentes del citoplasma del glóbulo rojo. Tras un período de alimentación y crecimiento, reaparece la dotación de organelas. En esta etapa se produce la esquizogonia, mediante migración del núcleo y se dividen por fisión binaria en dos células hijas, que se dividen nuevamente, destruyendo los glóbulos rojos y liberando a la sangre los merozoítos resultantes. La mayoría infecta nuevos glóbulos rojos, otros se diferencian en gamontes y son infectantes para un nuevo hospedador invertebrado.

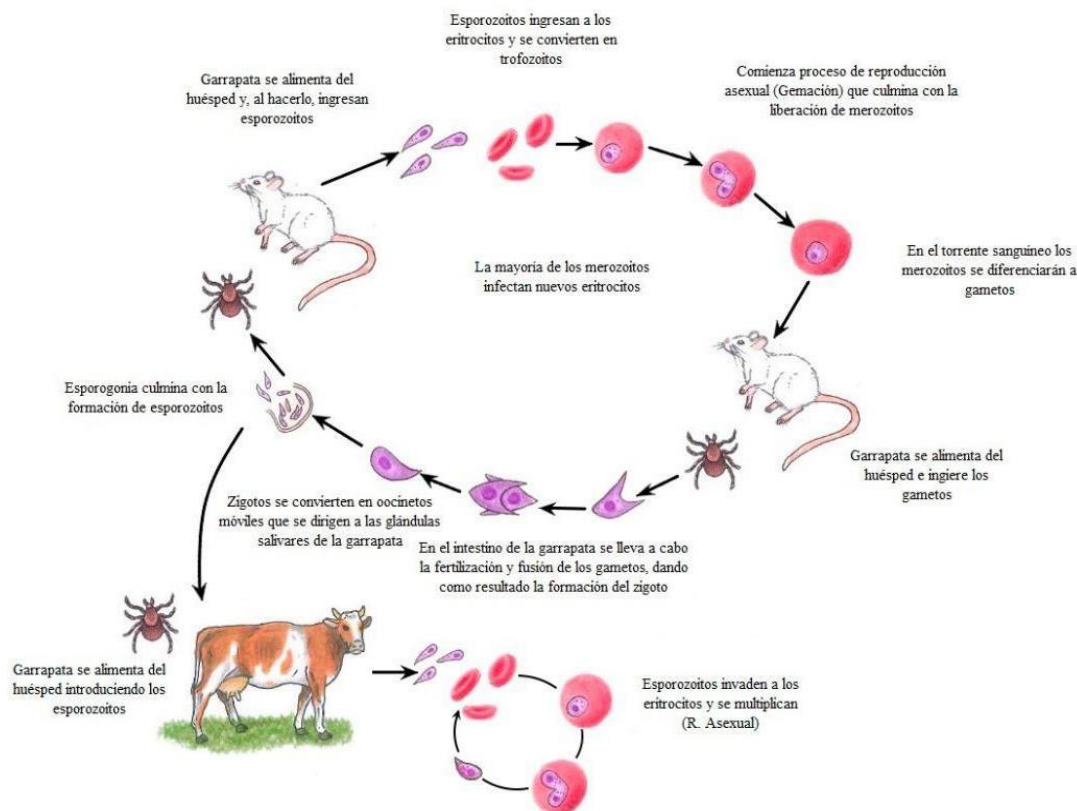


Figura 1. Ciclo biológico de babesiosis bovina

Patogenia y signología clínica

Como toda enfermedad parasitaria, la patogenicidad del agente dependerá de éste (especie, virulencia, número de parásitos en el inóculo, ritmo de penetración, etc.), como del hospedador (especie animal, primoinfección o reinfección, edad, malnutrición, grado de parasitemia, estrés, etc.). A su vez, son patógenos capaces de localizarse en prácticamente todos los órganos y tejidos, por lo que la signología presente dependerá del órgano afectado.

El periodo de incubación para *B. bovis* y *B. bigemina* generalmente ronda las 2 o 3 semanas posterior a la infestación con garrapatas. Aunque se han reportado períodos de tan sólo 4 a 5 días o 10 a 12 días, dependiendo de la especie parasitaria involucrada (Spickler, 2018).

Luego del ingreso del patógeno al organismo, en la etapa extracelular, la respuesta inmune innata intenta frenar la invasión mediante la fagocitosis de los esporozoítos libres. En un segundo momento, los anticuerpos intentan neutralizarlos. La invasión de los glóbulos rojos se realiza a través de un proceso de invaginación (anclaje inicial a la superficie, reorientación del complejo apical e internalización por endocitosis, dentro de una vacuola parasitófora, la cual posteriormente se desintegra). En la etapa intracelular, los macrófagos producen la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL1, FNT-alfa e INF-gamma), responsables de la fiebre alta además de inducir la expresión de moléculas de adhesión por parte de las células endoteliales, produciendo un aumento de la permeabilidad vascular, adhesión de glóbulos rojos parasitados a los capilares sanguíneos, lo que facilita la formación de trombos.

La lisis de los glóbulos rojos se produce por ruptura mecánica (al liberarse los merozoítos), por aumento de la fragilidad celular, ya que los merozoítos utilizan gran parte de la energía celular, alterando su metabolismo y osmolaridad y al ser fagocitados por el sistema fagocítico mononuclear en su paso por el bazo, luego de incorporar antígenos de babesia en su superficie, opsonizados por el complemento y reconocidos como extraños. Como resultado, la hemólisis intravascular produce una excesiva liberación de hemoglobina al torrente sanguíneo, saturando el sistema hemoglobina-haptoglobina por el glomérulo renal y en consecuencia produciendo hemoglobinuria.

Además, el metabolismo parasitario libera sustancias enzimáticas (esterasas y proteasas) que actúan como un potente activador del sistema de la calicreína produciendo vasodilatación, incremento de la permeabilidad de las membranas endoteliales, lo que permite la salida de proteínas (albúminas) junto con líquido circulante, con la consecuente producción de edema. La calicreína además induce la formación de proteínas del tipo fibrinógeno, haciendo que los glóbulos rojos se aglutinen en los capilares, facilitando la formación de trombos y produciendo finalmente estasis vascular. Todo lo descrito resulta en hipoxia tisular, producción de ácido láctico y posterior acidosis metabólica.

En zonas endémicas, donde los animales han tenido contacto con la parasitosis a temprana edad, no enferman o lo hacen levemente. Si el animal presenta una situación sanitaria adecuada, el equilibrio parásito-hospedador se mantiene y no desarrolla cuadro clínico (Bock, 2004). Esta situación fue denominada por Mahoney en 1974 como “estabilidad enzoótica” y declarando que *“si el 75% de los animales han estado expuestos antes de los 9 meses de edad, la posibilidad de que existan casos clínicos es muy baja”* (Florin-Christensen et al., 2014). La situación, aunque ideal, se puede romper fácilmente, provocando que los animales recuperados de la infección inicial (que permanecen como portadores sanos) presenten recaídas debido a factores como baja de defensas, variaciones climáticas y estrategias de manejo, desarrollando la enfermedad. En zonas no endémicas o animales que llegan desde áreas libres, comúnmente experimentan la enfermedad con severidad y el cuadro clínico es agudo y grave. El sistema inmunológico parece no ser capaz de eliminar por completo la infección y los animales que se recuperan por lo general quedan como portadores crónicos.

La gravedad de la babesiosis puede variar considerablemente entre individuos. Los terneros generalmente son asintomáticos debido a la inmunidad calostrada e innata de los primeros meses

de vida (Bock, 2004), mientras que en animales mayores el cuadro clínico suele ser grave y con frecuencia fatal (Mastopaolo, 2014; Florin-Christensen et al., 2014).

La signología aguda corresponde a un síndrome hemolítico agudo que cursa con fiebre alta (41°C), decaimiento, letargo, mal estado general, anorexia, pérdida de peso, anemia hemolítica (caracterizada por ictericia y hemoglobinuria), trombocitopenia, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia generalizada, bilirrubinuria, pudiendo progresar a insuficiencia orgánica grave y posterior muerte (Bowman, 2004). Sin embargo, la signología anteriormente descrita es general. En los bovinos los signos característicos son circulatorios (edema, ascitis y hemorragias en piel y mucosas) y dependiendo de la especie parasitaria involucrada, predominan los signos neurológicos o respiratorios. *B. bovis* forma trombos en los capilares del SNC por cambios en los glóbulos rojos, por lo que se observa agresión, ataxia, trastornos del equilibrio e incoordinación (Spickler, 2018). El animal se aísla del rodeo y busca sombra. Si la enfermedad avanza se vuelven muy susceptibles al estrés, se desploman y mueren.

En los sistemas productivos de la región del NEA, la enfermedad causa importantes pérdidas económicas relacionadas a la mortandad, abortos y disminución de índices productivos (carne y leche), además de las medidas de control que deben realizarse con la consecuente pérdida del potencial productivo de áreas endémicas (Florin-Christensen et al., 2014).

Distribución geográfica

La enfermedad se distribuye de acuerdo al hábitat de la especie de invertebrado que lo transmite. Está influenciada por la época del año en cuanto a temperatura y humedad, importante para la sobrevivencia del vector. *B. bigemina* es de distribución cosmopolita; se encuentra principalmente en zonas tropicales y subtropicales de América Central y América del Sur, África, Australia y sur de Europa. Es transmitida por *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus*. Por otra parte, *B. bovis* se localiza principalmente en Europa, aunque también se la puede encontrar en África, Asia, Australia, América Central y del Sur. Es transmitida por *Rhipicephalus microplus* y *Haemaphysalis* sp., según la región en que se encuentre. *B. divergens* se encuentra en Europa (sobre todo en casos humanos). La transmisión se realiza a través de *Ixodes ricinus*. Finalmente *B. major* se presenta en Sudamérica, África, sur de Europa. Es transmitida por *Ixodes ricinus* y *Haemaphysalis punctata* (Mehlhorn, 1984; Bock, 2004).

Diagnóstico

Tanto la anamnesis como la sintomatología son importantes. Los antecedentes epidemiológicos como lugar de procedencia (zonas endémicas) y la presencia de garrapatas no pueden pasarse por alto.

Si bien los hallazgos de laboratorio (hemograma y bioquímica) son importantes, no se realizan de rutina en bovinos.

Diagnóstico parasitológico directo

Se debe realizar durante la fase aguda de la infección. Consiste en realizar un frotis sanguíneo capilar, debido a que los glóbulos rojos parasitados se acantonan en la microvasculatura. Se extrae sangre del borde de las orejas o pabellón auricular o punta de la cola. También puede realizarse un frotis de sangre venosa, posteriormente a la técnica de microhematocrito (centrifugando sangre con anticoagulante a 2500 rpm durante 5 minutos) y tomando como muestra los glóbulos rojos adyacentes a la capa leucocitaria. Los frotis se colorean con tinción de Romanovsky. Los parásitos intraeritrocitarios se observan bajo un aumento de 1000 y en un mínimo de 100 a 200 campos microscópicos (Mosqueda et al., 2012) (Imagen 1). Otra técnica mencionada por Mosqueda (2012) consiste en realizar frotis sanguíneo colocando una gota gruesa en el centro del portaobjetos, fijado mediante calor y utilizando la tinción de Romanovsky.

Durante el análisis microscópico y de acuerdo a la especie en estudio, se debe tener en cuenta el grado de parasitemia. En *B. bovis* la parasitemia en casos agudos es inferior a 1%, por lo que al examen microscópico deben observarse más de 0,2% de los glóbulos rojos parasitados; en el caso de *B. bigemina* la parasitemia en casos agudos va de 10 a 30%, por lo que al examen microscópico deben observarse más del 1% de los glóbulos rojos parasitados (De la Sota, 2005).

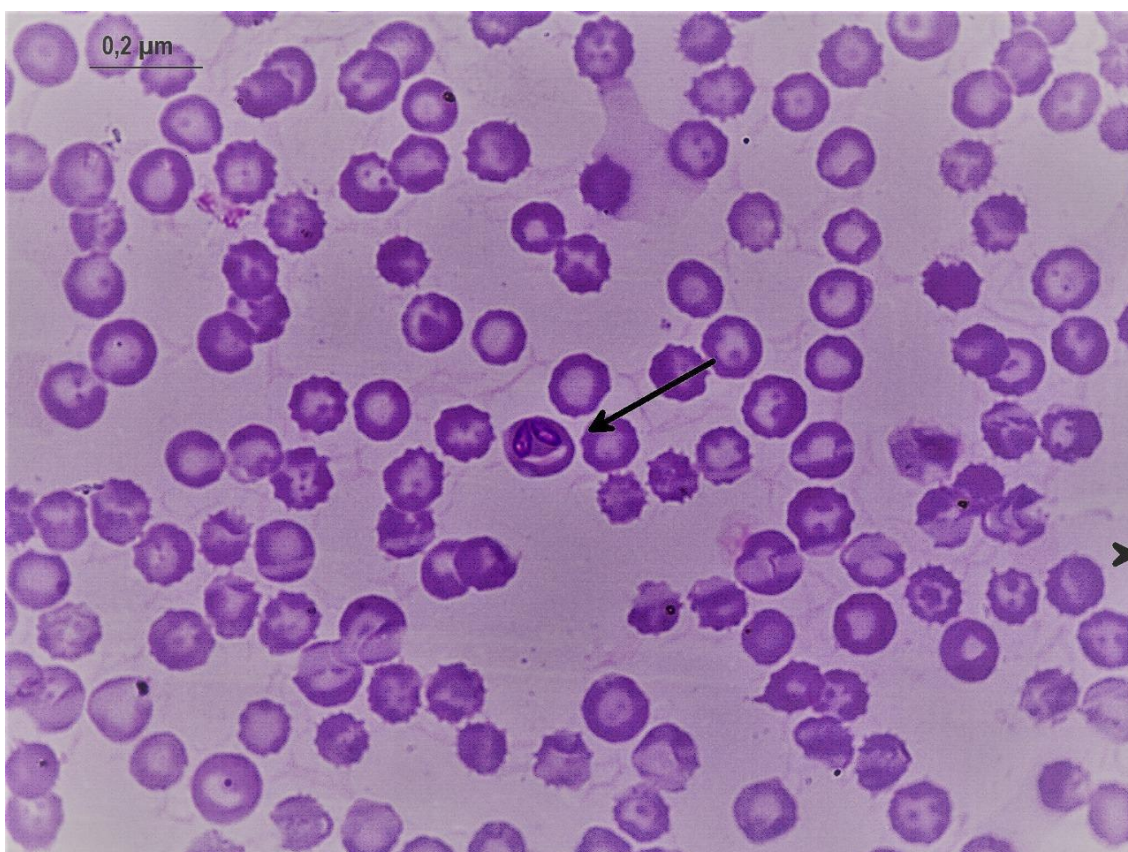


Imagen 1. Frotis sanguíneo de glóbulo rojo parasitado por *Babesia* spp. Coloración de Giemsa. 100X

En animales crónicamente infectados, el análisis microscópico es un método inútil y deben emplearse otros más sofisticados (Mosqueda et al., 2012).

En el caso de sospecha de babesiosis en un animal muerto, las lesiones macroscópicas a la necropsia se relacionan principalmente con hemólisis intravascular, anemia e ictericia. Las membranas mucosas suelen ser pálidas o ictéricas. El bazo está notablemente agrandado con un color oscuro, pulposo y de consistencia friable (Spickler, 2018). Otros órganos afectados son el hígado, la vesícula biliar y los riñones. Puede utilizarse la histopatología del cerebro, la cual se basa en la observación de capilares llenos de glóbulos rojos infectados.

También se describe la utilización de citología por impronta de cerebro, bazo o riñón (De la Sota, 2005).

Los métodos moleculares, conocidos por su alta sensibilidad, se pueden utilizar para diagnosticar casos clínicos como también para distinguir la especie parasitaria involucrada.

Diagnóstico parasitológico indirecto

Se realiza mediante serología (IFI, ELISA, HAI) a partir de una muestra de sangre. El diagnóstico mediante ELISA lee una gran cantidad de muestras con facilidad y presenta una mayor especificidad que la IFI.

Para extender la lectura en lo que refiere a la toma de muestras y envío dirigirse al “Manual de Procedimientos, Recolección y envío de muestras” de la Dirección de Sanidad Animal del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA).

Tratamiento

Se utiliza el aceturato de diminaceno (Ganaseg-Berenil) en dosis de 3 a 5 mg/kg vía IM, repitiendo de 1 a 3 días o el dipropionato de Imidocarb en dosis de 1,2-5 mg/kg vía IM o SC. El éxito del tratamiento refiere a su inicio luego de un diagnóstico temprano y aún puede fallar en animales muy enfermos.

Profilaxis

Es importante la erradicación de los focos de infestación de garrapatas mediante tratamientos ambientales y baños del ganado, además de la limitación del movimiento de animales entre las distintas zonas.

Anteriormente, se utilizaba un método denominado “premunición”, el cual consistía en la transferencia de sangre de un bovino recuperado o portador sano a otro susceptible, induciendo una infección leve (Lightowlers, 2014). Una vez recuperados, podrían ser introducidos a zonas endémicas. Sin embargo, luego de haberse utilizado por mucho tiempo, dejó de utilizarse debido

a que es un método costoso, requiere de personal capacitado y existe riesgo de perder animales en el proceso.

Los manejos previos, sentaron las bases para que, en la década de 1960, Calow et al. (1997) realizaran los primeros avances en la producción de vacunas contra la enfermedad. Con el objetivo de disminuir la virulencia, se realizaban sucesivas “pasadas” a través de terneros esplenectomizados. Como resultado se podía inducir inmunidad en los receptores contra la exposición posterior a parásitos de mayor virulencia (Florin-Christensen et al., 2014).

En Argentina, las vacunas están compuestas por glóbulos rojos parasitados con *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma centrale* (la cual confiere protección cruzada con *A. marginale*). El calendario correspondiente es a los 4 a 10 meses de edad en el ganado bovino, que será trasladado a zonas endémicas (Spickler, 2018). Se puede vacunar a los animales 60 días previos al traslado mediante las vacunas vivas atenuadas, brindando así estabilidad inmunológica a los rodeos. Las vacunas se producen en el INTA Mercedes (Corrientes), Rafaela (Santa Fe) y en el Laboratorio Litoral Biológicos (Puerto Tirol, Chaco) (más información en: <http://litoral-biologicos.com.ar/>).

Importancia en salud pública

Babesia bovis es considerada una especie zoonótica, aunque ocasionalmente el hombre puede ser afectado también por *B. divergens*, *B. microti*, *WA1*¹, *MO1*² y *TW1*³ y *B. duncani* (Berger, 2020) siendo un hospedador accidental y final. El primer caso se comprobó en 1957 en Yugoslavia y se debió a *B. divergens* (Barriga, 2003).

Referencias

- Barriga, O.O. (2003). Babesiosis. En: *Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Publicación Científica y Técnica No. 580. Organización Panamericana de la Salud. 3 Ed. Washington, D.C. EUA. cap 12. pp 12-17.
- Berger, J.J. & Hayes, B.K. (2020). *Tick-Borne Disease Working Group*. 2nd Report to Congress; U.S. Department of Health and Human Services, Office of the Assistant Secretary for Health. Recuperado de: https://www.hhs.gov/sites/default/files/tbdwg-2020-report_to-congress-final.pdf
- Bock, R., Jackson, L., De Vos, A., Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*. 129(7): S247–S269.
- Bowman, D.D. (2004). *Georgis, Parasitología para veterinarios*. 8th Ed. Edit. Elsevier. p. 112-114.

¹ Especie relacionada con *B. gibsoni*, identificada en Washington (EEUU).

² Especie relacionada con *B. divergens*, identificada en Missouri (EEUU). Transmitida por *A. americanum*

³ Especie relacionada con *B. microti*, identificada en Taiwán.

- Centers for Disease Control (CDC). Laboratory Identification of parasites of public health concern. (2017). Recuperado de: <https://www.cdc.gov/parasites/babesiosis/>
- Corporate Authors (2018). Tickborne Diseases of the United States. *A Reference Manual for Health Care Providers*. 5th Ed, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (U.S.). Division of Vector-Borne Diseases. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). Department of Health and Human Services. Recuperado de: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/55837>
- De la Sota, M.D. (2005). *Manual de procedimientos. Anaplasmosis y Babesiosis*. Dirección de luchas sanitarias. Dirección Nacional de Sanidad Animal. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) Buenos Aires. Recuperado de: http://www.intranet.senasa.gov.ar/intranet/imagenes/archivos/dnsa/manuales_de_procedimiento/29%20Anaplasmosis.pdf
- Florin-Christensen, M., Suarez, C.E., Rodriguez, A.E., Flores, D.A. & Schinittger, L. (2014). Vaccines against bovine babesiosis: where we are now and possible roads ahead. *Parasitology*. 141(12): 1563–1592.
- Lightowers, M.W. (2014). Vaccinations. En: Bowman, D.D. Georgis, *Parasitology for veterinarians*. 10th Ed. Edit. Elsevier. p. 436-437.
- Mastro Paolo, M. (2014). Tesis: *Epidemiología de la babesiosis de los bovinos causada por Babesia bigemina (Smith y Kilborne, 1893) en el sudoeste de la provincia del Chaco*. UNLP. Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/53115>
- Mehlhorn, H., Schein, E. (1985). The Piroplasms: Life Cycle and Sexual Stages. *Advances in Parasitology*. 37–103.
- Minoprio, J.L., Minoprio, J.E. & Jörg, M.E. (1994). Babesiosis, caso humano con síndrome hemocitofágico observado en Argentina. *Prensa Médica Argentina*. 81: 43-48
- Mosqueda, J., Olvera-Ramírez, A., Aguilar-Tipacamú, G., Cantó, G.J. (2012). Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. *Current Medicinal Chemistry*. 19(10): 1504-1518
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2019) *Babesiosis Bovina*. En: Código Sanitario para los Animales Terrestres. 2(11.2) Recuperado de: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_bovine_babesiosis.pdf.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2014) *Babesiosis Bovina*. En: Manual Terrestre. 1(3.4.2). Recuperado de: www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.02_Babesiosis%20bovina.pdf.
- Scott, J.D. & Scott, C.M. (2018). Human Babesiosis Caused by *Babesia duncani* Has Widespread Distribution across Canada. *Healthcare (Basel)*. 6(2):49.
- Spickler, A.R. (2018). *Bovine Babesiosis Tick Fever, Cattle Fever, Texas Fever, Piroplasmosis, Redwater*. CFSPH. Iowa State University. p. 1-10 Recuperado de: cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets/.

CAPÍTULO 15

Orden Piroplasmida. Babesiosis y rangellosis canina

Diego Fernando Eiras, Darío Vezzani, María Victoria Vázquez y Gastón Moré

Generalidades, etiología y morfología

La piroplasmosis canina es una enfermedad producida por protozoarios hemoparásitos que afecta a los cánidos domésticos y silvestres de todos los continentes y pertenece al grupo de enfermedades transmitidas por garrapatas (Irwin, 2009, 2010).

El término piroplasma hace alusión al aspecto piriforme de estos agentes que comparten el Phylum Apicomplexa con los coccidios, pero se diferencian de estos por producir ooquistos y por carecer de conoide en el complejo apical (Solano-Gallego & Baneth, 2011).

Usualmente los piroplasmas que afectan a los perros pueden evidenciarse con microscopio óptico a 1000X dentro de los glóbulos rojos en los extendidos de sangre coloreados con tinciones de rutina como May Grünwald-Giemsa. En base al tamaño de los merozoítos intraglobulares, los piroplasmas pueden fácilmente dividirse en 2 grandes grupos: aquellos considerados “grandes” ($> 2,5 \mu\text{m}$) y los “pequeños” piroplasmas ($< 2,5 \mu\text{m}$) (Birkenheuer et al., 2003; Solano-Gallego & Baneth, 2011; Uilenberg, 2006). Esta primera gran división, no permite al observador conocer la especie de piroplasma que está afectando al perro estudiado, pero puede alertar a los veterinarios clínicos a tomar decisiones terapéuticas diferentes junto a la información sobre la sintomatología y la epidemiología de las especies de piroplasmas y garrapatas más frecuentes en la zona (Eiras et al., 2008). Otro aspecto importante para considerar en el diagnóstico es el hallazgo de merozoítos dentro de los glóbulos blancos, principalmente neutrófilos y monocitos (Eiras et al., 2014; Sánchez et al., 2015).

De todas maneras, resulta aconsejable la identificación de la especie mediante técnicas moleculares si se dispone de los medios y la tecnología necesaria. Existen numerosas técnicas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) que permiten diferenciar la especie de piroplasma observada, o incluso, diagnosticar los casos positivos cuando la parasitemia es indetectable al microscopio (Birkenheuer et al., 2004; Eiras, 2018; Jefferies et al., 2007).

En términos generales la piroplasmosis en los perros produce anemia con un componente hemolítico de intensidad variable que depende mayormente de la patogenicidad de la especie

implicada y de la susceptibilidad individual (Zygner et al., 2007). Puede haber hepatomegalia y esplenomegalia debido al proceso hemolítico, trombocitopenia e ictericia de intensidad variable. Las especies más patogénicas pueden producir cuadros más graves que muchas veces terminan en muerte del animal (Furlanello et al., 2005; Schnittger et al., 2012; Solano-Gallego y Baneth, 2011; Solano-Gallego et al., 2008).

A nivel mundial, se reportaron 12 especies de piroplasmas que infectarían a los perros y otros cánidos (Cuadro 1). En perros de Argentina se han descrito hasta el momento 3 de estas especies.

Babesia vogeli es la más prevalente y extendida, no solo en Argentina sino en todo el mundo debido a que el vector, la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*, es cosmopolita y convive con las mascotas muy fácilmente en el entorno doméstico y peri-doméstico urbano (Baneth et al., 2019; Eiras, 2018; Irwin, 2010; Schnittger et al., 2012). Esta especie de piroplasma es de baja patogenicidad y en muchos casos se constituye como un hallazgo microscópico circunstancial sin implicancia clínica (Solano-Gallego et al., 2008). En otros casos puede haber complicaciones y aparecer un cuadro de anemia grave, especialmente en aquellos perros con enfermedades concomitantes o infección con otros agentes de transmisión vectorial como *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis* o *Anaplasma platys* (Dantas-Torres, 2008; De Tommasi et al., 2013; Eiras, 2018; Jefferies, 2006; Shaw et al., 2001). Los merozoítos de *B. vogeli* son de tamaño grande (Imagen 1) y pueden encontrarse tanto en los glóbulos rojos como libres en el plasma. Los merozoítos intraeritrocitarios pueden ser únicos, dobles o múltiples dependiendo del momento de la multiplicación asexual en las células de la sangre. La parasitemia en muchos casos desaparece de manera espontánea poco tiempo después de la infección (Eiras, 2018).

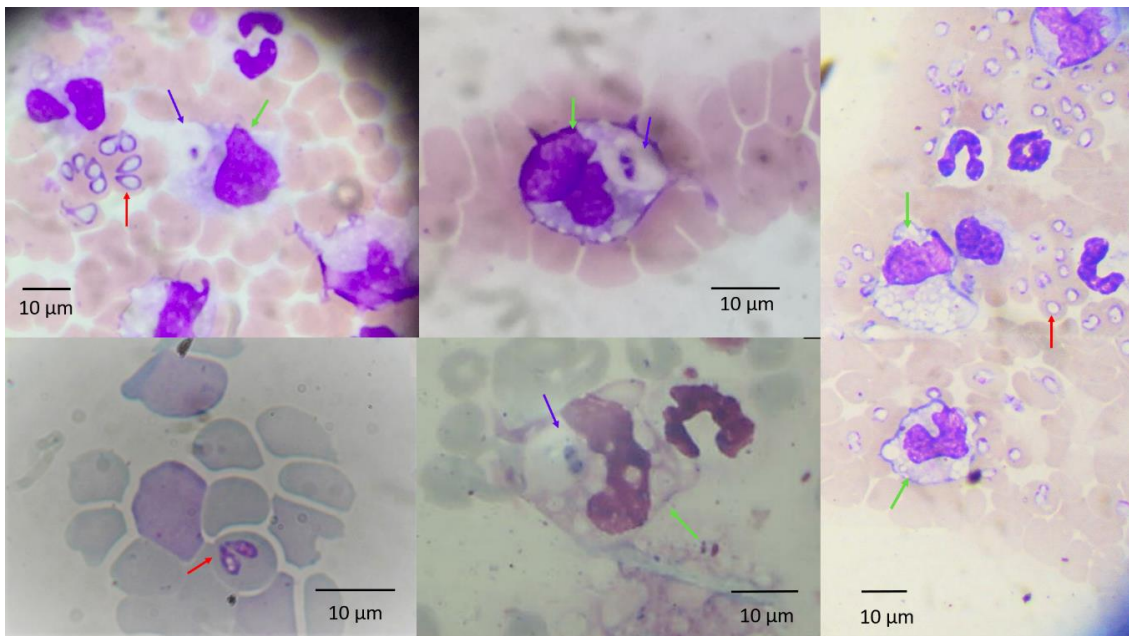


Imagen 1: *Babesia vogeli* y monocitos activados asociados a la infección por este piroplasma. Flechas rojas: merozoítos de *Babesia vogeli*; flechas verdes: monocitos activados; flechas violetas: merozoítos fagocitados. 100X.

La segunda especie descrita en nuestro país es *Rangelia vitalii*, agente de la rangeliosis canina, también llamada “*nambi-uvú*” en guaraní (i.e. orejas sangrantes), o también peste de

sangre de los perros. Es una afección endémica desde hace más de 100 años en el sudeste de Brasil, en las zonas donde habita *Amblyomma aureolatum*, la garrapata hospedadora con capacidad vectorial para transmitir la infección (Dantas-Torres, 2008; França et al., 2014). Las descripciones de esta afección en Uruguay y Argentina son mucho más recientes y coinciden también con la distribución del vector, principalmente en zonas periurbanas y semi-rurales del norte de Uruguay y noreste argentino (Sánchez et al., 2015; Soares et al., 2015). Los merozoítos de este piroplasma son de tamaño grande (Imagen 2) y afectan no solo a los glóbulos rojos sino también a los leucocitos y a las células del endotelio vascular. Consecuentemente, el hallazgo microscópico de merozoítos dentro de los neutrófilos o monocitos en los extendidos sanguíneos de un perro en un área donde se encuentra la garrapata *A. aureolatum*, refuerza la sospecha del hallazgo de *R. vitalii*. Además, el cuadro clínico se encuentra asociado a su patogenia y el sangrado (especialmente presente en el borde de las orejas, lo que le da el significado a su nombre en guaraní), es la manifestación clínica principal de los perros afectados (Cardoso et al., 2008; França et al., 2010; Loretto & Barros, 2005).

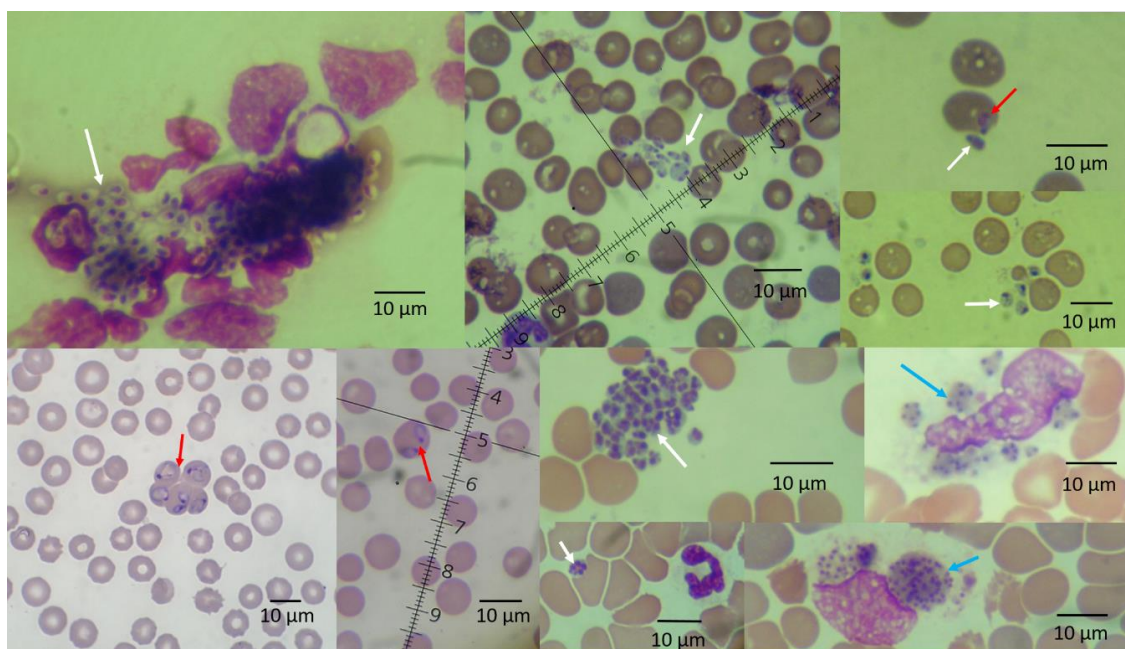


Imagen 2. Piroplasmas grandes de *Rangelia vitalii*. Flechas rojas: merozoítos dentro de los glóbulos rojos; flechas blancas: merozoítos libres en plasma; flechas celestes: merozoítos dentro de los glóbulos blancos. 100X.
Fotos: cortesía Dr. Ricardo Sánchez.

Por último, se ha descrito también la presencia ocasional de un piroplasma de merozoítos “pequeños” (Imagen 3) en caninos de raza Pitbull, que se corresponden con lo reportado para *Babesia gibsoni* “*sensu stricto*” (Eiras, 2018; Solano-Gallego et al., 2016). En esta especie, además de la transmisión vectorial se ha reportado enfáticamente la transmisión horizontal entre perros de pelea, mediante las mordeduras y la ingestión de sangre infectada, especialmente en los países fuera del continente asiático, de donde es originaria (Birkenheuer et al., 2005; Irwin, 2009; Yeagley et al., 2009).

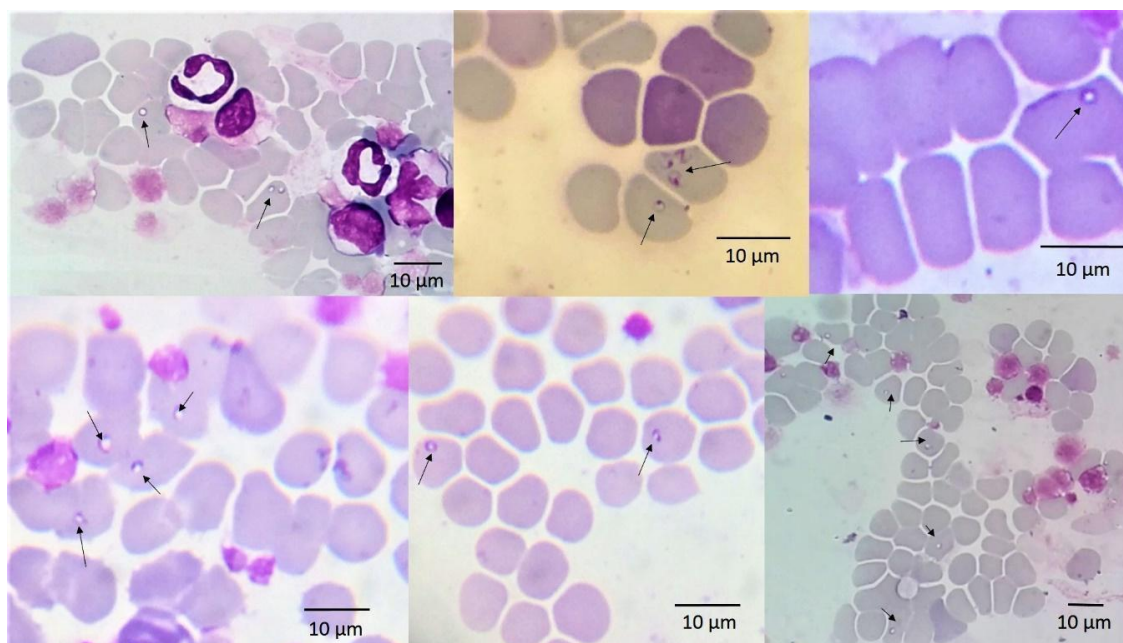


Imagen 3. Piroplasmas pequeños de *Babesia gibsoni*. Flechas negras= merozoitos dentro de glóbulos rojos. 100X. Las imágenes corresponden a caninos de la Provincia de Salta.

Transmisión y ciclo biológico

Los piroplasmas tienen un ciclo indirecto (Figura 1 y Figura 2), cuyo hospedador definitivo es una garrapata con capacidad vectorial. En el intestino de la garrapata se produce la reproducción sexual con fusión de gametas y formación de un cigoto móvil (ooquinetos), que va seguida de una esporogonia en la cavidad del cuerpo con invasión de las células y tejidos del artrópodo, incluyendo las glándulas salivares. Los esporozoitos resultantes adquieren la capacidad infectante en el mismo lugar y se transmiten a los caninos susceptibles (hospedador intermediario) a través de la picadura de la garrapata. Una vez alimentada de sangre, la garrapata continúa con su ciclo y puede seguir transmitiendo la infección a otros hospedadores en el siguiente estado de desarrollo, dado que tiene transmisión transestadial. Si la garrapata se infectó siendo ninfa, podrá transmitir la infección luego de la muda como adultos, pero cuando las hembras ingurgitadas descienden del hospedador vertebrado para oviponer, ya no será posible la transmisión, es decir no se ha demostrado la transmisión transovárica como en el caso de la babesiosis bovina (Dantas-Torres & Otranto, 2015; Homer et al., 2000; Irwin, 2010; Jalovecka et al., 2018; Mehlhorn & Schein, 1985; Solano-Gallego et al., 2016; Uilenberg, 2006).

En el perro sucede la reproducción asexual o merogonia, principalmente en los glóbulos rojos unos 10 a 20 días post infección, aunque también puede suceder en los glóbulos blancos, o incluso otras células, dependiendo de la especie. En general, se acepta que en las afecciones producidas por especies del género *Babesia*, los merozoitos están presentes en los eritrocitos y libres en el plasma. Para las infecciones por el género *Theileria*, se describe una etapa previa de multiplicación en glóbulos blancos antes de la merogonia eritrocitaria (Uilenberg, 2006). En el caso de *R. vitalii*

sucede primero la reproducción intraeritrocitaria y luego la intraleucocitaria, para finalizar la merogonia en el endotelio vascular unos 20 a 30 días postinfección (França et al., 2014). Las formas de reproducción en las células sanguíneas parasitadas constituyen los elementos infectantes para los hospedadores definitivos cuando se alimentan de sangre (Irwin, 2010).

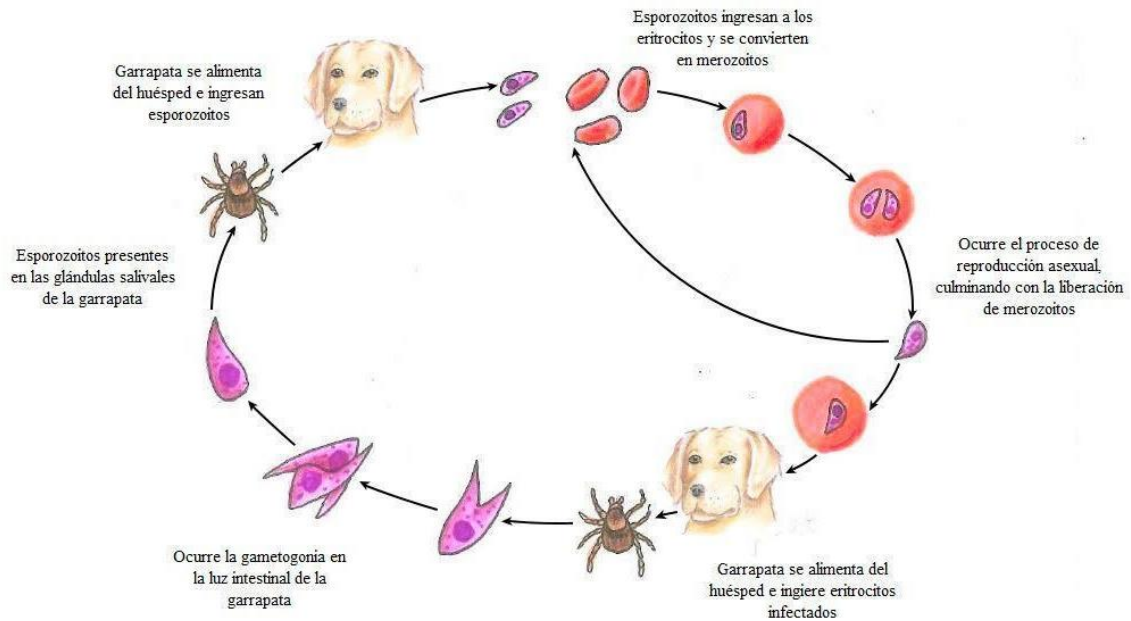


Figura 1. Ciclo biológico de *Babesia* sp.

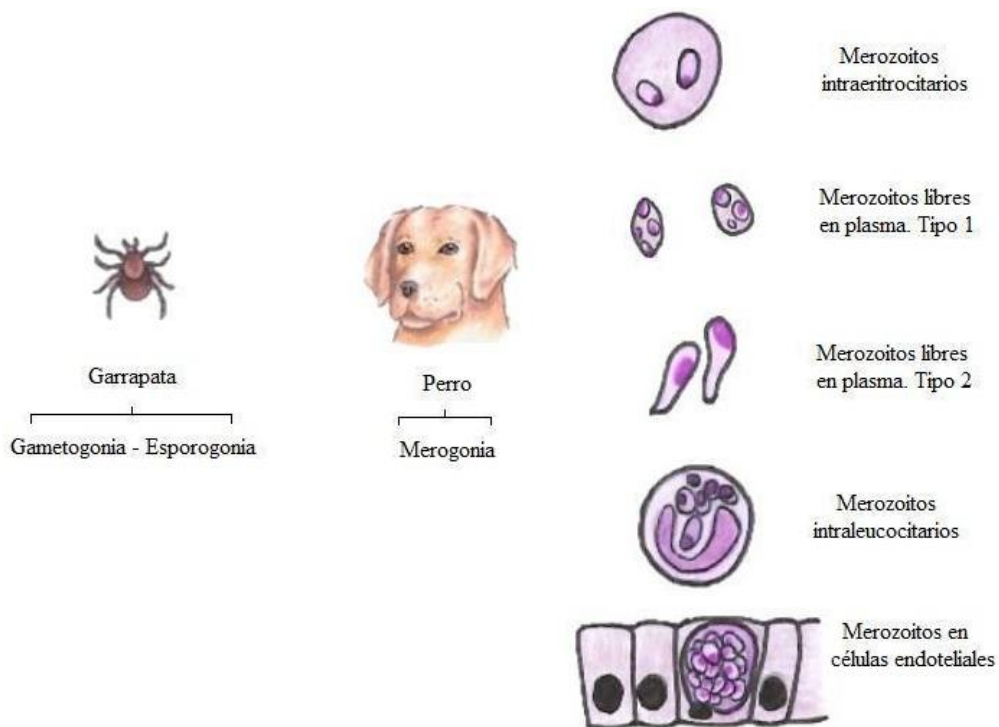


Figura 2. Ciclo biológico de *Rangelia vitalii*.

Diagnóstico

Hay disponibilidad de varios tipos de diagnóstico para la piroplasmosis canina, pero la examinación microscópica de los extendidos de sangre con tinciones habituales es la herramienta de primera línea para evaluar la presencia de infección. Los antecedentes clínicos y de presencia de garrapatas ayudan en la orientación diagnóstica y el lugar de donde proviene el perro colabora en la identificación específica. Deben observarse al menos 100 campos microscópicos a 1000x para evaluar con relativa sensibilidad la presencia o ausencia de piroplasmas en un frotis (Böse et al., 1995; Dantas-Torres & Aguiar Figueredo, 2006; Irwin, 2010). Especialmente los merozoítos pequeños son muy dificultosos de ver y se necesita un especial entrenamiento para su reconocimiento. Los merozoítos se suelen observar únicos, dobles o múltiples dentro de los eritrocitos y también muchas veces libres en el plasma (Solano-Gallego et al., 2016). Los pequeños piroplasmas se encuentran frecuentemente como estructuras únicas, aunque también pueden observarse formando una tétrada con forma de “cruz de malta” (Uilenberg, 2006). Para *B. gibsoni*, lo más usual es la forma única dentro de la célula (Jefferies et al., 2007; Trotta et al., 2009). La observación de merozoítos dentro de los monocitos formando vacuolas o dentro de los neutrófilos hace sospechar de la presencia de *R. vitalii*. En muchos casos pueden verse monocitos grandes y vacuolados denominados “monocitos gigantes activados” (Imagen 1), que pueden o no tener material fagocitado. La presencia de estas células persiste aun después de la desaparición de la parasitemia y permite al observador sospechar una infección reciente (Cardoso et al., 2008; Eiras, 2018; Jacobson et al., 1993; Otsuka et al., 2002). También es posible sospechar de la presencia de piroplasmas cuando encontramos en los frotis gamontes de *Hepatozoon* o mórulas de *Ehrlichia*. Esto indica que el perro tuvo contacto con garrapatas, siendo posible la co-infección con otros hemopatógenos de transmisión vectorial (Baneth et al., 2012; Dantas-Torres, 2008; Eiras, 2018; Irwin, 2014; Miró et al., 2008; Shaw et al., 2001).

En nuestro país, las técnicas serológicas (por ELISA, inmunocromatografía o inmunofluorescencia indirecta) no están difundidas como recurso diagnóstico en el auxilio de la clínica de pequeños animales. Incluso, la validez de los resultados serológicos es muy discutida, debido a que no permiten la diferenciación de una infección reciente o pasada y puede haber reacciones cruzadas entre diferentes especies de piroplasmas (Birkenheuer et al., 2003; Irwin, 2009). En los casos donde se utilice el recurso de la serología, se recomiendan las técnicas cuantitativas que permitan ver la seroconversión del título de anticuerpos en 2 estudios serológicos realizados con algunas semanas de separación, para poder concluir un diagnóstico que posea cierto valor de aplicación clínica (Solano-Gallego et al., 2016).

Las técnicas de biología molecular son herramientas con las que pueden detectarse los casos de parasitemia muy baja, o cuando se necesite la diferenciación específica del agente implicado en el proceso (Irwin, 2010; Solano-Gallego et al., 2016). Si bien no están ampliamente disponibles, las técnicas moleculares se encuentran en creciente expansión, debido al uso de estas tecnologías en el diagnóstico de diversas enfermedades.

Tratamiento y prevención

El tratamiento de la piroplasmosis producida por *B. vogeli* y *R. vitalii* es relativamente similar, ya que en la mayoría de los casos leves se utilizan 1 o 2 dosis de Imidocarb (con un intervalo de 15 días) vía inyectable subcutánea o intramuscular (3 a 7 mg/kg), con atropinización del paciente unos 20 a 30 minutos antes para evitar efectos secundarios relacionados con el sistema parasimpático (vómitos, diarrea, bradicardia, etc.). En los casos más graves se requieren transfusiones, corticoides y otras terapias de sostén previo a la administración de Imidocarb (Baneth, 2018; França et al., 2014; Solano-Gallego et al., 2016).

El tratamiento de la piroplasmosis producida por *B. gibsoni* es un poco más complejo, ya que esta especie suele producir cuadros más complicados en los perros afectados. Tradicionalmente se utilizan combinaciones de drogas donde la más común es atovaquona con azitromicina (Birkenheuer et al., 2004).

La prevención de la piroplasmosis canina se encuentra enfocada en el control de las garrapatas y los tratamientos sistemáticos contra estos ectoparásitos deben ser parte de las indicaciones más enfáticas de los veterinarios clínicos (Last et al., 2007; Solano-Gallego et al., 2016).

Aspectos epidemiológicos en Buenos Aires

En el sur del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) se estudiaron distintos aspectos de la piroplasmosis canina durante el período 2003-2014 (Eiras, 2018). Entre los más de 120.000 hemogramas evaluados se observó una prevalencia de 0,25% al microscopio, con una parasitemia variable entre 0,0001% y 30%. La identificación mediante técnicas moleculares demostró la presencia de *B. vogeli* en 199 de las 200 muestras de perros parasitémicos analizadas, siendo el animal restante compatible con *R. vitalii*. También se observó 0,77% de falsos negativos por microscopía, los cuales resultaron positivos a *B. vogeli* mediante PCR. La prevalencia anual mostró una tendencia en aumento desde 0,13% en 2003 a 0,37% en 2012. La detección fue marcadamente estacional, observándose picos de prevalencia cercanos al 1% durante las primaveras y nula en los inviernos. La infección fue más prevalente en machos y en cachorros. Sin embargo, no hubo diferencias entre razas, ni tamaños, ni largos de pelo de los perros.

Referencias

- Baneth, G. (2018). Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. *Veterinary Parasitology*. 254: 58–63.
- Baneth, G., Bourdeau, P., Bourdoiseau, G., Bowman, D., Breitschwerdt, E., Capelli, G., Cardoso, L., Dantas-Torres, F., Day, M., Dedet, J.P., Dobler, G., Ferrer, L., Irwin, P., Kempf, V., Kohn,

- B., Lappin, M., Little, S., Maggi, R., Miró, G. & Weston, S. (2012). Vector-borne diseases--constant challenge for practicing veterinarians: recommendations from the CVBD World Forum. *Parasites & Vectors*. 5(1): 55.
- Baneth, G., Cardoso, L., Brilhante-Simões, P. & Schnittger, L. (2019). Establishment of *Babesia vulpes* n. sp. (Apicomplexa: Babesiidae), a piroplasmid species pathogenic for domestic dogs. *Parasites & Vectors*. 12(129).
- Birkenheuer, A.J., Neel, J., Ruslander, D., Levy, M. & Breitschwerdt, E. (2004). Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia* species in a dog. *Veterinary Parasitology*. 124(3–4): 151–160.
- Birkenheuer, A.J., Correa, M.T., Levy, M.G. & Breitschwerdt, E.B. (2005). Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000–2003). *Journal of American Veterinary Medical Association*. 227(6): 942–947.
- Birkenheuer, A.J., Levy, M.G. & Breitschwerdt, E. (2004). Efficacy of combined atovaquone and azithromycin for therapy of chronic *Babesia gibsoni* (Asian genotype) infections in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. 18(4): 494–498.
- Birkenheuer, A.J., Levy, M.G. & Breitschwerdt, E.B. (2003). Development and Evaluation of a Seminested PCR for Detection and Differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) *Journal of Clinical Microbiology*. 41(9): 4172–4177.
- Böse, R., Jorgensen, W.K., Dalgliesh, R.J., Friedhoff, K.T. & de Vos, A.J. (1995). Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology*. 57(1–3): 61–74.
- Cardoso, L., Costa, Á., Tuna, J., Vieira, L., Eyal, O., Yisaschar-Mekuzas, Y. & Baneth, G. (2008). *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal. *Veterinary Parasitology*. 156(3–4): 199–204.
- Dantas-Torres, F. (2008). Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites & Vectors*. 1(1): 25.
- Dantas-Torres, F. & Aguiar Figueredo, L. (2006). Canine babesiosis: A Brazilian perspective. *Veterinary Parasitology*. 141(3–4): 197–203
- Dantas-Torres, F. & Otranto, D. (2015). Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. *Veterinary Parasitology*. 208(1–2): 9–13.
- De Tommasi, A.S., Otranto, D., Dantas-Torres, F., Capelli, G., Breitschwerdt, E.B. & de Caprariis, D. (2013). Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs? *Parasites & Vectors*. 6: 97.
- Eiras, D.F. (2018). *Aspectos diagnósticos y epidemiológicos de la piroplasmosis canina en áreas urbanas del sur del Gran Buenos Aires* (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
- Eiras, D.F., Basabe, J., Mesplet, M. & Schnittger, L. (2008). First molecular characterization of *Babesia vogeli* in two naturally infected dogs of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*. 157(3–4): 294–298.
- Eiras, D.F., Craviotto, M.B., Baneth, G., Moré, G. (2014). First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangeliiosis) in Argentina. *Parasitology International*. 63(5): 729–734.

- França, R.T., Da Silva, A.S., Loretto, A.P., Mazzanti, C.M., Lopes, S.T.A. (2014). Canine rangeli-
osis due to *Rangelia vitalii*: From first report in Brazil in 1910 to current day - A review. *Ticks
and Tick-Borne Diseases*. 5(5): 466–474.
- França, R.T., Da Silva, A.S., Paim, F.C., Costa, M.M., Soares, J.F., Mazzanti, C.M., Lopes,
S.T.A. (2010). *Rangelia vitalii* in dogs in southern Brazil. *Comparative Clinical Pathology*.
19(4): 383–387.
- Furlanello, T., Fiorio, F., Caldin, M., Lubas, G. & Solano-Gallego, L. (2005). Clinicopathological
findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of
northeastern Italy. *Veterinary Parasitology*. 134(1–2): 77–85.
- Homer, M.J., Aguilar-Delfin, I., Telford, S.R., Krause, P.J., Persing, D.H. (2000). Babesiosis. *Clin-
ical Microbiology Reviews*. 13(3): 451–469.
- Irwin, P.J. (2009). Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasites & Vectors*.
2(1): 1–9.
- Irwin, P.J. (2010). Canine Babesiosis. *Veterinary Clinics Small Animal*. 40(6): 1141–1156.
- Irwin, P.J. (2014). It shouldn't happen to a dog ... or a veterinarian: Clinical paradigms for canine
vector-borne diseases. *Trends in Parasitology*. 30(2): 104–112.
- Jacobson, R.H., Parrodi, F., Wright, I.G., Fitzgerald, C.J. & Dobson, C. (1993). *Babesia bovis*: in
vitro phagocytosis promoted by immune serum and by antibodies produced against protective
antigens. *Parasitology Research*. 79: 221–226.
- Jalovecka, M., Hajdusek, O., Sojka, D., Kopacek, P. & Malandrin, L. (2018). The complexity of
piroplasm life cycles. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 8(248): 1-12.
- Jefferies, R., Ryan, U.M. & Irwin, P.J. (2007). PCR-RFLP for the detection and differentiation of
the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. *Veterinary Par-
asitology*. 144(1–2): 20–27.
- Jefferies, R., Ryan, U.M., Jardine, J., Broughton, D.K., Robertson, I.D. & Irwin, P.J. (2007). Blood,
Bull Terriers and Babesiosis: Further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in
dogs. *Australian Veterinary Journal*. 85(11): 459–463.
- Jefferies, Ryan. (2006). Emerging Canine Tick-borne Diseases in Australia and Phylogenetic
Studies of the Canine Piroplasmida (Tesis doctoral). Murdoch University, Australia.
- Last, R.D., Hill, J.M., Matjila, P.T. & Rème, C. a. (2007). A field trial evaluation of the prophylactic
efficacy of amitraz-impregnated collars against canine babesiosis (*Babesia canis rossi*) in
South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*. 78: 63–65.
- Loretto, A.P. & Barros, S.S. (2005). Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified
intraendothelial piroplasm in southern Brazil. *Veterinary Parasitology*. 134(3–4): 193–213.
- Mehlhorn, H. & Schein, E. (1985). The Piroplasms: Life Cycle and Sexual Stages. *Advances in
Parasitology*. 23(C): 37–103.
- Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Oliva, G., Baneth, G. (2008). Canine leishmaniosis -
new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. *Trends in Parasitology*.
24(8): 371–377.

- Otsuka, Y., Yamasaki, M., Yamato, O. & Maede, Y. (2002). The Effect of Macrophages on the Erythrocyte Oxidative Damage and the Pathogenesis of Anemia in *Babesia gibsoni*-Infected Dogs with Low Parasitemia. *Journal of Veterinary Medical Science*. 64(3): 221–226.
- Sánchez, R.O., Moré, G., Boero, C.A., Eiras, D.F. (2015). Piroplasmosis canina por *Rangelia vitalii* (Protozoa, Piroplasmida) en la ciudad de Concordia, Entre Ríos. *Revista Del Colegio de Médicos Veterinarios de Entre Ríos*. 139: 27–30.
- Schnittger, L., Rodriguez, A.E., Florin-christensen, M. & Morrison, D.A. (2012). Babesia: A world emerging. *Infection, Genetics and Evolution*. 12: 1788–1809.
- Shaw, S.E., Day, M.J., Birtles, R.J., Breitschwerdt, E.B. (2001). Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology*. 17(2): 74–80.
- Soares, J.F., Carvalho, L., Maya, L., Dutra, F., Venzal, J.M. & Labruna, M. (2015). Molecular detection of *Rangelia vitalii* in domestic dogs from Uruguay. *Veterinary Parasitology*. 210(1–2): 98–101.
- Solano-Gallego, L. & Baneth, G. (2011). Babesiosis in dogs and cats—Expanding parasitological and clinical spectra. *Veterinary Parasitology*. 181(1): 48–60.
- Solano-Gallego, L., Trotta, M., Carli, E., Carcy, B., Caldin, M. & Furlanello, T. (2008). *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Veterinary Parasitology*. 157(3–4): 211–221.
- Solano-Gallego, L., Sainz, A., Roura, X., Estrada-Peña, A. & Miró, G. (2016). A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasites & Vectors*. 9(1): 336.
- Trotta, M., Carli, E., Novari, G., Furlanello, T. & Solano-Gallego, L. (2009). Clinicopathological findings, molecular detection and characterization of *Babesia gibsoni* infection in a sick dog from Italy. *Veterinary Parasitology*. 165(3–4): 318–322.
- Uilenberg, G. (2006). Babesia—A historical overview. *Veterinary Parasitology*. 138(1–2): 3–10.
- Yeagley, T.J., Reichard, M.V., Hempstead, J.E., Allen, K.E., Parsons, L.M., White, M., Little, S.E. & Meinkoth, J.H. (2009). Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small Babesia “Spanish isolate” in blood samples obtained from dogs confiscated from dogfighting operations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 235(5): 535–539.
- Zygner, W., Gójska, O., Rapacka, G., Jaros, D. & Wedrychowicz, H. (2007). Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large Babesia in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Veterinary Parasitology*. 145(1–2): 146–151.

Cuadro 1. Especies de piroplasmas que afectan al perro a nivel mundial.

Tamaño	Especie	Sinónimos	Vector en perros	Distribución geográfica	Comentarios
Grande (large)	<i>Babesia vogeli</i>	<i>Babesia canis vogeli</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Amplia distribución: principalmente zonas tropicales y subtropicales	La especie más frecuente en Argentina
	<i>Babesia canis</i>	<i>Babesia canis canis</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>	Europa	
	<i>Babesia rossi</i>	<i>Babesia canis rossi</i>	<i>Haemaphysalis elliptica</i>	África subsahariana y Sudáfrica	
	<i>Babesia</i> sp.	Un-named large <i>Babesia</i> sp. (coco) North Carolina isolate	Desconocido	North Carolina, EEUU	
	<i>Rangelia vitalii</i>	<i>Babesia vitalii</i> , Namviubú	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Sur y sudeste de Brasil, Litoral argentino, Uruguay	
	<i>Babesia negevi</i> n.sp.		Sospecha: <i>Ornithodoros tholozani</i>	Israel	
Pequeño (Small)	<i>Babesia gibsoni</i>	<i>Babesia gibsoni</i> Asia strain (<i>sensu stricto</i>)	<i>Haemaphysalis longicornis</i> <i>H. bispinosa</i> <i>R. sanguineus</i>	Asia, Ocurrencia esporádica en todo el mundo	Fuera de Asia se encuentra generalmente asociada a Pit Bull Terriers y otros perros de pelea
	<i>Babesia conradae</i>	California strain	<i>Haemaphysalis</i> sp. <i>Rhipicephalus</i> sp.		
	<i>Babesia vulpes</i> n. sp.	<i>Babesia microti</i> -like Spanish isolate <i>Theileria annae</i>	<i>Ixodes hexagonus</i> <i>I. canisuga</i>	Europa, EEUU	
	<i>Theileria</i> sp.	Un-named <i>Theileria</i> sp., South African <i>Theileria</i> sp.	Desconocido	Sudáfrica	Solo detección molecular
	<i>Theileria annulata</i>		Desconocido	Africa, Europa, Asia	Solo detección molecular
	<i>Theileria equi</i>	<i>Babesia equi</i>	Desconocido	Africa, Europa, Asia	Solo detección molecular

Fuente: Adaptado de Irwin (2009).

Reino Protista

Clado o Superphylum Alveolata

Phylum Ciliophora

Clase Litostomatea

Orden Vestibuliferida

Familia Balantidiidae

Género *Balantidium*

Clase Oligohymenophorea

Orden Mobilida

Familia Trichodinidae

Género *Trichodina*

CAPÍTULO 16

Balantioides coli. Balantidiosis

Beatriz A. Osen

Generalidades

Balantioides coli es el protozoo ciliado más grande que parasita al hombre, siendo su reservorio natural el cerdo. No obstante, se lo ha hallado en otras especies como primates, ratas, cobayos, conejos y perros.

La balantidiosis es una enfermedad zoonótica parasitaria, cosmopolita, poco frecuente en el hombre, cuyo hábitat es el intestino grueso (colon y ciego). Puede cursar en forma asintomática o causar disentería balantidiana, enfermedad grave que en algunos casos puede llegar a la muerte, principalmente en países en desarrollo, donde las poblaciones presentan carencias nutricionales y además están poliparasitadas. La forma de transmisión es fecal-oral.

Fue descubierto por Malmsten en el año 1857 en dos personas con disentería y le dio el nombre de *Paramecium coli*, luego en 1863, Stein lo denominó *Balantidium*, nombre que se mantuvo hasta el año 2013, cambiando a *Neobalantidium* (Pomajbíková et al., 2013), debido a diferencias genéticas encontradas entre *B. coli* y otros *Balantidium*, y un año después (Chistiakova et al., 2014) proponen el nombre de *Balantioides*, como lo había designado Alexeieff en 1931. Este nombre es el que actualmente se utiliza en las bases de datos del GenBank y en nuevas publicaciones científicas (Ponce-Gordo & García Rodríguez, 2021).

Morfología

Presenta dos estadios evolutivos en su ciclo de vida: trofozoito y quiste.

El trofozoito, forma vegetativa, es de tipo ovoide, mide 40 a 70 μm de ancho por 50 a 200 μm de largo, su coloración es gris verdoso y presenta el cuerpo recubierto de cilios ubicados regularmente en filas, ligeramente oblicuas. Su estructura es similar a la de los flagelos, integrada por microtúbulos de forma cilíndrica y recta, dispuestos en pares ubicados uno en forma central y nueve periféricos. Estos microtúbulos se mueven sincronizadamente. Los cilios se originan de cinetosomas (ácido nucleico) subsuperficiales ubicados en filas simples y se interconectan por medio de fibrillas (cinetodesmas). La función de los cilios es de desplazamiento, incorporación

de sustancias alimenticias y como organelas táctiles, recibiendo la energía de la hidrólisis del ATP (Becerril, 2012).

A medida que se acercan a la extremidad anterior, se hacen más largos, rodeando una zona llamada peristoma, que presenta una invaginación denominada citostoma (boca), ubicada en posición apical o subapical, por donde ingresan las sustancias alimenticias. Si bien son organismos anaerobios, en su citoplasma se encuentran organelas semejantes a mitocondrias, sin presencia de crestas, que se asocian a hidrogenosomas, además se encuentran retículo endoplásmico, ribosomas y diferentes tipos de vacuolas.

Las vacuolas alimenticias contienen en su interior gránulos de polisacáridos, son del tipo fagocíticas para partículas grandes y pinocíticas para partículas pequeñas y solubles. Los peroxisomas son vesículas que contienen peroxidasa, que lo protege de los efectos nocivos de los compuestos oxidantes, como el peróxido de hidrógeno. Además, se encuentran lisosomas primarios que se originan del retículo endoplásmico y secundarios que surgen de la unión de estos con los fagosomas. Contiene también hialuronidasas, enzimas que digieren el ácido hialurónico de las células del hospedador. También presenta mucocistos, orgánulos en forma de barra que se hallan unidos a la membrana celular. Su presencia se relaciona con las cepas más patógenas. Estos, descargan enzimas hialuronidasa y betaglucoronidasa, las cuales catalizan la hidrólisis de mucopolisacáridos y contribuyen a la invasión de la mucosa del hospedador, aunque no llegan a digerir la capa de mucina que cubre el epitelio del intestino de un hospedador sano. Podrían además intervenir en la formación del quiste (Becerril, 2012).

Se observa la presencia de glucosa-6-fosfatasa en vesículas unidas al retículo endoplásmico o en la membrana y fosfatasa alcalina en la corteza de los cilios, cinetosomas, membranas nucleares, ciliares y en el retículo endoplásmico. Ambas actúan en la regulación de la glucosa, la que utilizan como fuente de energía.

Las vacuolas de excreción transportan y eliminan los metabolitos a través del citopigio (ano) ubicado en la parte más ancha del parásito, en el extremo opuesto al citostoma. Las vacuolas contráctiles, una ubicada en el centro y la otra en el extremo posterior próxima al citopigio, funcionan como orgánulos osmoreguladores.

Se alimenta de bacterias, detritos y sustancias alimenticias de la mucosa y de la luz intestinal y si llegan a los vasos sanguíneos pueden verse eritrocitos en su interior.

Viven en anaerobiosis, pero pueden sobrevivir en condiciones aerobias. Se desplaza por movimientos rotatorios sobre su eje y el movimiento de sus cilios, obteniendo la energía de la degradación de los polisacáridos almacenados en las vacuolas de su citoplasma.

Posee dos núcleos, el macronúcleo, trófico, regula las funciones de alimentación y regeneración, es de forma arriñonada (Kozubsky & Costas, 2017) y el micronúcleo, de forma redonda u ovalada, ubicado en la concavidad del anterior, almacena la información genética, e interviene en la reproducción.

El quiste es la forma de resistencia del parásito, redondeado, mide 50 a 55µm por 45 a 75µm. Posee una doble pared gruesa que lo protege de la desecación y de otros factores ambientales

estresantes, encierra un solo trofozoíto que conserva sus cilios, y se puede observar el macronúcleo en su interior, sobrevive por más tiempo en lugares húmedos y al abrigo de la luz del sol directo. Se elimina junto con las heces (Figura 1).

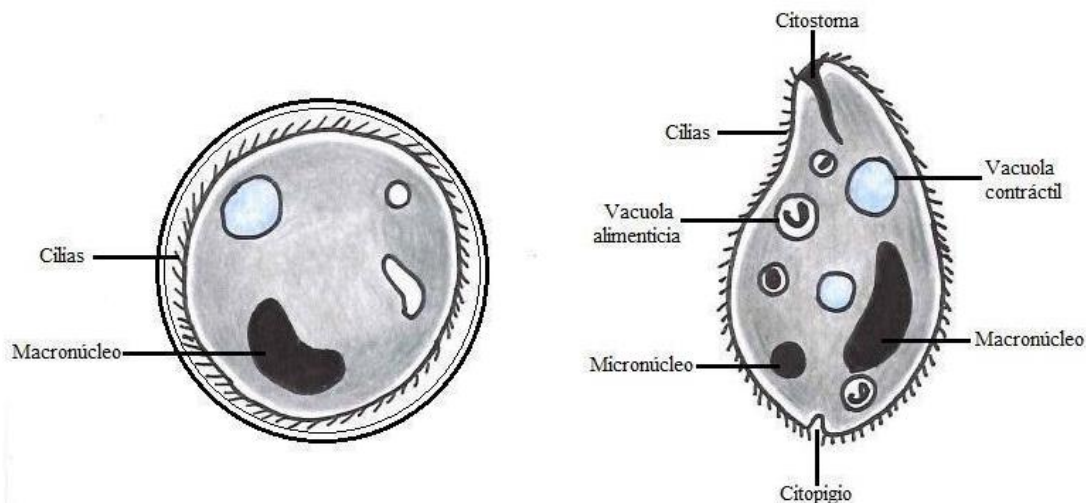


Figura 1. Esquema de quiste (izquierda) y trofozoíto (derecha) de *Balantioides coli*

La reproducción es de dos tipos: asexual (por fisión binaria) y sexual (por conjugación). Durante la fisión binaria se forma un surco transversal que divide a la célula madre en dos, se origina la división del núcleo seguida de la división del citoplasma, dando como resultado dos células hijas. La conjugación, a su vez, consta de varias etapas, en primer lugar, se unen dos organismos por medio de sus membranas plasmáticas, luego se desintegran los macronúcleos y el micronúcleo se divide una vez, posteriormente cada ciliado intercambia un núcleo con el otro y por último se separan. Cada protozoo ahora sintetiza un nuevo macronúcleo que se divide dos veces al mismo tiempo que lo hace el micronúcleo. Por último, cada par de núcleos se separa para formar un nuevo parásito. De esta manera, a partir de cada célula se forman cuatro nuevos ciliados. La conjugación le aporta al parásito mayor resistencia y mayor variabilidad genética (Kozubky & Costas, 2017).

Transmisión y formas de diseminación

El ciclo es directo fecal-oral. La transmisión puede ser cerdo-cerdo, cerdo-hombre u hombre-hombre, siendo esta última forma la menos frecuente. Se produce por la contaminación de alimentos, agua, manos con materia fecal que contenga las formas quísticas del parásito.

La forma de diseminación es a través del quiste, elemento de resistencia e infectante.

Se la considera una enfermedad ocupacional, vinculada al contacto estrecho con animales, por ejemplo, criadores de cerdos, veterinarios, empleados de mataderos.

Ciclo biológico

El ciclo es de tipo monoxénico. Los quistes (forma infectante) ingresan por vía oral al organismo por contaminación de agua, alimentos o por las manos del hospedador. Resisten los jugos gástricos y cuando llegan al intestino, por su acción sumada al pH alcalino, comienza el desenquistamiento por destrucción de la pared quística, emergiendo un trofozoíto que se desarrolla, se alimenta y se multiplica en la luz o en la mucosa del intestino grueso, produciendo ulceración de la misma. Cuando las condiciones se vuelven adversas deja de alimentarse, reduce su tamaño y comienza el enquistamiento, proceso que se produce en el colon y recto del hospedador. Los quistes son eliminados al exterior con las heces formadas, siendo infectantes en el momento de ser eliminados. Cuando las heces son diarreicas se eliminan trofozoítos, que pueden enquistar en el ambiente (Figura 2).

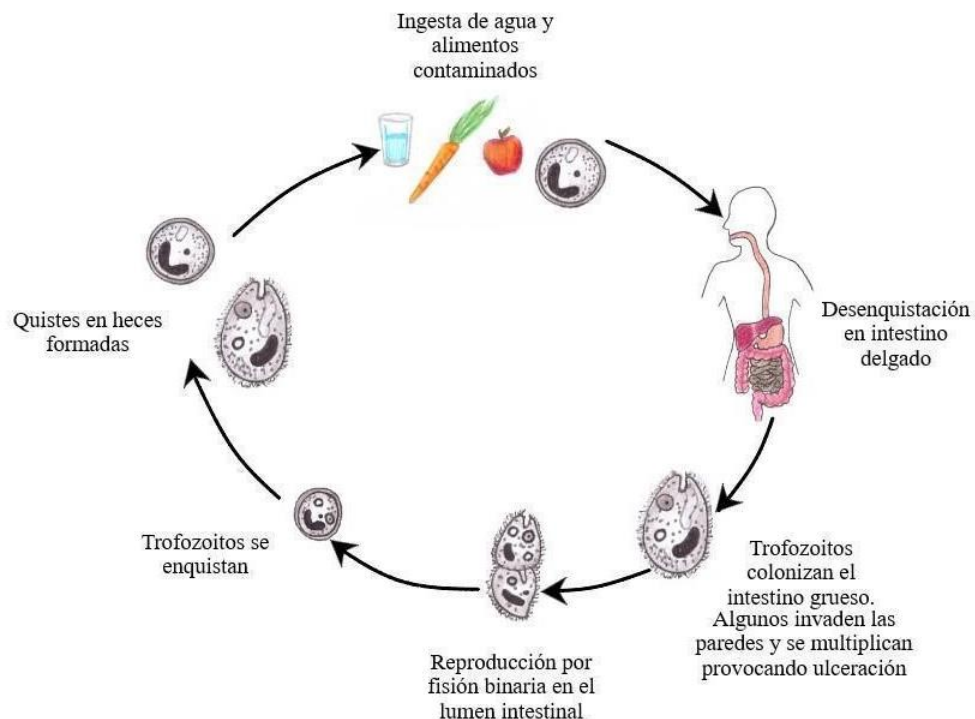


Figura 2. Ciclo biológico de *B. coli*

Patogenia y signología clínica

El hábitat normal es el intestino grueso, región cecal y rectosigmoidea principalmente, donde puede vivir en equilibrio con el hospedador, como comensal debido a la presencia de la flora intestinal, el pH alcalino y una dieta rica en carbohidratos. En ocasiones puede invadir la mucosa y producir patología, principalmente cuando existen lesiones previas, distensiones abdominales, malnutrición, alcoholismo o inmunocompromiso (HIV/SIDA).

Se conocen tres formas de presentación de la enfermedad (Schuster et al., 2008):

1) Asintomática, los hospedadores actuarían como reservorios, portadores y diseminadores de la enfermedad.

2) Balantidiosis aguda, llamada “Disentería balantidiana”, con diarrea explosiva cada 20 minutos, presencia de heces pastosas, sanguinolentas, espumosas, mucosas, con pérdida de peso, tenesmo, dolor tipo cólico en la zona cecal, borborigmos. Puede haber hemorragia y perforaciones intestinales por invasión de la mucosa y submucosa, dando lesiones superficiales (pequeñas) o profundas (amplias), favorecidas por el movimiento del protozoo (rotación sobre su eje y el movimiento de las cilias), su gran tamaño y la producción de enzimas histolíticas, principalmente hialuronidasa. Las ulceraciones de la mucosa se asemejan a las lesiones por *Entamoeba histolytica*, son de forma irregular, necróticas, hiperémicas y pueden confluir haciéndose más extensas. Cuando se produce perforación intestinal, aparecen cuadros de peritonitis con síntomas como fiebre, deshidratación, vómitos y compromiso del estado general, debido a las infecciones bacterianas que se suman al cuadro, pudiendo producir la muerte del paciente. La balantidiosis fulminante puede llegar hasta el 30% de mortalidad.

Puede ocasionar infecciones en otras partes del organismo cuando se producen ulceraciones, ocasionando enfermedades abdominales, pulmonares, hepáticas, genitourinarias, medulares, o cerebrales.

3) Balantidiosis crónica, con diarrea no hemorrágica intermitente, seguida de períodos de constipación, puede haber dolor abdominal inespecífico, cólicos, halitosis, anorexia, cefalea, astenia. Aunque las lesiones intestinales son muy escasas.

Muchas veces actúa como patógeno secundario, ya que la sintomatología presente corresponde a otras comorbilidades (leucemia, trastornos hepáticos, renales, intestinales, autoinmunes, diabetes, psoriasis, infecciones virales o bacterianas).

Distribución Geográfica

Es cosmopolita, predominando en zonas tropicales, subtropicales, especialmente en áreas dedicadas a la crianza de cerdos. La prevalencia en humanos no es tan alta como la de otros protozoos, se calcula de 0,02 a 1% en el mundo, pudiendo variar según las regiones.

Existen zonas donde la prevalencia es mayor, como América Latina (zona del altiplano de Bolivia 6 a 29%), Filipinas, Papúa, Nueva Guinea (28%), Irán Occidental, y Oriente Medio.

Con respecto a la prevalencia en animales, esta varía según el hospedador y si está en cautiverio o en vida silvestre, siendo mayor en los primeros. En cerdos y jabalíes es similar en todo el mundo (30 a 100%), en avestruces y ñandúes (15 a 80%), en camellos (43 a 53%) y en África (hasta 15%). En el ganado vacuno y búfalos (Asia 3,7 a 54,7%), en primates no humanos, las prevalencias varían según la especie, el tipo de vida (cautiverio o silvestre) y el continente estudiado (Ponce-Gordo & García Rodríguez, 2021).

Especies

Las especies representativas en los mamíferos son *B. coli* (humano), *B. suis* (cerdo).

Balantioides coli se ha descrito en una amplia gama de mamíferos, incluidos los seres humanos, los primates no humanos (gorila, chimpancé, babuino, macaco), los cerdos, jabalíes, bovinos, búfalos, ovejas, cabras, elefantes, camellos, equinos, roedores y aves. Existen otras especies intestinales en otros mamíferos y en peces, crustáceos, insectos y anfibios.

En búfalos y en algunas especies de macacos coexisten infecciones con otros ciliados similares imposibles de diferenciar por su morfología, como es la *Buxtonella* sp., que debiera realizarse mediante análisis genéticos (Ponce Gordo et al., 2021).

Diagnóstico

Anamnesis

Antecedentes epidemiológicos, entre otros, dedicación a crianza de cerdos, vivienda en ámbito rural y oficio. Sumado a los signos y síntomas clínicos presentados por el paciente.

Diagnóstico de laboratorio

Examen directo de materia fecal

Preparados húmedos a 40x, en heces diarreicas, frescas o con conservantes para trofozoítos. Estos se reconocen fácilmente por su tamaño, forma y movilidad, se deben estudiar varias muestras porque la eliminación es intermitente (Imagen 1).



Imagen 1. Trofozoíto de *Balantioides coli*. 40X

Método de concentración de trofozoítos

Método de Baermann Especialmente en áreas endémicas o para seguir la evolución del paciente.

Concentración de materia fecal. Se realiza sobre heces firmes colectadas en forma seriada, 3 muestras en días alternados, sobre una solución de formol al 10%. Se realizan métodos de sedimentación clásicos, en búsqueda de quistes (Imagen 2). Los métodos de flotación (sacarosa o solución de cloruro de sodio sobresaturado) pueden utilizarse, pero no se recomiendan, ya que la presión osmótica puede distorsionar la forma de los quistes (Atías et al., 1998).

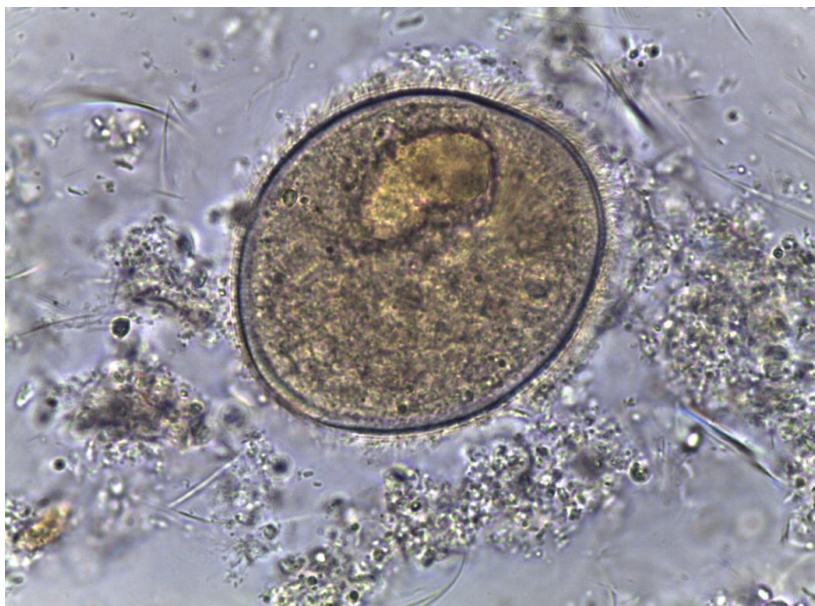


Imagen 2. Quiste de *Balantioides coli*

Métodos complementarios

Se realiza rectosigmoidoscopia, para observar lesiones de la mucosa y obtener muestras para examen parasitológico directo y estudios histopatológicos. Para observar trofozoítos y verles detalles morfológicos se utilizan coloraciones como la de Hematoxilina férrica, Giemsa o Tricrómica. También pueden aplicarse tinciones a base de plata, especialmente utilizadas en estudios de investigación. Los quistes pueden producir fluorescencia bajo luz UV a 340-380nm. Para la realización de distintos estudios, fenotípicos y genotípicos, se puede cultivar a *Balantioides coli* en forma similar a *Entamoeba histolytica*.

Con respecto a la identificación genética del parásito, no se realiza como práctica de rutina, pero debería realizarse cuando se halla en hospedadores diferentes, cuando presenta localizaciones extraintestinales o cuando la especie hospedadora puede presentar ciliados similares, por ejemplo, bovinos y primates no humanos que se encuentren parasitados por *Buxtonella* sp. (Ponce-Gordo & García Rodríguez, 2021).

Post-mortem

Necropsia y exámenes histológicos.

Tratamiento

El tratamiento de elección para la balantidiosis es Tetraciclina y Metronidazol.

Tetraciclinas: Adultos: 500 mg c/6 hs. 10 días. Niños: 40 mg/kg peso c/6 hs. 10 días (máximo de 2 gr diarios).

Metronidazol: Adultos: 750 mg c/8 hs. 5 días. Niños: 35-50 mg/kg peso c/8 hs. 5 días (máximo de 2 gr diarios).

Otras drogas que se utilizan:

Paramomicina: Adultos: 1500 mg/ c/6 u 8 hs. 5 a 7 días. Niños: 25 mg/kg c/6 u 8 hs. 5 a 7 días.

Iodoquinol: Adultos: 650 mg c/8 hs. 20 días. Niños: 40 mg/kg 3 dosis.

Doxiciclina: 100 mg/día 10 a 14 días en portadores y 20 días en pacientes sintomáticos, principalmente inmunosuprimidos.

Profilaxis

Una de las acciones más importantes es la educación sanitaria para la salud. Evitar el contacto estrecho entre cerdos y humanos. Evitar que los cerdos entren a zonas de cultivo. Contar con una adecuada eliminación de excretas, tanto humanas como de animales, principalmente cerdos, para evitar la contaminación de fuentes de agua potable y de los alimentos (Atías et al., 1998). No utilizar lodos procedentes del procesamiento de aguas residuales como abono. Promover la higiene personal y de los alimentos que se manipulen o consuman. Contar con disponibilidad de agua potable.

Importancia en salud pública

Se pone de manifiesto el importante potencial de transmisión zoonótica del parásito, debido a la gran cantidad de hospedadores reservorios y la facilidad de su mecanismo de transmisión.

Otros ciliados parásitos

Los tricodínicos son protozoos ciliados que afectan tanto a peces de agua dulce como marinos, pudiendo ocasionar grandes pérdidas en las piscifactorías principalmente cuando invaden

en forma masiva y coexisten con factores estresantes como: sobrepoblación de individuos, malnutrición, baja concentración de oxígeno, altos porcentajes de amoníaco libre, principalmente en la crianza de peces a jaula. Siendo los principales protozoarios asociados a la translocación de los peces destinados a cultivo.

Se reconocen más de 300 especies parásitas o simbioses de especies acuáticas. Son los protozoarios más frecuentes, ubicándose en las branquias, aletas y sobre la superficie de la piel, produciendo enfermedades que van de moderadas a graves, llegando a ocasionar altos índices de mortalidad. (Rodríguez et al., 2019).

Trichodina sp. presenta mayor diversidad de especies, siendo menor en *Paratrichodina* sp. de la que solo se conocen alrededor de 10.

Se identifican por la morfología del disco adhesivo, los dentículos y el espiral ciliar adoral, que tienen valor sistémico.

Trichodina sp. posee un disco adhesivo con forma de plato o sombrero, que presenta dentículos entrelazados, integrando un esqueleto con forma de corona en el centro. Los dentículos tienen hojas anchas, rectangulares, con bordes paralelos. Los rayos, prominentes, se dirigen hacia atrás y presentan una ciliatura adoral en forma de espiral mayor a 360° (Martorelli et al., 2005).

Paratrichodina africana. Este género fue propuesto por Lom (1963) y posteriormente descrito en Europa, Asia, África y América. En América del Sur se lo encuentra principalmente en Brasil, afectando la cría de Tilapia.

Presentan forma de disco (Valladão et al., 2013) cuyo diámetro es de 17 a 29 µm, con una parte central estrecha, delgada, redondeada, una ciliatura adoral de 270° y una parte alargada en forma de hoja paralela a la parte central del dentículo adyacente. La hoja se asemeja a un triángulo equilátero con la parte superior mirando hacia la parte central del disco, el borde derecho es cóncavo y el izquierdo convexo. Desde la parte central del disco sale una porción fina en forma de espina, que se ubica en forma paralela a la parte central del dentículo vecino, formando un anillo, considerándose una estructura de soporte. Los rayos son rectos, salen en forma centrípeta, tienen forma de dedos cortos, por cada dentículo salen 5 a 6 espigas radiales. Posee macronúcleo de forma arriñonada y micronúcleo redondeado (Kazubski & Tantawy, 1986) (Imagen 3).

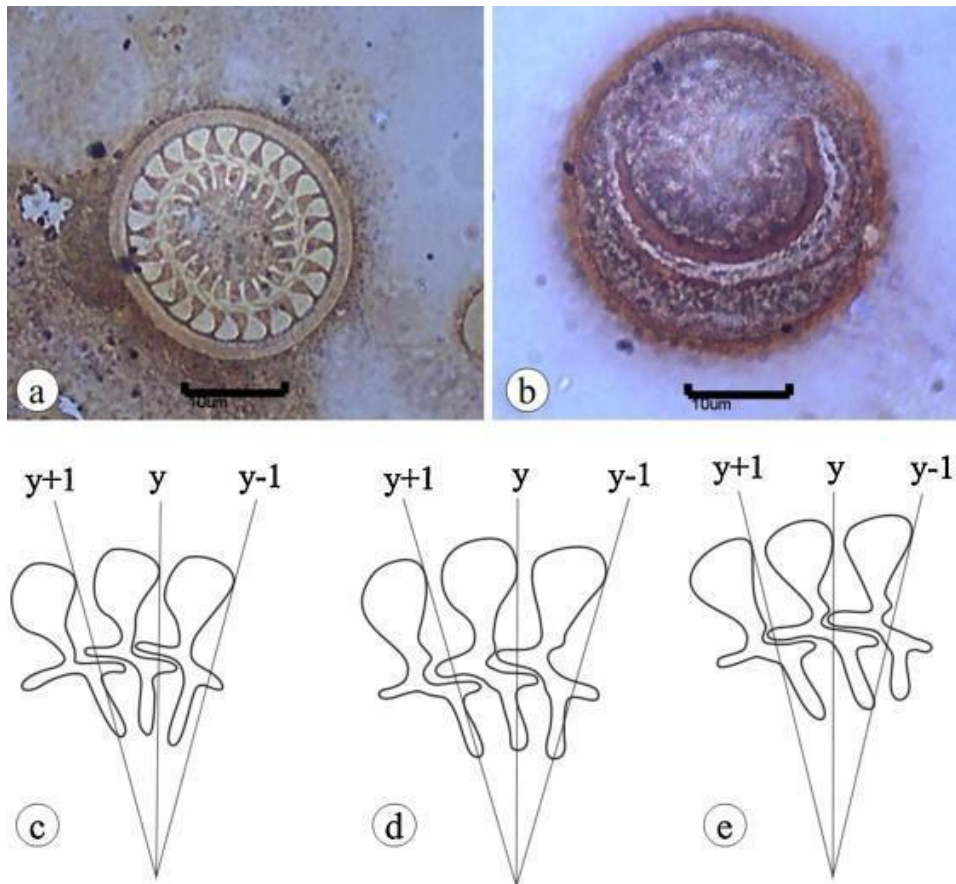


Imagen 3. *Paratrachodina africana* Kazubski y El-Tantawy (1986) impregnadas de plata de Klein en tilapia del Nilo cultivadas que muestran discos adhesivos (a) y cilindros adorales (b). Barra de escala = 10 µm. Dibujo esquemático de los denticulos de *P. africana* en la tilapia del Nilo cultivada que muestra variaciones morfológicas (c – e).

Sintomatología y patogenia

Cuando la infestación es moderada los peces no presentan cambios visibles, en cambio cuando la infestación es masiva se produce disminución de sus movimientos y pérdida de apetito, apareciendo palidez de mucosas, desprendimiento de escamas, acumulación de mucosidad en las bolsas de las branquias y áreas necróticas que toman un color blanquecino (Tafur Zeballos et al., 2017).

En el tejido branquial se observan alteraciones proliferativas, con hiperplasia e hipertrofia de las células que revisten los filamentos branquiales, dando lugar a la fusión de lamelas secundarias, comprometiendo la capacidad respiratoria. (Valladão et al., 2013). Además, este protozoo produce el desprendimiento de la capa epidérmica y la presencia de infiltrado de tipo mononuclear y eosinófilo, con células con contenido de melanina entre la dermis y la hipodermis.

La presencia de los parásitos en las branquias y las lesiones que producen aumentan la susceptibilidad a las infecciones bacterianas.

Tratamiento

Se pueden realizar baños químicos con formalina a 170-250 ppm durante 60 minutos (recomendación aprobada por la FDA), en caso de no haber eliminado todos los parásitos, se pueden realizar baños continuos de 25 ppm, repitiendo las veces que sea necesario hasta la eliminación total (Tafur Zeballos et al., 2017).

Referencias

- Atías, A. (1998). *Parasitología médica*. Chile. Edit. Mediterráneo. 616 pp.
- Becerril Flores, M. A. (2012). *Parasitología Médica*. México. Edit. Mc. Graw Hill Interamericana.
- Chistyakova, L.V., Kostygov, A.Y., Kornilova, O.A. & Yurchenko, V. (2014). Reisolation and re-description of *Balantidium duodeni* Stein, 1867 (Litostomatea, Trichostomatia). *Parasitology Researches*. 113, 4207-4215.
- Kazubski, S.L., & El-Tantawy, S.A.M. (1986). The ciliate *Paratrichodina africana* sp. n. (Peritricha, Trichodinidae) from Tilapia fish (Cichlidae) from Africa. *Acta Protozoologica*. 25(4), 433-438.
- Kozubsky, L. & Costas, M.E. (2017). *Parasitología humana para bioquímicos. Parásitos intestinales*. Facultad de Ciencias Exactas. La Plata. Series: Libros de Cátedra. Recuperado de: <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/view/886/877/2916-1>.
- Martorelli, S. & Cardillo, F. (2005). Primer Registro de una Trichodina en el Ctenóforo *Mnemiopsis mccradyi* para el Atlántico Sudoccidental. XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología, IV Congreso Argentino de Parasitología. Parasitologia Latioamericana Vol 60 (2) Número Extraordinario.:346-347
- Pomajbíková, K., Oborník, M., Horák, A., Petrželková, K. J., Grim, J. N., Levecke, B., ... & Modrý, D. (2013). Novel insights into the genetic diversity of *Balantidium* and *Balantidium*-like cyst-forming ciliates. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(3), e2140.
- Ponce-Gordo, F. & García-Rodríguez, J.J. (2021). *Balantioides coli*. *Research in Veterinary Science*. 135: 424-431.
- Rodrigues, F.S., Assane, I.M., Valladão, G.M.R., Paula, F.G.D., Andrade, C.L., Moraes, A.P.D., ... & Pascoal, L.M. (2019). First report of Trichodinella and new geographical records of trichodinids in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farmed in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28(2): 229-237.
- Schuster, F.L. & Ramirez-Avila, L. (2008). Current world status of *Balantidium coli*. *Clinical microbiology reviews*, 21(4): 626-638.
- Tafur Zeballos, L. & Cotrina, M. (2017). Identificación de parásitos en paiches "Arapaima gigas" juveniles. *Scientia Agropecuaria*. 8 (4): 305-314.
- Valladão, G.M.R., Pádua, S.B., Gallani, S.U., Menezes-Filho, R.N., Dias-Neto, J., Martins, M.L. & Pilarski, F. (2013). *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology*. 197(3-4): 705-710.

Reino Protista

Clado Amebozoa

Phylum Eusea

Clado Archamoebae

Orden Mastigoamoebida

Familia Entamoebidae

Género *Entamoeba*

Género Iodamoeba

Género Endolimax

CAPÍTULO 17

Amebozoa. Amebas entéricas humanas

María Elena Costas y Paula Magistrello

Generalidades

Las amebas son organismos unicelulares móviles con emisión de seudópodos, se alimentan por fagocitosis y su reproducción es asexual mediante fisión binaria. Existen especies de vida libre que viven en el agua, tierra húmeda, etc. y otras que viven en el organismo de los animales y de los humanos. Sus formas de vida son morfológicamente diferenciables: trofozoíto (forma vegetativa o de reproducción), prequiste (forma de transición) y quiste (forma de resistencia). El trofozoíto presenta una membrana delgada con formas y tamaños variables. En su citoplasma se puede observar un ectoplasma hialino y un endoplasma granuloso con presencia de vacuolas. Posee un núcleo con cromatina central y periférica, que según como se disponga es una característica diferencial entre las distintas especies. Se desplazan mediante seudópodos que emergen de uno o varios puntos del ectoplasma, cuyo movimiento es provocado por proteínas contráctiles como actina y miosina presentes en el citoplasma. La emisión de seudópodos le permite al microorganismo no sólo poder trasladarse sino además englobar partículas (levaduras, bacterias, células, etc.) que le sirven de alimento e introduce en una vacuola alimenticia. El material de desecho y los restos no digeridos son eliminados a través del ectoplasma. El quiste puede ser esférico, piriforme o alargado, de tamaño variable, con pared lisa y uniforme, con uno o más núcleos según la especie. (Becerril, 2012).

En este capítulo se tratarán las amebas de localización en el tracto gastrointestinal, siendo todas comensales (Gomila Sard et al., 2011) excepto *Entamoeba histolytica* que es patógena (Frederick, 2005). Las amebas son parásitos del colon, se encuentran taxonómicamente agrupadas tal como se presentó en el capítulo 1 de este texto. Los géneros y especies más prevalentes de este grupo son:

- a) Género *Entamoeba*: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba hatmani*, *Entamoeba moskowskii*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba polecki*.
- b) Género *Iodamoeba*: *Iodamoeba bütschlii*
- c) Género *Endolimax*: *Endolimax nana*.

Morfología

La identificación de las amebas intestinales se basa en el reconocimiento de sus estadios de trofozoíto y quiste. *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*/ *Entamoeba moshkovskii* conforman el complejo Entamoeba por ser indistinguibles al microscopio óptico. (Calegar et al., 2016). Mediante estudios bioquímicos, inmunológicos y genéticos se demostró que hay una clara diferenciación morfológica. (Fotedar et al., 2007). En las diferentes especies se pueden identificar las formas de trofozoíto (Cuadro 1), prequiste y quiste (Cuadro 2).

Trofozoítos	Tamaño	Movilidad	Núcleo (Todas poseen 1 núcleo)	Citoplasma
<i>Entamoeba histolytica</i>	20-40 μ	intensa unidireccional	Mide de 4-7 μ . Cariosoma pequeño central con cromatina periférica, unidos por filamentos, aspecto de rueda de carro.	Finamente granular con hematíes. Emisión de unseudópodo unidireccional hialino.
<i>Entamoeba dispar</i>	20-40 μ	intensa unidireccional	Cariosoma pequeño central con cromatina periférica, unidos por filamentos.	Finamente granular con bacterias. Emisión de pseudópodos hialinos, progresivo o explosivo.
<i>Entamoeba moskowskii</i>	10-60 μ	progresiva	Cariosoma pequeño central con cromatina periférica, unidos por filamentos	Finamente granular
<i>Entamoeba harmani</i>	5-12 μ	lenta	Cariosoma pequeño central con cromatina periférica fina, arrosariado	Finamente granular con bacterias. Emisión de pseudópodos hialinos no progresivos
<i>Entamoeba polecki</i>	10-20 μ	lenta	Cariosoma pequeño central con cromatina periférica	Granular y vacuolado con bacterias y levaduras. Emisión lenta de pseudópodos romos sin direccionalidad
<i>Entamoeba coli</i>	20-30 μ	lenta	Cariosoma grande excéntrico con cromatina periférica gruesa regu	Granulaciones gruesas, vacuolado con bacterias, hongos y otros. Emisión de pseudópodos no hialinos romos y cortos sin direccionalidad.
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	8-20 μ	lenta	Cariosoma redondo, grande, central y sin cromatina periférica, envuelto por una capa de pequeños gránulos acromáticos refringentes	Granulaciones gruesas, multivacuolado con bacterias, hongos y otros. Emisión de pseudópodo hialino.
<i>Endolimax nana</i>	6-12 μ	lenta	Cariosoma grande excéntrico o central irregular sin cromatina periférica	Granular y vacuolado con bacterias. Emisión de pseudópodos cortos, romos y sin direccionalidad.

Cuadro 1. Características de los trofozoítos lar o irregular

Quistes	Tamaño	Forma	Núcleos	Presencia de cuerpos cromatoidales o vacuolas
<i>Entamoeba histolytica</i>	10-20 μ	Esférico	4 (maduro) – 1-2 (inmaduros)	Cuerpos cromatoidales gruesos, alargados, de extremos redondeados
<i>Entamoeba dispar</i>	10-20 μ	Esférico	4 (maduro) – 1-2 (inmaduros)	Cuerpos cromatoidales gruesos, alargados, de extremos redondeados
<i>Entamoeba moskowskii</i>	5-10 μ	Esférico	1 (maduro)	
<i>Entamoeba harmani</i>	5-10 μ	Esférico	4 (maduro) – 1-2 (inmaduros)	Cuerpos cromatoidales gruesos, alargados, de extremos redondeados
<i>Entamoeba polecki</i>	9-15 μ	Esférico	1 excepcionalmente 2	Cuerpos esféricos o como bastones de extremos redondeados o irregulares
<i>Entamoeba coli</i>	10-35 μ	Esférico	8 (maduro), ocasionalmente 16 – 2 (inmaduro)	Cuerpos cromatoidales pequeños, de extremos astillados
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	5-20 μ	Esférico a elíptico	1 (maduro) no visible sin tinción	Vacuola grande iodófila
<i>Endolimax nana</i>	5-10 μ	Esférico, oval, elíptico	4 (maduro) – 2 (inmaduro) no visibles sin tinción	Ocasionalmente pequeñas masas ovales

Cuadro 2. Características de los quistes

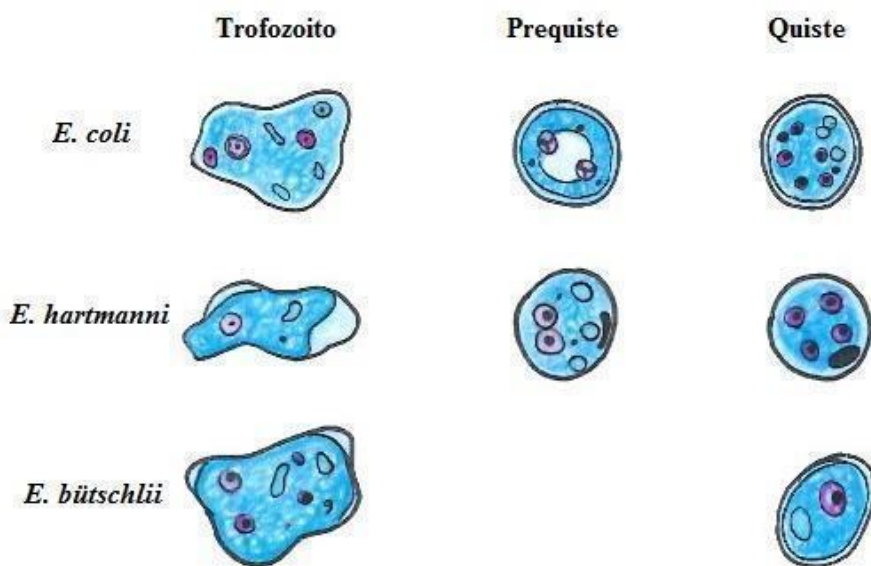


Figura 1. Formas de trofozoitos prequistes y quistes de algunos Amebozoa.

Transmisión y formas de diseminación

Las formas infectivas son los quistes maduros que se eliminan con las heces y conservan su viabilidad por semanas o meses, según las condiciones ambientales. La transmisión se efectúa

mayoritariamente por fecalismo. Aguas, bebidas, alimentos o fómites que se contaminan con materia fecal que proviene de individuos que albergan en el intestino grueso los quistes. Las moscas y cucarachas actúan como vectores mecánicos favoreciendo la diseminación.

Ciclo biológico

Las amebas entéricas ingresan al organismo de animales y del humano por vía oral mediante la ingesta de quistes contenidos en aguas y alimentos contaminados por heces. La variación de pH existente en el paso del estómago al duodeno y la acción lítica de las enzimas provocan la ruptura de la pared quística liberando al trofozoíto. Éste divide sus núcleos y en la luz del colon se rodean de citoplasma originando nuevos individuos que se multiplican por fisión binaria. En el lumen del colon, los trofozoítos van eliminando vacuolas alimenticias y demás inclusiones citoplasmáticas, se redondean, se inmovilizan y forman prequistes, luego se rodean de una cubierta dando origen a quistes inmaduros, para luego madurar y convertirse en infectivos y ser eliminados con las heces. Si bien no se conocen todos los mecanismos del proceso de enquistación, se cree que los factores podrían estar relacionados con el pH y la variación del potencial redox del intestino. En las materias fecales de animales y humanos pueden encontrarse trofozoítos, prequistes y quistes en diferentes estadios de evolución, según el cuadro clínico y la consistencia de las heces. El período prepatente de *E. histolytica* varía entre 2 y 4 días (Botero & Restrepo, 2012) (Figura 2).

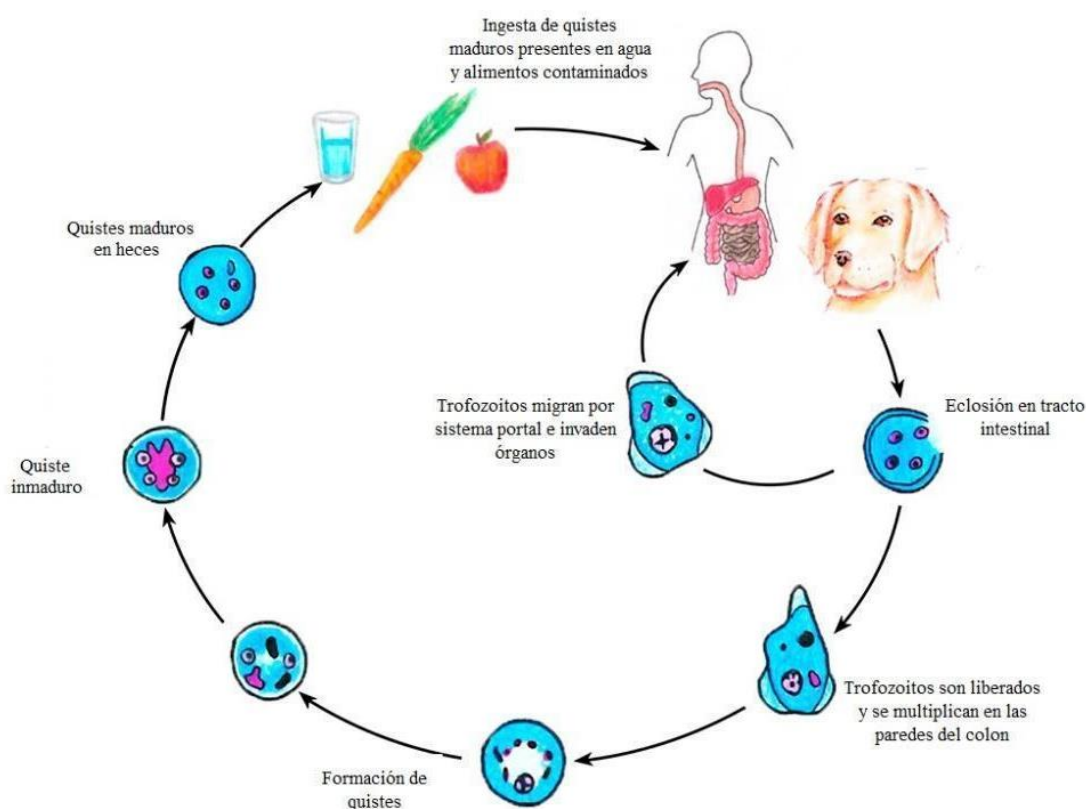


Figura 2. Ciclo biológico de *Entamoeba histolytica*

Patogenia y signología clínica

Los trofozoítos de *E. histolytica* se adhieren a las células intestinales por la interacción de adhesinas, lectinas o glicoproteínas, provocando la elevación del Ca^{++} libre intracelular. Simultáneamente actúa el ameboporo (péptido contenido en las vesículas del trofozoíto), que da lugar a la formación de poros y canales con difusión rápida de iones y alteración en los sistemas de transporte de la célula. Se pierde K^+ , hay retención de Na^+ y de agua en la célula, lo cual lleva a la citólisis. También se generan fosfolipasas que producen daños sobre la membrana de las células blanco y hay liberación de enzimas líticas, que provocan destrucción del tejido conectivo.

Una característica diferencial en la patogenicidad, es la presencia de eritrocitos fagocitados en el citoplasma de los trofozoítos. Las adhesinas juegan un rol importante en el proceso fagocítico, como también en el proceso de colonización en el intestino grueso, ya que tienen muy alta afinidad por las mucinas colónicas, ricas en galactosa, lo que determina su fijación y evitan que las amebas sean arrastradas por los movimientos peristálticos. En el colon, la presencia de bacterias favorece el desarrollo de la ameba, al disminuir el potencial redox. El estado nutricional del hospedador es un factor importante que está relacionado con la invasión amebiana. Los individuos con antígenos de histocompatibilidad HLA-DR3 tienen mayor probabilidad de desarrollar absceso hepático. El hospedador desarrolla algunos mecanismos de defensa como la acción de las proteasas pancreáticas y de las sales biliares que bloquean la adhesión amebiana. Los mecanismos patogénicos llevan a la formación de úlceras, inicialmente superficiales y posteriormente profundas, pudiendo en ocasiones extenderse hasta la serosa y aún perforarla (Kozubsky & Costas, 2017).

Los cuadros clínicos generados por *E. histolytica* pueden ser:

Amebiosis intestinal

a) Asintomática: la amebiosis se presenta con parásitos que viven en la luz intestinal sin invadir mucosa, el individuo no presenta sintomatología y son portadores asintomáticos, por lo cual juegan un rol importante en la diseminación de la parasitosis. Probablemente la infección sea por *E. dispar*. b) Colitis disintérica o amebiosis aguda: es una amebiosis invasiva con evacuaciones que presentan moco y sangre observándose trofozoítos hematófagos. c) Colitis fulminante: es una amebiosis intestinal hiperaguda, con dolor abdominal, diarrea, tenesmo, vómitos, anorexia y pérdida ponderal, con frecuencia está asociada con sobreinfecciones bacterianas. d) Amebomas (pseudotumoraciones): se presentan como una masa dolorosa palpable, de tamaño variable, que puede dar síntomas de obstrucción intestinal y ocasionalmente ocurrir perforación o hemorragia. e) Apendicitis amebiana: con similares manifestaciones clínicas que las apendicitis bacterianas (Botero & Restrepo, 2012).

Amebiosis extraintestinal

El absceso hepático amebiano es la manifestación más común, con invasión a otros órganos diferentes del intestino e hígado (Becerril, 2012). Si bien es poco frecuente, cuando se presenta lo hace como parte de una amebiosis grave con localización múltiple, con excepción de algunos casos cutáneos o de mucosas, que pueden presentarse independientemente. Los mecanismos de diseminación son hematógenos y por contigüidad.

Distribución geográfica

E. histolytica presenta distribución cosmopolita afectando principalmente a las comunidades pobres y con déficit en el saneamiento ambiental. Se estima que existen alrededor de 500 millones de personas en el mundo que serían portadoras del parásito. De ellas, 50 millones padecerían la enfermedad invasiva cada año y entre 40 y 110 mil pacientes morirían por su patología. Las prevalencias más altas se encuentran en países con menor desarrollo socioeconómico, generalmente ubicados en zonas subtropicales y tropicales.

Entamoeba polecki está asociada epidemiológicamente con cerdos y monos, aunque se han reportado casos humanos (Rivero de Rodríguez, 2013) en el sudeste de Asia en la zona de Papúa, Nueva Guinea, donde se ha encontrado prevalencias del 19% en niños y del 4,6 % en refugiados de Camboya, República Democrática Popular Lao y Vietman que llegaron a Estados Unidos. Los casos de infección en humanos son, en su mayoría, asintomáticos (Wiwanitkit & Virojj, 2004).

Diagnóstico

Para el diagnóstico de las amebas entéricas se recomienda la materia fecal fresca para observar la movilidad de los trofozoítos y una muestra seriada de cinco días consecutivos para aumentar la sensibilidad, ya que los protozoarios tienen eliminación discontinua de sus elementos parasitarios. Se recomienda utilizar métodos de enriquecimiento de sedimentación como Telemann, Richtie, Carlès Barthelèmy, etc y realizar sendas observaciones microscópicas. En muestras formes es más factible encontrar quistes, mientras que en las muestras diarreicas y sanguinolentas se pueden encontrar trofozoítos. Con excepción de los quistes maduros que tienen más de 4 núcleos, las demás formas parasitarias son muy similares en su morfología, por lo que es necesario efectuar coloraciones permanentes (tricrómica y hematoxilina-eosina) que permitan realizar una identificación mediante el estudio de la estructura nuclear (cariosoma y presencia o no de cromatina periférica) y barras cromatoidales. En el caso de disentería amebiana, es necesario hacer diagnóstico diferencial con entidades clínicas y agentes etiológicos como:

infecciones por *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* enteroinvasora, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, cáncer de colon, e incluso otras parasitosis como esquistosomiosis crónica, trichuriasis masiva y balantidiosis (Kozubsky & Costas, 2017) (Imagen 1 a 4).

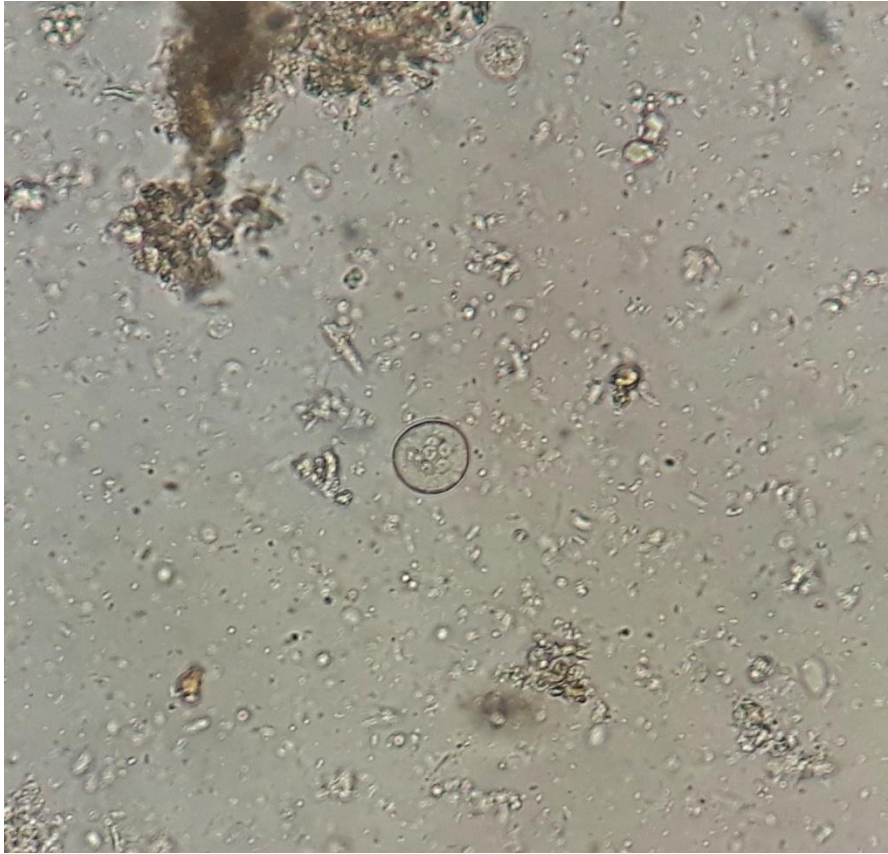


Imagen 1. Quiste de *E. coli* sin agregado de solución de lugol. 40X



Imagen 2. Quiste de *E. coli* con agregado de solución de lugol. 100X

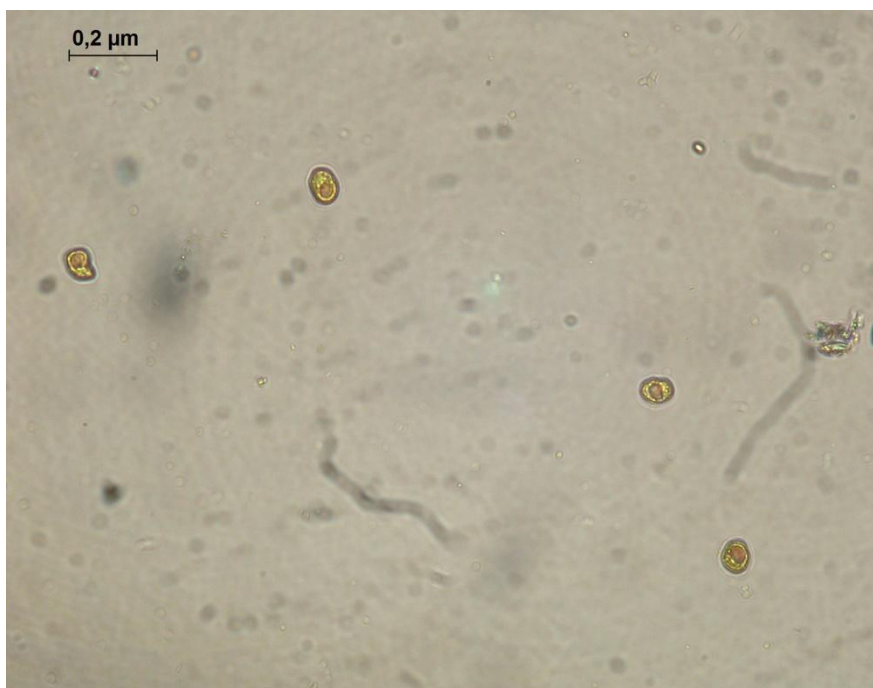


Imagen 3. *Iodamoeba* sp. con el agregado de solución de lugol 40X

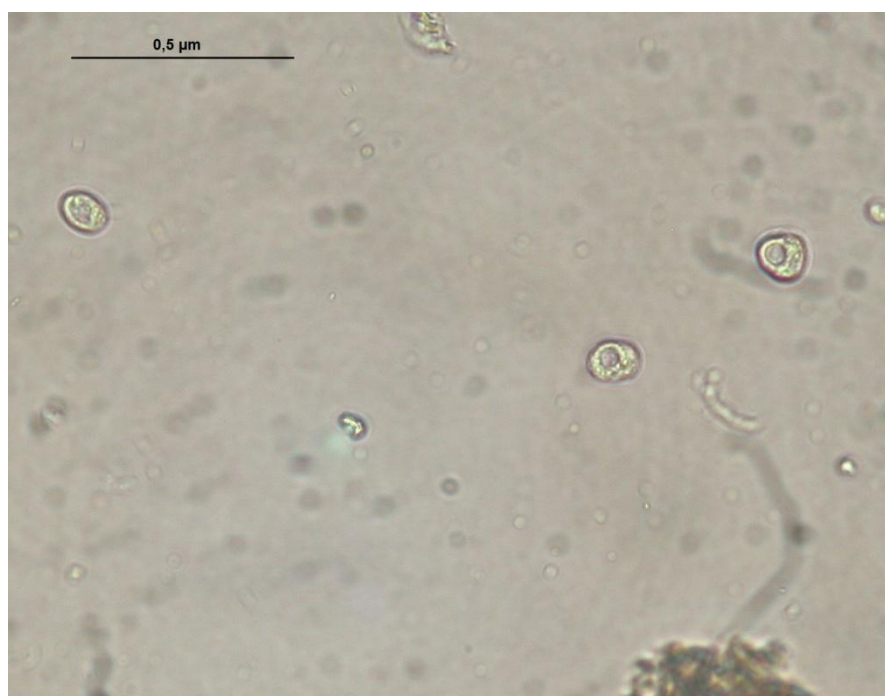


Imagen 4. *Iodamoeba* sp. sin agregado de solución de lugol. 40X

Amebiosis intestinal

1) Microscopía: Búsqueda e identificación microscópica de los trofozoítos hematófagos de *E. histolytica*. Estos estudios pueden efectuarse sobre heces, moco rectal, material de raspado de

las úlceras, muestras obtenidas de biopsia y aspirado de abscesos. Las preparaciones húmedas se pueden hacer con algún líquido de montaje como solución fisiológica, lugol, colorantes vitales (Bailenger), etc. La muestra debe ser recién emitida y observada dentro de los 30 minutos. Los quistes pueden detectarse casi exclusivamente si las heces son formes o semisólidas y especialmente en las formas crónicas y asintomáticas. La detección de trofozoítos móviles y quistes no permite diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar/moskovskii*, excepto que se encuentren hemátidos ingeridos en el citoplasma de los trofozoítos (eritrofagia).

2) Detección de antígenos: Se han desarrollado métodos de ELISA para la detección de coproantígenos en materia fecal con alta sensibilidad y especificidad. Este método también es útil para detectar antígenos de lectinas circulantes en suero de pacientes con colitis amebiana y absceso hepático. Las reacciones serológicas en amebiosis intestinal son de difícil interpretación en zonas endémicas, ya que existen varias posibilidades: a-) casos con amebas en heces y ausencia de anticuerpos en suero, que posiblemente correspondan a infecciones por *E. dispar*, b-) casos sin amebas detectables por exámenes coproparasitológicos y presencia de anticuerpos circulantes, correspondientes a infecciones pasadas y c-) casos que presenten simultáneamente parásitos en heces y anticuerpos séricos.

3) Cultivos: Son parásitos anaerobios aerotolerantes, heterótrofos y de metabolismo exigente que sólo se desarrollan en medios de cultivo enriquecidos con glucosa o galactosa como sustrato y temperaturas entre 35,5-37°C.

4) Técnicas de Biología Molecular: Las técnicas de Biología Molecular como PCR han sido aplicadas a heces y permite revelar el DNA amebiano tanto a partir de trofozoítos como de quistes, diferenciando *E. histolytica* de *E. dispar* y de *E. moshkovskii* (Stensvold et al., 2018).

Amebiosis extraintestinal

En estos casos a menudo en el examen microscópico de materia fecal no se encuentran elementos parasitarios, por lo que deben realizarse biopsias o punciones. En el caso de absceso hepático se realiza un aspirado de la pared del absceso debiendo extraerse al menos 2 porciones separadas. Los parásitos frecuentemente se hallan atrapados en el material viscoso. También pueden determinarse anticuerpos por ELISA.

Tratamiento

Las infecciones por *E. histolytica* deben ser tratadas, incluyendo los asintomáticos a fin de eliminar los parásitos de la luz intestinal y evitar la diseminación de la parasitosis para evitar el pasaje a formas de amebiosis invasivas. El tratamiento depende del estado del paciente y el tipo de cuadro clínico que presente. (Becerril, 2012).

En el caso de amebiosis intestinal, se emplean drogas como diiodohidroquinolina, sulfato de paramomicina y especialmente metronidazólicos. En casos de amebiosis intestinal severa o extraintestinal se recomienda metronidazol según el siguiente esquema: pacientes pediátricos: 35-50mg/kg/día en tres dosis por 7-10 días, adultos: 750 mg/día por 7-10 días. En pacientes adultos y pediátricos se puede administrar el sulfato de paramomicina con 25-35mg/kg/día repartido en tres dosis por 7 días.

La diiodohidroquinolina en dosis de 650 mg tres veces por día durante 20 días resultó ser eficaz en el 70% de los casos.

Profilaxis

La amebiosis requiere de una prevención en la transmisión fecal-oral de los quistes, para lo cual es importante la incorporación de buenos hábitos de higiene personal e implementación de medidas de saneamiento ambiental. El correcto lavado de manos antes de preparar las comidas y después de defecar, es un hábito que debieran adoptar los manipuladores de alimentos, ya que una mínima contaminación con materia fecal pueden ser la causa de infección y diseminación de la parasitosis. El agua que se utiliza para bebida o para lavado de frutas y verduras que se consumen crudas, debe ser segura, en caso que se tenga dudas hervirla antes de usar. Evitar el contacto de heces con vectores mecánicos como moscas y cucarachas. No emplear materia fecal humana como abono en cultivos de hortalizas y verduras. Es importante el tratamiento de los portadores asintomáticos (Botero & Restrepo, 2012).

Importancia en salud pública

La amebiosis es un problema de salud pública mundial, relacionada con la pobreza y falta de saneamiento ambiental (Quach et al., 2014).

Es la cuarta causa de muerte en el mundo debida a la infección por protozoarios después del paludismo, la enfermedad de Chagas y la leishmaniosis, y la tercera causa de morbilidad después del paludismo y la tricomoniosis. *E. histolytica* puede vivir como comensal en intestino grueso, invadir la mucosa intestinal con generación de úlceras y tener localizaciones extraintestinales, pudiendo incluso resultar fatal. La prevención y control de esta parasitosis es difícil y compleja en zonas endémicas. Las mejoras en las viviendas, eliminación adecuada de heces humanas, la higiene personal y la educación de la población sobre la transmisión de enfermedades, pueden ayudar a disminuir la prevalencia de esta y otras parasitosis intestinales. Sumado a esto el desarrollo de una vacuna y de mejores fármacos antiamebianos, pueden contribuir a disminuir la prevalencia y la mortalidad a corto y mediano plazo (Saavedra & Olivos García, 2017).

Referencias

- Becerril, M.A. (2012). *Parasitología Médica*. México. 3 Ed. Editorial Mc Graw Hill-Interamericana.
- Begum, S. Quach, J. Chadee, K. (2015). Immune Evasion Mechanisms of *Entamoeba histolytica*: Progression to Disease. *Frontiers in Microbiology*. 6: 1394.
- Botero, D. & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis Humanas*. 5 ed. Bogotá, Colombia. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB).
- Calegar, D.A. Nunes, B.C. Monteiro, K.J. Santos, J.P. Toma, H.K. Gomes, T.F. Lima, M.M. Bóia, M.N. & Carvalho-Costa, F.A. (2016). Frequency and molecular characterisation of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, and *Entamoeba hartmanni* in the context of water scarcity in northeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 111(2):114-9.
- Fotedar, R. Stark, D. Beebe, N. Marriott, D. Ellis, J. & Harkness, J. (2007). Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clinical microbiology reviews*. 20(3):511-32.
- Frederick, J.R. & Petri, W.A. (2005). Roles for the galactose-/N-acetylgalactosamine-binding lectin of *Entamoeba* in parasite virulence and differentiation. *Glycobiology*. 15 (1):53–9.
- Gomila Sard, B., Toledo Navarro, R. & Esteban Sanchis, J.G. (2011). Amebas intestinales no patógenas: una visión clínico-analítica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 29(3):20-8
- Kozubsky, L.E. & Costas, M.E. (2017). *Parasitología humana para Bioquímicos. Parásitos intestinales*. 1. Buenos Aires, Argentina. 1º Ed. Editorial de la Universidad de La Plata EDULP.
- Quach, J. St-Pierre, J. & Chadee, K. (2014). The future for vaccine development against *Entamoeba histolytica*. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 10(6):1514-21.
- Rivero de Rodríguez, Z. (2013). Detección de *Entamoeba moshkovskii* en humanos: un nuevo problema diagnóstico en la amibiasis. Revisión. *Kasmera*. 41(1):42-9.
- Wiwanitkit, Virojj. (2004). *Entamoeba polecki* as a cause of human infection. *Reviews in Medical Microbiology*. 15(1):41-3
- Saavedra, E. & Olivos García, A. (2017). Amibiasis. *Ciencia*. 68 (1):14-7.
- Stensvold, C.R. Winiecka-Krusnell, J. Lier, T. Lebbad, M. (2018). Evaluation of a PCR Method for Detection of *Entamoeba polecki*, with an Overview of Its Molecular Epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology*. 56: e00154-18.

Reino Protista

Clado Amebozoa

Phylum Discosea

Orden Longamoebida

Clado Centramoebida

Familia Acanthoamebidae

Género *Acanthoameba*

Familia Balanuthiidae

Género *Balanuthia*

Familia Thecamoebidae

Género *Sappinia*

Clado Excavata

Clado Discoba

Phylum Heterolobosea

Clado Tetramitida

Clado Eutetramitida

Familia Valhkampfiidae

Género *Naegleria*

CAPÍTULO 18

Amebas patógenas de vida libre (AVL)

Sixto Raúl Costamagna

Generalidades

Las Amebas de Vida Libre (AVL) o (Free Living Amoebae (FLA) (Adl, 2013) son protozoos presentes en el ambiente, oportunistas y accidentales para el hombre y por ello ignorados, sub diagnosticados por ello peligrosos. Esta aseveración, subjetiva, sería consecuencia del desconocimiento de estos microorganismos y su probada patogenicidad, lo que lleva a que no sean considerados como agentes productores de enfermedad en el momento adecuado, ni diagnosticados correctamente. Esto los hace más peligrosos ya que, cuando se piensa en ellos, el tiempo transcurrido desde el comienzo de la infección y el diagnóstico, es lo suficientemente prolongado como para que el tratamiento logre ser eficaz (Costamagna, 2010; Costamagna, 2018).

Los géneros de AVL, con patogenicidad demostrada para el hombre y los animales son: *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Naegleria* y *Sappinia*.

Se los encuentra ampliamente presentes en el ambiente, por lo que se las denomina, econosis (Hoberg, 2015). Se mueven por emisión de pseudópodos hialinos. Su multiplicación es por fisión binaria, salvo *Sappinia* spp.

En general podemos decir que afectan ojos, SNC o piel, no habiendo hasta la fecha, señales de afección intestinal (Martinez, 1997; Salomón, 2008; Khan, 2009; Siddiqui, 2016)

Desde 1913 a 2018, de acuerdo con la base de datos *PubMed*, se publicaron, 6129 trabajos sobre AVL. El 85% correspondieron a casos y avances en el conocimiento de *Acanthamoeba* spp., y *Naegleria* spp., de los cuales el 67% correspondieron a la primera y el 18% a la segunda. Para *Balamuthia* spp., el 3,9 y *Sappinia* spp., el 0,5%. Estos valores nos dan una idea aproximada de la importancia epidemiológica de cada género, ya que, por la escasa cantidad de casos y su dispersión en el mundo, no hay datos de prevalencia en humanos; sólo hay datos de aislados sobre su presencia en el ambiente (Costamagna, 2018)

***Balamuthia* spp.**

Este género agrupa a una sola especie patógena para el ser humano y animales: *B. mandrillaris* (fue aislada del cerebro de un mandril). El primer caso de infección en el hombre por *Balamuthia mandrillaris* fue documentado en 1991 (Gertiser, 2015).

El ciclo de vida alterna entre estadio de trofozoítos con medidas entre 12 y 60 μm , mono o binucleado, que se desplaza por emisión de lamelipodios, y quistes redondos, con tres paredes, uninucleado de 15 a 30 μm de diámetro (Visvesvara, 2007).

Si bien *Balamuthia* spp., ha sido aislada de tierra y agua, no existen reportes de casos asociados con actividades acuáticas. Se supone que podría ingresar al organismo por cortes en la piel, y de allí por diseminación hematológica llegar hasta el SNC, o bien ingresar a través del epitelio nasal al ser aspirada.

Signología clínica

Produce Encefalitis Granulomatosa Amebiana (EGA) que es una infección crónica, subaguda, de desarrollo lento e insidioso. Los síntomas de la infección del sistema nervioso central (SNC) incluyen: dolor de cabeza, fotofobia, náuseas, vómitos, fiebre, mialgias, pérdida de peso. En estos pacientes es común la presencia de lesiones cutáneas, principalmente en la parte media del rostro, y también pueden presentar rinitis, sinusitis u otitis.

Diagnóstico

- En LCR es orientativo la presencia de niveles elevados de proteínas, pleocitosis linfocitaria, y niveles de glucosa normales o disminuidos.
- En material de biopsias de piel o tejido cerebral, con tinciones de rutina y técnicas de inmunohistoquímica.
- Cultivo: a partir de biopsias, se realiza sobre cultivos celulares, por lo que se necesitan laboratorios especializados.
- Técnicas de biología molecular: reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real.

***Sappinia* spp.**

Este género comprende: *S. diploidea* y *S. pedata*. Su reproducción es sexual. Las especies pertenecientes a este género se han aislado de la tierra, de las heces de lagartos, alces, bisontes y de ganado vacuno, por lo que los clasifica como coprozoicos.

Su ciclo de vida, al igual que *Balamuthia*, alterna entre trofozoíto (40 a 80 µm) y quiste (18 a 25 µm). Son mono o binucleados y los quistes tienen doble pared.

Signología clínica y diagnóstico

El único caso de infección humana por *S. diploidea*, conocido, ocurrió en 2001, y el paciente, de 38 años, inmunocompetente, luego de ser operado y tratado con azitromicina, pentamidina, itraconazol y flucitosina, sobrevivió. El paciente sólo presentaba antecedente de sinusitis, pero luego apareció pérdida de conciencia, fotofobia, náuseas, vómitos, visión borrosa y dolor de cabeza frontal durante 2-3 días. Por resonancia magnética nuclear se pudieron detectar dos masas en el lóbulo temporal izquierdo que fueron extirpadas. La biopsia mostró inflamación necrotizante hemorrágica con formas compatibles con microorganismos ameboides con dos núcleos (Visvesvara, 2007).

Naegleria fowleri

Al igual que las otras AVL, *Naegleria* alterna entre estadios de trofozoíto y quiste. La diferencia es que el trofozoíto presenta una forma ameboidal y una flagelada con tamaños promedios entre 13 a 25 µm. Los quistes, son redondos y pequeños: 7 a 12 µm. Todos presentan un solo núcleo.

Esta AVL se la conoce vulgarmente, especialmente en los EEUU, como “*ameba come cerebro*”, ya que literalmente, una vez que ingresa al cerebro se alimenta de tejido y nutrientes presentes en el mismo.

Se la puede encontrar en agua dulce con altas temperaturas (34°C o más) y en invierno permanece en estadio quístico.

Hay descritas más de 30 especies dentro de este género, pero solo *N. fowleri* ha demostrado ser patógena para el ser humano desde el año 1965 en que aparece descrito el primer caso, por Fowler y Carter, en Australia (Visvesvara, 2007).

Signología clínica

En el hombre provoca Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MAP) una patología del SNC, de curso rápido y fulminante, que afecta generalmente a individuos jóvenes inmunocompetentes y con antecedentes de contacto previo (entre 3 a 5 días) con aguas dulces y cálidas (dato epidemiológico importante, y que tiene que ver con el cambio climático, ya que ello ampliaría el área endémica y la proliferación de este microorganismo termo-dependiente). Entre tres a diez días del inicio de los síntomas provoca: cefalea, rigidez cervical, diplopía, náuseas, vómitos, fotofobia, alteraciones del gusto y el olfato, trastornos mentales, coma y muerte. El parásito ingresaría por la nariz, luego de reiteradas y bruscas zambullidas de la persona en el agua dulce (especialmente verano ya que se requiere de temperaturas altas en el agua). A través de las fosas nasales llega al nervio olfatorio y desde allí al cerebro donde rápidamente generará la sintomatología mencionada, con un 92 a 97% de probabilidad de desenlace fatal, pese a que existe tratamiento. El problema es el tiempo que transcurre desde la infección hasta la aparición del primer signo o síntoma (generalmente rigidez de nuca, fotofobia) y el posterior diagnóstico. Como se mencionó al inicio del capítulo, estos microorganismos son “Protozoos subdiagnosticados, ignorados y peligrosos debido al desconocimiento de ellos, lo que lleva a que no sean considerados como agentes productores de enfermedad en el momento adecuado, ni diagnosticados correctamente”.

Diagnóstico

En primer lugar, se debe obtener líquido cefalorraquídeo LCR y centrifugar inmediatamente (sin refrigerar) a bajas revoluciones y tiempo (tres minutos a 2000 rpm). Se observa el sedimento y, en caso positivo, se observarán formas ameboidales, compatibles con una AVL.

Posteriormente se procederá al sembrado del material (Biopsia, LCR, agua donde se bañó el paciente, si se dispone de la misma, en una placa de Petri que contenga agar no nutritivo (ANN) al 1,5% en solución de Page, enriquecida con una suspensión de *Escherichia coli* en 500 µl de solución de Page. Se incuba en estufa a 37°C y a las 24 o 48 horas se procede a raspar la superficie del agar y observar al microscopio óptico. Se observan los cultivos hasta los 10 días aproximadamente y recién allí se descartan como negativos. A las 48 hs aproximadamente ya se puede observar microscópicamente el protozoo con movimientos por emisión de pseudópodos, activo y bien visible a diez y cuarenta aumentos. Para diferenciar con otras AVL, debe efectuarse la prueba de transformación amebo-flagelar. Esta prueba consiste en agregar, sobre la superficie del cultivo positivo en agar, 500 µl de agua destilada estéril, continuar con la incubación a 37°C y luego observar las modificaciones producidas sobre el protozoo a la hora, dos y hasta cinco horas. En caso de estar en presencia de *Naegleria*, se podrán visualizar dos flagelos bien visibles y el cambio de forma del parásito con morfología más piriforme y casi sin pseudópodos. La temperatura y el tiempo para la exflagelación dependerá del genotipo aislado. Esta prueba positiva (es decir, que el protozoo emita flagelos) frente a la clínica y datos secundarios como el

contacto con aguas dulces cálidas tres días previos a la aparición de sintomatología meníngea compatible con MAP, ya sugiere la instalación de la conducta terapéutica que se indica para este tipo de patología, de manera urgente (si es que no se realizó al momento de la observación de protozoos con movimiento ameboidal en LCR). Con posterioridad, se procede a realizar la confirmación de por lo menos el género, a través de PCR utilizando cebadores específicos tomados de literatura actualizada y confiable. Si la prueba de exflagelación es negativa, se deberá realizar diagnóstico de laboratorio diferencial con otra AVL conocida como *Acanthamoeba* spp. Se indica que siempre el tratamiento se debe iniciar con la visualización del protozoo en LCR, es decir: inmediatamente, con diagnóstico “presuntivo”; el cultivo y la PCR sólo confirmarán, pero si se esperan los resultados, el paciente seguramente fallecerá.

Resumiendo: El LCR es hipertenso, de color grisáceo, blanco-amarillento, con glóbulos rojos. Pleocitosis con predominio de polimorfo nucleares (PMN), con recuento de 300 a 26000 cel/mm³. La glucosa puede estar normal o ligeramente disminuida, las proteínas elevadas y bacteriológicamente estéril.

La observación microscópica del líquido en fresco, sin refrigerar, permite la visualización de trofozoítos móviles.

Cultivo en ANN + Exflagelación positivos.

Con referencia al material de biopsias, sobre cortes de tejido cerebral, previo a los cultivos como se indicó más arriba, se realizan tinciones comunes como Giemsa, May Grunwald-Giemsa, Hematoxilina-Eosina, coloración tricrómica, y técnicas de inmunofluorescencia directa con anticuerpos poli o monoclonales.

Las muestras ambientales (agua de lagunas o ríos) se colectan en frascos estériles (unos 500 ml aproximadamente) y se dejan reposar a temperatura ambiente durante 48 horas (o bien se centrifugan suavemente). El sedimento se observa al microscopio óptico y se siembra, siguiendo el mismo protocolo que para LCR (Guzmán-Fierros, 2008).

En Argentina, el primer caso detectado y documentado de MAP, fue en un niño, de la localidad de Junín (Provincia de Buenos Aires) en febrero de 2017. También se pudo aislar *Naegleria* spp., en aguas de la laguna del sector, donde el niño se había bañado tres días antes del comienzo de la sintomatología meníngea. Lamentablemente, y pese a que el diagnóstico presuntivo fue realizado, por el Laboratorio de análisis clínicos, a los pocos minutos de haberse extraído LCR, el niño falleció a los cinco días del contacto con el agua (Campana, 2017; Randazzo, 2017; REC, 2017; Costamagna, 2018).

***Acanthamoeba* spp.**

En 1972 se registró el primer caso de encefalitis claramente atribuido a este género y en 1974 se reportó el primer caso de queratitis por *Acanthamoeba* spp. (Visvesvara, 2007).

En su ciclo biológico, al igual que en las anteriores AVL, encontramos dos formas evolutivas: una quística de resistencia y la otra vegetativa, el trofozoíto.

Los trofozoítos miden entre 10 y 40 μm , poseen un núcleo y una vacuola de exclusión de agua, que es la encargada de mantener el equilibrio osmótico necesario para la sobrevivencia del protozoo; esta vacuola se abre y cierra lo que es de utilidad cuando se trata de identificar la célula bajo el microscopio, en vivo. Se desplaza por movimientos ameboides mediante prolongaciones citoplasmáticas largas, como agujas o espinas, llamados acantópodos (de allí el nombre del género). En su interior, además, presentan numerosas mitocondrias, vacuolas de lípidos, RER, etc. (Imagen 1).



Imagen 1. Trofozoíto de Acanthamoeba spp. Se señalan acanthopodios.

Los quistes pueden ser de paredes lisas o rugosas y miden entre 5 y 15 μm de diámetro, mostrando un exo y un endoquiste. El endoquiste, si es rugoso adquiere forma poliédrica, generando los ostíolos u opérculos cada vez que ambas membranas (externa e interna) se juntan (Imagen 2).

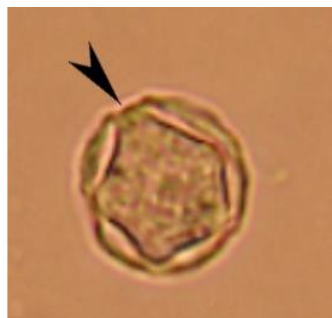


Imagen 2. Quiste rugoso de Acanthamoeba spp. Se indica un ostiolo.

Pussard & Pons, en 1977, clasificaron a las especies de *Acanthamoeba*, en tres grupos, en base al tamaño y al número de ostiolo de los quistes (Visvesvara, 2007). En los Grupos II y III se encontraron la mayoría de las especies productoras de patologías humanas. En la actualidad, con nuevas tecnologías y conociendo de que estas morfologías pueden variar según condiciones medioambientales, se las clasifica en 20 genotipos: T1 a T20, considerando la variación en las secuencias de nucleótidos del gen 18S ARNr, siendo T4, T5, T14 y T15, las más frecuentemente halladas en el sudoeste bonaerense y la provincia de La Pampa (Argentina) y T4 la que fue asociada con mayor frecuencia a patologías, aunque esto es información que requiere de mayores estudios epidemiológicos, tipificando todas las especies de *Acanthamoeba* aisladas de la mayor cantidad de casos y de todo el mundo.

Como se indicó, es una infección poco frecuente, y la vía de entrada no siempre es evidente. La enfermedad puede ser de inicio crónico, con fechas de inicio difíciles de precisar (diferencia con *Naegleria*). Puede afectar SNC, piel y córnea.

Es de distribución mundial se encuentra en el agua (habitualmente dulce), piscinas, lagunas, suelo, polvo, materia en descomposición, aparatos de aire acondicionado, unidades de diálisis, dentales, etc. (Visvesvara, 2007; Lares-Jiménez, 2009; Costamagna, 2010).

Signología clínica

Encefalitis granulosa amebiana (EGA)

Generalmente se presenta en pacientes inmunodeprimidos, aunque también en personas sin manifestaciones de inmunodeficiencia. La invasión puede ser nasal, o hematógena a partir de un foco primario en piel. La enfermedad es de curso lento y crónico, generalmente fatal: el paciente muere en un plazo que va de varias semanas a meses. No presenta estacionalidad. Los síntomas son los de una infección meníngea, rigidez en la nuca, dolor de cabeza, fotofobia, visión borrosa, confusión, fiebre, vómitos, etc.

Acanthamoebosis cutánea (AC)

En piel aparecen úlceras, pústulas y nódulos y, probablemente sea el lugar de ingreso para llegar al SNC por vía hematógena.

El diagnóstico, similar a otras acanthamoebosis, implica cultivo en ANN de material de las lesiones, material de biopsia teñido con Hematoxilina-Eosina, May Grunwald-Giemsa. También pueden emplearse inmunofluorescencia directa y PCR.

Tratamiento: aplicación tópica de itraconazol, 5-fluorocitosina, pentamidina, ketoconazol y clohexamidina.

Queratitis acanthamoebiana (QA)

El lavado de lentes de contacto con agua contaminada o la falta de higiene en estuches que los contienen, suele ser una de las principales causas de infección para producir queratitis. Obviamente los usuarios de lentes de contacto están más expuestos a adquirir esta patología ocular, debido, probablemente, a micro lesiones en la córnea, que permiten la salida de una proteína ligada a la manosa la cual es un alimento preciado para *Acanthamoeba*. Luego del ingreso a la córnea, la misma se ulcera con infiltración, opacidad, iritis y frecuentemente escleritis. Hay dolor intenso (que se irradia hacia la parte posterior de la cabeza, en el mismo lado donde está el ojo afectado) y disminución de la visión; la infección si no es detenida, continúa hasta provocar daño corneal, similar a la que genera el herpes virus. La ameba, atrapada entre la lente y la córnea, al no poder salir hacia el exterior ni disponer de nutrientes externos comienza a lisar la córnea y a alimentarse de ella. Si no es diagnosticado e iniciado el tratamiento precozmente, en un mes el paciente pierde la córnea, y la solución puede ser un trasplante, aunque sí la totalidad fue destruida el trasplante no será posible, y finalmente la visión del ojo afectado se pierde.

Como ya se indicó, la verdadera prevalencia de este microorganismo y otras AVL es difícil de precisar, como productor de queratitis infecciosa (QI). La frecuencia de QA fue estudiada sobre 518 personas con QI, durante ocho años (2008-2015) en el Hospital Oftalmológico Santa Lucía y en un consultorio oftalmológico privado de la ciudad autónoma de Buenos Aires (Argentina) demostrando que 148 (27,82%) fueron queratitis por *Acanthamoeba* spp. pacientes (Apestey et al., 2017). Sobre un total de 739 pacientes con similar patología se aisló *Acanthamoeba* (T4) en once casos (1,5%) (Casero et al., 2017). Éstos se suman al primer caso publicado en Argentina por D'Alessandro en 2007. También fueron reportados casos en Buenos Aires y en Bahía Blanca (Costamagna., 2018). La diferencia de frecuencias entre los dos primeros trabajos mencionados, se puede atribuir al tipo de muestra estudiada (biopsia, hisopado o raspado de córnea).

Prevención

Cloración del agua de piscinas y lavado adecuado de las mismas, con cepillado de las paredes ya que *Acanthamoeba* se adhiere en el biofilm que se produce. No bañarse en lagunas o lugares donde el agua permanece estancada. Limpieza y mantenimiento correcto de las lentes de contacto y evitar su uso durante actividades acuáticas. No lavarlas con agua de red. Existen soluciones comerciales para el lavado y mantenimiento de ellas y de los estuches donde se guardan, contienen poli hexa metil biguanida (PHMB) que es acanthamoebicida. El oftalmólogo debería alertar al paciente al que se le recetó lentes de contacto, sobre la importancia de la higiene de estuches y las posibles consecuencias si no se respetan las normas de bioseguridad para su uso y mantenimiento.

Diagnóstico

El diagnóstico se hace mediante raspado, biopsia o hisopado de córnea, el autor recomienda raspado con espátula de Kimura, realizado por médico oftalmólogo. Siembra en ANN con *E. coli*. Se recomienda realizar la técnica de PCR con primers JDP1 y JDP2, que tiene una efectividad del 100% de los aislamientos de cultivos positivos y es útil para confirmar el género. Sin embargo, el autor no la recomienda en reemplazo de los cultivos en ANN hasta tanto no se hagan estudios de sensibilidad sobre materiales biológicos. Debe ser empleada como un complemento, pese a su sensibilidad y especificidad indiscutible frente al parásito ya aislado. Debe tenerse en cuenta la dificultad para extraer ADN de formas quísticas (Costamagna, 2015; Kowalski, 2015).

Encefalitis granulomatosa amebiana (EGA)

El LCR presenta pleocitosis con aumento de polimorfonucleares, glucosa ligeramente disminuida, aumento de proteínas, y bacteriológicamente estéril.

Sobre material de biopsias, con coloraciones con Giemsa, Hematoxilina-Eosina, Tricrómica, Naranja de acridina o Calco flúor White. También, si se dispone de reactivos adecuados, realizar técnicas inmunohistoquímicas. Idealmente se pueden realizar Test de inmunofluorescencia directa con anticuerpos mono o policlonales marcados con isotiocianato de fluoresceína o similar, aunque el inconveniente es que no existen en el mercado kits de esta prueba para ninguna AVL, por lo cual hay que prepararlos artesanalmente y mantenerlos en centros de referencia; en los EEUU en el CDC se pueden realizar y en Argentina, en la Asociación Argentina de Microbiología, se ha formado un Grupo multidisciplinario para estudio y asesoramiento, para profesionales de la salud, sobre patologías producidas por AVL, diagnóstico y tratamiento.

Cultivo en Agar no nutritivo (ANN) de cualquier muestra incluida las ambientales.

Cuando se sospecha de etiología amebiana en paciente con compromiso del SNC, es recomendable realizar el cultivo de unas gotas de LCR o de la biopsia cerebral, en agar no nutritivo (ANN) enriquecido con *Escherichia coli*, para el aislamiento del *Acanthamoeba* (y también de *Naegleria*) siguiendo la siguiente técnica:

Se utilizan placas de Petri estériles con agar no nutritivo (ANN). Cuando ha solidificado, se colocan sobre la superficie 500 µl de una suspensión de *E. coli* en solución de Page y luego 100µl, aproximadamente, de la muestra. Las placas se incuban a 37°C y otras a temperatura de laboratorio; a las 48 h se realiza la primera observación al microscopio para evidenciar si hubo o no crecimiento, raspando con ansa bacteriológica la superficie del agar y el material extraído se coloca entre porta y cubreobjetos con una gota de agua destilada o solución fisiológica estéril y se observa al microscopio óptico. El cultivo es positivo cuando se pueden observar trofozoítos y/o quistes compatibles, morfológicamente, con *Acanthamoeba* o *Naegleria*. Si el resultado es

negativo, la observación se repetirá diariamente y si luego de 15 días de incubación no se observa desarrollo, se informa como negativo. Para detectar *Naegleria* hay que realizar la prueba de transformación amebo-flagelar (TAF): se agrega 1 a 2 ml de agua destilada estéril a un cultivo reciente. Pasada la hora y hasta las seis horas de incubación a 37°C, observar entre porta y cubreobjetos. Si la AVL aislada es *Naegleria*, se observarán dos flagelos bien visibles, caso contrario se observarán los trofozoítos sin flagelos. También se pueden variar las temperaturas de incubación en la prueba de exflagelación, ya que hay especies de *Naegleria* que lo hacen a diferentes temperaturas. Para confirmar género y especie, luego hay que realizar PCR siguiendo protocolos de literatura actualizada.

PCR: para la tipificación final y correcta, se realizan pruebas moleculares, incluyendo genotipificación. Lo expresado en queratitis *acanthamoebiana* y PCR, también es válido para EGA.

Tratamiento

Actualmente se emplean combinaciones de diferentes antibióticos: fluconazol, sulfadiazina, ketoconazol, anfotericina, bitraconazol + miltefosina, y reitero que, para tener resultados positivos es importante un diagnóstico temprano.

Con referencia a la investigación de anticuerpos, ya sea por inmunofluorescencia indirecta u otro método, al ser patologías que evolucionan rápidamente y con graves consecuencias para el paciente, el valor del título de anticuerpos es limitado: primero porque muchas personas tienen anticuerpos por infecciones asintomáticas previas y por el otro lado, por lo rápido de aparición de signos y síntomas graves, una vez que aparece la patología, especialmente en SNC y córnea lo que no da tiempo para que el sistema inmunológico reaccione con producción de anticuerpos.

Acanthamoeba en el ambiente se ha aislado de tierra, aguas dulces y saladas, de red, etc. Se la ha hallado en el 71% de las piscinas recreacionales, cubiertas, en algún momento del año, (Gertiser et al., 2015). En el 100% de ríos y arroyos estudiados que incluyen el sudoeste bonaerense y la mayoría de las provincias de la República Argentina; en el 30% de los tanques de agua domiciliarios (especialmente los que no tenían tapa) aunque no fue detectada en las numerosas muestras de agua de red estudiadas, previo a su paso por los tanques del domicilio. En agua de mar, las especies aisladas de aguas dulces, no resisten más allá de los quince días, aproximadamente, aunque faltan mayores estudios.

Uso de líquido para mantenimiento de lentes de contacto: el tiempo mencionado en prospectos de tres marcas comerciales de líquidos para mantener las lentes comparadas, fue menor al necesario para eliminar *Acanthamoeba* spp., por lo cual se recomienda duplicarlo.

Para limpieza de superficies (mesadas, por ejemplo) con solo cinco minutos de contacto con etanol al 50% es suficiente (Gertiser, 2015).

AVL como “*Caballos de Troya*”: se menciona en la literatura la presencia de microorganismos que se mantienen y sobreviven, pese a las sucesivas divisiones, sin afectar aparentemente a la ameba, lo que permitiría a las AVL actuar como “vectores” de otros microorganismos, dando

origen a que se las llame o considere como verdaderos “*caballos de Troya*”. Los microorganismos detectados son pertenecientes a Familias Legionellaceae, Pseudomonaceae, Mycobacteriaceae, Enterobacteriaceae, Vibrionaceae y *Cryptococcus neoformans* y virus con estructura química, compatible con descripciones de los grandes virus de DNA nucleocitoplasmáticos.

Referencias

- Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., ... & Spiegel, F.W. (2013). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 59: 429-514.
- Apestey N., Brunzini, M.A. & Costamagna, S.R. 2017. Queratitis por *Acanthamoeba* spp., en ULC. XIV Congreso Nacional Bioquímico CUBRA, Bariloche, Argentina. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* Supl. 1: 164-165.
- Campana, J., Machain, M., Basabe, N., Allende Dave Romano, L., Visciarelli, E., Randazzo, V. & Costamagna, S.R. (2017). Primer caso de Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MAP) por *Naegleria fowleri*. Argentina. *Revista Parasitología Latinoamericana*. 66: 252-253.
- Casero, R.D., Mongi, F., Laconte, L., Rivero, F., Sastre, D., Teheránc, A., Herrera, G. & Ramírez, J.D. (2017). Molecular and morphological characterization of *Acanthamoeba* isolated from corneal scrapes and contact lens wearers in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution*. 54: 170-175.
- Costamagna, S.R. (2018). ¿Meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP) por *Naegleria fowleri*, emergente en Argentina? *Boletín de la Asociación Argentina de Microbiología*. 220:26-35. Recuperado de: <http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Boletin-220-VFF.pdf>.
- Costamagna, S.R., Gertiser, M., Basabe, N., Felice, V. & Visciarelli, E. (2010). *Acanthamoeba* spp.: ecoepidemiología, biología, ultraestructura, patogénesis y diagnóstico en el hombre. *Salud (i) Ciencia*. 17(8): 821-6.
- Costamagna, S.R., Gertiser, L., Visciarelli, E., Basabe, N., Randazzo, V. & Lucchi L. (2015). Inputs for diagnosing *Acanthamoeba* spp. infections. *Salud (i) Ciencia*. 21:648-650.
- Costamagna, S.R. (2018). Brief review of human infections by free living amoebae in Argentina. *Revista Argentina de Parasitología*. 7:7-16.
- Gertiser, M.L. (2015). *Aspectos biológicos y epidemiológicos de Amebas de Vida Libre aisladas en la República Argentina, con énfasis en Acanthamoeba spp.* Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca (Argentina). 206 pp. Recuperado de: <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/2567>.
- Guzmán-Fierros, E.; De Jonckheere, J.F. & Lares-Villa, F. (2008). Identificación de especies de *Naegleria* en sitios recreativos en Hornos, Sonora. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 79: 1-5.
- Hoberg, E.P. & Brooks, D.R. (2015). Evolution in action: climate change, biodiversity dynamics and emerging infectious disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 370(1665): 20130553.

- Khan, N.A. (2009). *Acanthamoeba*. Biology and pathogenesis. University of Nottingham, UK. *Caister Academic Press. Act Parasit.* 54: 1230-2821.
- Khan, N.A. (2015). *Acanthamoeba: Biology and Pathogenesis*. 2da Ed. Caister Academic Press, Nottingham, United Kingdom. 290 pp.
- Kowalski, R.P., Melan, M.A., Karenchak, L.M. & Mammen, A. (2015). Comparison of validated polymerase chain reaction and culture isolation for the routine detection of *Acanthamoeba* from ocular samples. *Eye & Contact Lens*. 41:341-3.
- Lares-Jiménez, L.F. & Lares-Villa, F. (2009). Aislamiento de amebas de vida libre en aguas superficiales del Valle del Mayo, Sonora. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 5 (2): 161-167.
- Martinez, A.J. & Visvesvara, G.S. (1997). Free living, Amphizoic and Opportunistic Amebas. *Brain Pathology*. 7: 583-598.
- Randazzo, V., Lucchi, L. & Costamagna, S.R. (2017). *Naegleria fowleri*, un emergente en Argentina. *Parasitología Latinoamericana*. 66(3):432-433.
- Reporte Epidemiológico de Córdoba Nro. 1879 del 13 de febrero de 2017, Recuperado de: <http://www.reporteepidemiologico.com/2017/02/13>
- Salomón, C. & Tonelli, R. (2008). Recientes agentes de econosis: Amebas de Vida Libre. En: Costamagna, S.R. & Visciarelli, E.: *Parasitosis Regionales*. Bahía Blanca, Argentina. 435 pp. Edit. UNS.
- Siddiqui, R., Ali, I.K., Cope, J. & Khan, N. (2016). Brain-Eating Amoebae. *Biology and Pathogenesis of Naegleria fowleri*. 1ra Ed. Caister Academic Press, Nottingham, United Kingdom. 252 pp.
- Visvesvara, G.S.; Moura, H. & Schuster, F.L. (2007). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 50:1.

Reino Protista

Clado Excavata

Clado Metamonada

Phylum Fornicata

Orden Diplomonada

Familia Hexamitidae

Género *Giardia*

Género *Hexamita*

Género *Tritritus*

Género *Spironucleus*

Familia Retortamonidae

Género *Chilomastix*

Género *Retortamonas*

Familia Enteromonadidae

Género *Enteromonas*

CAPÍTULO 19

Giardia spp. Giardiosis. Otros Fornicata

Nilda Ester Radman

Generalidades

Giardia lamblia (Stiles, 1915), fue descubierta en 1681 por el investigador Antony Van Leeuwenhoek que la halló en sus propias heces. Su taxonomía aún no está completamente resuelta. La mayoría de los trabajos científicos actuales mencionan al protozoo proveniente de humanos como *Giardia lamblia*, aunque *Giardia duodenalis* y *Giardia intestinalis* son usadas como sinonimia. En la actualidad, se aceptan solo tres especies del género *Giardia*. *Giardia lamblia*, que infecta a humanos y un amplio rango de mamíferos, incluidos roedores, *G. muris* que sólo infecta roedores y *Giardia agilis* que sólo infecta a batracios. Recientemente, mediante criterios genéticos, fenotípicos, clínicos y epidemiológicos se ha observado que *Giardia lamblia* no es una especie uniforme, por el contrario, es compleja. Incluye ocho grupos o genotipos genéticamente distintos (ensamblajes que van desde la A a la H, y además existen subtipos), con potencial zoonótico y variable especificidad de hospedador. En humanos, se han hallado los ensamblajes A y B y datos moleculares han demostrado que en animales de granja, de compañía y salvajes, pueden hallarse los genotipos de *Giardia* que infectan al humano.

Giardia spp. es un protozoo cosmopolita, de mayor incidencia en zonas tropicales y subtropicales. Reconocido inicialmente como comensal inocuo del tracto digestivo. Es actualmente el patógeno entérico más común en humanos, causando además patologías extra intestinales, pese a no abandonar su localización intestinal. Los estudios de secuenciación del gen que codifica la subunidad pequeña o 18S rRNA (SS rRNA), de los actuales sistemas de clasificación molecular, señalan a *Giardia* como el organismo eucariota más primitivo conocido, al punto de ser considerado un fósil viviente (Ankarklev, 2010). Su ciclo de vida es directo y las formas de presentación son variadas. Existen numerosos medicamentos de probada eficacia contra este parásito, aunque se presentan frecuentes fallas terapéuticas. Es considerada una infección zoonótica de origen hídrico, capaz de franquear los filtros potabilizadores y de resistir la cloración habitual del agua. Puede adquirirse también a partir de diversos alimentos, por lo cual es considerada una EPTA. Actualmente se la ubica en el Clado Metamonada, Phylum Fornicata, Orden Diplomonadida, Familia Hexamitidae, Género: *Giardia* (Levine 1980), pero esta taxonomía no refleja la heterogeneidad genética y fenotípica que existe en las especies del grupo de *G. intestinalis* (Borremans, 2012).

Según la especificidad del hospedador, se han descrito 41 especies diferentes de *Giardia*. Así, distintos investigadores denominaron a las especies según el hospedador en el cual fue hallada. *Giardia bovis*, *G. canis*, *G. caprae*, sinonimia *G. ovis*, *G. cati*, *G. duodenalis*, *G. cuniculi*, *G. equi*, *G. muris*. De acuerdo al criterio morfológico de disposición de las estructuras microtubulares presentes en los cuerpos medios de los trofozoítos, se admiten tres grupos de especies: *Giardia agilis*, *Giardia muris* y *Giardia intestinalis* (*duodenalis* o *lamblia*). Sólo el último grupo se asocia con enfermedad en el hombre, con diferencias en su virulencia, patogenicidad, infectividad, antigenicidad y sensibilidad a los fármacos. A las cepas de procedencia exclusivamente humana se les denomina especies de *G. lamblia*, para diferenciarlas de aquellas de origen animal, pero que pueden infectar al hombre, conocidas como especies de *G. intestinalis* ó *G. duodenalis*. Dentro del grupo de *G. intestinalis* algunos organismos han sido designados con la categoría de especie, de acuerdo con criterios morfológicos. Los estudios mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permiten proponer la existencia de dos genotipos para las cepas de *G. lamblia*, genotipo A y genotipo B. Ambos son patógenos humanos y no se ha demostrado correlación entre el genotipo infectante y la virulencia o el espectro de hospedadores de la cepa.

Los Fornicata viven en ambientes con poco oxígeno y carecen de mitocondrias. El phylum Fornicata se divide en dos grandes grupos, los diplomonádidos, como *Giardia lamblia* y los retortamonádidos.

Otros Fornicata se encontrarán al final del capítulo. La mayoría de los diplomonádidos tienen un sistema de cariomastigonte (conjunto formado por núcleos y flagelos) duplicado que incluye dos núcleos, cada uno asociado con cuatro cuerpos basales y sus sistemas citoesqueléticos asociados. También se conocen algunos con un solo cariomastigonte, los retortamonádidos. Los miembros del Phylum Fornicata son en su mayoría parásitos intestinales de animales y humanos, aunque existen algunos de vida libre.

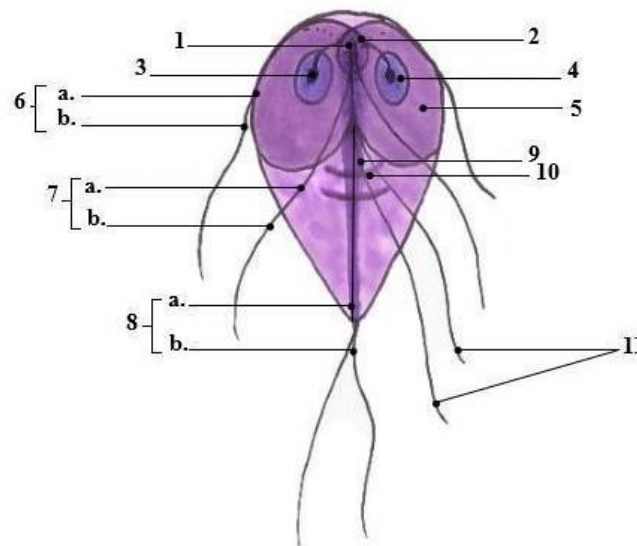
Morfología

Los protozoos del género *Giardia* se pueden observar en forma de quiste y como trofozoíto.

Morfología del trofozoíto

El trofozoíto tiene forma piriforme, mide 12-15 μm x 6-8 μm , es cóncavo-convexo y presenta un disco suctorio en posición ventral. Posee dos núcleos ovoides, situados simétricamente a cada lado de la línea media, con cariosoma central. La membrana nuclear no está revestida por cromatina, aunque está parcialmente recubierta por ribosomas. El tamaño del genoma de *G. lamblia*, según estudios de restricción y densitometría es de 10,6-11,9 Mb. El citoesqueleto, consta de disco suctorio ventral, cóncavo y rígido que contacta con las microvellosidades intestinales. Contiene proteínas contráctiles, participa en la adherencia del trofozoíto al epitelio intestinal y en su permanencia en el intestino del hospedador. También presenta dos cuerpos medios,

estructuras únicas del género *Giardia*. Son curvos, están localizados en la línea media del trofozoíto, en dorsal y perpendicular a los flagelos caudales, están probablemente involucrados con el metabolismo energético del protozoo. Tiene cuatro pares de flagelos que se originan en cuerpos basales situados en la cara ventral del trofozoíto, sus axonemas recorren el citoplasma hasta emerger del cuerpo. Su función es permitir la movilidad a los trofozoítos. No posee mitocondrias, ni retículo endoplásmico liso. Las organelas presentes en su citoplasma son ribosomas, lisosomas, y retículo endoplásmico rugoso. El complejo de Golgi sólo se ha observado en algunos estadios. Como en otros protozoos, en su citoplasma pueden encontrarse endosimbiontes, su ingreso al protozoo es por endocitosis y la susceptibilidad de *Giardia* a la infección depende de un receptor específico en la superficie de la membrana celular. No se conoce su rol en la patogenia de la infección por *Giardia* (Figura 1).



Giardia spp

1. Cuerpos basales; 2. Cuerpo basal del flagelo anterior; 3. Endosoma; 4. Núcleo; 5. Disco adhesivo; 6. Flagelo anterior, a. Intracitoplasmático, b. Externo; 7. Flagelo posterior, a. Intracitoplasmático, b. Externo; 8. Flagelo caudal, a. Intracitoplasmático, b. Externo; 9. Surco ventral; 10. Cuerpos mediales; 11. Flagelo ventral

Figura 1. Morfología del trofozoíto.

Morfología del quiste

Es elipsoidal, de 8-12 μm de longitud por 5-8 μm de ancho. Poseen citoplasma granular, fino, separado de una pared quística de 0,3 μm de espesor adosada a la membrana plasmática del parásito. La pared es retráctil, con una porción externa de estructura fibrilar y una interna membrana. Ambas se encuentran separadas por el espacio periplásmico. Mediante cromatografía gaseosa, espectrometría de masas y análisis enzimático, se observó que la galactosamina es el azúcar mayoritario en la pared del quiste. En el citoplasma se observan ocho axonemas, seis localizados en el área central y dos en la periferia. Asociados a los axonemas se encuentran dos láminas

de microtúbulos, paralelos a los centrales. También se ven numerosos ribosomas, vacuolas y fragmentos del disco ventral. No se observan mitocondrias, aparato de Golgi, ni retículo endoplásmico rugoso. Los quistes inmaduros o recién formados tienen dos núcleos y se denominan prequistes, los maduros son tetranucleados. Sus núcleos se suelen localizar en un extremo. El cariosoma nuclear, puede tener posición central o excéntrica y la carioteca carece de cromatina periférica. La actividad metabólica es menor que la desarrollada por los trofozoítos (Figura 2).

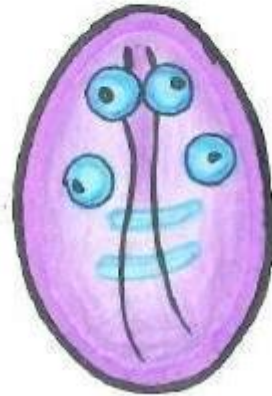


Figura 2. Morfología del quiste.

Transmisión y formas de diseminación

Las distintas especies del género se transmiten mediante los quistes por vía oral. Los trofozoítos no originan infección. Los protozoos parásitos no se multiplican en alimentos, sino que pueden sobrevivir sobre ellos por meses en ambientes frescos y húmedos. Su presencia tiene un significado especialmente potencial en la preparación y consumo de productos frescos, cuando los alimentos preparados son servidos sin cocinarse por calor. Se menciona la transmisión mediante ostras, cubos de hielo, alimentos crudos, leche fría y alimentos elaborados (Lindarte, 2011). Entre el 2-3% de las diarreas del viajero están causadas por *Giardia* spp. La infección se adquiere por ingestión de quistes que son muy infecciosos, 10 quistes viables originan giardiosis sintomática. El reservorio de *G. lamblia* es el hombre enfermo o portador asintomático. La infección por el grupo *G. intestinalis* es frecuente y está muy extendida entre animales domésticos y en un amplio rango de mamíferos salvajes. Por lo tanto, es aceptada la transmisión zoonótica de *G. intestinalis* a partir de animales domésticos y silvestres infectados, actuando estos como reservorios del parásito, considerándose actualmente a la giardiosis como una antropozoonosis (Borremans, 2012; Davids, 2019).

Ciclo biológico

Como se mencionó, es directo o monoxeno y el elemento infectante es el quiste. La reproducción es asexual y haploide, no se ha demostrado reproducción sexual, a diferencia de lo que sucede con otros protozoos. Tras aproximadamente 15 minutos de la ingesta de los quistes se produce el desenquistamiento, el mecanismo no está totalmente dilucidado aún. Comienza en el estómago, donde en respuesta al medio ácido se genera una señal, que mediada por iones Ca, es captada a través de la pared del quiste. La respuesta, molecular, estructural y fisiológica induce, mediante la acción de diversas enzimas al desenquistamiento del trofozoito, proceso que se produce en el intestino delgado, ya que *Giardia* spp. en ese estado, sería incapaz de resistir la acidez gástrica.

Los trofozoítos se dividen en el intestino delgado mediante un proceso de fisión binaria, que incluye la división nuclear, seguida del aparato neuromotor y del disco ventral y la posterior citocinesis, obteniéndose dos trofozoítos hijos (Davids, 2019). Ellos se fijan a los enterocitos mediante su disco succionario y comienzan a dividirse por fisión binaria. Allí comienzan a desarrollar su acción parasitaria que va a manifestarse mediante distintos síntomas. En el yeyuno distal comienza el proceso de enquistamiento, este es inducido por factores como la ausencia de colesterol, ya que es indispensable para la formación de sus lípidos de membrana y el protozoo no lo sintetiza. También por el cambio de pH y algunas condiciones de estrés (Midlej & Benchimol, 2009). El proceso de enquistamiento incluye una serie de cambios morfológicos, químicos y metabólicos que concluyen con la eliminación de quistes con las heces (Figura 3).

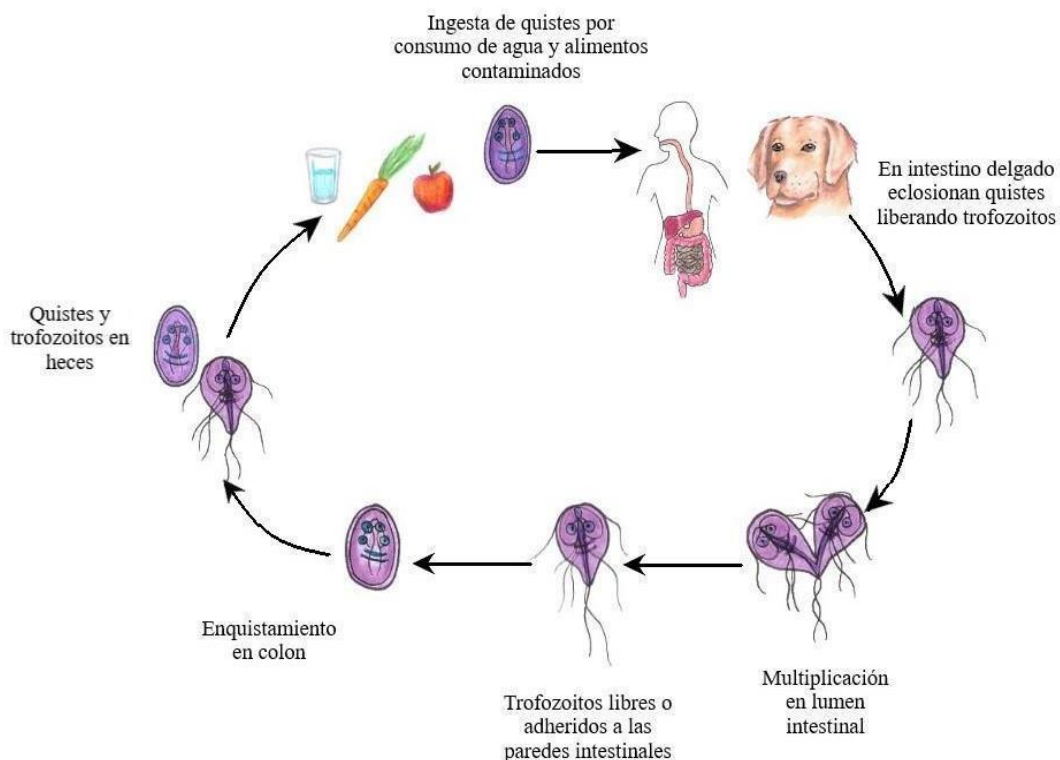


Figura 3. Ciclo biológico de *Giardia* spp.

Patogenia

Como en el caso de algunos *Trypanosomas*, *Giardia* spp. presenta variaciones antigénicas, existiendo la posibilidad de presentar hasta 180 antígenos diferentes dependiendo de la cepa. Esta es una estrategia del organismo para burlar al sistema inmune de su hospedador. El mecanismo patogénico específico por el que *Giardia* causa enfermedad no ha sido identificado. Se habla de una patogenia multifactorial en la que están implicados factores inherentes al parásito y al hospedador. Los factores parasitarios, están relacionados a la irritación de la mucosa intestinal en el área de fijación del disco succionario, la esfacelación, el desprendimiento y reemplazo por una mucosa de superficie inmadura en sistemas de transporte enzimático que se manifiesta en síndrome de malabsorción. También ocurren alteraciones histoquímicas de la mucosa, disfunción de la barrera epitelial, por la activación de los linfocitos T, atrofia de las microvellosidades y apoptosis del enterocito. Esto trae aparejada la pérdida o alteraciones enzimáticas con disminución de la actividad de las disacaridasas, disminución de la absorción de vitamina B₁₂, alteración en el transporte de glucosa-sodio y en el transporte de electrolitos, estos procesos varían según cepas actuantes. La presencia de *Giardia* spp. en el intestino delgado y la liberación de metabolitos favorecen la modificación de moléculas de fármacos que alteran los principios activos y ocasionan fracaso terapéutico. Entre los factores del hospedador, participan la inmunodeficiencia humoral, (hipogammaglobulinemia), el déficit de IgA, los antígenos de histocompatibilidad: HLA-A1, A2, B8 y B12. A su vez la malnutrición aumenta la gravedad por disminución de la producción de enterocitos. La variabilidad del microbiota condiciona la colonización de *Giardia* spp., así como su accionar patogénico. Su sobrevivencia en el organismo parasitado se ve favorecida por la hipocidez gástrica, gastrectomía, pancreatitis crónica, dietas ricas en carbohidratos, hierro y colesterol. Niños menores de 5 años, personas homosexuales, viajeros internacionales, personas que acampan e individuos institucionalizados, constituyen poblaciones de riesgo.

Signología clínica en humanos y animales

En giardiosis el período prepatente y la duración de la infección no guardan relación con el tamaño del inóculo. El período de incubación en la giardiosis sintomática oscila entre 3 y 45 días. Aunque puede resolverse espontáneamente o autolimitarse, en ocasiones puede durar semanas o meses en ausencia de tratamiento. Las formas de presentación pueden desarrollarse independientemente de otras. Existen manifestaciones intestinales y extraintestinales. Las primeras se pueden presentar en forma aguda, crónica o asintomática. Las manifestaciones extraintestinales, que se dan por acción de las exotoxinas son: erupción maculopapular, urticaria, aftas, poliartritis, colangitis, asma bronquial, iridociclitis, retinitis, alergia de origen alimentario, sinovitis y artritis. Habitualmente los profesionales médicos no requieren análisis coproparasitológico a sus pacientes con el fin de realizar un correcto diagnóstico diferencial con otras patologías.

Giardiosis aguda

Suele ser autolimitada en 2 a 7 días, pero puede prolongarse y desarrollar cuadros diarreicos subagudos o crónicos. Puede evolucionar de forma aguda con inicio brusco, con diarreas malolientes y acuosas que flotan en el agua, malabsorción con esteatorrea y pérdida de peso, náuseas, vómitos y distensión abdominal, así como dolor en región epigástrica. Sin signos de invasión de la mucosa como sangre en las heces o fiebre.

Giardiosis crónica

Se caracteriza por períodos diarreicos con heces pastosas y espumosas acompañadas de flatulencia y meteorismo, alternados con periodos de deposiciones aparentemente normales. En algunos pacientes la infección cursa con malabsorción y las consecuencias clínicas que de ella se derivan.

Giardiosis asintomática

En la mayoría de los pacientes infectados la parasitosis es asintomática. Esta forma es muy frecuente en niños y adultos de áreas endémicas, donde las reinfecciones son muy frecuentes. Muchos estudios han señalado la importancia epidemiológica de este tipo de infección.

Distribución geográfica

La infección por *G. lamblia* es cosmopolita, se puede desarrollar de forma endémica o epidémica. Las epidemias pueden ocurrir en las comunidades de países desarrollados o en desarrollo, donde los suministros de agua han sido contaminados con aguas no tratadas por filtraciones en la red, entre otras causas. En distintas poblaciones de la Provincia de Buenos Aires se ha hallado a *Giardia lamblia* como el protozooario más frecuente. Se han reportado 325 brotes de protozoarios transmitidos por el agua, de ellos el 40,6% por *Giardia duodenalis*. En nuestro país son escasos los datos publicados sobre la prevalencia de este protozooario en animales, sin embargo, existen numerosos trabajos en otras regiones (Cuadro 1).

Región	Especie/muestra	Datos obtenidos	
Provincia de Buenos Aires	Población rural	6%	
	Caninos	9%	
	Distintos Barrios periurbanos de Ciudad de La Plata		36,1%
			31, 4%
		34%	
	barrio urbano Ciudad de La Plata	21%	
Chaco Salteño	Personas que cohabitan c/ canes	9%	
Provincia de Córdoba	Niños Internados	14,5%	
Provincia de Corrientes	Niños	23%	
Provincia de Santa Fe	Aguas recreacionales	29%	
	Aguas superficiales	72%	
España	Fuentes de agua potable	31%	
	Aguas de río	92,3%,	
	En reservorios	55,5%	
	Aguas potabilizadas y parcialmente tratadas	26,9%	
	Caninos	45,2%	
	Terneros de crianza intensiva.	1% y 7%	
Ciudad de San Pablo	Caninos	30,1%	
Santiago de Chile	Caninos	12,2%	
	Felinos.	22%	
Italia	Humanos	19%	
Japón	Humanos.	55,2%	
	Caninos	37,4%	
	Felinos	2,3 %	
	Equinos, rumiantes, cerdos, conejos.	1,1 %	
Dinamarca	Lechones cría intensiva	0%	
	Terneros cría intensiva	84%	
Noruega	Terneros infectados	100%	
Canadá	Cerdos	49%	
	Bovinos	17 %	
		22,65	

Cuadro 1. Prevalencias en distintas regiones del mundo. Fuente: Borremans, 2012; Graczyk, 2005; Lindarte, 2011.

Diagnóstico

La posible giardiosis debe ser considerada en todos los pacientes con diarrea aguda, persistente, antecedentes de viajes a zonas endémicas. El método de referencia es la identificación de

los quistes en un examen con microscopía óptica. Con menor frecuencia, es posible observar los trofozoítos en muestras de heces. Los exámenes se realizan directamente en fresco y previa concentración, en heces conservadas o no (Imágenes 1 y 2). El carácter intermitente de la eliminación de formas del parásito en giardiosis, disminuye la sensibilidad de estos métodos y obligan a tomar muestras seriadas que incrementan la sensibilidad al 70%. A menudo se recomienda ampliar los exámenes seriados de heces a cuatro semanas, alcanzando la sensibilidad del estudio microscópico el 97%. En pacientes con diarrea crónica y malabsorción, con exámenes de heces negativos, puede ser necesario recurrir al estudio del contenido duodenal. La muestra puede obtenerse bien, con la utilización del Enterotest o por endoscopia con aspiración o biopsia duodenal. La biopsia es un procedimiento invasivo, útil sólo en pacientes que requieran diagnóstico diferencial con otras patologías (enfermedad de Whipple, enfermedad de Crohn, etc.). Se han diseñado pruebas de detección de antígenos en heces, inmunofluorescencia directa y enzimoimmunoensayos (EIA), técnicas con alta sensibilidad y especificidad. Existe un ensayo inmunocromatográfico que permite la detección simultánea de antígenos del complejo *Entamoeba histolytica/E. dispar*, *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp., el anticuerpo monoclonal utilizado detecta la giardina. También se puede realizar la técnica de PCR en heces. La sensibilidad analítica para los distintos iniciadores de *G. lamblia* oscila en un intervalo de 1 a 10 quistes por mezcla de reacción. La sensibilidad de la PCR ha sido comparada con la microscopía óptica y la técnica de EIA. La mayoría de los trabajos científicos encuentran que la PCR es más sensible que la primera y cuando se amplifica la región IGS rRNA mediante una PCR anidada, la sensibilidad es superior al EIA. La eficacia clínica de las pruebas serológicas no ha sido demostrada.

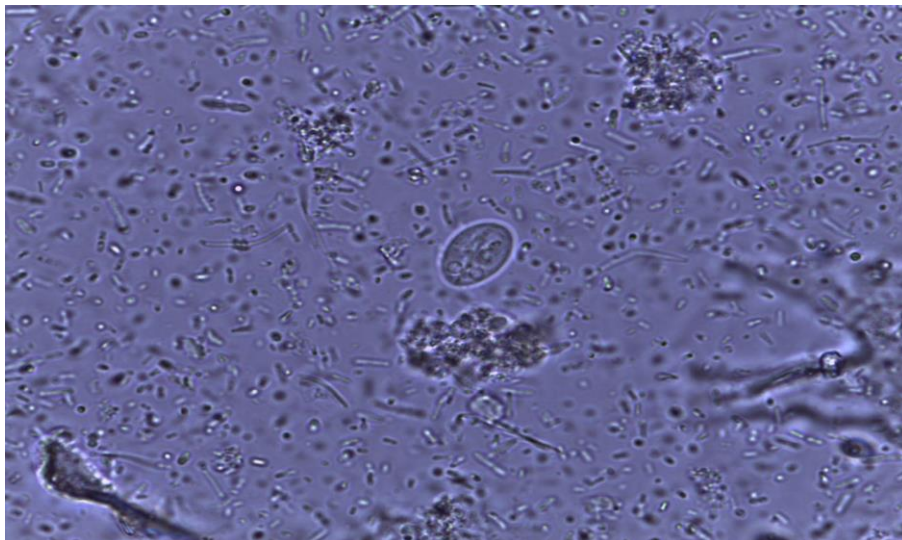


Imagen 1. Quiste de *Giardia duodenalis*, 40X.

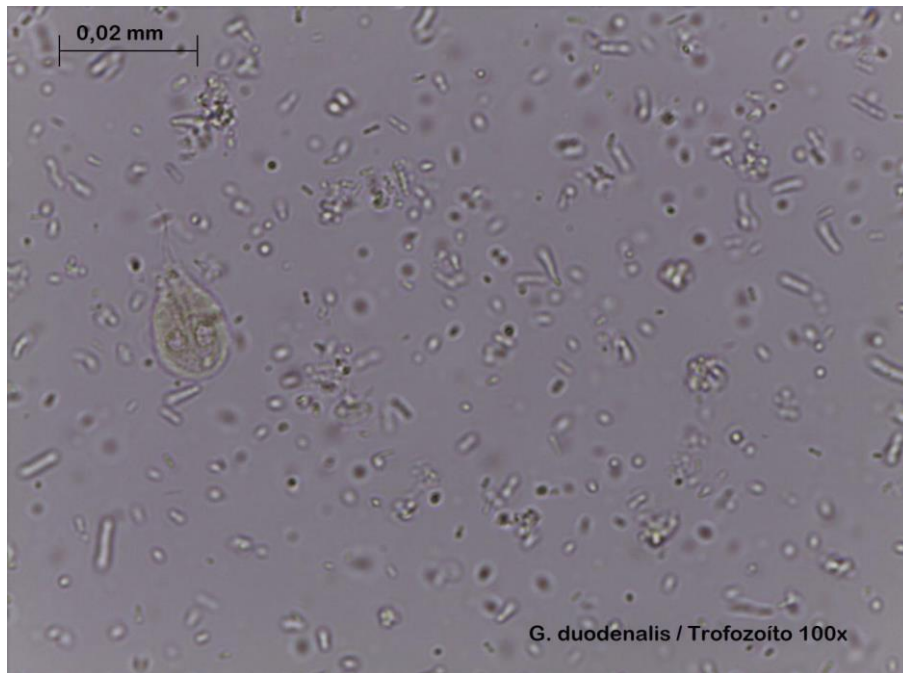


Imagen 2. Trofozoito de *Giardia duodenalis*, 100X.

Tratamiento

Existen distintos criterios entre los profesionales respecto a si deben medicarse las giardiasis asintomáticas, aunque se ha demostrado que es clínica y epidemiológicamente indicado. Numerosas drogas han demostrado eficacia para el tratamiento de los pacientes con giardiasis. La mayoría responde a un curso único de tratamiento, especialmente con metronidazol o quinacrina. En casos refractarios, por resistencia o recaída, puede ser necesaria la realización de varios ciclos de tratamiento o la combinación de distintas drogas. Los nitroimidazoles utilizados en el tratamiento de la infección por *Giardia* spp. incluyen al metronidazol, tinidazol, ornidazol y secnidazol. Los nitroimidazoles, reducidos mediante la enzima piruvato-ferredoxin oxidoreductasa del parásito, actúan como aceptores de electrones, uniéndose a las moléculas de DNA de *Giardia* spp., dañando su forma y provocando la pérdida de su estructura helicoidal, con la consiguiente muerte del trofozoito. Además, son capaces de inhibir la respiración del trofozoito y liberar radicales tóxicos que reaccionan con componentes celulares esenciales de *Giardia*. El metronidazol y el tinidazol son los que han demostrado *in vitro* una mayor actividad. Recientemente se ha incorporado la nitazoxanida como antiparasitario y es una droga muy eficaz.

Profilaxis

La inmunoprofilaxis se muestra como una herramienta muy eficaz en giardiasis humana y animal. Aún no se encuentra disponible comercialmente la vacuna para uso humano, en cambio sí

para su uso en caninos y felinos. El estímulo inmunológico de una vacuna puede ser benéfico para la eliminación del parásito o sus signos clínicos en la infección en los animales y para la eliminación de cepas de *Giardia* resistentes a los quimioterápicos. Las vacunas deben eliminar al parásito o reducir su presencia en el hospedador previniendo así la diseminación de quistes, lo cual puede reducir la transmisión fecal-oral y la contaminación del ambiente, el agua y el alimento. Los efectos cambiarían los riesgos en áreas endémicas. La vacunación de los animales de compañía y de granja reduciría la transmisión zoonótica. Esto es especialmente importante con respecto a las infecciones en los animales de vida libre, donde el control de la exposición es imposible de manejar. El estímulo inmunológico con una vacuna contra *Giardia* spp. también puede ser benéfico para la eliminación del parásito o de los signos clínicos de la infección en los animales y para la eliminación de cepas de *Giardia* spp. resistentes a los quimioterápicos. Como medidas preventivas se sugieren, además, proteger los alimentos de insectos, filtrar el agua de consumo, lavar frecuentemente las manos, especialmente después de usar el baño y antes de manipular o ingerir alimentos, evitar tragar agua durante el aseo diario y durante la inmersión en piscinas, ríos, presas, lagunas y todo tipo de aguas recreacionales. Además, realizar un correcto diagnóstico y tratamiento en el momento oportuno. En animales se sugiere la utilización de vacunas.

Importancia en salud pública

Su rol zoonótico es sostenido por diversos autores. Caninos, felinos, bovinos, cerdos y cabras entre los animales domésticos y diversos animales silvestres, se han hallado infectados con este protozoo. Los castores cobran importancia por considerarse capaces de contaminar cursos de agua.

Anexo: otros integrantes del Phylum

Además del protozoo *Giardia lamblia* tomado como modelo del Clado Metamonada y Phylum Fornicata, mencionaremos a continuación algunos otros Fornicata, a los que suele informarse como no patógenos y que no obstante se hallan en algunas poblaciones en elevadas prevalencias. Muestran mayor frecuencia de presentación en países en vías de desarrollo, especialmente en áreas con deficientes condiciones higiénico-sanitarias y ambientales. Estos protozoos son muy frecuentes en pacientes inmunodeficientes, particularmente infectados por HIV y/o enfermos de SIDA, y también en niños y ancianos. Ellos se comportan como marcadores de fecalismo, pero además suelen provocar patologías cuyos síntomas desaparecen luego de suministrar drogas específicas. También suelen hallarse en distintas especies animales, algunos con importancia en salud pública y otros además en la producción. Sus ciclos son directos como el del modelo y su tamaño pequeño. Sus quistes pueden ser vehiculizados por agua y otros alimentos. Sus

trofozoítos colonizan en el tracto digestivo posterior, aunque algunos se han hallado en otras localizaciones como conducto pancreático y tracto respiratorio.

Orden Diplomonadida

Los diplomonádidos poseen trofozoítos que van de 6 μm a 15 μm de longitud, sus quistes son más pequeños.

Enteromonas sp. *Enteromonas hominis* en intestino de humanos, también se la ha hallado colonizando el tracto respiratorio. También en intestino de primates.

Trimitus sp. en reptiles y aves.

Hexamita sp. *Hexamita salmonis* en poblaciones de truchas, se las encuentra en todo el intestino. Los peces infectados muestran anorexia significativa y reducción del peso corporal. *Hexamita muris* parasita ratas. Importante en bioterios. *Hexamita columbae*, en tracto digestivo de palomas. *Hexamita meleagridis* en pavos. *Hexamita inflata* en ostras de cultivo. Todas con las consecuentes pérdidas económicas.

Spironucleus sp. *Spironucleus vortens* en peces, *Spironucleus muris* en roedores. Son patógenos.

Orden Retortamonadida

Los retortamonadidos presentan trofozoítos que miden de 4 μm a 24 μm de longitud.

Retortamonas sp., hallada en el lumen intestinal de humanos y animales. También se hallan en el intestino de roedores e insectos.

Chilomastix sp., se ha hallado en un gran número de especies animales. *Chilomastix betencourtti* es de roedores. *Chilomastix gallinarum* de diversas aves, *Chilomastix mesnili* se presenta en humanos y distintas especies animales, entre ellas las ratas, se considera un protozoo zoonótico.

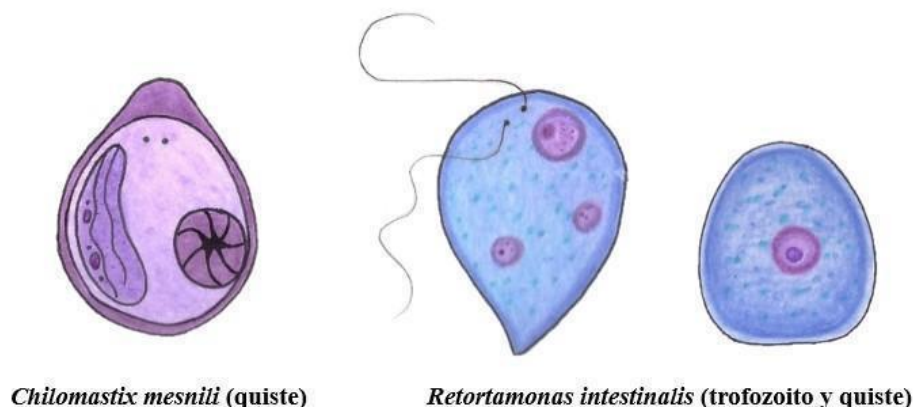


Figura 4. Morfología del Orden Retortamonadida.

Referencias

- Ankarklev, J., Jerlström-Hultqvist, J., Ringqvist, E., Troell, K. & Svärd, S.G. (2010). Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews Microbiology*. 8(6): 413-422.
- Borremans, C.G., Borremans, V. & Salomón, M.C. (2012). Protozoarios intestinales no patógenos. ¿No patógenos? Revisión bibliográfica. *Revista Electrónica de portales médicos*. Vol. VII; nº 22; 924 Recuperado de: <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/protozoarios-intestinales-no-patogenos-no-patogenos-revision-bibliografica/>
- Davids, B.J., Liu, C.M., Hanson, E.M., Le, C.H., Ang, J., Hanevik, K., Fischer, M., Radunovic, M., Langeland, N., Ferella, M., Svärd, S.G., Ghassemian, M., Miyamoto, Y. & Eckmann, L. (2019). Identification of conserved candidate vaccine antigens in the surface proteome of *Giardia lamblia*. *Infection and immunity*. 87(6): 1-14.
- Gamboa, M.I., Basualdo Farjat, J.A., Kozubsky, L., Costas, M.E., Cueto Rúa, E. & Lahitte, H.B. (1998). Prevalence of intestinal parasitosis within three population groups in La Plata, Buenos Aires, Argentina. *European Journal of Epidemiology*. 14 (1): 55-61.
- Gamboa, M.I., Navone, G., Kozubsky, L., Costas, M., Cardozo, M. & Magistrello, P. (2009). Protozoos intestinales en un asentamiento precario: Manifestaciones clínicas y ambiente. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 43 (2): 213-8.
- Gamboa, M.I., Navone, G.T., Orden, A.B., Torres, F., Castro, L. & Oyhenart, E.E. (2011). Socio-environmental conditions, intestinal parasitic infections and nutritional status in children from a suburban neighborhood of La Plata, Argentina. *Acta Trópica*. 118 (3): 184-189.
- Graczyk, TK. (2005). ¿Es Giardia un fósil viviente? *Trends in Parasitology*. 21 (3): 104-7.
- Lindarte, G.T., Tamayo, M.Z., Isaza, M.R. & Osorio, L.R. (2011). Investigación científica sobre genotipificación y distribución de *Giardia intestinalis* en humanos y caninos de América. *Salud Uninorte*. 27(1), 49-62.
- Lukeš, J., Stensvold, C.R., Jirků-Pomajbíková, K. & Parfrey, L.W. (2015). Are human intestinal eukaryotes beneficial or commensals? *PLoS Pathogens*. 11(8): e1005039.
- Midlej, V. & Benchimol, M. (2009). *Giardia lamblia* behavior during encystment: how morphological changes in shape occur. *Parasitology international*. 58(1): 72-80.
- Rivero, M.R., Feliziani, C., De Angelo, C., Tiranti, K., Salomon, O.D. & Touz, M.C. (2020). *Giardia* spp., the most ubiquitous protozoan parasite in Argentina: human, animal and environmental surveys reported in the last 40 years. *Parasitology Research*. 119(10): 3181-3201.
- Roberts, L.S. & Janovy, J. (2002). *Foundations of Parasitology*. 8th Ed. Edit. Mc. Graw Hill.
- Robertson, L.J., Lalle, M. & Paulsen, P. (2020). Why we need a European focus on foodborne parasites. *Experimental parasitology*. 214: 107900.

Reino Protista

Clado Excavata

Clado Metamonada

Phylum Parabasalia

Orden Trichomonadida

Familia Trichomonadidae

Género *Trichomonas*

Género *Pentatrichomonas*

Género *Tritrichomonas*

Género *Tetratrichomonas*

Género *Pentatrichomonas*

Orden Tritrichomonadidae

Familia Dientaboebidae

Género *Dientamoeba*

Género *Histomonas*

CAPÍTULO 20

Trichomonas vaginalis. Trichomonosis genital humana

Susana Archelli

Generalidades

Trichomonas vaginalis es una de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) más frecuente y prevalente en el mundo, con tratamiento efectivo. Los portadores, hombres y mujeres, pueden desconocer que están infectados ya que pueden no presentar síntomas. En 1836 fue descrita por primera vez por Alfred Donné. En 1916 Hoehve demostró su acción patógena y se logró aceptar en 1957 que se trataba de una enfermedad venérea (Archelli, 2006; Núñez-Troconis, 2020). Se han descrito varios patógenos transmisibles por contacto sexual, entre los que se encuentra un único parásito: *Trichomonas vaginalis*.

En general, no causa complicaciones graves, sin embargo, puede causar problemas en las mujeres embarazadas con cargas altas del parásito, dando nacimientos prematuros, aumentando el riesgo de contraer el virus de la inmunodeficiencia humana y otras infecciones durante las relaciones sexuales sin protección con una pareja infectada (Carrada Bravo, 2006; Santo Diéguez, 2014; Tompkins et al., 2020).

La primera ocasión de infección es el momento de nacimiento, a través del canal de parto de la madre infectada, ocasionalmente pueden colonizar el tracto respiratorio del recién nacido por aspiración (Archelli, 2006).

La tricomonosis se reconoce como importante causante de vaginitis (proceso inflamatorio de la vagina y la vulva), cuyas manifestaciones clínicas pueden ser, intensa, moderada, leve y un porcentaje muy bajo con ausencia de síntomas. El hombre se considera un portador sano, pero en ocasiones el parásito es causante de uretritis, prostatitis, entre otras afecciones (Hernández-Álvarez, et al., 2009; Núñez-Troconis, 2020; Tompkins et al., 2020).

Morfología

Trichomonas vaginalis es un protozoo flagelado (Figura 1), cuyo trofozoíto mide entre 7 a 32 μm por 5 a 12 μm , es frecuente visualizarlo en microscopio de diferentes formas, piriformes,

semilunares, esferoidales en medios líquidos, con una actividad locomotriz con ágiles movimientos, de tipo vibratorio y adireccional y en medios sólidos (agar), formas ameboides. El movimiento activo lo da un aparato locomotor con cinco flagelos, de los cuales cuatro se denominan flagelos anteriores y emergen de un complejo blefaroplástico compuesto por un cinetonúcleo y un corpúsculo basal de forma piriforme, ubicado cerca del núcleo (Costamagna & Prado-Figueroa, 2001; Kissinger, 2015). El quinto flagelo o flagelo recurrente, se dirige a la parte posterior y se ubica sobre el borde libre de una expansión protoplasmática que ocupa los dos tercios anteriores del parásito, denominada membrana ondulante, cuya designación hace mención al movimiento típico que posee en vivo, que le permite desplazarse con facilidad y realizar movimientos de rotación y traslación (Núñez-Troconis, 2020; Kissinger, 2015).

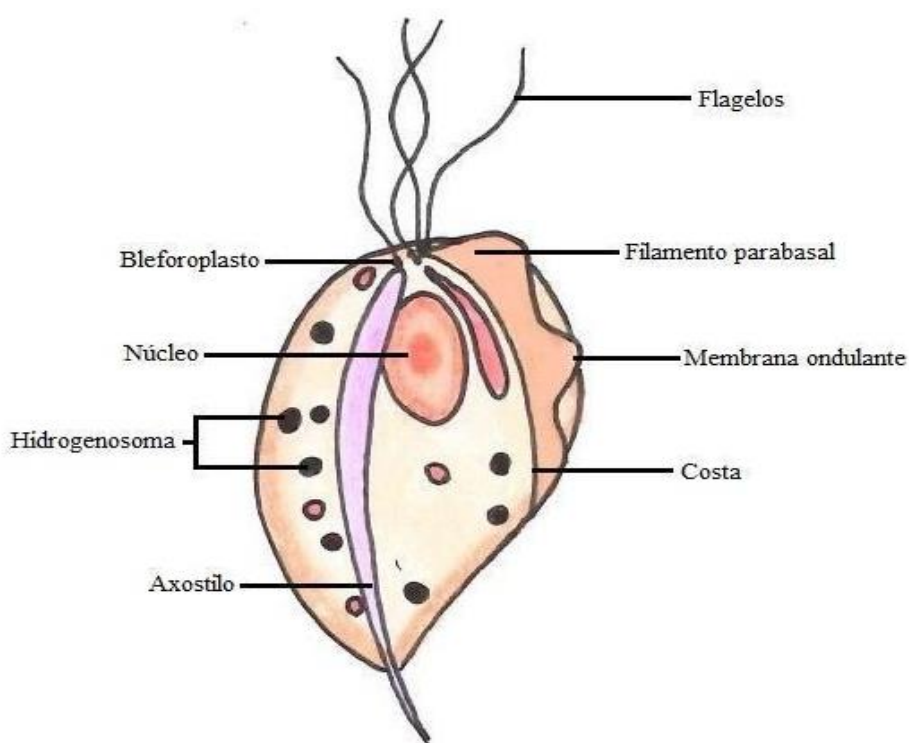


Figura 1. Trofozoito de *T. vaginalis*.

A lo largo de la membrana ondulante, reforzando su base, se observa un bastoncillo cromático, la costa. En el citoplasma hay una serie de elementos estabilizantes que constituyen el citoesqueleto, con función motora y reproductora, formado por microtúbulos que dan lugar a la formación de diversas estructuras como el complejo pelta-axostilar, la costa y los filamentos parabasales. El complejo pelta-axostilar engloba el núcleo y el filamento parabasal, formado por fibras estriadas que conectan las vesículas de Golgi o dictiosomas al aparato flagelar (Fig. 2 B) (Costamagna & Prado-Figueroa, 2001). El axostilo es un elemento formado por una serie de microtúbulos conectados por fibrillas, que recorre la parte media del parásito a modo de varilla rígida desde el complejo blefaroplástico hasta más allá del extremo posterior, uniéndose en la región anterior a la pelta, de forma de media luna, que rodea el área de donde emergen los

flagelos anteriores (Fig. 2 A). El núcleo, cerca del extremo anterior, tiene una típica forma de almendra. que se localiza en la porción anterior del trofozoíto, rodeado por una membrana nuclear porosa, posee escasa cromatina granular y un cariosoma subcentral (Fig. 2 A). (Costamagna & Prado-Figueroa, 2001; Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

El citoplasma contiene gránulos siderófilos, numerosas vacuolas digestivas y vesículas relacionadas con procesos de endocitosis, digestión y transporte, así como ribosomas e hidrogenosomas estrechamente unidos a gránulos de glucógeno y al retículo endoplasmático rugoso. Se alimentan mediante procesos de pinocitosis y fagocitosis. (Núñez-Troconis, 2020) Suelen presentar inclusiones como bacterias, hematíes y restos de leucocitos (Fig. 1) (Costamagna & Prado-Figueroa, 2001).

T. vaginalis, son protozoos microaerófilos, tiene aparato de Golgi y no poseen mitocondrias sino unos corpúsculos denominados hidrogenosomas, están evolutivamente relacionados con las mitocondrias, con un tamaño que oscila entre 0,2 a 1 μm de diámetro, aunque en condiciones de estrés como un tratamiento farmacológico, pueden llegar a duplicar su tamaño, su función es producir energía (ATP) en condiciones anaeróbicas (Fig. 1). Se denomina hidrogenosoma, por el hidrógeno molecular que genera durante el metabolismo energético en condiciones anaeróbicas (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017; Núñez-Troconis, 2020).

Por imágenes de ultraestructura, obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido, aparece la superficie de *T. vaginalis* intensamente plegada imitando una mora, con una depresión en forma de cráter, cerca se encuentra la membrana ondulante. Todos los flagelos se hallan reunidos en un solo paquete que emerge desde una depresión anterior poco profunda, con un prominente borde. La superficie morulada le sirve para adherirse a la célula hospedadora, además de aumentar la superficie de absorción, es importante para el intercambio de nutrientes. Cooperar con esta función de nutrición, la emisión de pseudópodos y la fagocitosis a través de la superficie celular (Archelli, 2006).

Este parásito presenta uno de los genomas de mayor tamaño (cepa G3, 176,441,227 pb) y complejidad jamás secuenciados en un organismo unicelular. Se encuentra constituido por más de 60% de secuencias repetitivas y en torno a 60.000 genes, codificadores de proteínas organizados en seis cromosomas, muchos de ellos homólogos a los de otros organismos con los que puede co-habitar en el nicho genitourinario. Lo anteriormente mencionado, le da una buena permanencia en su hábitat sometido a constantes fluctuaciones. (Kissinger, 2015; Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017). Se cree que al ser un parásito altamente depredador mediante una activa fagocitosis, es posible la incorporación de ciertos genes bacterianos mediante un proceso de transferencia genética lateral. Esto explicaría cómo *T. vaginalis* puede tener tantos genes homólogos al de otros organismos eucariotas y procariotas, fenómeno ya descrito en otros protozoos parásitos, como *Giardia* y *Entamoeba* (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Transmisión y formas de diseminación

La trichomonosis es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) muy frecuente, transmitida por *Trichomonas vaginalis*, siendo el hombre el único hospedador conocido. Durante las relaciones sexuales, el parásito por lo general se transmite del pene a la vagina o viceversa, de esta manera la transmisión es efectiva, aunque en caso de máxima promiscuidad, se pueda transmitir por contactos con prendas íntimas contaminadas con flujo vaginal o exudado uretral, altamente parasitado. Se ha demostrado supervivencia, en orina de tres horas y en el semen durante seis horas. Además, se han encontrado parásitos vivos en inodoros, piscinas y zonas húmedas, tras 24 horas a 35°C. No sobreviven a más de 45°C, pero son muy susceptibles a los detergentes y aguas cloradas (Archelli, 2006). No es frecuente que el parásito infecte otras partes del cuerpo, como las manos, la boca o el ano. Excepcionalmente puede haber transmisión del parásito a las vías respiratorias bajas, produciendo neumonía, en individuos que practican sexo oral. Una vez que el parásito invade la mucosa genital femenina, tiene preferencia por localizarse, en las glándulas de Bartholino y parauretrales, además de la vagina y el cérvix. En el hombre coloniza principalmente el surco balano-prepucial, las glándulas prepuciales, la uretra prostática y las vesículas seminales (Santo Diéguez, 2014; Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

La primera transmisión de *T. vaginalis* es en el momento del nacimiento, a través del canal de parto. Aunque generalmente las tricomoniasis neonatales son asintomáticas, la curación de las mismas se produce por la disminución de los niveles de estrógenos maternos en el recién nacido, a partir de la sexta semana. Las vulvovaginitis en la niñez son excepcionales, debido a la carencia de estrógenos y falta de glucógeno vaginal. *Trichomonas vaginalis* es de transmisión efectiva en poblaciones sexualmente activas. Además, los bebés nacidos de madres infectadas tienen más probabilidades de tener bajo peso al nacer (Santo Diéguez, 2014). Las personas infectadas sin síntomas, igualmente pueden transmitir la infección.

Ciclo Biológico

Trichomonas vaginalis no presenta forma quística o de resistencia, sólo existe como trofozoíto. La transmisión es directa y monoxénica, sin intermediarios, ya que el ser humano es el único hospedador (Figura 2). La forma vegetativa es muy frágil, se inmoviliza y muere en un ambiente hostil prolongado, con humedad insuficiente y/o con un pH inadecuado, fuera de los límites tolerables (Archelli, 2006). El parásito presente en la uretra invade la vagina en el periodo previo a la menstruación cuando el pH aumenta a 7.5, luego al finalizar el sangrado, el pH desciende a 4-4,5 debido al restablecimiento de los lactobacilos. El parásito regresa a la uretra debido a que no sobrevive en ambiente ácido. De esa forma, la paciente se reinfecta en el caso que no se administre una terapia específica (Santos Diéguez, 2014; Núñez-Troconis, 2020).

La forma vegetativa se multiplica por fisión binaria longitudinal cada 5 a 9 horas, comenzando por el aparato cinetocuclear y por último se divide el citoplasma dando origen a dos organismos.

Siempre este proceso se cumple dentro de su hábitat natural, en las condiciones óptimas mencionadas, necesitando un contacto íntimo entre las personas parasitadas (Archelli, 2006).

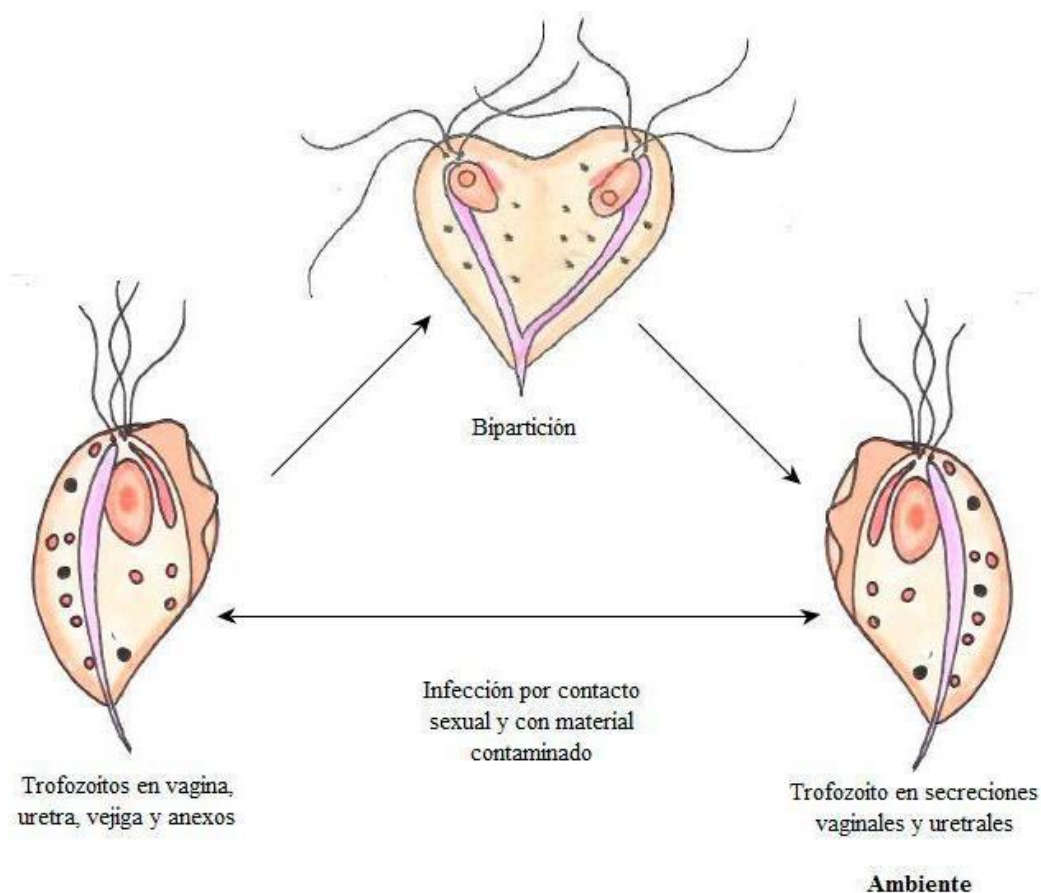


Figura 2. Ciclo biológico de *Trichomonas vaginalis*.

Patogenia y signología clínica

Las tres causas más frecuentes de infección vulvovaginal son, la vaginitis por *Trichomonas vaginalis*, la vaginitis candidiásica y la vaginitis bacteriana. La vagina es un delicado ecosistema dinámico, en el que interactúan varios factores, uno de ellos es la flora bacteriana normal que está dominada por lactobacilos. Estos mantienen el medio ácido característico de la vagina, no permitiendo el sobrecrecimiento de las bacterias y otros organismos potencialmente patógenos. Los lactobacilos producen sustancias antimicrobianas como el ácido láctico, la lactacidina, la acidolina, el lactacín B y H_2O_2 , que actúan conjuntamente para inhibir el crecimiento microbiano y mantener bajo el pH vaginal. Además, secretan ácido acético y etanol, para la amplificación del efecto antiséptico (Santos Diéguez, 2014).

La alteración del ecosistema de la vagina, debido a un cambio de la flora bacteriana, donde la población predominante pasa de lactobacilos, hacia una colonización de microorganismos,

permite el crecimiento de patógenos potenciales. Existe una simbiosis entre los lactobacilos vaginales y los ciclos hormonales en las mujeres, porque estos estimulan el epitelio vaginal a producir glucógeno, este es metabolizado a ácido láctico, responsable del pH menor a 4,5, coadyuvando a mantener en forma la ecología vaginal (Hernández et al., 2009).

Durante la excitación y el acto sexual, la mujer secreta fluidos que aumentan el pH vaginal, lo que, sumado a la alcalinidad del semen, favorece la transmisión de *T. vaginalis*. Resumiendo, los factores locales en la mujer, son, la flora, el glucógeno y el pH vaginal. Entre los factores generales, es importante el nivel de estrógeno circulante, ya que el ambiente hormonal tiene la capacidad de alterar la susceptibilidad a la infección (Santos Diéguez, 2014). En la mujer, al comienzo la infección, se manifiesta de forma asintomática, la flora de Döderlein se conserva y hay poca o ninguna reacción inflamatoria. A medida que avanza la enfermedad estos parámetros se invierten, es decir, paulatinamente desaparecen los lactobacilos reemplazándose por flora vaginal bacteriana mixta, con aumento del número de leucocitos y de trichomonas (Imagen 1). Es muy importante tener en cuenta que en esta infección existe una relación dinámica entre la biocenosis vaginal y la infección por *Trichomonas vaginalis* (Archelli, 2006; Hernández et al., 2009).

La flora microbiana vaginal está condicionada por la presencia de la flora de Döderlein (*Lactobacillus* spp. Gram positivo). Estos actúan sobre la glucosa-6-fosfato proveniente del glucógeno liberado por la citólisis de las células intermedias, dependiendo su producción del nivel de estrógenos circulantes. *Trichomonas vaginalis* sustrae el glucógeno de las células epiteliales, por lo tanto, la flora de Döderlein (que se alimenta de glucógeno transformándolo en ácido láctico) disminuye y por ende el pH vaginal normal, que oscila entre 3,8 a 4,5, se alcaliniza, favoreciendo el desarrollo del parásito y de otros gérmenes patógenos (Archelli, 2006; Hernández-Álvarez et al., 2009).

En general los factores que influyen en la patogenia y colonización por *T. vaginalis* podrían resumirse en: Factores dependientes del hospedador, en el hábitat genitourinario como, pH, hormonas, hierro, calcio y zinc; los factores dependientes del contacto del parásito: adherencia, fagocitosis, hemólisis; y los independientes del contacto, que involucran enzimas, entre otros (Santos Diéguez, 2014). Los mecanismos de patogenicidad de *T. vaginalis* dependientes de la unión entre el parásito y la célula epitelial se vinculan al proceso inicial de adhesión, multifactorial y dependiente del pH, temperatura, hierro y tiempo de contacto. En él intervienen numerosas proteínas: AP120, AP65 (esta proteína genera la respuesta inmune porque está presente en gran parte de la membrana del protozoo) y otras como AP51, AP33 y AP23. Para que la adherencia sea eficaz, es necesaria la presencia de cisteín-proteinasas ubicadas en la superficie del parásito. Se conocen 11 de estas enzimas que intervienen en el proceso y una de ellas está involucrada en la apoptosis de la célula epitelial, el parásito finalmente se une a la laminina y la fibronectina del epitelio vaginal (Santos Diéguez, 2014; Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Trichomonas vaginalis está recubierta por un lipofosfoglicano, rico en galactosa, glucosamina y ramnosa, importante para la interacción con las células del hospedador a través de lectinas, localizadas en la superficie de células vaginales epiteliales. El lipofosfoglicano también interviene

en el desarrollo de la respuesta inmunitaria mediada por células epiteliales, a través de la inducción de algunas citoquinas y quimiocinas (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Para su nutrición utiliza el colesterol del glóbulo rojo y el hierro de la hemoglobina. Para ello tiene en la superficie dos carbohidratos importantes en la adherencia a los eritrocitos y la lisis de los mismos: D-lactosa y N-acetil-B-D-glucosamina (Santos Diéguez, 2014).

La fagocitosis de células del epitelio, leucocitos, eritrocitos, lactobacilos y levaduras, está relacionada con la obtención de nutrientes. Este proceso ocasiona un aumento del pH vaginal y un microambiente favorable para el crecimiento y multiplicación del parásito (Imagen 1). La fagocitosis de células del sistema inmunitario junto a la capacidad de enmascaramiento del parásito le permite la evasión del sistema inmunitario y la acción degradativa de determinadas sustancias proteolíticas del fluido vaginal o plasmático (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Trichomonas vaginalis puede fagocitar a través de cualquier parte de su cuerpo celular mediante la generación de pseudópodos o por un proceso de succión e internalización a través de un canal endocítico, para concluir con la digestión de la célula fagocitada por las enzimas lisosomales que se encuentran dentro de la vacuola (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Entre los factores coadyuvantes de esta infección se mencionan, la diabetes, el excesivo peso, partos recientes, dosis excesiva de antibiótico o anticonceptivo, uso de prendas íntimas ajustadas mantienen la humedad de la zona, entre otros (Santo Diéguez, 2014).

En el hombre algunos de los factores que podrían influir son la prostatitis anterior, la estrechez uretral, el prepucio largo y la deficiente concentración de zinc en la glándula prostática. Las concentraciones de zinc (Zn^{2+}) en el semen tienen efecto tricomonocida, dificultando el crecimiento del parásito, pero en aquellos con niveles de zinc bajos, el parásito persiste, originando un portador de la infección. Los niveles normales en el fluido prostático de un individuo sano son de $590 \pm 45 \mu\text{g/mL}$ ($\sim 9 \text{ mM}$). (Santo Diéguez, 2014, Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017; Carrada-Bravo, 2006). Además de identificar tricomonas en la uretra prostática, también se ha encontrado en la luz glandular, submucosa y estroma, asociado con focos de inflamación crónica o aguda inespecífica y vacuolización epitelial.

Su control es importante, por el papel que puede jugar como cofactor en la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Además, se plantea que existe una asociación de *T. vaginalis* con otros virus y gérmenes causantes de infecciones de transmisión sexual (Hernández Álvarez et al., 2009; Kissinger, 2015; Merchán-Villamar et al., 2017; Tompkins et al., 2020).

Signología clínica

La sintomatología clínica en las mujeres incluye, secreción vaginal fina, tipo acuoso o purulento, flujo desde incoloro hasta color amarillo verdoso, con aspecto espumoso, es decir pasa por diferentes matices a medida que la infección avanza, en varias ocasiones son malolientes y generalmente el pH vaginal, que normal es de 4,5, se eleva de 5 a 7 (Hernández Álvarez et al.,

2009; Kissinger, 2015). Al examen ginecológico, el cuello uterino se presenta alterado con aspecto edematoso, eritematoso y friable, con áreas puntiformes de rojo intenso, que se extienden a vulva y vagina, considerado este el signo clínico más específico para el diagnóstico de la trichomonosis vaginal. El exudado inflamatorio cubre la mucosa vaginal y la vulvitis suele estar marcada por la presencia de eritema, dolor y edema (Merchán-Villamar et al., 2017; Carrada Bravo, 2006).

Varios síntomas han sido informados en esta parasitosis, lo que permite clasificar el cuadro como intenso, moderado o leve, entre los que se encuentran, vaginitis, cervicitis y colpitis macular o “cuello aframbuesado” (hemorragias petequiales en el exocérvix), edema vulvar, dolor abdominal, eritema vaginal y vulvar, prurito, ardor, irritación, polaquiuria, disuria, cistitis, adenitis inguinal, piosalpingitis, endometritis, uretritis, enfermedad inflamatoria pélvica, e infertilidad tubárica. Algunos estudios sugieren alteraciones inflamatorias y de la citología cervicovaginal. En tales circunstancias es importante efectivizar un buen diagnóstico e iniciar un adecuado tratamiento antes de atribuir las lesiones encontradas a otras patologías (Hernández-Álvarez et al., 2009; Kissinger, 2015; Núñez-Troconis, 2020; Tompkins et al., 2020).

El hombre también puede ser asintomático o no, entre los síntomas se mencionan: secreción uretral serosa escasa a purulenta y/o abundante; en el glande: prurito, edema prepucial, erección dolorosa, eyaculación precoz, ardor miccional, disuria, nicturia, cistitis, etcétera. Si esta infección no se trata, puede producir prostatitis, epididimitis y/o balanopostitis. (Carrada Bravo, 2006; Hernández-Álvarez et al., 2009; Kissinger, 2015; Tompkins et al., 2020).

Los síntomas mencionados, se desarrollan de 4 a 30 días después de la infección; periodos de incubación más cortos se relacionan con una enfermedad más grave. Las variadas formas clínicas de la enfermedad dependen probablemente del número y virulencia del parásito y de la resistencia del hospedero. Se plantea que los síntomas dependen del número de parásitos y de la alcalinidad del pH vaginal. La importancia de conocer el grupo de individuos asintomáticos, radica en que actúan como portadores sanos y pueden transmitir sexualmente esta parasitosis (Merchán-Villamar et al., 2017).

Diagnóstico

Para realizar el diagnóstico, se han utilizado diferentes métodos como, el estudio en fresco, cultivo, citología vaginal, pruebas serológicas y técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), hoy día estas son consideradas como el método de diagnóstico “Gold Standard” (Núñez-Troconis, 2020). También es importante efectuar al paciente una anamnesis, sobre el uso de anticonceptivos, infecciones ginecológicas previas, tipo de partos, promiscuidad, hábitos higiénicos, uso de ropas íntimas ajenas, uso de baños comunitarios, etc. Las condiciones de examen dentro de las 48 hs. precedentes son, abstinencia sexual, no efectuar higienización interna, no hacer uso de óvulos vaginales (Archelli, 2006).

La toma de muestras es diferente según: a) mujeres no vírgenes, se utiliza un espéculo estéril no lubricado, se toma el exudado proveniente de fondo de saco de la vagina posterior con hisopo de algodón estéril o con asa de platino, previa esterilización por llama y posterior enfriado, o mediante pipeta estéril. b) en niñas o adolescentes vírgenes, toma de la muestra con hisopo de algodón estéril para obtener la secreción vulvovaginal o se introduce a pocos centímetros de la vulva, efectuando un ligero movimiento de rotación. c) en el hombre se recolecta el primer chorro de orina matinal, recientemente evacuada en frasco limpio, seco o estéril, también es utilizado el material obtenido del surco balanoprepucial de la uretra (previo masaje prostático) o de esperma. En todos los casos, el pH en presencia de *T. vaginalis* será superior a 5-6,5.

Diagnóstico por examen directo en fresco: este método de diagnóstico, es el más común, rápido, económico y más frecuentemente usado para diagnosticar *T. vaginalis*.

Una vez extraída la muestra, se coloca inmediatamente sobre un portaobjeto y se diluye con una gota de solución salina fisiológica (al 0,9%) a 37°C, para evitar que la densidad de la leucorrea enlentezca la movilidad del parásito. Esta gota puede colocarse sobre el extendido del flujo o dentro de un tubo con hisopo (con 1 a 3 ml de solución salina) donde se ha recogido la muestra. Se toma una gota en ambos casos, se coloca entre porta y cubreobjetos y se observa en el microscopio de luz, utilizando aumentos de 10x y 40x para la visualización del parásito. Es inconfundible este protozoo, porque en el campo de observación veremos un organismo con movimientos espasmódicos, con traslación o sin ella, en este último, se ve el flamear la membrana ondulante y/o el penacho anterior de flagelos. A medida que el tiempo transcurre los movimientos se enlentece, hasta que se inmoviliza totalmente, redondeándose, por lo que puede confundirse con elementos celulares.

Se ha demostrado que la sensibilidad de este método es mayor si se aumenta el número a tres observaciones en fresco por paciente y se realiza un examen con muestras recientemente extraídas. La orina no es el medio adecuado para que el flagelado se conserve con movimiento, esta se centrifuga durante 3 min a 1500 rpm. Las muestras que han sido refrigeradas carecen de valor para este estudio (Archelli, 2006).

Métodos de fijación y tinción: estos registran de mediana a baja sensibilidad si no lo realizan operadores muy entrenados. El frotis de Papanicolau, no es adecuado para la detección de rutina de *T. vaginalis*, ya que se producen tanto falsos positivos como falsos negativos. A pesar que el frotis teñido tiene sensibilidad baja, de 60 a 70%, son informados hallazgos fortuitos del parásito. Esta técnica es frecuentemente solicitada por los ginecólogos para evaluar la citología vaginal en mujeres, aumentando la posibilidad de diagnóstico y de recibir tratamiento, disminuyendo su propagación (Carrada Bravo, 2006; Núñez-Troconis, 2020).

a) Coloración de Gram: es Gram negativo, es decir, se tiñe de color rojo o rosado, siendo más intenso este color en los elementos acidófilos (aparato cinetocuclear). El núcleo, bien característico, se observa en forma de almendra. Esta tinción nos permite evaluar también la flora microbiana acompañante de gran importancia clínica (Archelli, 2006).

b) Coloración de Giemsa modificada: Se coloca junto a material obtenido en fresco una pequeña gota de Lugol fuerte, se homogeneiza, extiende y deja secar en estufa a 35-37°C; se fija

con alcohol metílico; se colorea con Giemsa alcalino, se lava, seca y observa con objetivo de inmersión (100X). Las tricomonas se observan con un tamaño menor, que con el colorante de Gram. Se utiliza el Lugol como mordiente (una gota sobre el flujo vaginal) para lograr una mejor visualización de los flagelos. El citoplasma toma color celeste agrisado y el aparato cinetocuclear se tiñe de rojo. El núcleo, conserva la forma de almendra. En ocasiones podemos observar en las coloraciones, organismos que se encuentran en división; ésta comienza por el aparato cinetocuclear, por ello es frecuente ver un solo organismo con un doble juego de núcleos y flagelos, con su citoplasma hendido en sus extremos. En algunas oportunidades, el citoplasma puede destruirse, deformarse o confundirse con restos celulares o tener límites imprecisos. No obstante, siempre podemos realizar el diagnóstico porque conserva su núcleo en forma de almendra (Archelli 2006) (Imagen 1).

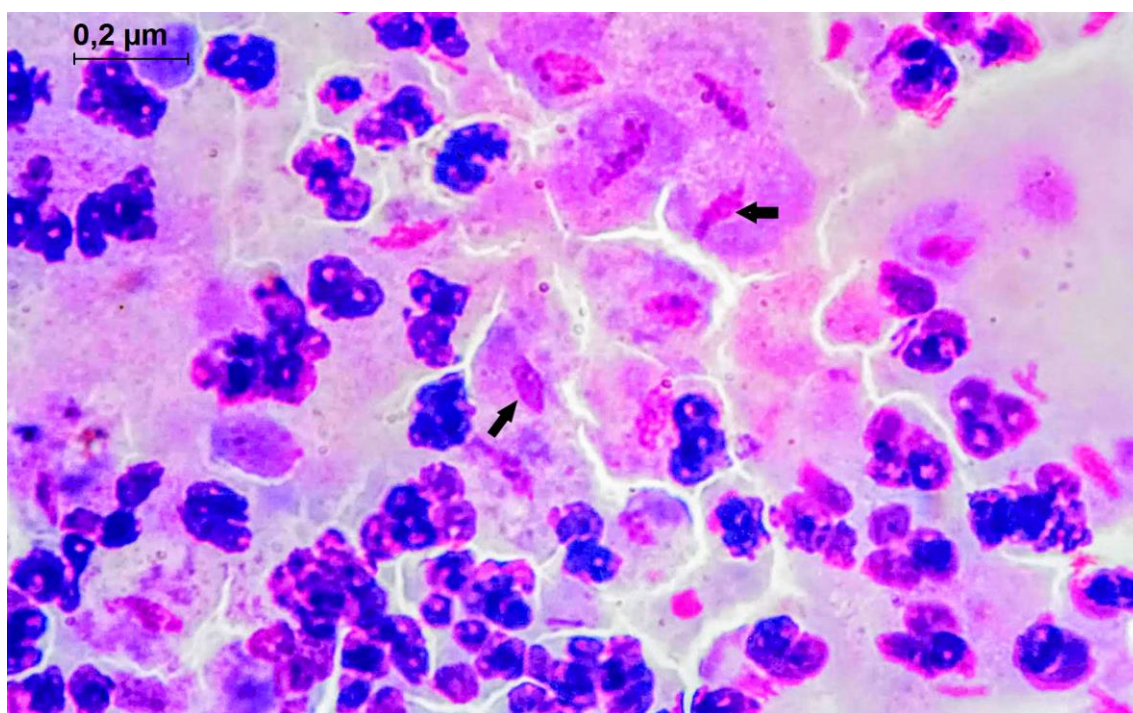


Imagen 1. T. vaginalis con Coloración de Giemsa modificada, 100X. Se observan abundantes trofozoítos (núcleos en forma de almendra) y leucocitos.

3. Examen por métodos de cultivo: Las técnicas de cultivo usadas son: el medio de Diamond modificado, en el cual, las muestras deben ser inoculadas de inmediato e incubarse a 37°C en condiciones anaeróbicas y ser observadas todos los días microscópicamente, no menos de 5 días, generalmente dan positivas dentro de los 3 primeros días (Van Gerwen et al., 2019; Núñez-Troconis, 2020). El medio InPouch ya viene oxígeno resistente, el plástico del envase es ópticamente claro de manera que puede ser examinado microscópicamente en forma directa sin necesidad de tomar muestras diarias para ser examinadas (Santo Diéguez, 2014; Núñez-Troconis 2020).

4. Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (TAAN) Igual que para otras ETS, las TAAN proveen una nueva herramienta para el diagnóstico de *T. vaginalis*. Las TAAN incluyen la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Amplificación medida por Transcripción (TMA) y otras técnicas caracterizadas por la replicación y amplificación de millones de copias de una secuencia de ADN o ARN específica. La alta especificidad de las TANN parte del hecho que los primers y las sondas de secuencias son específicos y no detectan otros microorganismos que habitan normalmente el tracto genitourinario (Van Gerwen et al., 2019; Núñez-Troconis, 2020).

Debido a que no se requiere la viabilidad del microorganismo, la recolección, el almacenamiento, el mantenimiento, el transporte y el procesamiento de la muestra para realizar la TAAN permite un gran rango de temperatura y de intervalo de tiempo entre la recolección y la realización de la prueba. Se encuentran disponibles varias pruebas comerciales de amplificación de ácido nucleico de alta sensibilidad para la detección de *T. vaginalis* (Van Gerwen et al., 2019; Núñez-Troconis, 2020).

5. Detección de Antígenos/Pruebas Bioquímicas: Se han desarrollado técnicas para detectar antígenos o ácidos nucleicos de *T. vaginalis* que han permitido extender el tiempo entre la recolección de la muestra y la realización de la prueba, además con temperaturas flexibles para mantener la muestra viable. Una de las pruebas disponible comercialmente es el OSOM Trichomonas Rapid Test (Sekisui Diagnostics, Framingham, MA), que se usa en el consultorio médico para un diagnóstico rápido, con una sensibilidad de 77 a 98% y una especificidad de 99 a 100%. Otra prueba comercialmente disponible aprobada por la European Union (EU) Conformité Européenne (CE) Mark, que se basa en la detección de antígenos de *T. vaginalis* por el método de aglutinación (látex), es la llamada látex (Kalon Biological, Surrey, UK), también de diagnóstico rápido, con una sensibilidad del 55 a 99% y una especificidad de 92 a 100% (Núñez-Troconis, 2020).

Tratamiento

La dosis recomendada para el tratamiento por vía oral con Metronidazol, es de 500 mg dos veces al día durante 7 días o de 2g en una toma, como dosis única (Carrada Bravo, 2006; Santo Diéguez, 2014; Van Gerwen et al., 2019).

En 1969 se descubrió el Tinidazol, un antiprotozo de amplio espectro, muy eficaz también para candidiasis, patógeno que suele presentarse junto con *T. vaginalis*. Ambas drogas no deben administrarse durante el embarazo por vía oral. En este caso se indica medicación intravaginal, Metronidazol tabletas vaginales 1 cada 24 horas, durante 10 días (Santo Diéguez, 2014; Kissinger, 2015; Van Gerwen et al., 2019).

Durante el tratamiento se debe recomendar evitar tener relaciones sexuales hasta que la infección esté curada, lo cual tarda aproximadamente una semana. Se debe indicar no beber alcohol en el plazo de las 24 horas posteriores al consumo de metronidazol o 72 horas después de tomar tinidazol ya que puede ocasionar náuseas y vómitos intensos (Kissinger, 2015).

El tratamiento debe hacerse en pareja para que sea efectivo; sin tratamiento, la tricomoniasis puede durar meses o años (Kissinger, 2015; Van Gerwen et al., 2019). Los tratamientos locales con vinagre, clotrimazol, etc. alivian los síntomas, pero la curación sólo se logra con la administración de drogas específicas a la pareja sexual (Carrada-Bravo, 2006; Kissinger, 2015).

Epidemiología

La especie humana, es el reservorio natural de *T. vaginalis*. Se ha encontrado en monos, roedores, pollos, palomas, patos, termitas y gasterópodos. La fuente de infección más importante la constituye el contacto con secreciones vaginales y uretrales de personas infectadas y también por contacto con objetos contaminados. Existen experiencias que avalan la sobrevivencia de *Trichomonas vaginalis* en telas húmedas y en aguas templadas entre 18-20°C, ambos durante seis horas. A partir de estas conclusiones, se cree que se puede adquirir la infección a través de toallas o ropa interior húmeda, artefactos higiénicos (lavatorios, bidets, etc.) (Archelli, 2006).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó 276,4 millones de nuevos casos en el año 2008. Para el continente americano, la OMS reportó en 2008 una incidencia de 85,4 millones de casos y una prevalencia de 57,8 millones. La prevalencia varía de acuerdo a la región, la cultura, el momento y la población estudiada (Kissinger, 2015; Van Gerwen et al., 2019; Núñez-Tronconi, 2020).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la tricomoniasis es la ETS curable más frecuente en todo el mundo, con 142 millones de nuevos casos en el 2012. En ese año hubo 13,8 millones de nuevos casos de tricomoniasis en mujeres y 13,6 millones de nuevos casos en hombres en la Región de las Américas, (OPS, 2016-2021).

El CDC (Centers for Disease Control and Prevention), informa que 3,7 millones de mujeres y hombres están infectados con *T. vaginalis* en los Estados Unidos, entre las mujeres de 14 a 49 años que participaron en la Encuesta Nacional de Examen y Salud (NHANES) en 2001-2004. La prevalencia global de la infección por *T. vaginalis* medida por PCR fue del 3,1% y varió considerablemente según la raza: 1,3% para mujeres blancas no hispanas, 1,8% para mujeres mexicoamericanas y 13,3% para negras no hispanas mujeres. Otros correlatos significativos de la infección incluyeron el aumento de la edad, un mayor número de relaciones sexuales, menor nivel educativo, pobreza y no utilización de duchas vaginales acidas, post coito (Núñez-Troconis, 2020; Tompkins et al., 2020).

No es de declaración obligatoria, esto hace que se desconozca la prevalencia mundial real, aunque se estima 170 millones de casos por año (www.who.int/docstore/hiv/GRSTI/006.htm).

En Argentina es difícil tener datos epidemiológicos totales precisos, ya que no todos los laboratorios disponen de PCR específico para esta parasitosis por su alto costo, por lo que citaremos algunos resultados de investigaciones puntuales, para extrapolarlos con los datos mundiales disponibles. Farinati y colaboradores determinaron que el 10-15% de los casos de pacientes que

concurrieron al Servicio de Ginecología del Hospital Municipal de Vicente López, eran asintomáticos y en las pacientes con flujo vaginal y síntomas atribuibles a vulvovaginitis se encontró una prevalencia del 12%. Piazza y colaboradores obtuvieron el 6,3%, sobre un total de 762 pacientes con vulvovaginitis en la ciudad de La Plata, en una población entre 20 y 40 años de edad, sexualmente activa y de nivel socioeconómico medio alto.

Se cree que en la actualidad ha descendido esta prevalencia, debido a la concientización e información sobre HIV y otras enfermedades de transmisión sexual, que incluye el uso de preservativos para un mejor cuidado de las parejas sexualmente activas (Archelli, 2006).

Los estudios clínicos y epidemiológicos ofrecen pruebas suficientes acerca del vínculo entre las infecciones de transmisión sexual y la infertilidad, tanto en el hombre como en la mujer (Hernández Álvarez et al., 2009; Kissinger 2015; Tompkins et al., 2020).

Hospedadores susceptibles: A pesar de ser una parasitosis prevalente en mujeres en etapa sexual activa, puede también afectar ancianos, niños, púberes o adolescentes jóvenes.

El neonato también es susceptible de contraer tricomoniasis, vía canal de parto, en un bajo porcentaje, pudiendo ser de carácter asintomático o no.

El hombre, aunque es considerado un portador asintomático, puede en ocasiones manifestar una infección con intensos síntomas clínicos.

La vulvovaginitis en la niñez por *T. vaginalis* es excepcional, debido a la carencia de estrógenos y falta de glucógeno vaginal. Cuando se diagnostica en niños, existe un síndrome de desnutrición que sería un factor determinante para la existencia de esta infección en corta edad. El contagio puede ser indirecto, como ropa u objetos contaminados o por abuso sexual (Archelli, 2006).

Profilaxis

Entre las recomendaciones, se incluyen consultar al médico antes de comenzar una vida sexual activa, evitar la promiscuidad, usar métodos de anticoncepción, educar sobre el riesgo de contraer ETS con el fin de cortar la cadena epidemiológica, control de los exudados vaginales en mujeres con y sin embarazo en edad fértil afectadas de vaginosis, consultar al médico si el flujo vaginal se ve anormal o con un fuerte olor o picazón o ardor vaginal. La infección en embarazadas aumenta la probabilidad de parto prematuro y el bebé tiene más probabilidades de nacer con bajo peso (Santo Diéguez, 2014).

Importancia en salud pública

La importancia en salud pública radica en la elevada incidencia de infecciones agudas, complicaciones y secuelas sumado al papel que puede jugar como cofactor en la transmisión del

virus de la inmunodeficiencia humana, pudiendo existir asociación de *T. vaginalis* con otros virus y microorganismos de infecciones de transmisión sexual (ITS) (Hernández-Álvarez, et al., 2009).

La única población para la que actualmente se recomienda la detección sistemática de *T. vaginalis* en los EEUU son las mujeres infectadas por el VIH, incluso con ausencia de síntomas (Van Gerwen et al., 2019).

Con respecto a la relación de *T. vaginalis* con el virus del papiloma humano (VPH), se ha demostrado que la infección por este protozoo duplica el riesgo de infección por dicho virus, por lo que puede haber una relación indirecta con la neoplasia cervical (Santos Diéguez, 2014) (Kissinger, 2015; Carrada-Bravo, 2006).

Esta parasitosis afecta a la sociedad en todos los niveles sociales y económicos, a casi todos los grupos etáreos, con mayor frecuencia en adultos jóvenes (Carrada-Bravo, 2006).

La importancia médica y social de la tricomoniasis radica en la alta morbilidad, las molestias físicas y emocionales que genera, más el costo de diagnóstico, incapacidades y tratamiento (Carrada-Bravo 2006). Es fundamental determinar la incidencia y prevalencia de la tricomoniasis y las enfermedades de transmisión sexual asociadas; con esta información, sería posible diseñar programas educativos y medidas de prevención más efectivos, tarea que involucra a los médicos de atención primaria, gineco-obstetras y personal de salud pública (Carrada-Bravo, 2006).

Referencias

- Archelli S. (2006). Trichomonas. En: Basualdo, J.A., Coto, C.E., de Torres, R.A. *Microbiología biomédica*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Ed. Atlante (112; 1144-49).
- Carrada-Bravo, T. (2006). Tricomoniasis vaginal. *Revista Mexicana Patología Clínica*. 53 (3): 151-156.
- Centers for Disease Control (CDC) (2017). *Trichomona vaginalis*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/trichomoniasis/index.html>.
- Costamagna, S.R. & Prado-Figueroa, M. (2001). On the ultrastructure of *Trichomona vaginalis*: cytoskeleton, endocytosis and hydrogenosomes. *Parasitología al día*. 25 (3-4): 100-108.
- Hernández-Alvarez, H.M., Sariago-Ramos, I. & Sarracent Pérez, J. (2009). Infección humana por *Trichomonas vaginalis* y su relación con otros agentes patógenos. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*. 35(4): 108-117.
- Ibáñez-Escribano, A. & Gómez-Barrio, A. (2017). *Trichomonas vaginalis*: la versatilidad de un parásito tenaz. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 83(1): 10-47.
- Kissinger, P. (2015). Epidemiología y tratamiento de la tricomoniasis. *Current Infectious Disease Reports*. 17 (6): 484.
- Kissinger, P. (2015). *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *BMC infectious diseases*. 15: 307.

- Merchán-Villamar, J.A., Salgado-Salguero, W.K. & Larco-Ferrin, C. (2017). Tricomoniasis vaginal. La más común de las Enfermedades de Transmisión Sexual. *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*. 1 (5): 650-660. Ed. Saberes del Conocimiento.
- Núñez-Troconis, J.T. (2020). Diagnóstico de la *Trichomonas vaginalis* en la mujer. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*. 85(2): 175–184.
- OPS (2016). <https://www.paho.org/es/temas/infecciones-transmision-sexual/tricomoniasis>
- Santos Diéguez, I. (2014). Tricomoniasis: una visión amplia. *Iatreia*, 27(2), 198-205. Retrieved September 02, 2020, Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932014000200007&lng=en&tlng=_
- Tompkins, E.L., Beltran, T.A., Gelner, E.J., & Farmer, A.R. (2020). Prevalence and risk factors for *Trichomonas vaginalis* infection among adults in the U.S., 2013-2014. *PloS One*, 15(6), e0234704.
- Van-Gerwen O.T. & Muzny CA. (2019). Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection. *F1000 Research*. 8 (F1000 Faculty Rev):1666.

CAPÍTULO 21

Tritrichomonas foetus. Trichomonosis bovina

Cesar Iván Pruzzo

Generalidades

Tritrichomonas foetus es agente causal de la trichomonosis bovina, una enfermedad venérea cosmopolita, generalmente asociada a los establecimientos que realizan servicio de monta natural, produce infertilidad temporaria en las hembras durante aproximadamente los 4 a 6 meses que dura su infección, luego estas adquieren inmunidad, presentado en algunos casos piómetra, momificación fetal e incluso aborto en el primer tercio de la gestación. En el toro es asintomático, actuando este como diseminador de la enfermedad. *Tritrichomonas foetus* tiene como hábitat natural la cavidad prepucial del toro, colonizando la mucosa prepucial, peneana y uretra distal.

Los primeros reportes del agente de la tricomoniasis fueron realizados en Francia por Kunstler (1888) y en Italia por Mazzanti (1900). En Argentina el primer aislamiento fue reportado en 1939 por Rosenbusch en un feto abortado.

La presencia de *Tritrichomonas foetus* en un rodeo ocasiona disminución significativa de la producción anual de terneros y consecuentemente grandes pérdidas económicas.

El control de la tricomoniasis es difícil de realizar, ya que, en la actualidad no existe un tratamiento farmacológico específico y las vacunas que hay en el mercado no funcionan satisfactoriamente. Por consiguiente, el control de la tricomoniasis consiste en realizar pruebas diagnósticas en los toros para determinar su estado de negatividad antes del servicio reproductivo y como parte de la sanidad de los programas de inseminación artificial (IA).

Morfología

Tritrichomonas foetus posee aspecto piriforme, mide de 15 a 24 μm de largo por 5 a 8 μm de ancho. Tiene tres flagelos anteriores y uno posterior unido al soma por una membrana ondulante. Posee costa y axostilo constituidas por microtúbulos, siendo estas las estructuras principales del citoesqueleto, que le dan sostén y forma al parásito. El axostilo es una estructura tubular que se origina en la región anterior, en el cuerpo parabasal, teniendo un recorrido curvo alrededor del núcleo, luego continúa por todo el soma, sobresaliendo una corta proyección en la región

posterior del cuerpo. La costa se origina de la región anterior y actúa como una estructura basal de la membrana ondulante.

Su metabolismo es anaerobio o microaerófilo. Necesita de un pH neutro a levemente alcalino. Posee una movilidad pulsátil que es máxima a 37°C.

Tritrichomonas foetus presenta en su membrana plasmática lipogluco péptidos, denominado lipofosfoglican (LPG), que le otorga características antigénicas propias del género y especie. Además de hidratos de carbono unidos a proteínas, compuestos por ácido siálico, ácido N-acetil glucosamina, N -acetil galactosamina y manosa, que actúan como receptores para adherirse al hospedador.

Los flagelos se originan del cuerpo parabasal o blefaroplasto. Los tres flagelos anteriores están libres y el posterior unido al soma por medio de la membrana ondulante, abandona al soma dejando una porción libre. La membrana ondulante, es una estructura fibrilar que se origina en la porción anterior del parásito y se proyecta hacia la zona posterior siguiendo el recorrido la costa. (Figura 1)

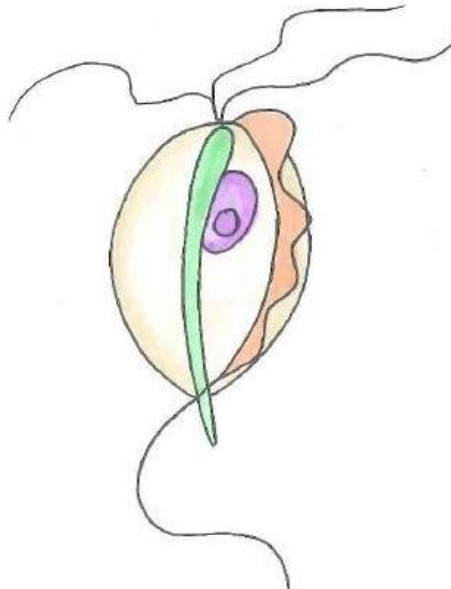


Figura 1. Trofozoito de *T. foetus*.

Presenta un núcleo de localización excéntrica, rodeado por el retículo endoplasmático, y próximo se encuentra el complejo de Golgi. Además, se observan, entre otras organelas, fagosomas y liposomas.

Hospedadores

Solo afecta a la especie bovina, aunque se han reportado hallazgos en mucosa intestinal de félicos. Se alojan en la mucosa prepucial y peneana del toro fundamentalmente en los pliegues,

criptas y glándulas. En la hembra coloniza de manera ascendente luego de la infección, primeramente, la vagina, el cérvix y luego el útero. Infecta al embrión o feto provocando reabsorción u abortos tempranos, no superando los 4 meses de gestación. Su distribución es cosmopolita, siendo una gran problemática en aquellos rodeos de cría y tambo donde se realiza monta natural, si bien el uso de inseminación artificial ha disminuido la prevalencia de esta parasitosis, *T. foetus* sobrevive en el semen congelado.

Ciclo Biológico

El ciclo biológico es simple, se transmite durante el coito del toro a la hembra o viceversa, o mediante maniobras mecánicas en la exploración o incluso, aunque en menor medida por la IA. No presenta forma de resistencia o quistes.

Patogenia

El macho es portador asintomático, habitualmente de por vida. No afecta a la libido ni la calidad del semen.

Los toros mayores de tres años se infectan más fácilmente que los jóvenes, esto se debe a que las tritrichomonas se mantienen en los pliegues y en las criptas prepuciales, las cuales adquieren mayor tamaño y profundidad con la edad del animal, generando un ambiente anaerobio propicio para el crecimiento y desarrollo de estos.

La mayor concentración de trichomonas se halla sobre la mucosa del pene y prepucio adyacente, en concentración pueden variar desde menos de 200 a 800000 *T. foetus* / ml.

La baja estimulación antigénica de *T. foetus* no genera una respuesta inmune suficiente que sea capaz de eliminar al agente de la cavidad prepucial. Los toros infectados se convierten en una fuente permanente de infección para el rodeo (toros carrier). Raramente se curan de manera espontánea.

En la hembra, la patogenia es más intensa conllevando a cambios significativos en el tracto reproductivo. Puede producir vaginitis, cervicitis y endometritis que impiden la anidación del cigoto y se produce reabsorción embrionaria, observándose repeticiones de celos a intervalos normales o un poco más prolongados. En algunos casos se manifiesta más tardíamente, provocando maceración fetal, piómetra o aborto en los primeros meses de gestación. La hembra se cura espontáneamente por mecanismos inmunológicos.

Se consideraba la existencia de hembras portadoras, llamadas “carrier”, que mantenían la infección después del parto o de un año para el otro. En realidad, se concluyó que se reinfectaban por otras causas.

En las hembras la susceptibilidad es independiente de la edad. Sin embargo, en rodeos crónicamente infectados, las vacas generan inmunidad al tener contacto previo con el parásito, presentándose porcentajes de preñez menores en vaquillonas.

Cuando la parasitosis ingresa en un rodeo sano no hay diferencia de preñeces entre las categorías vaca y vaquillona.

Tritrichomonas foetus no puede sintetizar algunas macromoléculas necesarias para su crecimiento, las obtiene por lisado de células de su hospedador. En la cavidad prepucial las bacterias y la propia descamación de células epiteliales producen la lisis. En las hembras, además de estos mecanismos, existe una acción citotóxica del parásito sobre las células. En esta interacción hospedador-parásito intervienen varios factores de virulencia responsables de la patogenicidad, como son los factores de adhesión, factores de lisis celular y otros encargados de la evasión de la respuesta inmune, que le permiten sobrevivir a pesar de la presencia de anticuerpos.

Signología clínica

Los signos que se observan corresponden al rodeo (solo en los vientres). Si el servicio es estacionado lo que se observa es que hacia el final de la temporada sigue habiendo animales en celos. Disminución del porcentaje de preñez, entre el 5 al 50%. Dispersión de las preñeces con aumento de cola de pariciones.

Se debe destacar que cuando un rodeo se infecta por primera vez, en el primer año no aparecerán todos los signos y los bajos porcentajes de preñez, ya que el porcentaje de toros infectados es bajo al principio y en los sucesivos servicios el número de toros infectados se irá incrementando, produciéndose la explosión de la enfermedad.

En rodeos infectados por tricomoniasis, se puede alcanzar un porcentaje de vacas vacías entre 45,3% y 57%, resaltando el impacto de la enfermedad. Además, se citan reducciones entre 14% y 50% de la producción de terneros y 4 a 10% del retorno monetario por ternero nacido. Si bien el porcentaje de establecimientos infectados ha ido disminuyendo, la realidad es diferente cuando se diagnostica por primera vez en algún área geográfica, mostrando un amplio contraste epidemiológico con aquellas áreas geográficas donde se examinan a los toros anualmente de manera sistémica.

Diagnóstico

El diagnóstico de certeza se realiza por la observación del agente etiológico en medios de cultivo para evaluar su crecimiento y desarrollo (diamond, macrotric, etc.). Las muestras se incuban a 37°C y se observan cada 24 hs durante 7 a 10 días, con el fin de detectar el desarrollo del agente. Consiste en identificar microscópicamente al protozoario teniendo en cuenta su forma y movimientos espasmódicos. En algunos casos, en los medios de cultivo puede haber crecimiento

de otros trichomonadidos, como *Pentatrichomonas* spp. o *Tetratrichomonas* spp., que se encuentran en el tracto digestivo de los bovinos, en el suelo y agua estancadas con orina y heces. Estas especies pueden llegar a contaminar las muestras, siendo necesario para su diferenciación la utilización de técnicas de tinción, como GIEMSA o T 15 de Biopur (Imagen 1), o PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), que permiten amplificar dos secuencias específicas de genes de la Proci3n 5,8 s rADN y regiones internas transcritas ITS1 e ITS2 para *Tritrichomonas foetus*.

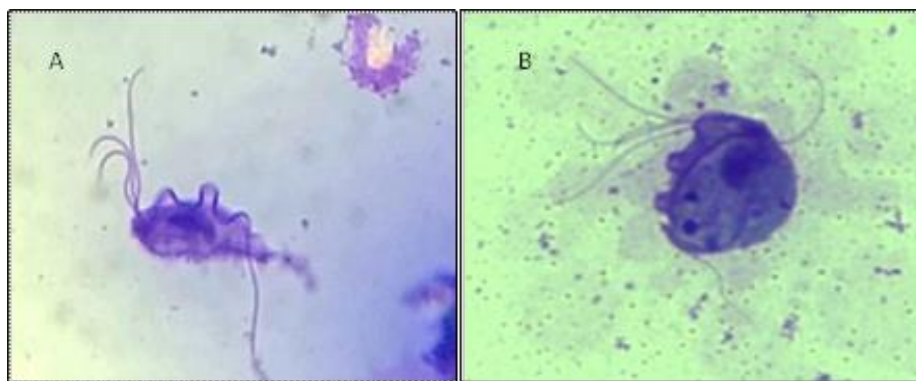


Imagen 1. Tinción 15 de Biapur 100X. A) *Tritrichomonas foetus* B) *Pentatrichomonas* spp.

En toritos criados a corral o en toros que se encierran días antes a la toma de muestras, la contaminación con otros trichomonadidos suele ser frecuente. Es común que se monten entre ellos y se transmitan los flagelados intestinales, que no son patógenos y pueden inducir a un diagnóstico err3neo. Además, las muestras se pueden contaminar con materia fecal adherida a los pelos de la zona del prepucio, por la presencia de barro y materia fecal que aumenta en los días posteriores a lluvias, lo que dificulta la toma de muestras limpias. Las tetratrichomonas tienen un mayor tama3o, forma m3s globosa y se desplazan m3s lentamente y pesadamente en los medios de cultivo.

La base del control de la enfermedad es la detección del toro infectado, para lo cual se realizan tomas de muestras de esmegma prepucial pre-servicio. La muestra se toma con raspadores descartables o met3licos de bronce previamente esterilizados (las tritrichomonas mueren en agua en ebullici3n a 60°C), tratando de tomarla lo m3s limpia posible (siendo las zonas m3s sucias el orificio prepucial y la mucosa adyacente). Si bien existen otras t3cnicas, como la aspiraci3n en seco o el lavado prepucial con PBS, estas son m3s engorrosas para realizar a campo y por un solo operario, por lo que la primera es la m3s utilizada.

Se recomienda encerrar a los toros el mismo d3a de la toma de muestras para evitar la monta y de esta manera la contaminaci3n.

Una vez tomada la muestra, se siembra en el medio de cultivo, con el mismo instrumento que fue tomada, evitando los cambios bruscos de temperatura. Se colocan en una caja de telgopor con papel de diario y se env3an de inmediato al laboratorio.

El diagnóstico de trichomonosis por cultivo de material prepucial, es una técnica de fácil aplicación, económica, con alta sensibilidad y especificidad. La sensibilidad del método está relacionada estrechamente con la metodología de la toma de muestra, el instrumento utilizado y el número de muestreo. Estadísticamente la posibilidad de dar negativo de un toro infectado es de 10 a 20% con un solo muestreo, de 1 a 4% con dos y de 0,1 a 0,30% con tres muestreos.

En la hembra el diagnóstico se realiza generalmente en aquellas que presentan signología, (aborto, piómetra), sumado a un porcentaje de la vacas sin signos. Para la toma de muestras se realiza una maniobra similar a la de IA, con una pipeta intermediaria y jeringa, aspirando el contenido del cuello del útero. Luego la muestra se procesa como la del prepucio.

En el feto se toma muestra del líquido abomasal con aguja y jeringa y/o hisopado faríngeo. Luego, la muestra se siembra el medio para *T. foetus*.

Tratamiento y prevención

No existe un tratamiento eficiente para la tricomoniasis. Antiguamente se utilizaba metronidazol, pero se ha generado resistencia. Por lo que el control de la enfermedad está enfocado a la detección y eliminación del rodeo de los toros infectados.

Evitar el ingreso de animales vecinos. Mantener instalaciones en buen estado, sobre todo los alambrados perimetrales para evitar el ingreso de toros vecinos. No incorporar al rodeo ganado sin controles sanitarios previos. La utilización de IA disminuye la posibilidad de contagio. En lo posible utilizar animales jóvenes en la época reproductiva.

El método de diagnóstico por cultivo presenta una eficacia de 70 a 90% en la detección de toros infectados, por lo que se recomienda realizar mínimo dos raspados para detectar a todos los toros infectados del rodeo.

El estado de trichomonas libre es un estado muy lábil y de una semana a la otra se nos puede infectar un toro si tiene acceso a una hembra parasitada.

Referencias

- Alves, T.M., Stynen, A.P.R., Miranda, K.L. & Lage, A.P. (2011). Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 31:336-344.
- Campero, C.M., Dubra, C.R., Bolondi, A., Cacciato, C., Cobo, E., Perez, S., ... & BonDurant, R.H. (2003). Two-step (culture and PCR) diagnostic approach for differentiation of non-T. foetus trichomonads from genitalia of virgin beef bulls in Argentina. *Veterinary parasitology*. 112(3): 167-175.

- Cobo, E.P., Favetto, V.M. Lane, A., Friend, K., VanHooser, J., Mitchell, R.H. & BonDurant, R.H. (2007). Sensitivity and specificity of culture and PCR of smegma samples of bulls experimentally infected with *Tritrichomonas foetus*. *Theriogenology*. 68: 853–860.
- Cobo, E.R. & Campero, C.M. (2002). Nuevos aspectos inmunológicos y vacunales de la tricomoniasis bovina. *Revista de Medicina Veterinaria*. 83: 203-208.
- Felleisen, R.S.J., Lambelet, N., Bachmann, P., Nicolet, J., Müller, N. & Gottstein, B. (1998). Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA Enzyme Immunoassay Based on rRNA Gene Unit Sequences. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(2): 513-519.
- Filho, R.B.O., Malta, K.C., Borges, J.M., Oliveira, P.R.F., Filho, G.J.S., Nascimento, G.G., Mota, R.A. & Júnior, J.W.P. (2018). Prevalence and risk factors associated with *Tritrichomonas foetus* infection in cattle in the state of Paraíba, Brazil. *Acta Parasitologica*. 63:346-353.
- Hayes D.C., Anderson, R.R. & Walker, R.L. (2003). Identification of trichomonadid protozoa from the bovine preputial cavity by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism typing *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 15: 390–394.
- Molina, L., Angón, E., García, A., Caballero-Villalobos, J., Giorgis, A.R.H. & Moralejo Perea, J.A. (2018). Retrospective epidemiological analysis of shared risk factors for bovine trichomoniasis and bovine genital campylobacteriosis in La Pampa province (Argentina). *Preventive Veterinary Medicine*. 161:109-114.
- Mutto, A.A., Giambiaggi, S. & Angel, S.O. (2006). PCR detection of *Tritrichomonas foetus* in preputial bull fluid without prior DNA isolation. *Veterinary parasitology*. 136(3-4): 357-361.
- Ondrak, J. (2016). *Tritrichomonas foetus*. Prevention and control in cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. 32(2): 411-23.
- Sanchez, R.O. & Boerco, C.A., (2013). Presencia de trichomonadidas y otros protozoos no patógenos durante 5 años de diagnóstico de tricomonas. *Veterinaria Argentina*. 30(303): 1-3.
- Soto, P., Monteavaro, C. & Echevarría, H. (2013). Epidemiología y control de la Trichomonosis bovina. En: *Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes*. 1ra. Ed. Buenos Aires, Argentina, Edit. Hemisferio Sur. p. 381-402.
- Vignau, M.L., Venturini, L.M. & Romero, J.R. (2001). *Parasitología práctica*. 1ra Ed. Edit. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina. 13-25.
- Villa, C.E., Sarmiento, F., Mazzoleni, D., Lopez Fonseca, M. & Sergnini D. (2005). *Trichomoniasis 30 años después*, 1ª Ed. Buenos Aires. Dunken.
- Yao, C. (2013). Diagnosis of *Tritrichomonas foetus*-infected bulls, an ultimate approach to eradicate bovine trichomoniasis in US cattle? *Journal of Medical Microbiology*. 62: 1-9.

CAPÍTULO 22

Otros Trichomonadidos. Trichomonosis humanas y animales

Antonela Paladini

Generalidades

Los flagelados de la familia *Trichomonadidae*, orden Trichomonadida, son protozoos amitocondriados, microaerófilos que viven principalmente como parásitos en el intestino o en el tracto urogenital de los seres humanos y animales (Brugerolle y Müller, 2000).

La trichomonosis en humanos es causada por tres especies del género *Trichomonas* (*Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas tenax* y *Trichomonas vaginalis*). Hasta la fecha, *P. hominis* es el único integrante del género que se conoce como agente zoonótico.

En 1836 y 1837, Donné describió a *Trichomonas vaginalis* y creó el género taxonómico; Müller en 1773 identificó a *Trichomonas tenax*, pero no fue clasificada hasta que lo hizo Dobell en 1939. *Trichomonas tenax* normalmente se encuentra en la cavidad bucal de seres humanos.

Pentatrichomonas hominis, fue observada por primera vez en 1854, pero no fue reconocida hasta 1860 su hábitat es el intestino grueso de los humanos, aunque también fue aislada a partir de materia fecal de perros y gatos.

En aves, las especies más comunes son *Trichomonas gallinae* y *Tetratrichomonas gallinarum*.

Trichomonas gallinae se encuentra en el tracto digestivo superior de las palomas y fue descrita por primera vez por Rivolta en 1878, quién la denominó *Cercomonas gallinae*. Debido a que también se encontraron algunos flagelados en el hígado de una paloma en relación con la hepatitis caseosa, el patógeno se denominó *Cercomonas hepaticum*.

Más tarde, Stabler en 1938 introdujo el nombre de *Trichomonas gallinae* para las trichomonas que colonizan el buche de las palomas, siendo esta la única especie con potencial patógeno para las aves (Bondurant y Honigberg, 1994).

Tetratrichomonas gallinarum fue reportada por Martin y Robertson en 1911 como *Trichomonas gallinarum*, mientras que el nombre actual se estableció siguiendo un esquema taxonómico aplicado por Honigberg en 1963. *Tetratrichomonas gallinarum* se encuentra comúnmente en el intestino grueso de las aves gallináceas y anseriformes (Mc Dougal, 2008).

En el pasado, cualquier flagelado presente en la parte superior del tracto digestivo anterior a la molleja, la cabeza, el tórax o el abdomen de un ave se consideraba *T. gallinae* (Stabler, 1954).

En comparación, *T. gallinarum* se encuentra más a menudo en la parte inferior del tracto intestinal, principalmente en el ciego. Además, las diferentes especies de trichomonas se han clasificado en función de los hospedadores que infectan (Levine, 1985).

Morfología y especies

Los representantes del orden Trichomonadida son organismos unicelulares con un solo núcleo. Estos flagelados se caracterizan por la presencia de un único cariomastigonte, de cinco a seis flagelos, membrana ondulante de tipo lameliforme y costa de tipo B (Cepicka et al., 2010). Las trichomonas carecen de las clásicas mitocondrias como lugares de fermentación oxidativa, pero poseen organelas especializadas denominadas hidrogenosomas (Müller, 1993). Estas organelas son generadores de energía que utilizan la vía fermentativa para el metabolismo del piruvato y no el ciclo de Krebs como las mitocondrias clásicas.

Trichomonas tenax

El trofozoito es el más pequeño de las trichomonas, tiene forma oval o piriforme y un diámetro mayor de 6 a 12 μm . Presenta cinco flagelos, cuatro anteriores libres y el quinto en el borde de la membrana ondulante sin salir del cuerpo. La costa se encuentra al lado de la membrana ondulante. El complejo cinético se encuentra en el extremo anterior del parásito, de donde se originan los flagelos; el axostilo recorre el cuerpo para emerger en forma libre en su parte posterior. Posee un núcleo ovoide, vesicular y un citostoma en el lado opuesto de la membrana ondulante. (Figura 1).



Figura 1. Trofozoito de *Trichomonas tenax*

Pentatrachomonas hominis

El trofozoito mide de 8 a 14 μm de diámetro mayor y tiene de tres a cinco flagelos anteriores y otro que se extiende a lo largo de la membrana ondulante para emerger libre en el extremo

posterior. El axostilo se localiza en la región posterior, la costa es gruesa y está a lo largo de la membrana ondulante. En el lado opuesto se observa el citostoma; mientras que el núcleo es ovoide y con un cariosoma central. (Figura 2).

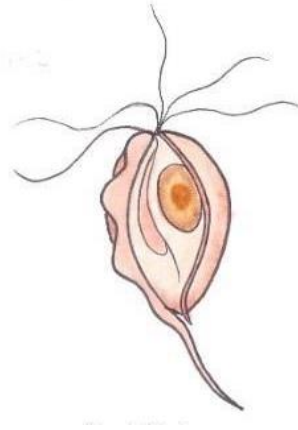


Figura 2. Trofozoíto de *Pentatrichomonas hominis*.

Trichomonas gallinae

El trofozoíto varía en su forma, que va desde ovoidea a piriforme con un tamaño de 7-11 μm . Presenta cuatro flagelos anteriores libres y un quinto recurrente, que no queda libre en el polo posterior, ya que se extiende sólo dos tercios de la longitud del cuerpo (Tasca y De Carli, 2003; Mehlhorn et al., 2009). El núcleo es ovoide con un tamaño de 2,5-3 μm . El axostilo consiste en una fila de microtúbulos que va desde la región de los cuerpos basales hasta el extremo posterior de la célula. Contiene vacuolas alimenticias, hidrogenosomas, una estructura parecida a la costa, y gránulos de glucógeno, junto a lagunas de retículo endoplásmico. Ver Figura 3.

Tetratrichomonas gallinarum

En general, los trofozoitos de *T. gallinarum* reflejan una constitución similar a la de *T. gallinae*, pero en su mayoría tienen forma de pera y miden de 6 a 15 μm (Clark et al., 2003). También tienen cuatro flagelos anteriores libres y un quinto recurrente, que se libera en el polo posterior, en contraste con el de *T. gallinae*. Se encontró que los flagelos anteriores tienen una longitud aproximada de 8-13 μm (Bondurant & Honigberg, 1994). Otra diferencia claramente visible con *T. gallinae* es la aparición de una esfera de lagunas del retículo endoplásmico que rodea el núcleo con sus típicas membranas perinucleares. Además, las vacuolas alimenticias parecen muy grandes (Mehlhorn et al., 2009). La variación morfológica entre *T. gallinae* y *T. gallinarum* es la presencia o ausencia de un flagelo que sobresale detrás del extremo posterior del cuerpo. (Figura 3).

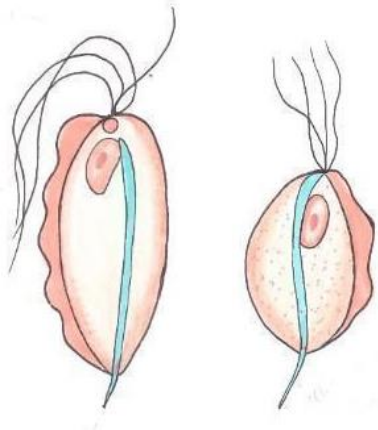


Figura 3. Trofozoítos de *Trichomonas gallinae* (izquierda) y *Tetratrichomonas gallinarum* (derecha).

Transmisión, formas de diseminación y ciclo biológico

Trichomonas tenax y *Pentatrichomonas hominis*

El mecanismo de transmisión no se conoce bien, pero se supone que la ruta de infección en ambos casos es principalmente oral, al consumir alimentos y agua contaminados. El elemento infectante, de diseminación y transmisión es el trofozoíto.

Trichomonas tenax y *P. hominis* tienen un ciclo de vida directo. Se reproducen por fisión binaria longitudinal, primero lo hace el núcleo, después el complejo cinético y, por último, el resto de las organelas.

Tomaremos como modelo el ciclo de *P. hominis*, haciendo la salvedad de los hospedadores (aves, hombre) y los sitios de reproducción. Solo se conoce el estadio de trofozoíto como elemento de diseminación, infectante y de diagnóstico. Los trofozoítos de *Pentatrichomonas hominis* se eliminan en las heces. La infección se produce después de la ingestión de trofozoítos en alimentos o agua contaminados con heces, o en fómites. Posteriormente coloniza el intestino grueso y se multiplica en él, donde es considerado un organismo comensal (Figura 4).

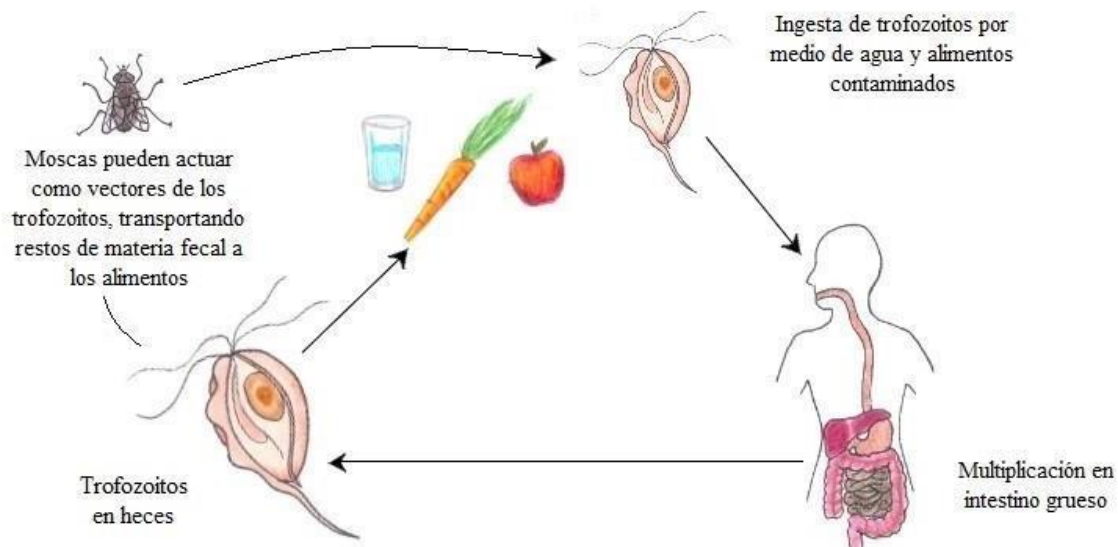


Figura 4. Ciclo de vida de *Pentatrichomonas hominis*.

Trichomonas gallinae

Este parásito tiene importancia veterinaria y económica, ya que ocasiona la trichomonosis aviar, una enfermedad de importancia veterinaria y con implicancias económicas. Se ha registrado en varios continentes y es una enfermedad que afecta a numerosas especies aviarias, especialmente columbiformes y falconiformes (Stabler, 1954).

En las palomas, la enfermedad también se denomina cancro. La paloma brava (*Columba livia*) es el principal hospedador de *T. gallinae* y ha sido considerada responsable de la distribución mundial de esta infección (Stabler, 1954; Harmon et al., 1987).

Debido a la extrema fragilidad de los trofozoitos de *T. gallinae*, durante mucho tiempo se creyó que el parásito era incapaz de sobrevivir fuera del hospedador, o que, si lo hacía, era durante "períodos breves" (Stabler, 1954). Además, se desconoce la existencia de un hospedador intermediario (vector vivo) entre estos protozoos (Stabler, 1954; Mc Dougald, 2008). En vista de ello, el flagelado muestra una baja supervivencia en el ambiente y muere rápidamente, por lo que se cree que el agua y el alimento de las aves son las fuentes de transmisión del parásito.

El lugar preferido por *T. gallinae* es el tracto digestivo superior, incluyendo la boca, faringe, esófago y buche, rara vez se encuentra posteriormente al proventrículo. En consecuencia, la excreción del protozoo a través de excrementos es muy limitada.

Tetratrichomonas gallinarum

Tetratrichomonas gallinarum habita en el tracto intestinal de diferentes especies de aves de corral, como pollos, pavos, codornices pintadas, patos y gansos (Levine, 1985; Friedhoff et al.,

1991; Bondurant y Honigberg, 1994). El flagelado puede transmitirse a través del consumo de alimentos contaminados y aparece con frecuencia en infecciones mixtas con otros protozoos, especialmente *Histomonas meleagridis* y *Blastocystis* spp. El sitio de predilección es el ciego, aunque también se puede encontrar en hígado de aves de corral y pavos, donde el parásito puede ocasionar enterohepatitis.

Patogenia y signología clínica

Trichomonas tenax

El hábitat de *T. tenax* es el tejido gingival. La mayoría de las infecciones no son patógenas, pero se asocia a lesiones pulmonares y de la cavidad oral, posiblemente como un agente inocuo, que se reproduce con mayor actividad en material necrótico (Ribeiro et al., 2015).

En 1867 Leyden y Jaffe confirmaron el primer caso de invasión del tracto respiratorio. Hay numerosos casos de invasión a otros órganos, con diagnóstico de neumonía, bronquiectasia, absceso pulmonar, bronquitis, empiema, meningitis, fibrosis pulmonar, hígado, bazo, absceso subfrénico e invasión de la glándula submaxilar y nódulo linfático cervical.

Pentatrichomonas hominis

Pentatrichomonas hominis normalmente es considerado un microorganismo comensal, no patógeno que coloniza el intestino grueso. Puede ocasionar episodios de diarrea aguda, que normalmente son autolimitados, dependiendo del grado de infección y estado inmunitario del paciente (Meloni et al., 2011). Dentro de las complicaciones se incluyen principalmente el desequilibrio hidroelectrolítico, anorexia, astenia y otros síntomas que al prolongarse pueden conducir a un cuadro de deshidratación y desnutrición en grado variable, que amerita la hospitalización del paciente.

Otra localización, menos frecuente de *P. hominis* es el tejido pulmonar, ocasionando tricomonosis pulmonar. El paciente puede presentar tos, disnea, expectoraciones muco-purulentas y fiebre.

Trichomonas gallinae* y *Tetratrichomonas gallinarum

Los signos clínicos asociados a la tricomonosis aviar son pérdida de apetito, vómitos, plumas erizadas, diarrea, disfagia, disnea, pérdida de peso, aumento de peso, aumento de la sed, incapacidad para mantenerse en equilibrio y buche colgante (Narcisi et al., 1991). Puede acumularse

en la boca y el buche un líquido verdoso o material fibrinoso blanquecino. Estos materiales también pueden exudar del pico del ave infectada (Stabler, 1947). La muerte puede producirse a las 3 semanas de la infección.

Las investigaciones post-mortem podrían desempeñar un papel importante en el diagnóstico de las trichomonas, especialmente *T. gallinae*, debido a las lesiones patognomónicas caracterizadas por la presencia de material caseoso blando y amarillento en la orofaringe de las aves infectadas. Sin embargo, las infecciones por *T. gallinae* pueden confundirse con algunas otras condiciones patológicas que dan lugar a lesiones similares (poxvirus aviar, *Candidida* sp., *Aspergillus* sp., *Capillaria* sp. y presencia de sialolitos).

Distribución geográfica

Tanto las trichomonas humanas como las aviarias se encuentran ampliamente diseminadas en la naturaleza y tienen distribución mundial.

Diagnóstico

Trichomonas tenax

El diagnóstico de la infección por *T. tenax* se realiza mediante la observación directa de los trofozoitos móviles en las preparaciones húmedas, a partir de gotas de saliva y goma de mascar; también de material de raspado obtenido quirúrgicamente. La enfermedad suele ir acompañada de otras bacterias patógenas como organismos oportunistas cuando la higiene dental es pobre o inexistente.

Pentatrichomonas hominis

El diagnóstico en estos casos se establece con facilidad, mediante estudio coproparasitológico directo en fresco y se puede encontrar en heces líquidas o blandas. Los trofozoitos se identifican por el característico movimiento vibratorio.

Trichomonas gallinae y *Tetratrachomonas gallinarum*

El diagnóstico de las trichomonas depende de la observación microscópica directa de los protozoos móviles mediante preparación en húmedo (es decir, el examen directo del preparado). El material de la muestra puede obtenerse mediante un hisopo de la cloaca en el caso de *T. gallinarum* o de la cavidad oral para *T. gallinae*. Las trichomonas aparecen como formas alargadas y ovaladas, que se mueven con rapidez. La muestra de montaje húmedo sobre un portaobjetos de vidrio puede teñirse con Giemsa. Sin embargo, la sensibilidad para detectar trichomonas en preparaciones de montaje

húmedo es baja, especialmente si el número de parásitos en el hospedador es escaso. En este caso, la inoculación de los hisopos en un medio de crecimiento adecuado y su incubación a temperatura óptima ha demostrado ser útil para enriquecer el número de trichomonas.

Tratamiento y profilaxis

Trichomonas tenax

Este protozoo se considera como un parásito no patógeno, por lo tanto, generalmente no se indica medicación cuando es diagnosticado. El tratamiento incluye una profunda limpieza dental por especialistas en periodoncia y profilaxis oral (medidas preventivas de higiene) con regularidad.

Pentatrichomonas hominis

No se indica ninguna medicación para *P. hominis*, ya que es considerado un protozoo no patógeno. La higiene general del paciente, el acceso al agua potable y la limpieza de frutas y verduras son suficientes para prevenir la mayoría de las infecciones por este microorganismo.

En el caso de la tricomonosis aviar varios nitroimidazoles, como el metronidazol, dimetridazol, ronidazol y carnidazol han sido considerados el tratamiento estándar.

Sin embargo, incluso después de un tratamiento exitoso, las palomas cautivas pueden tener el parásito durante mucho tiempo. Para evitar pérdidas económicas se administran nitroimidazoles de rutina a las palomas de carrera en dosis sub-terapéuticas. Esta exposición prolongada al nitroimidazol crea el ambiente para desarrollar resistencia a estos compuestos, como se ha demostrado en el caso de *T. vaginalis* y *T. foetus*.

Para prevenir brotes de *T. gallinae* en aves silvestres y cautivas deberían concentrarse acciones para reducir las fuentes de infección. El objetivo principal es evitar atraer a las aves a los lugares de alimentación si no es necesario. Estos lugares deberían cumplir requisitos mínimos con respecto a las condiciones sanitarias, como cambiar los alimentos con regularidad y desinfectar los lugares.

Entre las trichomonas, *T. gallinae* es el parásito más importante de las aves debido a su distribución mundial y a su patogenicidad, principalmente en Columbiformes, Falconiformes y Strigiformes, mientras que otras trichomonas tienen una importancia limitada.

Importancia en la salud pública

Las infecciones por trichomonas en humanos no son especie-específicas. Inicialmente se pensó que las especies de trichomonas reconocidas como parásitos humanos presentaban lo-

calizaciones específicas en su hospedador. Sin embargo, varios estudios clínicos han demostrado que también se encuentran en lugares atípicos. Por ejemplo, *T. tenax*, parásito de la boca humana, que se encuentra en pacientes con deficiente higiene bucal, ha sido identificada por métodos microscópicos y moleculares en las vías respiratorias superiores e inferiores. Una posibilidad que podría explicar esta localización "aberrante" es la inhalación del parásito desde la cavidad oral hacia el tracto respiratorio. Sin embargo, en algunos casos en los que se identificó *T. tenax* en el tracto respiratorio, no se encontraron parásitos en la boca. *Pentatrichomonas hominis* también se encontró en el tracto respiratorio, lo que sugiere que puede proliferar fuera de sus sitios corporales habituales. Entre las trichomonas aviarias, *T. gallinarum* se ha identificado en el tracto respiratorio humano, ocasionando la tricomonosis pulmonar humana. Dado que las trichomonas son microaerófilas, es poco probable que inicien y causen enfermedad por sí mismas, sino que es más probable que ocasionen infecciones secundarias y oportunistas que podrían exacerbar los síntomas y prolongar la enfermedad.

Según los modelos actuales de dinámica de las enfermedades, la aparición zoonótica de las enfermedades parasitarias en el humano se asocia a la amplia gama de hospedadores, variabilidad genética, presencia de genotipos más adecuados para el parasitismo de los humanos y un potencial patógeno modificado. Se cree que algunas zoonosis emergentes que aparecen a través de una serie de etapas, se desarrollan como parasitosis animales que son transmisibles a los seres humanos, aunque la fuente de la enfermedad sigue siendo el reservorio animal. En otros casos, los parásitos son capaces de cruzar la barrera de las especies, modifican su especificidad y se vuelven transmisibles de humano a humano. La evolución de estas parasitosis emergentes no es lineal y la explicación de un proceso tan complicado requiere la consideración de la ecología y la dinámica compleja de las infecciones zoonóticas. Basándose en estos modelos y en las pruebas clínicas comentadas anteriormente, es posible que varias trichomonas se encuentren en diferentes fases de emergencia zoonótica. Estas observaciones plantean importantes cuestiones de la ampliación del espectro patológico de las trichomonas en el ser humano y sugieren que, debido a su relación con otras enfermedades, estos parásitos pueden tener una mayor importancia médica de lo que se creía hasta ahora (Maritz et al., 2014).

Referencias

- Amin, A., Bilic, I., Liebhart, D., Hess, M. (2014). Trichomonads in birds—a review. *Parasitology*. 141: 733–747.
- Becerril, M.A. (2014). *Parasitología Médica*. 4ª Ed. Edit. I Mc. Graw Hill, 520 pp. ISBN 9786071511508.
- Botero, D. & Restrepo, M. (1999). *Parasitosis humanas*. 3º Ed. Corporación para investigaciones Biológicas CIB.
- Bondurant, R.H. & Honigberg, B.M. (1994). Trichomonads of veterinary importance. In *Parasitic Protozoa* (ed. Kreier, J. P.), pp. 111–188. Academic Press, New York, NY, USA.

- Brugerolle, G. & Muller, M. (2000). Amitochondriate flagellates. *Systematics Association Special Volume*. 59: 166-189.
- Cepicka, I., Hampl, V. & Kulda, J. (2010). Critical taxonomic revision of Parabasalids with description of one new genus and three new species. *Protist*. 161: 400–433.
- Clark, S., De Gussem, K. & Barnes, J. (2003). Flagellated protozoan infections in turkeys. *World Poultry*. 19(4): 1-4.
- Friedhoff, K.T., Kuhnigk, C. & Muller, I. (1991). Experimental infections in chickens with *Chilomastix gallinarum*, *Tetratrichomonas gallinarum*, and *Tritrichomonas eberthi*. *Parasitology Research*. 77: 329–334.
- Harmon, M., Clark, A., Hawbecker, C. and Stafford, M. (1987). *Trichomonas gallinae* in columbiform birds from the Galapagos Islands. *Journal of Wildlife Diseases*. 23: 492–494.
- Honigberg, B.M. (1963). Evaluation and systemic relationships in the flagellate order Trichomonida Kirby. *Journal of Protozoology*. 10: 20–63.
- Honigberg, B.M. (1978). Trichomonads of importance in human medicine. *Parasitic protozoa*. 2(7): 275-279.
- Levine, N.D. (1985). *Veterinary protozoology* (No. 636.0896016 L665). Ames: Iowa State University Press.
- Maritz M.J., Land M.K., Carlton J.M., Hirt, R.P. (2014). What is the importance of zoonotic trichomonads for human health? *Trends in Parasitology*. 30(7): 333-41.
- Mc Dougald, L.R. (2008). Histomoniasis (Blackhead) and other protozoan diseases of the intestinal tract. In *Diseases of Poultry* (ed. Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., Mc Dougald, L.R., Nolan, L.K. & Swayne, D.E.), pp. 1095–1105. Blackwell, Ames, IA, USA.
- Mehlhorn, H., Al-Quraishy, S., Amin, A. & Michael, H. (2009). Fine structure of the bird parasites *Trichomonas gallinae* and *Tetratrichomonas gallinarum* from cultures. *Parasitology Research*. 105: 751–756.
- Meloni, D., Mantini, C., Goustille, J., Desoubeaux, G., Maakaroun-Vermesse, Z., Chandenier, J., Gantois, N., Duboucher, C., Fiori, P.L., Dei-Cas, E., Duong, T.H., & Viscogliosi, E. (2011). Molecular identification of *Pentatrichomonas hominis* in two patients with gastrointestinal symptoms. *Journal of clinical pathology*. 64(10): 933–935.
- Müller, M. (1990). Biochemistry of *Trichomonas vaginalis*. In *Trichomonads Parasitics in Humans*. Edit. Honigberg, B.M. pp. 53–83. Springer, New York, N, USA.
- Müller, M. (1993). The hydrogenosome. *Journal of General Microbiology*. 139: 2879–2889.
- Narcisi, M., Sevoian, M. and Honigberg, B.M. (1991). Pathologic changes in pigeons infected with a virulent *Trichomonas gallinae* strain (Eiberg). *Avian Diseases*. 35: 55–61.
- Ribeiro, L.C., Santos, C. & Benchimol, M. (2015). Is *Trichomonas tenax* a Parasite or a Commensal? *Protist*. 166(2): 196–210.
- Ridley, J.W. (2012). *Parasitology for medical and clinical laboratory professionals*. Nelson Education.
- Rivolta, S. (1878). Una forma di croup prodotta da un infusorio. *Giornale d'anatomia fisiologia e patologia degli animali*. 10: 149–154.

- Tasca, T. & De Carli, G. (2003). Scanning electron microscopy study of *Trichomonas gallinae*. *Veterinary Parasitology*. 118: 37–42.
- Stabler, M. (1947). *Trichomonas gallinae*, pathogenic trichomonad of birds. *Journal of Parasitology*. 3: 207–213.
- Stabler, M. (1954). *Trichomonas gallinae*: a review. *Experimental Parasitology*. 3: 368–402.

CAPÍTULO 23

Dientamoeba fragilis. Dientamoebiasis *Histomonas meleagridis*. Histomonosis

Marcos Javier Butti

Dientamoeba fragilis

Generalidades

Dientamoeba fragilis (Jepps et Dobell, 1918) es un flagelado intestinal que habita la luz del ciego y la primera porción del colon ascendente, pero puede parasitar todo el intestino grueso. Inicialmente descubierta por Wenyon y posteriormente descrita por Jepps y Dobell en 1918, se la ubicó en el Subphylum Sarcodina, es decir, entre las amebas, por su movilidad mediante pseudópodos (Kozubsky, 2017). Más tarde, Dobell planteó dudas sobre la ubicación taxonómica, al observar la presencia de la “centrodesmus” (material intracelular de una célula en división que conecta a centrosomas de la célula y forma el principio del husillo central) y gran similitud morfológica entre *D. fragilis* e *Histomonas meleagridis* (Clark, 2014). Este último un ameboflagelado causante de la enterohepatitis infecciosa aviar o “cabeza negra” que afecta particularmente a los pavos. Dobell sugirió que *Dientamoeba* e *Histomonas* estaban estrechamente relacionadas, por lo cual postuló que *D. fragilis* era un flagelado aberrante.

Análisis antigénicos, de microscopía electrónica, filogenéticos y moleculares del RNA de la subunidad menor ARN (rRNA SSU) han demostrado la relación del parásito con los trichomonádidos, presentando un flagelo intracitoplasmático que no se expresa externamente (Stark et al., 2016).

Morfología

El estadio parasitario más frecuentemente encontrado en análisis de heces es el trofozoítico. Estos son muy pleomórficos, lo que dificulta la identificación. En materias fecales firmes los trofozoítos presentan formas redondeadas, mientras que, en las diarreicas, emiten pseudopodios transparentes sin desarrollar desplazamientos perceptibles. Se dividen por fisión

binaria. Miden entre 4 y 20 μm (Imagen 1 y 2). Su morfología es muy variada, desde formas redondeadas, forma de clava o con prolongaciones puntiagudas. El citoplasma se presenta usualmente vacuolado, con bacterias, numerosos desechos digeridos, así como gránulos grandes y uniformes (Stark et al., 2016).

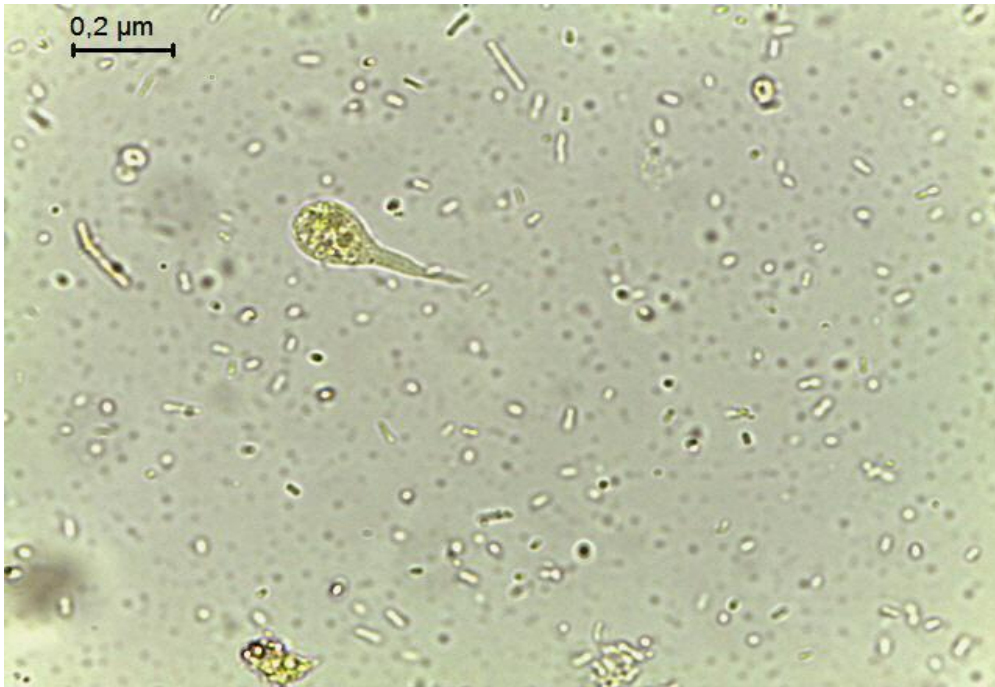


Imagen 1. Trofozoitos de *D. fragilis* en heces frescas con lugol 100X

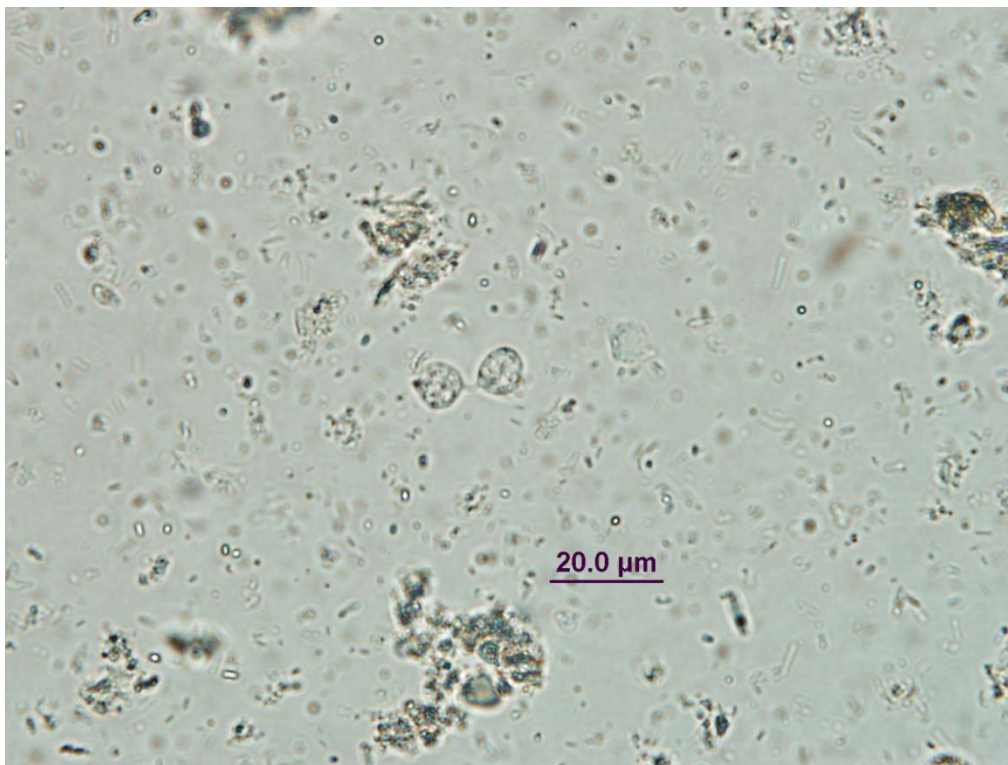


Imagen 2. Trofozoitos de *D. fragilis* en heces frescas 40X

Los trofozoitos de *D. fragilis* son típicamente binucleados, aunque en un 20% de los casos pueden presentarse como uninucleados. Los trofozoitos mononucleados de *D. fragilis* se consideran formas recientemente divididas por fisión binaria y son un poco más pequeñas que las formas binucleadas (Kozubsky, 2017).

Los núcleos solo son visibles con tinciones permanentes, tales como hematoxilina férrica, tricrómica o Giemsa, las que se recomiendan para una identificación más certera. Los núcleos presentan una estructura típica con la cromatina distribuida en gránulos en forma de roseta central, sin porciones periféricas. La estructura flagelar es intracitoplasmática y no tienen membranas ondulantes. La motilidad de los trofozoitos se produce por la emisión de pseudopodios irregulares, especialmente de forma lobular.

La forma prequística es de dimensiones menores a los trofozoitos, entre 3,5 a 5 μm , incluyendo estadios uninucleados y binucleados. El citoplasma se presenta finamente granulado que se colorea intensamente con las tinciones frecuentemente empleadas. Corresponden a estructuras de un estado de maduración previo al quiste (Stark et al., 2014).

Los quistes son redondeados, binucleados con un cariosoma central, una delgada membrana nuclear, sin cromatina. Tienen forma esférica, con un diámetro de alrededor de 5 μm y una zona clara alrededor del quistozoíto (Figura 1). El núcleo está a menudo fragmentado en gránulos de cromatina llamados paquetes cromatínicos. Por microscopía electrónica se ha revelado la presencia de axostilo, axonemas flagelares y una costa en su interior (Stark et al., 2014).

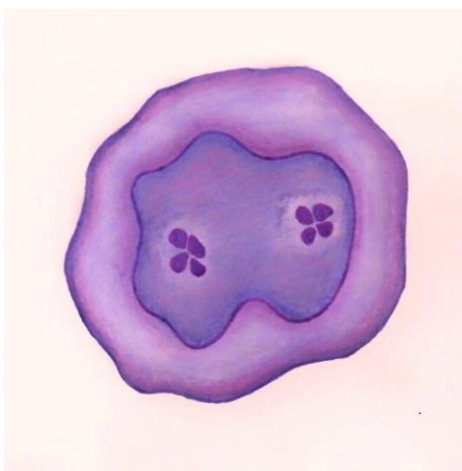


Figura 1. Quistes de *D. fragilis* (representación esquemática)

Mecanismos de transmisión y ciclo biológico

El mecanismo de transmisión de la dientamoebiasis continúa siendo objeto de estudio. Cuando no había información sobre la existencia de los quistes, se planteó la transmisión a través de los trofozoitos que se preservaban de las agresiones ambientales incorporándose a los hue-

vos de nematodos intestinales de amplia distribución. Por las similitudes ya aludidas con *H. meleagridis*, el cual es transmitido a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinae*, se cree que la transmisión humana de *D. fragilis* puede realizarse a través de algún nematodo intestinal, como *Enterobius vermicularis*. Afianzó esta hipótesis el hallazgo de ADN del protozoo en los huevos del nematodo. Estudios epidemiológicos realizados con pacientes coinfectados con *D. fragilis* y *Enterobius vermicularis* evidenciaron que la incidencia de esa asociación era 20 veces superior a la que cabría esperar por simple azar (Stark et al., 2016).

Altas tasas de coinfección con bacterias fecales de transmisión oral, sugeriría que la transmisión fecal-oral a través de los quistes como forma de resistencia es el mecanismo más probable de transmisión de *D. fragilis*, además del otro mecanismo.

La infección se adquiere tras la ingestión de trofozoítos, prequistes o quistes de forma directa o vehiculizados a través de huevos de nematodos. Por cualquiera de las dos formas descritas de infección, el organismo llega al colon donde se multiplica por fisión binaria y comienza a diseminarse con las heces (Figura 2)

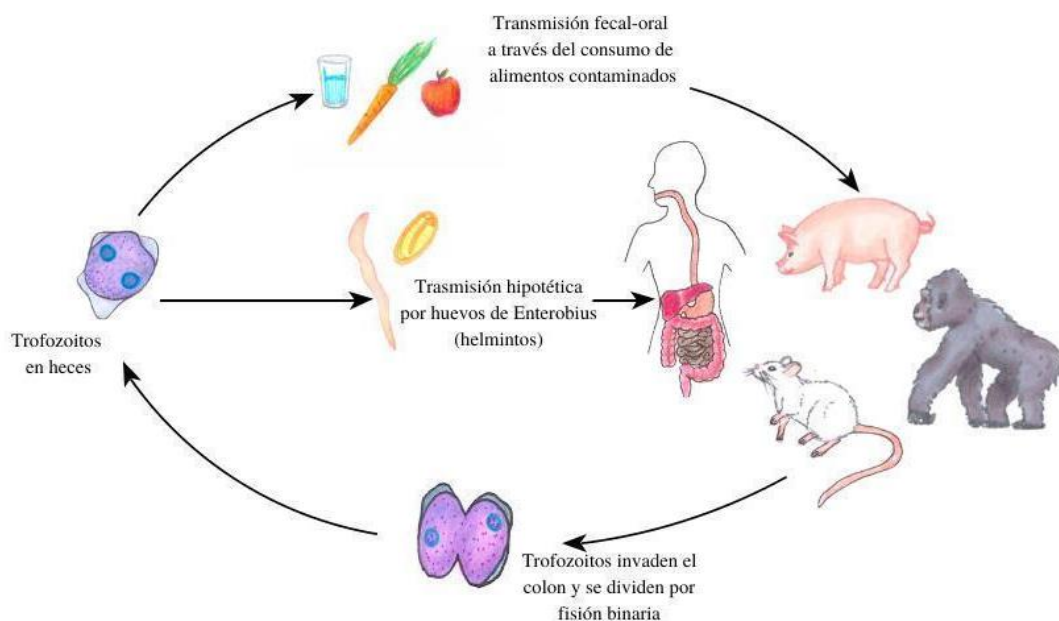


Figura 2. Ciclo evolutivo de *D. fragilis*. A. Trofozoítos. B. Prequistes C. Quistes

Patogenia y signología clínica

Dientamoeba fragilis ha sido considerada por diferentes autores como un organismo comensal, basándose fundamentalmente en la existencia de portadores asintomáticos. Actualmente se la encuentra asociada a cuadros de enteritis de variado grado de severidad, con tendencia a la cronicidad (Barratt et al., 2011; Jokelainen et al., 2017). Estos revierten posteriormente al suministro de drogas protisticidas. Se han observado hematíes en el interior de los trofozoítos, lo cual sugiere ocasional hematofagia.

En el curso de la infección se ha observado marcada fibrosis de la mucosa intestinal, lo cual es probable que esté relacionado con la duración y gravedad de la misma.

Se han descrito varios marcadores de patogenicidad para el parásito, como proteínas inmunomoduladoras y otras semejantes a ameboporos, presentes en otros protozoos patógenos intestinales. Pero los marcadores de virulencia más importantes detectados corresponden a una familia de cistein-proteasas semejantes a la catepsina, también identificados en *T. vaginalis* (Stark et al., 2016).

La presentación clínica de *D. fragilis* varía, entre parasitosis asintomática a enfermedad, con un amplio espectro de molestias gastrointestinales, de las cuales los síntomas más frecuentes son dolor abdominal, flatulencias, vómitos y pérdida de peso, como los de otras parasitosis intestinales. Las diarreas suelen ser de color verde amarillento. Actualmente se lo ha vinculado con síndrome de colon irritable, junto con otro parásito controversial como *Blastocystis* spp. (Aykur, 2020).

En población pediátrica, la diarrea es el signo más frecuente en fase aguda (menos de siete días), mientras que el dolor abdominal lo es en la infección crónica (más de 60 días).

Estudios genéticos moleculares recientes dan cuenta de dos genotipos de *D. fragilis* con diferente grado de virulencia, lo que podría explicar la variedad de presentaciones clínicas (Stark et al., 2016).

Distribución geográfica

Dientamoeba fragilis es un parásito cosmopolita. Sin embargo, la prevalencia a nivel mundial es muy variable, debido a la falta de homogeneidad en su reconocimiento. Se han informado valores con rangos de prevalencia muy amplios (entre 0,3% y más de 80%), dependiendo de la población estudiada, condiciones habitacionales e higiénicas, grupo etario y métodos de diagnóstico empleados. En algunos estudios, *D. fragilis* resulta ser el enteropatógeno más frecuente (Stark et al., 2016).

Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la identificación de la forma vegetativa de *D. fragilis* en la materia fecal, buscando fundamentalmente trofozoítos binucleados. Los quistes rara vez se encuentran en muestras clínicas, lo que probablemente explica el número limitado de informes que describen estas estructuras. El diagnóstico de la infección intestinal de este protozoario depende, como en el caso de otros protozoos, de la recolección adecuada de las muestras y de las técnicas de procesamiento posterior. Se requiere como mínimo tres muestras de materia fecal, por su eliminación discontinua.

Se recomienda el examen inmediato de las heces frescas o conservarlas en un fijador adecuado inmediatamente después de su emisión, para proceder luego a su coloración, ya que los tiempos en que mantiene la morfología característica, son acotados. Se requiere de preparados teñidos con coloraciones permanentes, como Giemsa (de elección), tricrómica, hematoxilina férrica, u otras para protozoos y observarlos por inmersión a 100X (Kozubsky, 2017).

Tratamiento

En el tratamiento de la Dientamoebiasis se utilizan antiparasitarios como iodoquinol, metronidazol, secnidazol, ornidazol o paramomicina, aunque aún no hay un consenso generalizado en el esquema terapéutico (Stark et al., 2016).

Profilaxis

En cuanto a las medidas de prevención, considerando su transmisión fecal-oral a través de quistes o por la ingesta de huevos de nematodos intestinales, deben ser las mismas que para otros parásitos intestinales, como condiciones higiénicas y sanitarias, manejo adecuado de los alimentos, lavado de manos y otras que disminuyan el fecalismo.

Importancia en salud pública

Se ha comprobado que el genotipo de *D. fragilis* encontrado en muestras de heces de cerdo es el mismo que el hallado en infecciones humanas, por lo que se puede inferir el carácter zoonótico de este parásito (Chan, 2016). Aunque se cree que la vía más común de transmisión es la humana.

Histomonas meleagridis

La histomoniasis es una enfermedad parasitaria causada por el protozoario *Histomonas meleagridis* (Smith 1895) de los ciegos e hígado de muchas aves gallináceas. La enfermedad se caracteriza por focos necróticos en el hígado y ulceración de los ciegos. También se le conoce como enterohepatitis infecciosa o cabeza negra, este último nombre hace referencia a signos cianóticos en cresta y barbillones. Éstos no son patognomónicos, dado que se presentan también en otras enfermedades. La forma más importante de transmisión es a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinarum*, un parásito frecuente en los ciegos de aves galliformes (Calnek, 2000).

H. meleagridis es un organismo pleomórfico en el que se han descrito una forma aflagelada que mide de 6-20 micras y se localiza en el hígado y mucosa cecal, y otra flagelada que se localiza en los ciegos, en la que pueden verse uno o dos flagelos de forma esférica y retráctiles, con movimiento rotativo dado por el movimiento flagelar. El organismo se divide por fisión binaria longitudinal (Choc Reyes, 2019).

La infección se realiza por vía oral, las aves receptivas pueden contagiarse al ingerir alimentos o el agua de bebida con trofozoítos del parásito eliminados en las heces. Sin embargo, deben ingerir un gran número de ellos, ya que pueden ser destruidos por los ácidos digestivos. La forma más importante de transmisión es a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinarum*, parásito frecuente de los ciegos de aves que actúa como verdadero hospedador intermediario del flagelado. Ambos sexos del nematodo se infectan y el macho transmite el flagelado a la hembra durante la cópula. *Histomonas meleagridis* se multiplica en el ovario de la hembra, penetra en los oocitos y vuelve a reproducirse en los huevos del verme. Son infectantes los huevos larvados y el contagio de las aves se produce al eclosionar dichas larvas en su aparato digestivo. La transmisión de *H. meleagridis* también puede realizarse a través de lombrices de tierra, hospedadores paraténicos de *Heterakis gallinarum*. Estos vermes ingieren los huevos del nematodo y los trofozoítos de *Histomonas* pueden llegar a los tejidos y celoma de la lombriz dentro de las larvas del nematodo. El contagio de las aves se produce al ingerir las lombrices de tierra infectadas que salen a la superficie del suelo después de la lluvia. En las aves *H. meleagridis* se reproduce en la luz de los ciegos y por vía pieloflebitica llega al hígado, dónde se multiplica nuevamente (Del Campillo, 1999).

Histomonas meleagridis daña el tejido por medio de la secreción de una enzima proteolítica que digiere los tejidos del hospedador tomando pequeñas partículas alimenticias, productos de la destrucción celular por medio de pinocitosis. Cuando *Histomonas meleagridis* llega al ciego, invade la mucosa cecal y produce un proceso inflamatorio (tiflitis), alimentándose de los tejidos de las aves y originando úlceras. Esto trae consigo un fallo en la función de la mucosa, lo que conduce a una mala absorción, con diarreas muy acuosas de color amarillo. Más tarde, el parásito coloniza el hígado, provocando un proceso ulcerativo, este órgano aumenta de tamaño. Se producen úlceras y cuando la afección está avanzada, se dificulta la circulación de retorno hepático, lo que da lugar a cianosis en las mucosas, incluida la cresta de las aves afectadas (Calnek, 2000).

El diagnóstico se puede realizar por medio de un análisis coproparasitológico de heces frescas a través del método de flotación en sulfato de zinc. También puede ser por necropsia al ver lesiones típicas en ciego e hígado. Otros métodos de diagnóstico son el examen directo de heces con solución salina fisiológica, improntas, cortes histológicos de los órganos afectados, e hisopados cloacales (Del Campillo, 1999).

El tratamiento está orientado a la desparasitación con benzimidazoles para controlar al hospedador intermediario *Heterakis gallinarum*. Distintos fármacos, como metronidazol, ipronidazol, toltrazuril y dimetridazol, han sido utilizados en algunos grupos de aves diagnosticadas con *Histomonas meleagridis*. Las aves afectadas deben moverse inmediatamente a un área con piso de cemento, hasta que el brote se encuentre bajo control (Choc Reyes, 2019)

Para combatir esta enfermedad, es importante mantener una higiene muy rigurosa. Los excrementos de los pavos deben removerse constantemente. Las aves enfermas deben aislarse de inmediato para evitar la propagación. Controlar la presencia del nemátodo *Heterakis gallinarum*, así como también evitar la cría de aves de diferentes especies y edades en las mismas instalaciones y mantenerlas en altura, para evitar el consumo de alimento directamente de la tierra (lombriz) disminuye el riesgo de contraer la enfermedad.

Referencias

- Aykur, M., Armagan, G., Vardar, R., & Dagci, H. (2020). Fecal calprotectin as a factor that supports the pathogenicity of *Dientamoeba fragilis*. *Microbial pathogenesis*, 139, 103868.
- Barratt, J.L., Harkness, J., Marriott, D., Ellis, J.T. & Stark, D. (2011). A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes*, 2, 3-12.
- Calnek, B.W. (2000). *Enfermedades de las aves*. 2da Ed. Manual moderno. D.F. Cap 34. p 891-905.
- Chan, D., Barratt, J., Roberts, T., Phillips, O., Slapeta, J., Ryan, U., Marriott, D., et al. (2016). Detection of *Dientamoeba fragilis* in animal faeces using species specific real time PCR assay. *Veterinary Parasitology*. 227:42-7.
- Choc Reyes, J. T. (2019). *Determinación de la presencia de Histomonas meleagridis en pavos domésticos (Meleagris gallopavo) en cantones del municipio de San Cristóbal Verapaz, Alta Verapaz, durante el mes de agosto del año 2018* (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala).
- Cordero del Campillo, M., & Rojo-Vásquez, F. A. (1999). *Parasitología Veterinaria Mc Craw-Hill. Interamericana. Capítulo, 18, 260-12.*
- Jokelainen, P., Hebbelstrup Jensen, B., Andreassen, B.U., Petersen, A.M., Roser, D., Krogfelt, K.A., Nielsen, H.V. & Stensvold, C.R. (2017). *Dientamoeba fragilis*, a commensal in children in danish day care centers. *Journal of Clinical Microbiology*. 55: 1707-1713. doi: 10.1128/jcm.00037-17.
- Kozubsky L. & Archelli S. (2017). *Dientamoeba fragilis*: un parásito a tener en cuenta. *Boletín del Distrito de Analistas Clínicos de La Plata*, N° 161: 11-14.
- Kozubsky, L., & Costas, M.E. (2017). Parasitología humana para bioquímicos. Series: Libros de Cátedra. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/67179>
- Stark, D., Barratt, J., Chan D. & Ellis J.T. (2016). *Dientamoeba fragilis*, the neglected Trichomonad of the human bowel. *Clinical Microbiology Review*. 29 (3): 553-80.
- Stark, D., Garcia, L.S., Barratt, J.L.N., Phillips, O., Roberts, T., Marriot, D., Harkness, J. & Ellis, J.T. (2014) Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 52: 2680-3.

Reino Protista

Clado Excavata

Clado Discoba

Phylum Euglenozoa

Clase Kinetoplastea

Orden Trypanosomatida

Familia Trypanosomatidae

Género *Trypanosoma*

Género *Leishmania*

Reino Protista

Clado Excavata

Clado Discoba

Phylum Euglenozoa

Clase Kinetoplastea

Orden Trypanosomatida

Familia Trypanosomatidae

Género *Trypanosoma*

Género *Leishmania*

CAPÍTULO 24

Trypanosoma cruzi. Enfermedad de Chagas-Mazza

Rubén Storino

Problemática actual

Como señala Morin (2003), vivimos bajo el imperio de los principios de disyunción, reducción y abstracción, producto del “*paradigma de simplificación*”. De este modo, no hay asociación entre los elementos disjuntos del saber, ni posibilidad de engranarlos y reflexionar sobre ellos. Se pierden así, tanto la visión holística del problema, como la posibilidad del pensamiento complejo, el cual aspira a un saber no parcelado, no dividido, no reduccionista y que ha quedado limitado casi al “sentido común”.

La enfermedad de Chagas, es quizás, uno de los testimonios más significativos de esta situación. Descubierta en 1909 por Carlos Chagas, desde entonces se han acumulado cada vez más los conocimientos sobre los distintos aspectos de esta afección, desde el *Trypanosoma cruzi* (agente etiológico), pasando por los triatomíneos (vectores), la epidemiología, las formas clínicas, la terapéutica, hasta llegar a la cardiopatía chagásica. Sin embargo, paralelamente se ha descuidado al ser humano que la padece, desde el portador al enfermo. Es que ese abandono del hombre real que la sufre y de la comunidad en riesgo de contraerla no es casual, porque el Chagas representa también el paradigma de las “*enfermedades de la pobreza en América Latina*”.

En efecto, se estima que 100 millones de personas viven bajo el permanente riesgo de contraer la enfermedad, desde México a la Argentina, de los cuales 24 millones estarían infectados por el parásito y 6 millones serían cardiopatas debido al Chagas (Storino et al., 2003). La inmensa mayoría de estas personas procede de áreas rurales pobres, atestadas de vinchucas, habitando ranchos de barro y paja y sobreviviendo a la miseria cotidiana.

Por otra parte, el Chagas también representa el paradigma de la “*estigmatización y discriminación*”, como ha ocurrido con muchas enfermedades a través de la historia, caso de la lepra, la peste, la sífilis (Storino, 2008). Hasta el año 2007 se solicitó en Argentina la serología pre ocupacional para Chagas para acceder a cualquier trabajo (lo que en la práctica significaba el rechazo laboral si era positivo). A partir de la sanción de la ley 26.281 promulgada el 4/9/2007 es de esperar que se revierta esta situación histórica de discriminación y marginación laboral.

Generalidades

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas (llamada así en honor a su descubridor) es una afección parasitaria hemática e hística, causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, hematófilo pero que anida en los tejidos, especialmente miocárdico, produciendo en el 25% de los afectados lesiones cardíacas irreversibles luego de un largo período evolutivo (Storino, 1994; 1998).

La infección es transmitida por vía vectorial a partir de insectos hemípteros hematófagos de la familia de los triatomíneos, comúnmente llamados vinchucas, siendo el más importante en Argentina el *Triatoma infestans*, por su adaptación ecológica a la vivienda rancho (Porcasi, 2006). La infestación se realiza por medio de las deyecciones contaminantes de estos insectos que penetran por las excoriaciones de la piel producidas por el rascado luego del escozor que causa la picadura de la vinchuca (Storino, 1994; 1998).

Sin embargo, esta forma tradicional de transmisión vectorial en área rural ha sido en muchas regiones, debido a las migraciones internas, reemplazada epidemiológicamente por la contaminación humana-humana en área urbana, en donde el pasaje se realiza a través de la sangre del infectado al sano, sin intervención de la vinchuca (Schmunis, 2007). Esto ha dado origen al llamado 4° ciclo o urbanización de la enfermedad de Chagas, caracterizado por el contagio por vía connatal, por vía transfusional y por vía del trasplante de órganos (Storino, 1994; 1998).

De esta forma, la enfermedad de Chagas ha superado las fronteras de su área endémica (tradicionalmente extendida desde el paralelo 40° de latitud Norte al 45° de latitud Sur), por lo que se han reportado casos en los Estados Unidos e incluso en Europa (Schmunis, 2007).

La enfermedad de Chagas se inicia generalmente en la infancia donde cursa la etapa aguda, la mayoría de las veces como síndrome febril de 20 días de duración sin puerta de entrada aparente, pasando luego a un período de latencia o indeterminado en donde casi siempre la enfermedad pasa inadvertida, hasta llegar, alrededor de 30 años después, a la fase crónica en la cual aproximadamente el 25% de los casos evidencia las lesiones cardíacas definitivas (Milei, 2009).

Si bien se desconoce a ciencia cierta por qué algunos individuos evolucionan hacia la miocardiopatía chagásica crónica, 10% hacia las formas graves con insuficiencia cardíaca y arritmias malignas; se han postulado múltiples factores patogénicos, en especial la autoinmunidad (Kierszenbaum, 2005). Sin embargo, las investigaciones recientes han demostrado la presencia del parásito a partir de su DNA en los tejidos mediante la reacción de PCR y el rol de las alteraciones de la microcirculación y del sistema nervioso autónomo como factores importantes del daño miocárdico (Teixeira, 2006).

Por otro lado, el análisis multivariado de los factores epidemiológicos, clínicos y sociales intervinientes aplicados en más de dos mil pacientes evaluados en los últimos años, demostró que el tiempo de permanencia en área endémica, el contagio por vía vectorial, los síntomas y signos de deterioro de la función ventricular y el tipo de trabajo que demande esfuerzo físico, juegan un rol fundamental en la evolución natural hacia la miocardiopatía en estos pacientes chagásicos (Milei, 2009).

Dentro de las complicaciones de la enfermedad de Chagas, las arritmias malignas generalmente asociadas a una mala función ventricular son las causantes más frecuentes de internaciones y mortalidad de estos pacientes (Carod-Artal, 2005).

Aspectos históricos

A modo esquemático podemos dividir el conocimiento sobre la miocardiopatía chagásica en 4 períodos (Elizari, 1999):

1) Primer período (desde 1909 hasta 1917), corresponde a las descripciones originales de Carlos Chagas.

En 1909, Carlos Chagas fue designado por Oswaldo Cruz, del entonces Instituto de Manghinos, para auxiliar grupos humanos que trabajaban en la construcción del ferrocarril de Belo Horizonte a Piraporá, en la localidad de Lassance del Estado de Minas Gerais. En la maraña de enfermedades que los afectaban, Chagas no se limitó a los pacientes, sino que estudió su medio cultural y ecológico y fue entonces cuando prestó atención a aquellos insectos hematófagos que llamaban barbeiros y descubrió en ellos al tripanosoma, que después llevaría el nombre de su maestro Cruz.

A la inversa de Ronald Ross en el paludismo y de Carlos Finlay y Walter Reed en la fiebre amarilla, que buscaron el vector a partir de la enfermedad, Chagas buscó la enfermedad intuida a partir del vector. En efecto, encontró el insecto, consideró sus hábitos y su relación cultural y ecológica con distintos hospedadores, incluyendo el hombre y propuso el cuadro clínico, cuyo síndrome precisarían los investigadores que siguieron su obra (Storino, 1994).

Sin embargo, el error de Carlos Chagas de confundir el bocio de origen endémico como supuesta tiroiditis chagásica. El no reconocer suficiente importancia a los compromisos viscerales, significó el descrédito de él y la desconfianza hacia su descubrimiento.

2) Segundo período (desde 1917 hasta 1940).

Hasta 1927 corresponde a la etapa de duda en la relación patogénica entre la presencia del parásito en la sangre de los pacientes y la miocarditis descrita por Chagas. De allí en adelante sobreviene el redescubrimiento y el afianzamiento de la enfermedad a partir de Salvador Mazza y la pléyade de médicos colaboradores de la MEPRA (Misión de Estudios de Patología Regional Argentina), en especial Miguel Jörg, registrando más de 1400 casos de la enfermedad y efectuando alrededor de 100 necropsias. Sin embargo, se publicaron muy pocos casos de miocarditis crónica.

3) Tercer período (desde 1940 hasta 1970).

Corresponde al período de confirmación y ampliación del conocimiento de la miocardiopatía chagásica crónica, tanto desde el punto de vista electrocardiográfico como anatomopatológico. Se describieron los primeros casos de Chagas congénito y se avanzó en el diagnóstico serológico. Los estudios epidemiológicos permitieron distinguir diferentes formas evolutivas de la enfermedad, según diversas regiones y países analizados.

4) Cuarto período (desde 1970 hasta la actualidad).

Corresponde al avance del conocimiento de los distintos mecanismos involucrados en la patogenicidad de la miocardiopatía chagásica crónica, su diagnóstico precoz y el estudio y tratamiento de sus manifestaciones clínicas y complicaciones.

Epidemiología

La transmisión de la enfermedad de Chagas dependería en mayor medida y en el medio rural de la tríada ecológica clásica constituida por: 1) el agente, 2) el vector, y 3) el hospedador. El agente dado por el *Trypanosoma cruzi*, el vector representado por el triatomino, especialmente el *Triatoma infestans* (vinchuca) adaptado ecológicamente a la vivienda humana, y el hospedador, determinado por el hombre y los animales domésticos y silvestres (Storino et al., 2003).

Se ha llamado "ciclo enzoótico primitivo" a la preexistencia del *T. cruzi* entre triatominos y pequeños mamíferos en un ámbito ecológico silvestre. Fue el hombre el que, al introducirse a vivir en él, creó las condiciones para el ciclo del que es víctima. Se insiste en dos consecuencias principales de la irrupción humana: la vivienda precaria y la devastación del ambiente circundante (Milei, 2009).

A la etapa histórica de la "enzootia primitiva" sigue una de domiciliación de los triatominos que se instalan en convivencia con el hombre. El contacto masivo de éste con el vector creó la epidemia de las zonas rurales en un período en que la deforestación para el cultivo, coincidió con la concentración de la propiedad agraria. Tareas con mano de obra intensiva como el cultivo, trajeron trabajadores dependientes a viviendas precarias.

Posteriores fenómenos socioeconómicos condicionaron la despoblación de amplias zonas agrarias y la suburbanización generada por la migración interna como "estrategia de supervivencia". Ellos originaron la "suburbanización" de la epidemia originaria hasta llegar a afectar las grandes ciudades sudamericanas extendiéndose de este modo la enfermedad al medio urbano (Dias, 2007).

Las características de la vivienda primitiva, generalmente tipo rancho, de paredes de barro sin revoque y con techo de paja o ramas, la mayoría de las veces descuidada, crean el ambiente propicio para el contacto entre hombre y vinchuca.

Sin embargo, el problema ecológico de la enfermedad de Chagas no se reduce al rancho, dado que es indispensable controlar el espacio perimetral contiguo a la vivienda humana y los galpones y corrales aledaños, lo que constituye según Jörg, la modificación del biotopo perihabitacional. Esto consiste en crear alrededor de la vivienda humana rural, incluso suburbana, un espacio perimetral limpio, libre de malezas, despojado de madrigueras o refugios de animales silvestres, verdaderos focos de proliferación de vinchucas (Storino et al., 2003).

La evolución histórica desde el punto de vista epidemiológico ha sido trasladar una afección desde el ciclo selvático, pasando por el peridoméstico y domiciliario rural hasta llegar al urbano, dadas las necesidades socio-económicas que condicionaron la modificación de la ecología, la

fabricación de viviendas precarias y la migración hacia las ciudades, en busca de mejores condiciones de vida. Esta última situación llevó a que la enfermedad de Chagas en área urbana siga un ciclo humano-humano, prescindiendo de la vinchuca, dado por la transmisión congénita, transfusional y por trasplante de órganos, del *T. cruzi* (Storino et al., 2003; Schmunis, 2007). En el cuadro 1 se esquematizan los diferentes ciclos de la enfermedad de Chagas.

Ciclo biológico

La transmisión se realiza a partir de vinchucas parasitadas por el *Trypanosoma cruzi*, quienes se alimentan de sangre, dado su hábito hematófago, de los mamíferos y eventualmente del hombre. Este último contrae la infección por un fenómeno secundario a la picadura, dado que las vinchucas tras sorber sangre, expelen heces semilíquidas con gran cantidad de formas infectantes del *T. cruzi*, albergados hasta ese entonces en el intestino del insecto. La picadura del insecto provoca escozor, por lo que el individuo inevitablemente se rasca en dicha zona para calmar el prurito, provocándose excoriaciones casi imperceptibles en la piel, por donde penetran los *T. cruzi* expelidos en las heces (Storino et al., 2003; Milei, 2009).

Luego de ingresar al organismo a través de esta puerta de entrada, generalmente cutánea, a veces mucosa, los *T. cruzi* se diseminan por el torrente sanguíneo alcanzando los distintos órganos, aunque afectan preferentemente el corazón, músculos, sistema nervioso, aparato digestivo y sistema reticuloentotelial (Storino, 1994; 1998).

En estos tejidos, el protozoo se reproduce por fisión binaria, multiplicándose rápidamente y pasando luego por una forma no flagelada llamada amastigote.

En cada localización hística los amastigotes forman verdaderos nidos y producen complejos fenómenos de destrucción, reacción inflamatoria e inmunopatológicos que participarán en la patogenia de las lesiones y prolongarán la enfermedad.

Después de alrededor de diez duplicaciones, los amastigotes se diferencian en tripomastigotes circulantes los que, previa ruptura de la célula hospedadora, son liberados a la circulación. Los parásitos circulantes invaden otras células del organismo, vuelven a multiplicarse en ellas y a diferenciarse a tripomastigotes, repitiéndose así el ciclo. Esto genera una parasitemia persistente con oferta constante de parásitos para el vector, que al sorber sangre reinicia la transmisión de la enfermedad. Si bien el número de parásitos circulantes se verá limitado por la respuesta inmune del hospedador, éste será incapaz de erradicarlos.

El ciclo evolutivo prosigue cuando una vinchuca libre de infección se contamina al alimentarse del mamífero o del hombre parasitado. Los parásitos circulantes ingeridos se diferencian a esferomastigotes, los que se multiplican en el estómago del vector y son los responsables de la persistencia de la infección del insecto. Luego los esferomastigotes se diferencian a epimastigotes, que también se multiplican en su progresión por el tubo digestivo hacia la ampolla rectal y allí en parte se diferencian a tripanosomas metacíclicos. Este insecto parasitado, cuando vuelva a sor-

ber sangre para alimentarse, eliminará con las heces los tripanosomas infectantes, que al ingresar en otro mamífero o eventualmente otro hombre reiniciarán el ciclo evolutivo natural de la enfermedad (Storino, 1994; 1998) (Figura 1)

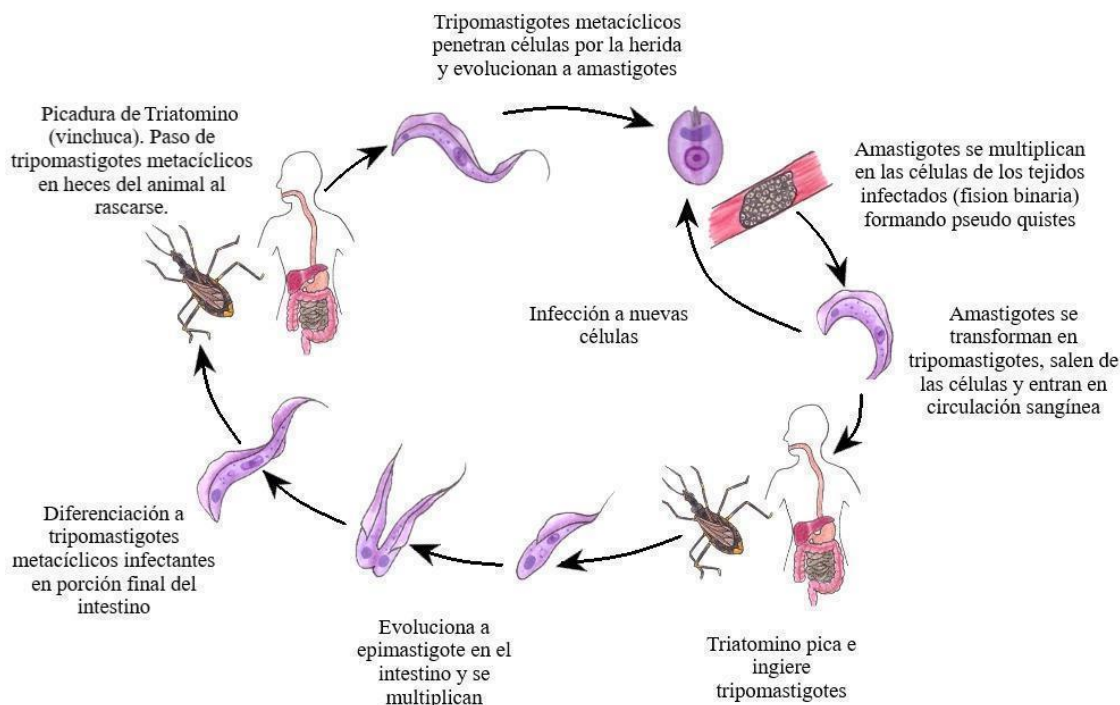


Figura 1. Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*

Patogenia

Las alteraciones que se produzcan en los distintos órganos afectados, y en especial el miocardio, en la evolución natural de la enfermedad de Chagas dependerán de múltiples factores que intervienen en la patogenia de las lesiones, especialmente la persistencia del parásito, la actividad inmunológica del hospedador y los fenómenos de destrucción tisular y reemplazo por fibrosis.

La infección humana no sigue un protocolo preestablecido, dado que va a depender del número y naturaleza de los parásitos infectantes, del momento de la infección, de las características genéticas del individuo, del estado nutricional e inmunológico, de la posibilidad de reinfecciones y de la existencia de patologías asociadas y sobreagregadas.

Si bien se ha avanzado en el conocimiento de los mecanismos intervinientes en la patogenia de la enfermedad de Chagas, aún no sabemos a ciencia cierta todo el desarrollo por el cual alrededor del 25% de los pacientes evolucionan hacia la cardiopatía chagásica crónica, quedando el 75% restante en la etapa crónica indeterminada sin lesiones evidentes.

Sin embargo, podemos decir que a través del análisis comparado evolutivo de los distintos pacientes chagásicos se ha logrado inferir que hay ciertos factores que condicionarían una mayor probabilidad hacia la cardiopatía chagásica, a saber:

A) Predisposición genética: Si bien no hay confirmación total al respecto, existiría la posibilidad de que la presencia de ciertos genes facilitaría el desarrollo de la cardiopatía chagásica crónica. Con respecto a esto, debemos señalar que existe un concepto tradicional por el cual la enfermedad de Chagas en los aborígenes latinoamericanos que no se cruzaban con los blancos era más benigna, como si existiera una tolerancia natural a la infección.

B) Cepas parasitarias: Aunque aparentemente, todos los *T. cruzi* parecen iguales, no lo son, puesto que existen cepas con mayor patogenicidad que causan mayor daño, como se ha demostrado en estudios experimentales. En este sentido, las diferencias territoriales que se observan en la prevalencia de cardiopatía chagásica entre distintas provincias argentinas avalaría este criterio. Además, sería peor aún, ser inoculado sucesivamente por vinchucas con diferentes cepas de *T. cruzi*.

C) Déficit inmunológico: La evolución hacia la cardiopatía chagásica crónica también podría estar determinada por un déficit en la respuesta inmune, debido a una carencia alimentaria crónica, sobre todo como deficiencias cualitativas y cuantitativas desde la infancia (déficit proteico y vitamínico).

D) Desnutrición: Ligada con la anterior, podemos agregar que condiciona una debilidad adquirida para que el organismo se defienda correctamente en la agresión parasitaria. Esto ha sido comprobado experimentalmente con ratones hipoalimentados o sometidos a carencias de arginina, folatos, vitaminas B12, B6, E y glutamina.

E) Cantidad de inoculaciones: Esto se encuentra ligado a la permanencia viviendo en zona endémica y en contacto con la vinchuca, de manera tal que las reinfestaciones por *T. cruzi* no sólo son frecuentes, sino continuas. En este sentido, hemos observado y comprobado estadísticamente que la evolución natural del chagásico porteño que fue inoculado en forma ocasional en una sola oportunidad, es mucho más benigna que el chagásico oriundo de Santiago del Estero o Chaco, inoculado innumerables veces en su vida con el *T. cruzi*.

F) Factores agregados: Si bien es difícil determinar el grado de importancia de los distintos factores que aumentan la posibilidad de daño miocárdico en los pacientes chagásicos; podemos decir que el alcoholismo, las enfermedades intercurrentes (en especial las que afectan al corazón como la hipertensión arterial e incluso la diabetes, con la alteración de la miocirculación), podrían acelerar el deterioro cardíaco.

Existen algunas evidencias, que el tipo de trabajo que requiere gran esfuerzo físico incide negativamente en la evolución del paciente chagásico con algún grado previo de compromiso miocárdico.

Con respecto a los mecanismos patogénicos involucrados, son varios los que han sido señalados por distintos autores (Storino et al., 2003; Milei, 2009; Kierszenbaum, 2005; Teixeira, 2006; Coronado, 2006; Cunha-Neto, 1999; Kaduo Arai, 2006; Janes, 2002) como los responsables principales del daño miocárdico y consecuentemente, de la cardiopatía chagásica crónica, teniendo vigencia los siguientes, a saber:

I) Lesión por el *Trypanosoma cruzi*: En las formas crónicas los nidos parasitarios son relativamente escasos o ausentes, lo que no concuerda etiopatogénicamente con la frondosidad de la miocitolisis y la fibrosis (Storino, 1994; Coronado, 2006).

Sin embargo, últimamente se ha demostrado que, si bien la presencia de parásitos visibles microscópicamente es excepcional a nivel de las lesiones inflamatorias, el empleo de técnicas de mayor sensibilidad, inmunohistoquímica con anticuerpos específicos y, en especial la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitió comprobar que existen elementos parasitarios, antígenos o fragmentos de genoma, coincidentes con las lesiones inflamatorias (Coronado, 2006; Janes, 2002; Andrade, 2006). Como contrapartida, estos componentes no se encuentran en las áreas cardíacas indemnes o en aquellas en las que existe fibrosis con ausencia de actividad inflamatoria.

II) Lesión inducida por la respuesta autoinmune del huésped: Este mecanismo está avalado por las siguientes demostraciones desarrolladas durante las últimas décadas que siguiendo a Laguens (Laguens, 1999) son que: 1). existe mimetismo molecular entre el parásito y los antígenos del huésped, 2). aparecen autoanticuerpos que reconocen epitopes cardíacos durante la fase crónica de la infección, 3). la inmunización de animales con la totalidad del parásito, con fragmentos del mismo o con antígenos bioquímicamente definidos provoca miocarditis y alteraciones electrocardiográficas, 4). los linfocitos B de los infiltrados inflamatorios del corazón elaboran anticuerpos contra antígenos miocárdicos, 5). de esas mismas lesiones se aíslan clones de linfocitos T que reaccionan con epitopes cardíacos, 6). es posible inducir alteraciones tisulares en el corazón y en nervios mediante la transferencia de linfocitos de animales infectados en animales singeneicos vírgenes de infección.

Por otra parte, Cunha Neto (Cunha-Neto, 1999) postula que la presencia de un infiltrado patogénico en la cardiopatía chagásica es un proceso con múltiples pasos donde las características inmunológicas del huésped previas a la infección, tales como el balance de citoquinas o el repertorio de células T con reactividad cruzada son determinantes mayores.

La infección sistémica por *T. cruzi* funciona como gatillo y amplificador, generando células T patogénicas “experimentadas” en individuos susceptibles que podrían migrar al corazón y producir daño cardíaco (Cunha-Neto, 1999).

III) Lesión microvascular: Este mecanismo explicaría que la alteración de la microcirculación que irriga pequeños volúmenes de tejido miocárdico causaría las lesiones focalizadas.

Avalando esta teoría se han descripto diversos hallazgos, tanto en necropsias como en modelos experimentales, a saber según Milei (Storino, 1994; Milei, 2009): 1) irregularidades y constricciones de las arteriolas intramiocárdicas, acompañadas de intensa miocitolisis, 2) progresiva descapilarización, con desorganización de la red capilar por infiltración inflamatoria, 3) agregados plaquetarios y trombos oclusivos, 4) áreas de vasoconstricción vascular focal, microaneurismas, dilatación y proliferación de microvasos, 5) acción inflamatoria y enzimática del parásito que a través de la neuraminidasa removería el ácido siálico de la superficie de miocitos y células endoteliales lo que alteraría la homeostasis intracelular del calcio.

IV) Lesión del sistema nervioso autonómico: El daño sería el resultante de la denervación por destrucción de neuronas y fibras nerviosas de manera difusa en diversos lugares del organismo, lo que explicaría el hallazgo de megavísceras y cardiopatía, con lesiones de los ganglios autonómicos y fibras nerviosas cardíacas (Storino, 1994; Storino, 1998).

En los últimos años diversas investigaciones (Kaduo Arai, 2006; Medei, 2007; Ribeiro, 2007) demostrarían que en algunos pacientes existirían autoanticuerpos contra receptores α -adrenérgicos y muscarínicos colinérgicos cardíacos que causarían un bloqueo progresivo de los receptores a neurotransmisores con denervación simpática y parasimpática.

Como hemos visto, son varias las teorías y los mecanismos involucrados para explicar las lesiones cardíacas. De todos modos, ninguno de ellos alcanza a ser convincente por sí solo, por lo que es válido suponer que existirían múltiples factores que nos llevarían a plantear una teoría mixta o combinada, donde cada uno de ellos tendría un rol protagónico, aunque no exclusivo. En tal sentido, teniendo en cuenta lo referido anteriormente hemos esquematizado las diferentes etapas patogénicas a partir del ingreso del *T. cruzi* en el organismo, a saber (Storino et al., 2003; Storino, 1998):

1- Primo infección: Cuando los parásitos ingresan al individuo, generalmente a partir de la puerta de entrada cutánea por la picadura y deposiciones de la vinchuca y con las excoriaciones causadas por el rascado de la piel se producen antígenos (Ag) parasitarios, participando en primer término la respuesta inmune de los ganglios linfáticos satélites regionales. Los Ag parasitarios son captados por los macrófagos, interviniendo luego los linfocitos T, aptos para la respuesta inmune, que inducen a la proliferación de linfocitos B. Estos últimos producen anticuerpos, que pasan a la circulación y también la presencia de linfoquinas que participarán activamente en la inmunidad humoral.

2- Invasión polivisceral parasitaria con prevalencia miocárdica: Los parásitos que circulan por el torrente sanguíneo se diseminan por los distintos órganos donde se anidan, determinando una invasión polivisceral. De todos los tejidos afectados, el miocardio es el que va a tener mayor implicancia en la evolución posterior de la enfermedad. Dentro del músculo cardíaco se forman múltiples nidos parasitarios que permanecen en ese estado durante muchos años, incluso toda la vida. Sin embargo, generalmente estos nidos de parásitos se abren, produciéndose la diseminación hematológica, pero dejando Ag del *T. cruzi* localmente, lo que constituye una marcación inmunológica del miocardio. Es probable que el líquido del nido concentrado en Ag del *T. cruzi* que se adsorben dentro del miocardio, desempeñen un rol en las lesiones futuras.

3- Reiteración del ciclo invasión del miocardio y diseminación, con incremento de antigenia y formación de inmunocomplejos: Tras múltiples nidos y su apertura quedan marcadores inmunoattractivos. De manera tal que se plantea qué implicancia tienen en las lesiones los inmunocomplejos, los antígenos adsorbidos e inclusive la posible transferencia citogenética del parásito al tejido infectado. Este fenómeno se inicia en las áreas menos diferenciadas del sistema excitoconductor y luego en el miocardio.

4- Atracción de linfocitos B sensibilizados y comandantes de macrófagos a las áreas miocárdicas: Se produce una miocitólisis celular que sería inicialmente por apoptosis y secundariamente por necrosis. Los linfocitos B, población “killer” específicamente sensibilizados atacan áreas marcadas por antígenos fijados. Se produce la desnaturalización del endotelio capilar comisionando a linfocinas, con la intervención de macrófagos, factor de necrosis tumoral alfa, interleukina 1.6, que invaden el área e inician la miocitólisis. Esta última incita la fibronectina de origen histioblástico, generando fibrosis.

5- Activación circulatoria de anticuerpos contra miocardio marcado (anticuerpos de autoagresión): Se produce una miocitólisis humoral. Esto se genera al destruirse el miocardio, dado que se constituyen Ag polimórficos y politópicos, cada uno de los cuales se convierte en generador de un anticuerpo específico, que pueden ser copatogénicos o simplemente epifenómenos marcadores o acusadores de lesión. También en esta fase se produce una isquemia microfocal extensiva o confluyente por destrucción o anarquía capilar, a lo que se asocian capilares alterados por descapilarización inflamatoria. De modo tal que se produce una miocitólisis tipo asfixia. Es posible también la intervención del complemento hiperactivado.

6- Fibrosis reactiva citoestimulada: En la última fase de las lesiones se produce la fibrosis reticulínica-colágena. Cuando se instala este tejido de reparación, pero inerte desde el punto de vista contráctil, se produce una reducción del volumen de miocardio activo. A esto debe agregarse la destrucción focal múltiple del sistema excito-conductor y la descapilarización con zonas isquémicas. Esta suma terminal de mecanismos conduce a la insuficiencia cardíaca, a la diskinesia o akinesia parietal y al aneurisma ventricular.

El aneurisma ventricular, si bien no es patognomónico de la enfermedad de Chagas, es una de las lesiones más características de la etapa más avanzada de la miocardiopatía chagásica. Su localización especialmente en el ápex o punta del corazón ha generado una serie de teorías patogénicas para explicar su desarrollo, aún no dilucidado. Sin embargo, es probable que el entrecruzamiento anatómico de los haces musculares en la punta del corazón, donde los capilares no llegan hasta el mismo ápex, facilite el comienzo del desarrollo aneurismático. A esto se agrega la descapilarización inflamatoria como fenómeno intrínseco de la patogenia chagásica, la consecuente hipoxia del tejido muscular y el estasis linfático por obstrucción del drenaje debido a la fibrosis a nivel del tabique interventricular. Se produciría el fenómeno de la apoptosis, dado que no hay infiltración inflamatoria local, ni detritus necrótico, seguido de muerte celular atrófica, con la consecuente fibrosis. De este modo se generaría el reemplazo del tejido original, estando conformado ahora por tejido colágeno débil, células dendríticas, y cubiertas endocárdicas y pericárdicas. Luego se instalaría la dilatación aneurismática por mecanismo hemodinámico, dada la presión sanguínea ejercida sobre esta zona muy poco resistente.

Anatomía patológica

Según Jörg la miocardiopatía de la enfermedad de Chagas crónica es un proceso miocardiolítico (*cardiomiopatía*) que compromete también las formaciones diferenciadas del sistema de conducción. Desde el punto de vista anatomopatológico es una miocarditis; inicial y fugazmente inflamatoria-exudativa; progresivamente mesenquimorreactiva, linfocito-infiltrativa, en muchos casos granulomatosa, con mioatrofia, miocitolisis; inicialmente multifocal diseminada, sucesivamente confluyente extensiva; seguida de reemplazo ex-vacuo por tejido fibroso colágeno (Storino et al., 2003).

El sustrato histológico de las alteraciones descritas corresponde a un proceso de necrosis y fibrosis que tiene lugar en un sinnúmero de focos microscópicos, lo que llevó a Rosenbaum a denominar este cuadro como panmiocarditis microfocal diseminada como afectando a todo el corazón y lógicamente no a todas las fibras miocárdicas (Storino et al., 2003; Milei, 2009). Los infiltrados inflamatorios intersticiales son también microfocales, difusos y panmiocárdicos (Elizari, 1999).

Es una constante en el estudio histopatológico de los corazones con miocarditis chagásica crónica el hallazgo de polimorfismo de los infiltrados inflamatorios, donde coexisten diferentes células, tales como macrófagos, eosinófilos, células plasmáticas, mastocitos, y linfocitos B y T e inclusive se han observado granulomas de células gigantes y epitelioides (Laguens, 1999).

Estos fenómenos inflamatorios se encuentran alternando con zonas de fibrosis en distintos sectores del miocardio, por lo que es posible suponer que el proceso de la miocarditis chagásica presenta una actividad casi constante (Elizari, 1999).

Signología clínica

La enfermedad de Chagas, a semejanza de la sífilis, cursa tres períodos evolutivos (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998):

1- Período primario o agudo. Llamado de primo infección con puerta de entrada del *T. cruzi* generalmente a través del vector, aunque puede ingresar en forma directa por hemotransfusión, digestiva, congénita o trasplante de órganos. Durante esta etapa se produce una diseminación polihística, configurando un cuadro clínico infeccioso generalizado y también de acuerdo a la afectación visceral, dando origen a una miocarditis aguda y/o meningoencefalitis aguda.

2- Período secundario intermedio, inaparente, latente o crónico indeterminado. Se caracteriza por la disminución de la parasitemia, la atenuación e incluso desaparición de los síntomas. Constituye la etapa silenciosa de la enfermedad, dado que la mayoría de las veces pasa inadvertida.

3- Período terciario o crónico determinado, donde se manifiestan las lesiones definitivas en los órganos blanco, como corazón, aparato digestivo y sistema nervioso, caracterizado por miocardiopatía dilatada, síndrome de disperistalsis, esófago-gastro-entérico, disautonomía y en menor frecuencia neuropsicopatía. Estos pueden presentarse en forma aislada o asociada.

El período agudo dura entre 15 y 30 días, pasando luego a la etapa crónica indeterminada que se prolonga durante 15 a 30 años, permaneciendo en esta situación alrededor del 75% de los chagásicos, mientras que el 25% restante evoluciona a la fase crónica determinada de la enfermedad, con las lesiones irreversibles, especialmente a nivel cardíaco, debido a la interacción de múltiples factores patogénicos, cuyos mecanismos de acción han sido analizados anteriormente en etiopatogenia.

En el cuadro 2 se esquematizan las posibilidades evolutivas en la historia natural de la enfermedad de Chagas. Como podemos ver, todos los individuos contaminados con *T. cruzi* pasan por la fase aguda, aunque solo se evidencie y se diagnostique en el 10% de los casos.

Período agudo

El cuadro más difundido, aunque no el más frecuente, dado que no supera el 10% de los casos agudos, es la infección a nivel ocular, con el signo de Romaña o complejo oftalmo-ganglionar con el “ojo en compota”. Este se caracteriza por una conjuntivitis con celulitis perioftálmica, edema bpalpebral, incluso celulitis malar y geniana, que se acompaña de una adenitis aguda satélite, con predominio preauricular y periosternocleidomastoidea, causada por el ingreso de los tripanosomas luego de la picadura de la vinchuca a nivel palpebral (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998).

El inconveniente de este signo estriba en el erróneo concepto de que *T. cruzi* ingresa preferentemente por esta vía palpebral, diagnosticándose en la práctica únicamente los pacientes que presentan el Signo de Romaña. Sin embargo, está ampliamente demostrado que en más del 90% de los casos la forma de ingreso pasa inadvertida, o bien tiene una primo infección cutánea no perioftálmica (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998).

La puerta de entrada cutánea en diferentes partes del cuerpo, aunque en el 70% de los casos en cara, cuello, brazos y antebrazos, se denomina chagoma de inoculación. Este puede conformar distintas variantes, a saber:

a) forunculoide, similar a la lesión estafilocócica, b) erisipelatoide, análogo a la placa de erisipela bacteriana, c) tumuroide, masa esferoide irregular considerada el chagoma típico y d) lupoides, semejante a la reacción focal de una picadura de insecto.

A las lesiones de primoinfección puede agregarse un cuadro polisintomático, como ocurre generalmente en los niños menores de 2 años. En cambio, en los adolescentes y adultos la sintomatología es mínima.

Los síntomas y signos que acompañan el cuadro agudo son: fiebre elevada, generalmente entre 39°C y 40°C los primeros 7 a 10 días que evoluciona a febrícula durante los 10 a 15 días

posteriores (totalizando más de 20 días de fiebre), hepatoesplenomegalia, y diarrea. Con menor frecuencia puede aparecer un cuadro bronquial-catarral, anasarca a veces con edema facial (facies abotagada), poliadenopatías, exantema generalmente morbiliforme y lipochagomas por inflamación de las bolsas genianas de Bichat. También se han descritos cuadros de orquiepididimitis con hidrocele y parotiditis unilateral. El compromiso del sistema nervioso central puede originar inquietud, llanto continuo, insomnio, incluso meningismo, convulsiones y hasta coma transitorio (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998).

En los casos de evolución desfavorable, que acontece en niños desnutridos, especialmente lactantes, se puede originar una miocarditis y/o meningoencefalitis de mal pronóstico.

El período agudo se caracteriza por la elevada parasitemia, siendo relativamente sencillo el hallazgo del *T. cruzi* por los métodos de investigación directa.

Período crónico indeterminado

Esta etapa de la enfermedad se caracteriza por ser asintomática y en algunos casos oligosintomática, configurando un cuadro la mayoría de las veces con síntomas inespecíficos.

Hay una disminución progresiva de la parasitemia y un incremento concomitante de la respuesta inmune. Esto condiciona que el hallazgo directo del *T. cruzi* sea dificultoso, prefiriéndose el diagnóstico a partir de la búsqueda de los anticuerpos específicos mediante las reacciones serológicas.

Este período puede durar más de 30 años, donde alrededor del 25% de los pacientes desarrollan la etapa crónica determinada con lesiones irreversibles. El resto permanece como forma crónica indeterminada o latente durante toda la vida. Las razones por las cuales unos individuos chagásicos evolucionan hacia el daño orgánico especialmente miocárdico, dependería de la multifactorial patogenia de esta enfermedad (Milei, 2009; Teixeira, 2006; Cunha-Neto, 1999).

De todos modos, la polivisceritis generada durante la etapa aguda por la diseminación hematógena puede inducir la aparición de lesiones subclínicas durante esta etapa indeterminada.

Sin embargo, se ha demostrado en necropsias de individuos chagásicos fallecidos por accidentes que cursaban la etapa crónica indeterminada en forma asintomática y sin lesiones evidentes, la presencia de nidos de amastigotes intramiocárdicos, e incluso signos de miocarditis, pese al electrocardiograma normal.

El balance inmunopatogénico entre la presencia del *T. cruzi* en los tejidos y la respuesta inmune del hospedador que condiciona que no se manifiesten clínicamente lesiones durante esta etapa, se ve desequilibrado cuando sobreviene una inmunodepresión, como sucede especialmente cuando se adquiere el virus HIV. En estos casos se produce una reagudización endógena, con intensa parasitemia a partir del ciclo tejidos-diseminación hemática, causando graves cuadros de encefalitis y miocarditis, que, de no ser diagnosticados y tratados rápidamente, conducen a un desenlace fatal (Auger, 2005).

Esta asociación circunstancial entre el Chagas y el SIDA ha servido para demostrar que la etapa crónica indeterminada o latente no es un período inerte o apagado, sino que es una forma subclínica potencialmente agresiva donde el sistema inmune juega un rol preponderante en evitar la progresión de las lesiones (Auger, 2005).

Período crónico determinado

Esta etapa se caracteriza por las alteraciones definitivas e irreversibles que acontecen en alrededor del 25% de los pacientes chagásicos a nivel del corazón, aparato digestivo y/o sistema nervioso, por mecanismos patogénicos multifactoriales, generalmente después de los 40 años de edad. El diagnóstico etiológico se realiza mediante la correlación clínica y por estudios complementarios de las anomalías encontradas con la serología reactiva por la presencia en sangre de anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Miocardiopatía chagásica es la lesión más característica de esta etapa.

Dos formas extremas prevalecen en la cardiopatía chagásica: A) Infiltrativa, con invasión linfoplasmocítica magna de los intersticios miocelulares-vasculares, desorganización conjuntiva y reducción de la red capilar y, B) Fibrosa desde el principio (lesión de Magarinos Torres), en la cual se observa una atrofia miocítica intensa con gran reemplazo fibroso-colágeno y muy escasa infiltración, generalmente con engrosamiento parietal pseudohipertrófico y en menor número de casos con adelgazamiento aneurismático. En la mayoría de los casos se presentan ambas formas mezcladas, en las cuales las proporciones de cada proceso son variables, tanto en magnitud como en localización, determinando que la cardiopatía chagásica sea una afección tan cambiante como complicada (Storino et al., 2003; Milei, 2009).

Desde el punto de vista clínico el paciente con miocardiopatía chagásica crónica puede presentar síntomas aislados, o bien constituir un cuadro polisintomático. Los síntomas más comúnmente referidos son palpitations, disnea de grado variable que abarca desde el esfuerzo hasta el reposo incluso ortopnea, dolor precordial generalmente atípico, aunque a veces opresivo tipo anginoso, mareos casi siempre ocasionales, aunque a veces frecuentes y además cuadros sincopales. También manifiestan otros síntomas inespecíficos como cansancio fácil, astenia incluso matinal y cefaleas reiteradas (Storino, 1994; 1998).

El examen físico en el paciente con miocardiopatía chagásica puede variar desde pocos hallazgos semiológicos hasta el cuadro manifiesto de descompensación cardíaca. Es frecuente encontrar pulso bradicárdico, o bien irregular por arritmia, generalmente extrasistolia ventricular y a veces fibrilación auricular (Storino, 1994; 1998). En la auscultación cardíaca, puede aparecer un 2º ruido desdoblado, originado por un bloqueo de rama derecha, un 3º ruido como expresión de falla ventricular izquierda, o bien un soplo de insuficiencia mitral, consecuente a la dilatación cardíaca y a la modificación del aparato valvular. El resto del examen físico puede mostrar los signos clínicos de la insuficiencia cardíaca, como expresión más avanzada de la miocardiopatía.

En estos casos, es común hallar rales crepitantes pulmonares, ingurgitación yugular, hepatomegalia, edemas en miembros inferiores, e incluso ascitis. En algunos pacientes pueden detectarse diversos síndromes clínicos consecuentes a episodios de embolismo.

A modo de síntesis, el paciente con miocardiopatía chagásica crónica puede presentarse con episodios de arritmias y cuadros sincopales si predominan las lesiones del sistema excito-conductor, o bien evidenciar un cuadro clínico de insuficiencia cardíaca si las lesiones son preferentemente a nivel del miocardio contráctil. Sin embargo, dado que la enfermedad de Chagas representa una panmiocarditis evolutiva, generalmente se observan ambas situaciones clínicas (Storino et al., 2003; Milei, 2009).

Independientemente de la insuficiencia cardíaca, el paciente chagásico puede presentar hipotensión arterial, debido a la alteración del sistema nervioso autónomo, cuadro que se ve acen-tuado con la insuficiencia cardíaca y cuya sintomatología se agrega al estado general.

La disminución de la expectativa de vida de estos pacientes con miocardiopatía chagásica crónica, ha sido probada por numerosos estudios de seguimiento en la evolución natural (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009) y también se han descriptos hallazgos clínicos como indicadores de mal pronóstico, entre los que se destacan la hipotensión arterial sistólica, la cardiomegalia y la presencia de fibrilación auricular (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009).

También el hallazgo de aneurismas ventriculares e indicios de deterioro avanzado de la función ventricular han sido considerados como los factores desencadenantes de la producción de arritmias ventriculares malignas, generalmente asociadas con signos de insuficiencia cardíaca (Storino, 1994; 1998). Esta situación aceleraría el desenlace final de los pacientes con miocardiopatía chagásica crónica.

Con respecto al resto de los síndromes clínicos que se manifiestan en el período crónico, se encuentran las alteraciones del aparato digestivo, constituidas por la aparición de megavísceras y las lesiones del sistema nervioso, en especial la disautonomía.

Megavísceras

Se originan por la lesión de los plexos mioentéricos intramurales, en especial de Auerbach, que lleva a la progresiva dilatación de la víscera digestiva. Los órganos más comúnmente afectados son el colon y el esófago, dando origen al megacolon y megaesófago chagásico, aunque también puede causar megayeyuno-ileon, megaduodeno y megavesícula biliar (Filho, 2005).

El cuadro clínico digestivo de los pacientes chagásicos crónicos puede consistir en disfagia, vómitos, epigastralgia, constipación, odinofagia y sialosis, que se presentan en forma aislada o asociada. Los síndromes clínicos predominantes dependen del sector digestivo más comprometido, originándose trastornos de la deglución, si el más afectado es el esófago, trastornos de la secreción en el caso del estómago y glándulas salivales, trastornos de la absorción si el duodeno e intestino están alterados y trastornos de la eliminación en el caso de que el colon sea el órgano enfermo (Filho, 2005).

Disautonomía

Es la expresión más frecuente de la afectación del sistema nervioso, en este caso el autonómico. La denervación puede afectar tanto al sistema parasimpático como al simpático y puede presentarse en forma aislada o asociada con la miocardiopatía y megavisceras. Se estima que alrededor del 30% de los pacientes chagásicos presentan distintos grados de alteración del sistema nervioso autónomo (Prata, 2001). El diagnóstico clínico se confirma con la exploración de su funcionalidad en base a las maniobras semiológicas, destacándose la Valsalva, los cambios posturales de la presión arterial, el reflejo de la tos, la respuesta a la inmersión en agua fría y la variación de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial durante el ejercicio, que en el caso de disautonomía son anormales (Prata, 2001). En la etapa crónica también puede hallarse afectación del sistema nervioso central como secuela de meningoencefalitis chagásica aguda, consistente en trastornos motores y sensitivos, alteraciones psíquicas e incluso cuadros cerebelosos.

En algunos pacientes chagásicos crónicos se detectan alteraciones del sistema nervioso periférico motor y sensitivo, con trastornos electromiográficos de denervación. Muchos de estos pacientes son asintomáticos por compensación de unidades neuronales remanentes.

Las anormalidades señaladas en la etapa crónica pueden presentarse en forma aislada o asociada, aunque siempre con un franco predominio de la miocardiopatía chagásica.

Distribución Geográfica

La enfermedad de Chagas involucra al continente americano y está ampliamente difundida en América Latina. Su distribución geográfica se extiende desde el paralelo 40° de latitud norte en el sur de los Estados Unidos, hasta el paralelo 45° de latitud sur en la Argentina y Chile. Su área de prevalencia se superpone con el área de distribución geográfica de los vectores triatóminos. Se han descrito 66 especies de estos insectos infectados naturalmente con el *T. cruzi*, pero las más importantes epidemiológicamente son *Triatoma infestans*, comúnmente llamado vinchuca (Argentina, Bolivia), *Panstrongylus megistus* (Brasil) y *Rhodnius prolixus* (Venezuela) (Gürtler, 2006).

Es importante destacar que donde se encuentran las vinchucas domésticas infectadas por *T. cruzi*, la enfermedad de Chagas debe considerarse endémica.

En Argentina se calcula que existen 1.500.000 personas con serología reactiva para Chagas, lo que representa el 4% de la población del país (Prog. Fed Chagas, 2007). Esta cifra surge a partir de los datos obtenidos en bancos de sangre y embarazadas. El porcentaje de niños menores de 15 años con Chagas se estima en un 3,4% de la población total de ese grupo etario, es decir, alrededor de 306.000 niños. Existe una amplia variabilidad de las cifras según las diferentes zonas endémicas del país. Los últimos datos relevados correspondientes al 2006 (Prog. Fed Chagas, 2007), muestran un índice de infestación domiciliar por colonización de las vinchucas promedio en el país del 6% con un rango que va del 0,01% en Río Negro al 41% en Santiago del Estero. Para el mismo año la prevalencia en bancos de sangre fue de 3,12% y la de embarazadas

de 4,33% con una infección connatal promedio en el país que alcanza el 3,57% de los casos (Prog. Fed Chagas, 2007). Sin embargo, en algunas comunidades rurales aisladas, de zonas muy pobres, como por ej. Chancaní y Pocho (Córdoba), Gato Colorado y Colonia Dolores (Santa Fe), Taco Pozo (Chaco), Los Positos (Santiago del Estero), El Potrillo (Formosa) etc., se encuentra una prevalencia de individuos chagásicos que supera el 30% (Storino et al., 2003).

Diagnóstico

El diagnóstico clínico de la enfermedad de Chagas debe confirmarse con el laboratorio. Básicamente se intentará obtener el hallazgo del parásito, especialmente en la infección aguda y congénita, donde la parasitemia es muy elevada, o bien detectar la presencia de anticuerpos circulantes específicos anti-*T. cruzi*, dados por la respuesta inmune del hospedador, como sucede en la etapa crónica, donde la parasitemia es muy baja.

El diagnóstico en el paciente chagásico se basa en la asociación entre la detección del parásito y/o anticuerpos específicos, con los hallazgos clínicos y por exámenes complementarios, teniendo en cuenta que la mayor certeza se logra mediante el estudio anátomo-patológico de las lesiones, casi exclusivo de las necropsias.

Los diversos métodos de estudio de laboratorio utilizados para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas son los siguientes (Storino, 1994; 1998):

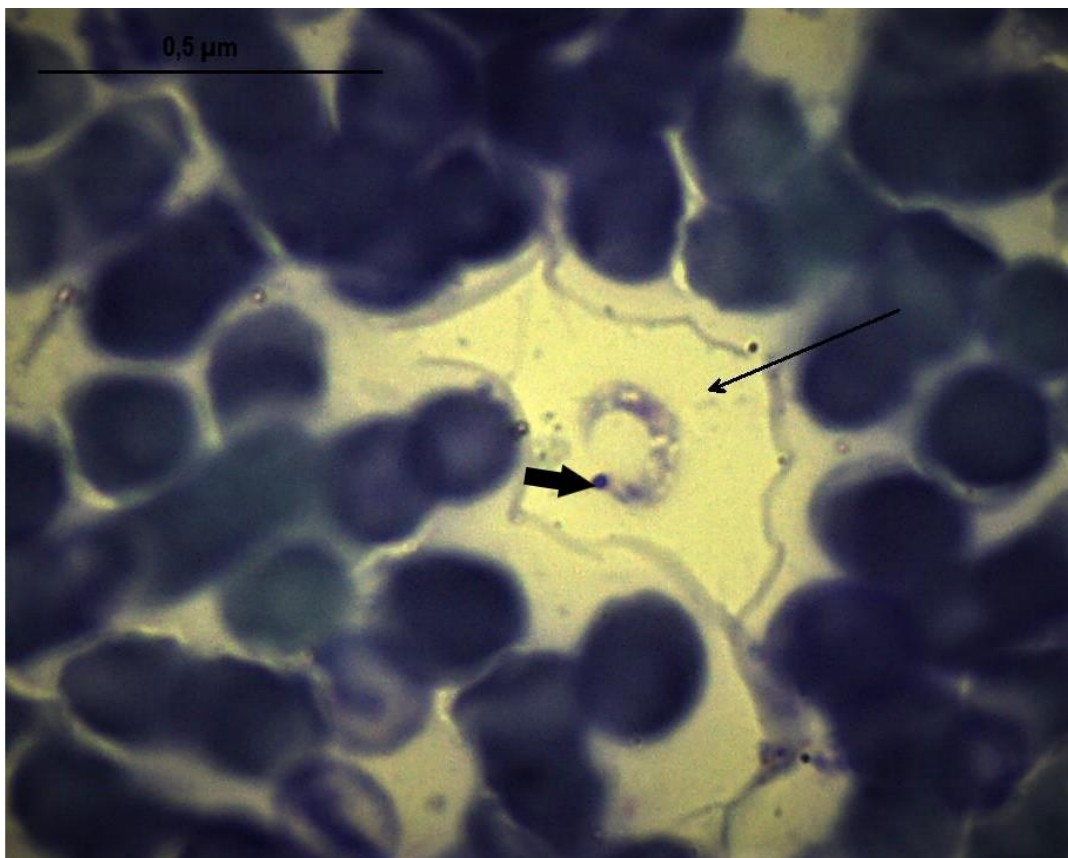


Imagen 1. *Trypanosoma cruzi* en frotis sanguíneo humano, se observa el cinetoplasto. 100X. Coloración Giemsa.

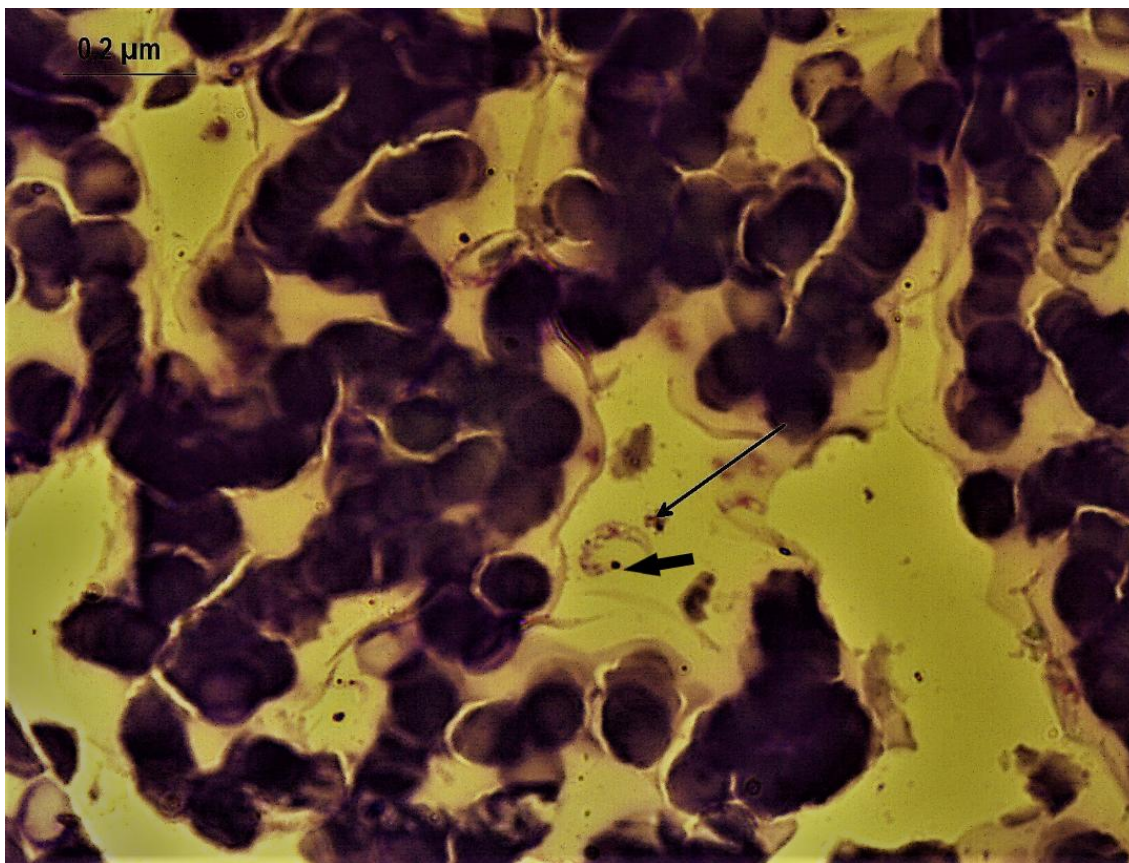


Imagen 2. *Trypanosoma cruzi* en frotis sanguíneo humano. Se observa el cinetoplasto. 100X Coloración de Giemsa.

Por búsqueda del parásito completo

Estos pueden ser de detección inmediata o tardía.

Detección inmediata

Se basan en la identificación del parásito mediante la observación al microscopio de la sangre del paciente con elevada parasitemia, acontece en la etapa aguda y congénita. Los más difundidos son:

1) Gota fresca: es el más simple y sencillo, dado que consiste en reconocer el parásito al microscopio en una gota de sangre extraída por punción digital o de sangre venosa.

2) Microhematocrito: Se utilizan capilares heparinizados con sangre periférica, que se centrifugan, se liman y se quiebran entre la capa de leucocitos y eritrocitos. La fracción de glóbulos blancos donde se encuentran los *T. cruzi* se vierte entre el porta y el cubreobjeto para observarse al microscopio.

3) Concentración de Strout: se emplea el suero sanguíneo obtenido de la retracción espontánea del coágulo, centrifugándose luego en 2 etapas, para obtener un sedimento que se utiliza para la búsqueda microscópica.

DetECCIÓN TARDÍA

En estos casos se necesitan entre 10 y 60 días para el hallazgo de *T. cruzi*. Los métodos más utilizados son: 1) Xenodiagnóstico: consiste en reproducir el ciclo natural del parásito, pero en condiciones de laboratorio, utilizando vinchucas criadas libres de infección, que se alimentan de la sangre del paciente. Técnicamente se emplean 40 insectos, divididos en 4 cajas que se aplican sobre cada uno de los miembros, durante 30 minutos. Luego entre los 30 y 60 días se observa al microscopio el contenido intestinal de las heces de los triatomíneos, que tendrán *T. cruzi* si el paciente estudiado estaba infectado.

2) Hemocultivo: se basa en el desarrollo de *T. cruzi* en diferentes medios de cultivo, utilizando sangre del paciente, extraída con anticoagulante y puesta en los tubos preparados con el medio indicado. La lectura se realiza entre los 10 y 60 días de sembrada la muestra.

Tanto el xenodiagnóstico como el hemocultivo tienen una sensibilidad similar, alcanzando alrededor del 50% en pacientes chagásicos que cursan las etapas indeterminada y crónica.

Estos métodos no solo son útiles en función diagnóstica, sino que también se emplean para evaluar la eficacia terapéutica en el seguimiento de pacientes infectados que han sido tratados.

POR IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS

Se basa en el inmunodiagnóstico a través de reacciones serológicas específicas que detectan que ese individuo en algún momento ha sido parasitado por *T. cruzi*. Tiene suma utilidad en las etapas crónica indeterminada y crónica determinada, donde la parasitemia es extremadamente baja.

No solo tienen importancia individual sino catastral, al posibilitar estudios epidemiológicos sobre prevalencia de la enfermedad.

De acuerdo al criterio de la Organización Mundial de la Salud, se necesitan 2 reacciones positivas de 3 realizadas para considerar a un individuo como chagásico. Si bien existen varias reacciones serológicas para detectar *T. cruzi*, no todas ellas poseen la misma sensibilidad y especificidad. De manera que deben elegirse aquellas que tengan el menor grado de error diagnóstico. En este sentido, las tres reacciones preferidas son, ELISA, IFI y HAI. En general se utiliza una dilución mínima de 1:32, la cual asegura la especificidad de la misma.

En laboratorios confiables con normas de control de calidad, la sensibilidad alcanza el 95% con una especificidad del 100%.

En cuanto a la tradicional reacción de fijación de complemento conocida como Machado-Guerreiro, ha dejado de utilizarse, dado que es más engorrosa y costosa, habiendo sido reemplazada por las anteriormente mencionadas.

El valor de las pruebas serológicas radica en que su positividad define a un individuo como chagásico y a partir de allí se inicia el largo camino de estudio, tratamiento, control y seguimiento de cada uno de los pacientes.

Por hallazgo de fracciones del parásito

En los últimos años se ha avanzado en el diagnóstico a partir de: 1) la búsqueda de antígenos, ya sea libres en sangre (antigenemia) y/o en orina (antigenuria), o bien unidos a anticuerpos como complejos inmunes específicos; y 2) la determinación del DNA del parásito, ya sea por el método sonda o por PCR. Estos métodos tienden a mejorar la especificidad, la sensibilidad y la reproducibilidad de las técnicas actualmente empleadas.

Si bien aún no se aplican en forma corriente dado su mayor costo, es posible que a la brevedad puedan ser usadas masivamente.

Diagnóstico complementario

La exhaustiva anamnesis y el completo examen clínico del paciente chagásico debe ser completado en todos los casos con un electrocardiograma (ECG) y una telerradiografía (Rx) de tórax. De este modo, cada paciente se podrá clasificar según su estadio clínico y el grado de alteraciones, posibilitando un seguimiento comparativo en la evolución natural de la enfermedad (Storino, 1994; 1998).

En efecto, en base a la serología reactiva para Chagas, el ECG y la Rx de tórax, los pacientes pueden ubicarse en tres grupos (G):

G I: serología positiva con ECG y Rx de tórax normales (corresponden a los pacientes sin lesiones evidentes, es decir que aún cursan la etapa crónica indeterminada).

G II: serología positiva con ECG patológico y Rx de tórax normal (corresponde a los pacientes que evidencian solo lesiones del sistema de conducción).

G III: serología positiva con ECG y Rx de tórax patológicos (corresponde a los pacientes con grado más avanzado de miocardiopatía, es decir que se agrega la dilatación cardíaca a los trastornos de conducción).

ECG: Desde la época de Carlos Chagas, todos los autores han descripto diversas alteraciones electrocardiográficas atribuibles a la enfermedad de Chagas, siendo los más frecuentes el bloqueo de rama derecha, aislado o bien asociado a hemibloqueo anterior izquierdo, la extrasístolia ventricular y los trastornos en la repolarización ventricular con cambios en el segmento ST y la onda T. También es importante destacar la frecuencia de la bradicardia sinusal, muchas veces como expresión de disautonomía o de enfermedad del nódulo sinusal y además la presencia de arritmias ventriculares graves como la taquicardia ventricular, asociada generalmente al deterioro ventricular izquierdo (Storino, 1994; 1998; Milei, 2009). En las etapas avanzadas de la cardiopatía chagásica crónica aparecen complejos de bajo voltaje generalizados y fibrilación auricular (Storino, 1994; Milei, 2009).

Rx de tórax: este método muestra la existencia de agrandamiento cardíaco, generalmente a expensas del ventrículo izquierdo, que incluso puede ser leve, moderado o grave.

En las etapas avanzadas la cardiomegalia puede llegar a ser extrema, involucrando al resto de las cámaras cardíacas.

Otros estudios cardiológicos: a fin de precisar el grado de daño miocárdico, la capacidad funcional del paciente, conducta terapéutica y las posibilidades evolutivas, es conveniente de ser posible, completar la evaluación cardiológica mediante métodos más complejos (Auger, 2002; Acquatella, 2007), como la ergometría, el ecocardiograma, el estudio Holter de 2 canales por 24 Hs., el ECG de señal promediada, y el estudio radioisotópico con cámara Gamma.

- **Ergometría:** es útil para detectar déficit de la respuesta cronotrópica durante el esfuerzo debido a depresión parasimpática sinusal. También puede representar una alternativa adecuada del estudio Holter para detectar arritmias ventriculares durante el ejercicio.

- **Ecocardiografía:** es un método valioso para detectar discinesias regionales en los estadios iniciales de la cardiopatía, encontrándose hipocinesia segmentaria y dilatación global en las etapas más avanzadas. También es frecuente el hallazgo de aneurismas ventriculares, especialmente en la zona apical.

- **Estudio Holter de 24 hs:** el monitoreo ambulatorio es sumamente útil para detectar todo tipo de arritmias, tanto auriculares como ventriculares. También puede contribuir al estudio de la disfunción del nódulo sinusal y bloqueos aurículo-ventriculares intermitentes.

- **Estudio radioisotópico nuclear:** es importante para evaluar la función ventricular, no solo izquierda sino también derecha. Además, ha demostrado alteraciones en la perfusión miocárdica regional en muchos pacientes chagásicos, avalando la disfunción a nivel de la microcirculación miocárdica.

De modo tal que estos estudios cardiológicos ponen en evidencia alteraciones más precoces que las halladas mediante el ECG y la Rx de tórax, demostrando que la evolutividad de la cardiopatía chagásica es un proceso dinámico, aunque muchas veces silente en sus primeros estadios.

Esta situación llevaría a la conclusión de que la diferencia entre un individuo chagásico infectado asintomático y un enfermo chagásico sería un eufemismo y solo dependería del método con que fuera evaluado para considerarlo en alguna de estas divisiones.

Sin embargo, dado que es necesario precisar qué le está aconteciendo a un paciente y teniendo la posibilidad de estudiarlo con todos los métodos cardiológicos modernos, podemos simplificar el criterio evolutivo hacia la miocardiopatía chagásica crónica, dividiéndolo en 4 etapas: A) Indeterminada no evolutiva, B) Indeterminada evolutiva, C) Crónica con cardiopatía no dilatada, D) Crónica con cardiopatía dilatada, cuyas características distintivas de acuerdo a los parámetros evaluados se analizan en el cuadro 1.

También es necesario reafirmar que el ECG y la Rx de tórax, siguen siendo muy útiles como lo demuestran los estudios clínico-epidemiológicos (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009), dado que mientras permanezcan normales, la evolución natural en cuanto a la mortalidad de estos pacientes chagásicos sigue siendo similar a la de la población general.

Exploración complementaria del tubo digestivo y del sistema nervioso: a partir de la detección clínica de un cuadro digestivo atribuible a la enfermedad de Chagas, se debe explorar

el tubo digestivo. Esta consistirá fundamentalmente en el estudio radiológico, mediante radioscopia esofágica y luego radiografía contrastada para evaluar la motilidad del órgano y su vaciamiento, como así también la radiografía con enema opaca de sulfato de bario para estudiar el colon. De esta forma podrá confirmarse o descartarse la presencia de megaesófago y/o megacolon chagásico.

En algunos casos incipientes puede ser necesario el empleo de métodos auxiliares, como la cintilografía, la endoscopía, la manometría y el test farmacológico de denervación, para detectar en especial las alteraciones esofágicas.

El estudio complementario del sistema nervioso dependerá del cuadro clínico y del sector comprometido, debiéndose recurrir desde test psicométricos para evaluar una disfunción cerebral mínima, pasando por estudios electromiográficos para descartar compromiso del sistema nervioso periférico, hasta llegar a pruebas farmacológicas para explorar una probable disautonomía chagásica (Storino, 1994; 1998).

Tratamiento

El tratamiento de la enfermedad de Chagas debe ser dividido en antiparasitario específico y sintomático, consecuente a las lesiones causadas en los diferentes órganos por *T. cruzi*.

Tratamiento antiparasitario

Consiste en la eliminación de *T. cruzi* de la sangre y los tejidos. De todas las drogas empleadas en el tratamiento antiparasitario, el nifurtimox y el benznidazol son las que han demostrado mayor utilidad, especialmente sobre las formas circulantes, teniendo indicación precisa en los casos agudo, congénito y transfusional (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009).

Si bien su indicación estuvo restringida durante mucho tiempo a la etapa temprana de la enfermedad dado que el tratamiento precoz no sólo limitaría, sino que incluso evitaría las lesiones, en los últimos años algunos estudios han confirmado que la presencia del parásito condicionaría la patogenia de las lesiones, especialmente a nivel miocárdico, e incluso han demostrado que los pacientes crónicos tratados evolucionan mejor que los no tratados (Viotti, 2006). De todos modos, se necesitan mayores experiencias y mejores drogas para indicar el tratamiento masivo de todos los pacientes en etapa crónica.

En la actualidad, podemos decir, que hay consenso en tratar todas las formas agudas, congénitas, transfusionales y todos los niños hasta 14 años de edad (Viotti, 2006), quedando a criterio médico según el caso, el tratamiento antiparasitario específico en las etapas crónica indeterminada y crónica determinada con pacientes de mayor edad.

Uno de los mayores inconvenientes en indicar el uso masivo e indiscriminado es la gran cantidad de efectos adversos que generan estos fármacos, que afectan en algunas casuísticas casi

al 30% de los pacientes (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009) y que incluso obligan a interrumpir el tratamiento.

La posología y efectos colaterales de los fármacos son los siguientes:

Nifurtimox

La dosis indicada en los niños es de 25 mg/Kg/día durante 15 días (ataque) y luego 15 mg/Kg/día durante 75 días (mantenimiento), hasta completar 3 meses de tratamiento. En los adultos, tanto en etapa aguda como crónica se utiliza una dosis menor, que consiste en 5 mg/Kg/día durante 15 días y luego 10 mg/Kg/día hasta llegar a los 4 meses de tratamiento.

Los efectos colaterales más frecuentemente observados son trastornos gastrointestinales, consistentes en náuseas, vómitos y epigastralgia y también alteraciones en el sistema nervioso central y periférico, esencialmente excitación psíquica, insomnio y polineuritis. Es común que se produzca una importante pérdida de peso al final del tratamiento.

Benznidazol

La dosis indicada es de 3 a 10 mg/Kg/día con una duración de 30 días en la fase aguda y de 60 días en las etapas indeterminada y crónica.

Los efectos adversos se caracterizan por reacciones cutáneas sobretodo exantema macular pruriginoso, trastornos gastrointestinales como náuseas, vómitos y diarreas, y además polineuropatías, vértigo, síndrome febril y cefalea.

Tratamiento sintomático y de las complicaciones

Involucra a las lesiones que se producen en la etapa crónica, destacándose la miocardiopatía con los trastornos de conducción, arritmias, insuficiencia cardíaca y tromboembolismo; las megavisceras y la disfunción del sistema nervioso.

Los trastornos de conducción generalmente bloqueo de rama derecha solo o asociado al hemibloqueo anterior izquierdo, no requieren tratamiento, excepto cuando se asocian a lesión del haz de His con episodios sincopales en donde se necesita la colocación de marcapasos definitivo (Storino, 1994; Milei, 2009).

Las arritmias y su detección precoz y en muchos casos inesperada plantea un dilema: tratar o no tratar. Debe recordarse que no debe tratarse sólo a la arritmia, sino a “un paciente que padece una arritmia”.

Las arritmias benignas no es necesario tratarlas, debiendo recibir medicación las formas graves con extrasistolia ventricular polifocal, duplas, tripletas e incluso con episodios de taquicardia ventricular. En estos casos las drogas de elección son la amiodarona a una dosis de ataque de 800 mg/día y luego de mantenimiento de 400 mg/día, y la mexiletina a una dosis de 300 a 600 mg/día. En muchos casos es útil la asociación de ambos fármacos. Últimamente se ha utilizado el sotalol a una dosis de 80 a 160 mg/día (Storino, 1998).

El tratamiento farmacológico de las arritmias en los pacientes chagásicos, no sólo genera en muchos casos una menor eficacia de las drogas antiarrítmicas sino también en una mayor incidencia de los efectos tóxicos. Teniendo en cuenta la coexistencia de múltiples anomalías en el paciente chagásico especialmente los trastornos de conducción, la fibrosis difusa y la disfunción ventricular, es necesario con fines prácticos clasificar las arritmias ventriculares en aisladas y repetitivas y estas últimas en no sostenidas y sostenidas. Además, previo al tratamiento farmacológico es fundamental: a) eliminar factores potenciales arritmógenos, b) realizar todos los estudios cardiológicos complementarios necesarios incluso el electrofisiológico, c) tratar la insuficiencia cardíaca en aquellos pacientes con función ventricular anormal (Storino et al., 2003; Storino, 1998).

Hemos considerado muy útil el criterio de Rassi (Rassi, 2006) referente al estudio y tratamiento de las arritmias cardíacas en el paciente chagásico, como así también la terapéutica no farmacológica en el caso de refractariedad a las drogas como se detalla en los cuadros 3 y 4.

El tratamiento clínico de la insuficiencia cardíaca en el paciente chagásico crónico no difiere sustancialmente con el de otras miocardiopatías congestivas. Sin embargo, la frecuente coexistencia de lesiones del sistema excito-conductor asociadas al deterioro de la fibra miocárdica, con la consecuente necesidad de usar drogas antiarrítmicas e inotrópicas en forma conjunta, dificultan el manejo terapéutico dada la contraindicación absoluta o relativa (según el caso) de la asociación de ambas.

Sin embargo, el tratamiento de elección de insuficiencia cardíaca del paciente chagásico crónico no debe enfocarse exclusivamente sobre la contractilidad, sino que debe hacerse sobre la precarga (volumen diastólico) y postcarga (tensión de eyección). Sólo así podrá mejorarse el gasto cardíaco y disminuir el consumo de oxígeno miocárdico. Por lo tanto, a la utilización habitual de diuréticos debe agregarse el empleo de vasodilatadores periféricos (Storino et al., 2003; Storino, 1998).

Actualmente los inhibidores de la enzima convertidora, en especial el enalapril es la droga de elección como tratamiento inicial de la insuficiencia cardíaca del paciente chagásico crónico a una dosis de 5 a 10 mg/día.

También puede utilizarse el carvedilol a dosis más bien bajas entre 3,125 mg y 6,25 mg., debiéndose recordar que muchos pacientes chagásicos cursan con alteración del sistema nervioso autónomo, es decir con bradicardia a pesar de la insuficiencia cardíaca.

El tromboembolismo debe prevenirse con la antiagregación plaquetaria a base de ácido acetilsalicílico y en caso de ser necesario se realizará la anticoagulación con dicumarínicos.

Dado que en muchos pacientes el aneurisma ventricular chagásico es el sustrato anatómico del cuadro clínico, en especial de las arritmias y tromboembolismo, su extirpación quirúrgica como alternativa terapéutica puede originar una franca mejoría de la sintomatología.

El tratamiento quirúrgico se emplea en la etapa más avanzada de la miocardiopatía chagásica crónica y consiste en soluciones paliativas como la cardiomioplastia y la operación de Batista y en soluciones más definitivas como el trasplante cardíaco.

Con respecto al trasplante cardíaco en el paciente chagásico terminal, el mejor conocimiento de la inmunosupresión en el postoperatorio con dosis menores a las habituales (dado que el *T. cruzi* causa inmunosupresión natural) ha permitido lograr en los últimos años resultados similares a los de otras miocardiopatías (Storino et al., 2003).

También hay esperanzas con el tratamiento de la miocardiopatía chagásica avanzada mediante el implante de células madre, dado que estudios iniciales parecen confirmar el éxito teniendo en cuenta la mejoría de la función ventricular en estos pacientes postratamiento (Vilas Boas, 2006).

El tratamiento de las megavísceras, en especial el megaesófago y megacolon consiste, en primer lugar, en medidas higiénico-dietéticas, como evitar alimentos muy calientes o abundantes en la noche, luego pueden emplearse drogas relajantes del esfínter inferior como la nifedipina (10 mg sublingual, 45 minutos antes de las comidas) o el uso de laxantes, hasta que en los estadios más avanzados debe recurrirse al tratamiento quirúrgico desde cardioplastías, hasta resecciones segmentarias del sector ectasiado (Storino, 1994; 1998).

El tratamiento de la disfunción del sistema nervioso dependerá del sector y magnitud del compromiso neurológico, siendo en general sintomático-paliativo, dadas las lesiones de denervación. Sin embargo, muchos de los cuadros de meningoencefalitis aguda o por reagudización en pacientes crónicos inmunodeprimidos por el SIDA presentan franca mejoría al agregarse el tratamiento antiparasitario en forma precoz (Auger, 2005).

Pronóstico

El pronóstico de la enfermedad de Chagas dependerá de varios factores que interactúan atenuando o agravando la evolución natural. En este sentido, cabe remarcar que alrededor del 75% de los pacientes chagásicos permanecen durante toda su vida en la forma crónica indeterminada, asintomáticos y sin lesiones aparentes, sólo con la serología positiva. El 25% restante evoluciona hacia el daño crónico, donde aproximadamente una tercera parte de ellos presenta complicaciones dado lo avanzado de las lesiones cardíacas, falleciendo por insuficiencia cardíaca o arritmias ventriculares graves (Storino et al., 2003; Storino, 1994; 1998; Milei, 2009).

El daño miocárdico irreversible estaría relacionado con la transmisión vectorial, el estado de desnutrición infantil, la re infestación, la permanencia en área endémica y la actividad laboral con gran esfuerzo físico. Por el contrario, la transmisión transfusional o congénita, o bien el contagio vectorial ocasional, el buen estado nutricional, el habitar fuera de área endémica sin posibilidad de reinfestaciones y la actividad sedentaria, serían factores atenuantes en el desarrollo de las alteraciones (Storino et al., 2003; Storino, 1998).

En general, podemos afirmar que el futuro de las lesiones orgánicas y en especial la miocardiopatía se define en la etapa aguda, dado que cuando esta fase es más grave, el grado de alteraciones que produce deja secuelas irreversibles.

Si bien en la enfermedad de Chagas no existen marcadores biológicos que señalen cuáles son los pacientes que van a evolucionar hacia el daño miocárdico desde la fase crónica indeterminada, algunos estudios preliminares refieren que los péptidos natriuréticos (ANP, BNP), el factor de necrosis tumoral (TNF alfa) y también las interleuquinas (IL6) serían de utilidad (Storino et al., 2003; Teixeira, 2006; Kaduo Arai, 2006).

La sobrevida de los pacientes chagásicos está condicionada a la afectación cardíaca, siendo similar a la población general en el caso de no tener alteraciones evidentes, es decir, individuos con solo serología positiva y ECG y Rx de tórax normales.

La presencia de megavisceras y/o disautonomías asociadas al daño cardíaco agravaría el pronóstico.

Profilaxis

La prevención de la enfermedad de Chagas, como fue señalada por Mazza y Jörg hace 60 años, sigue siendo el mecanismo de control más efectivo (Storino et al., 2003; Storino, 1994).

Esta debe basarse en las siguientes medidas generales:

- a) Modificación de la vivienda rural y periurbana infestada por vinchucas, con la erradicación del rancho y la instalación de viviendas aptas, con materiales económicos, adaptados al clima de cada región y particularidad de cada comunidad.
- b) Iniciación de un programa de educación sanitaria en todos los niveles y por todos los medios, llegando a la mayor cantidad de población posible.
- c) Destrucción de la vinchuca en todos los períodos de desarrollo mediante el empleo de insecticidas, impidiendo su instalación en el domicilio y sobretodo en la habitación humana.
- d) Modificación del biotopo peridomiciliario para alejar los hospedadores y transmisores silvestres y para evitar que sea refugio de las vinchucas, durante los rociados insecticidas de las casas.

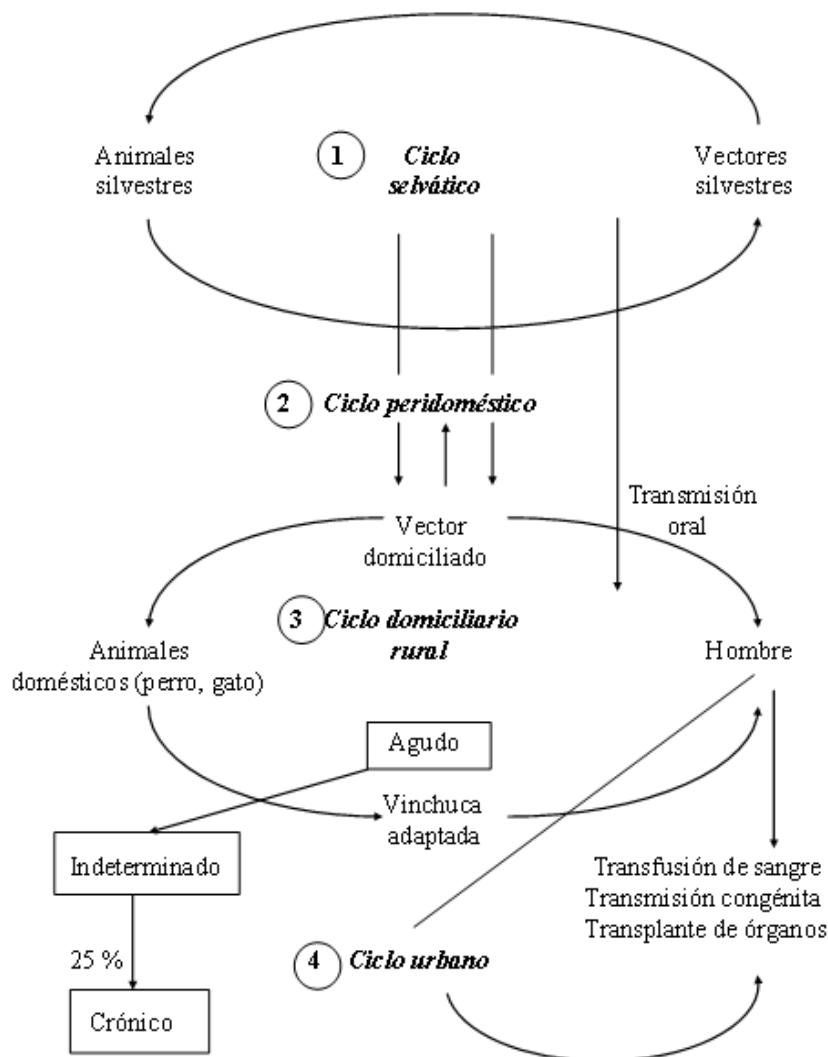
Desafíos futuros

A más de 100 años del descubrimiento de la enfermedad de Chagas quedan aún varios problemas por resolver más allá del conocimiento de la enfermedad, que constituyen las metas posibles y esperables (Dias, 2007), a saber:

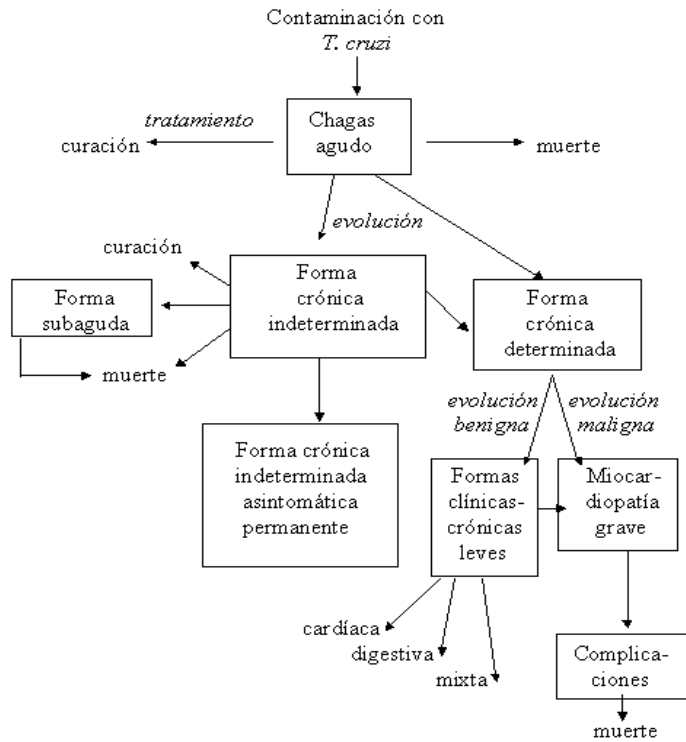
- 1) Realizar una política ambiental que evite la deforestación extensiva.
- 2) Mantener la vigilancia sobre el vector.
- 3) Controlar la transfusión de sangre en todas las áreas latinoamericanas.
- 4) Correcto manejo del Chagas congénito en todos los países que tengan la endemia.
- 5) Atención médica integral y tratamiento oportuno de los ya infectados.
- 6) Seguridad social para todos los pacientes.
- 7) Posibilidad de inserción laboral.

Por último, es necesario remarcar que la enfermedad de Chagas está ligada a la pobreza, y que su erradicación definitiva dependerá del desarrollo socioeconómico de América Latina.

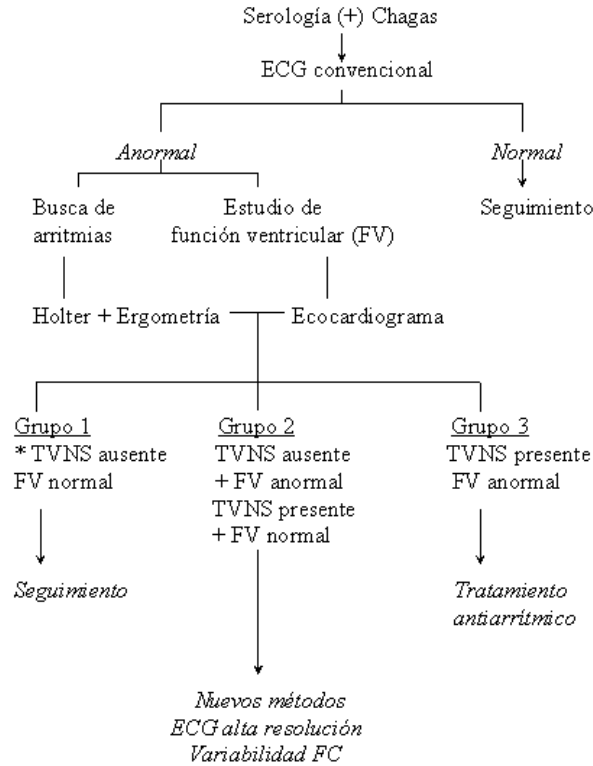
Mientras tanto, no solo es necesario concientizar a la comunidad de áreas endémicas sobre el problema de la enfermedad de Chagas sino insistir en la enseñanza médica a “pensar en chagas” como una afección que afecta a millones de habitantes pobres a lo largo de todo el continente americano y que probablemente en algún momento requieran sus conocimientos sobre esta enfermedad.



Cuadro 1. Ciclos de la Enfermedad de Chagas

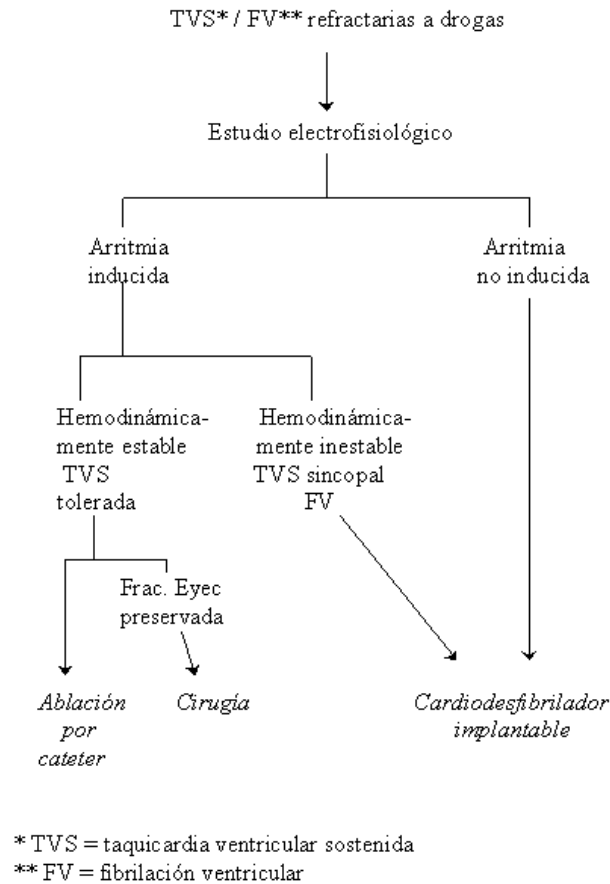


Cuadro 2. Esquema de la Historia Natural de la Enfermedad de Chagas



* TVNS = Taquicardia ventricular no sostenida

Cuadro 3. Criterio de estudio y tratamiento de arritmias cardíacas



Cuadro 4. Tratamiento no farmacológico

Formas clínicas	Etapa indeterminada		Etapa crónica con cardiopatía	
	No evolutiva (A)	Evolutiva(B)	No dilatada(C)	Dilatada (D)
Estudios	No evolutiva (A)	Evolutiva(B)	No dilatada(C)	Dilatada (D)
Síntomas	Ausentes	Ausentes	Mínimos	Manifiestos
Examen físico	Normal	Normal	Puede ser anormal	Anormal
Alteraciones del ECG	Ausentes	Ausentes	BRD.HBAI	Bloqueos bifasciculares y arritmias ventriculares. Ondas Q
Área cardíaca en la tele Rx de tórax	Normal	Normal	Normal	Aumentada
Función diastólica ventricular izquierda	Generalmente Normal	Anormalidades leves	Anormal	Anormal
Función sistólica ventricular izquierda	Normal	Leve discinesia regional	Discinesia segmentaria	Depresión global

Anatomía y función ventricular derecha	Normal	Puede estar deprimida	Frecuentemente anormal	Anormal
Defectos en la perfusión miocárdica	Generalmente Normal	Pueden encontrarse	Frecuentemente	Casi constantes
Función del sistema nervioso autónomo	Generalmente Normal	Puede ser anormal	Puede ser anormal	Frecuentemente anormal
Prueba de esfuerzo	Normal	Puede ser anormal	Puede ser anormal	Anormal
Arritmias/ Muerte súbita	Ausente	Muy rara	Poco frecuente	Frecuente
Biopsia endomiocárdica	Puede ser Anormal	En muchos casos anormal	Anormal	Anormal

Cuadro 5. Miocardiopatía chagásica crónica. Cuadro evolutivo según la clínica y los estudios complementarios cardiológicos. Modificado de Marin-Neto (Marin-Neto, 1999)

Referencias

- Acquatella, H. (2007). Echocardiography in Chagas Heart Disease. *Circulation*. 115: 1124-1131.
- Andrade, S.G., Campos, R., Sobral, S., Magalhaes, J., Guedes, R. & Guerreiro, M. (2006). Reinfections with strains of *Trypanosoma cruzi* of different biotopes as a factor of aggravation of myocarditis and myosites in mice. *Revista Sociedad Brasileña de Medicina Tropical*. 39:1-8.
- Auger, S., Storino, R., De Rosa, M., Caravello, O., Gonzalez, M., Botaro, E., Bonelli, L. & Rossini, O. (2005). Chagas y SIDA, la importancia del diagnóstico precoz. *Revista Argentina de Cardiología*. 73: 439-445.
- Auger, S., Storino, R., Iglesias Ordoñez, O., Urrutia, M.I., Sanmartino, M., Romero, D. & Jörg, M. (2002). Emergencias em pacientes com doença de Chagas na cidade de Buenos Aires, Argentina. *Revista Sociedad Brasileña de Medicina Tropical*. 35:609-616.
- Carod-Artal, F.J., Vargas, A.P., Horan, T.A. & Nadal Nunes, L.G. (2005). Chagasic Cardiomyopathy is independently associated with ischemic stroke in Chagas disease. *Stroke*. 36: 965-970.
- Coronado, X., Zulantay, I., Albrecht, H., Rozas, M., Apt, W., Ortiz, S., Rodriguez, J., Sanchez, G. & Solari, A. (2006). Variation in *Trypanosoma cruzi* composition detected in blood patients and xenodiagnosis triatomines: implications in the molecular epidemiology of Chile. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 74:1008-1012.
- Cunha-Neto, E. (1999). Repensando la patogenia de la cardiopatía crónica chagásica en el fin del milenio. *Medicina (Buenos Aires)*. 59: 496-500.
- Dias, J.C.P. (2007). Enfermedad de Chagas: las etapas recorridas y las perspectivas futuras. En: *La Enfermedad de Chagas: a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. Edit. Mundo Sano y Organización Panamericana de la Salud. pp. 37-50.
- Elizari, M.V. (1999). La miocardiopatía chagásica. Perspectiva histórica. *Medicina (Buenos Aires)*. 59 (Supl II): 25-40.

- Filho, J., De Rezende, J.M. & Melo, J.R. (2005). Electrogastrography in patients with Chagas' disease. *Digestive Diseases And Sciences*. 50: 1882-1888.
- Gürtler, R., Cecere, M., Lauricella, M., Cardinal, M., Kitron, U. & Cohen, J. (2006). Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Journal of Parasitology*. 134:1-14.
- Janes, M.J., Yabsley, M.J., Pung, O.J. & Grijalva, M.J. (2002). Amplification of *Trypanosoma cruzi* specific DNA sequences in formalin-fixed racoon tissues using polymerase chain reaction. *Journal of Parasitology*. 88: 989-993.
- Kaduo Arai, L., Gimenez, E., Jimenez, M., Pascuzo, C., Rodriguez Bonfante, C. & Bonfante Cabarcas, R. (2006). Las concentraciones séricas de interleucina-6 y proteína C reactiva se incrementan a medida que la enfermedad de Chagas evoluciona hacia el deterioro de la función cardiaca. *Revista Española de Cardiología*. 59: 50-56.
- Kierszenbaum, F. (2005). Where do we stand on the autoimmunity hypothesis of Chagas disease?. *Trends in Parasitology*. 21: 513-516.
- Laguens, R.P., Cabeza Meckert, P.M. & Vigliano, C.A. (1999). Patogenia de la miocarditis chagásica crónica humana. *Medicina (Buenos Aires)*. 59 (Supl II): 63-68.
- Marin-Neto, J.A., Simoes, M.V. & Sarabanda, A.V.L. (1999). Cardiopatía chagásica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 72: 247-263.
- Medei, E., Pedrosa, R., Benchimol, B., Costa, P., Hernandez, C., Chaves, E., Linhares, V., Masuda, M., Nascimento, J. & Carvalho, C.A. (2007). Human antibodies with muscarinic activity modulate ventricular repolarization: basis for electrical disturbance. *International Journal of Cardiology*. 115: 373-380.
- Milei, J., Guerri-Guttenberg, R. & Grana, D. Storino, R. (2009). Prognostic impact of Chagas disease in the United States. *American Heart Journal*. 157: 22-29.
- Morin, E. (2003). La inteligencia ciega. En *Introducción al pensamiento complejo*. Edit. Gedisa, Barcelona. Cap. 1, p. 27-35.
- Porcasi, X., Catala, S., Hrellac, H., Scavuzzo, M. & Gorla, D. (2006). Infestation of rural houses by *Triatoma infestans* (Hemíptera: Reduviidae) in southern area of Gran Chaco in Argentina. *Journal of Medical Entomology*. 43: 1060-1067.
- Prata, A. (2001). Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Diseases*. 1: 92-100.
- Programa Federal de Chagas, (2007). Informe Argentina 2006. *Reunión Conjunta de las Iniciativas Subregionales de Prevalencia y Control de Chagas en América del Sur (INCOSUR)*. Ministerio de Salud de la Nación.
- Rassi, A. Jr., Rassi, A., Little, W., Xavier, S., Rassi, S., Rassi, A.G., Rassi, G.G., Hasslocher, A., Sousa, A. & Scanavacca, I. (2006). Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. *New England Journal of Medicine*. 355: 799-808.

- Ribeiro, P.A., Gimenez, D.L., Hernandez, Q.C., Carvalho, C.A., Teixeira, M.M., Guedes, C.V., Barros, L.M., Lombardi, F. & da Costa Rocha, M.O. (2007). Early occurrence of anti-muscarinic auto-antibodies and abnormal vagal modulation in Chagas disease. *International Journal of Cardiology*. 117: 59-63.
- Schmunis, G. (2007). Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 102: 75-85.
- Storino, R., Jörg, M. & Auger, S. (2003). *Atención médica del paciente chagásico. Manual Práctico, un enfoque biológico, antropológico y social*. Editorial Ediprof, Buenos Aires. Cap. 1:11-15.
- Storino, R. & Milei, J. (1994). Introducción. Enfermedad de Chagas, Storino R, Milei J. Edit. Mosby-Doyma Argentina, Buenos Aires. Cap. 1:1-7.
- Storino, R. Enfermedad de Chagas. (1998). En: *Medicina*, Mautner B. et al. Edit. Fundación Favaloro. Buenos Aires. Cap. 25: 774-783.
- Storino, R. (2008). Enfermedades de la pobreza. En: *Diccionario Latinoamericano de Bioética*, Tealdi J.C. Director. UNESCO/Red Latinoamericana y del Caribe de Bioética/Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Teixeira, A.R.L., Nascimento, R.J. & Sturm, N.R. (2006). Evolution and pathology in Chagas disease. A Review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 101: 463-491.
- Vilas Boas, F., Feitosa, G.S., Soares, M.B., Pintho Filho, J., Mota, A. & Goncalvez Almeida, A.J. (2006). Early result of bone marrow cell transplantation to the myocardium of patients with heart failure due to Chagas disease. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 87: 159-166.
- Viotti, R., Vigliano, C., Lococo, B., Bertocchi, G., Petti, M. & Alvarez, M. (2006). Long term outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a non randomized trial. *Annals of International Medicine*. 144: 772-774.

CAPÍTULO 25

Trypanosoma spp. Trypanosomosis animales y humanas

María Cristina Salomón

Generalidades

La bibliografía indica que los primeros tripanosomas existían desde hace aproximadamente 680 millones de años, posiblemente parasitando mamíferos primitivos en el actual continente africano. Su extensa historia posiblemente coevolutiva con mamíferos e insectos, es tal vez la razón de la gran cantidad de especies y subespecies que en la actualidad producen enfermedades a través del mundo. Constituyen un grupo monofilético en el que existen tripanosomas patógenos y algunos, con un alto poder antroponóico.

Su nombre deriva del griego *trypaō* que significa taladro y *soma*, cuyo significado es cuerpo, debido al movimiento característico de los protozoos de este género.

La mayoría de las especies conocidas hasta el presente comparten la característica de desarrollarse en un ciclo diheteroxeno que se cumple entre mamíferos e insectos chupadores. Sin embargo, algunas especies como *T. vivax* por ejemplo, pueden desarrollar un ciclo monoxeno.

La organización y expresión de los genomas es muy similar entre las especies. Todos se reproducen de manera asexual por fisión binaria simple.

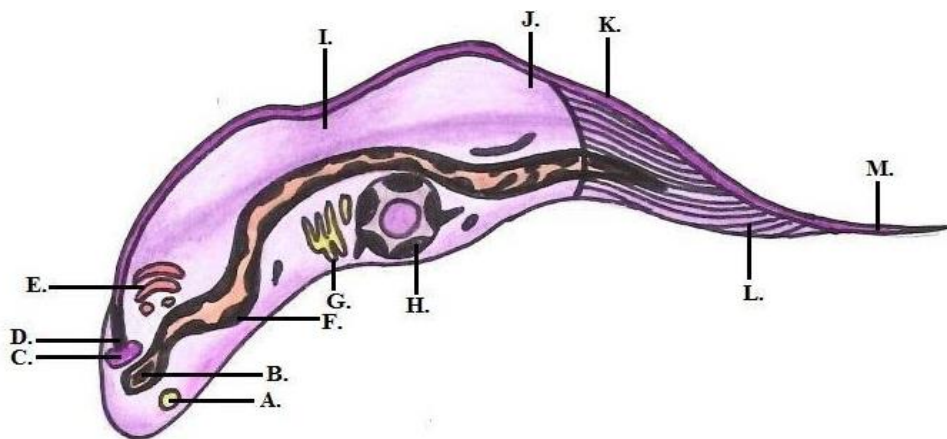
Estos hemoparásitos causan grandes pérdidas económicas cuando infectan al ganado y serios problemas de salud pública cuando infectan al hombre como, por ejemplo *T. brucei* en África y *T. cruzi* en América, especie que se desarrolla en otro capítulo.

Morfología

Estos protozoos cambian de estadios y por tanto de estructura, según el desarrollo de su ciclo evolutivo y según la especie.

La forma tripomastigote es común a todas las especies, ya que es un atributo del género, aunque su tamaño varía, llegando a medir hasta 25 a 30 μm . Es la forma que se presenta en el hospedador vertebrado

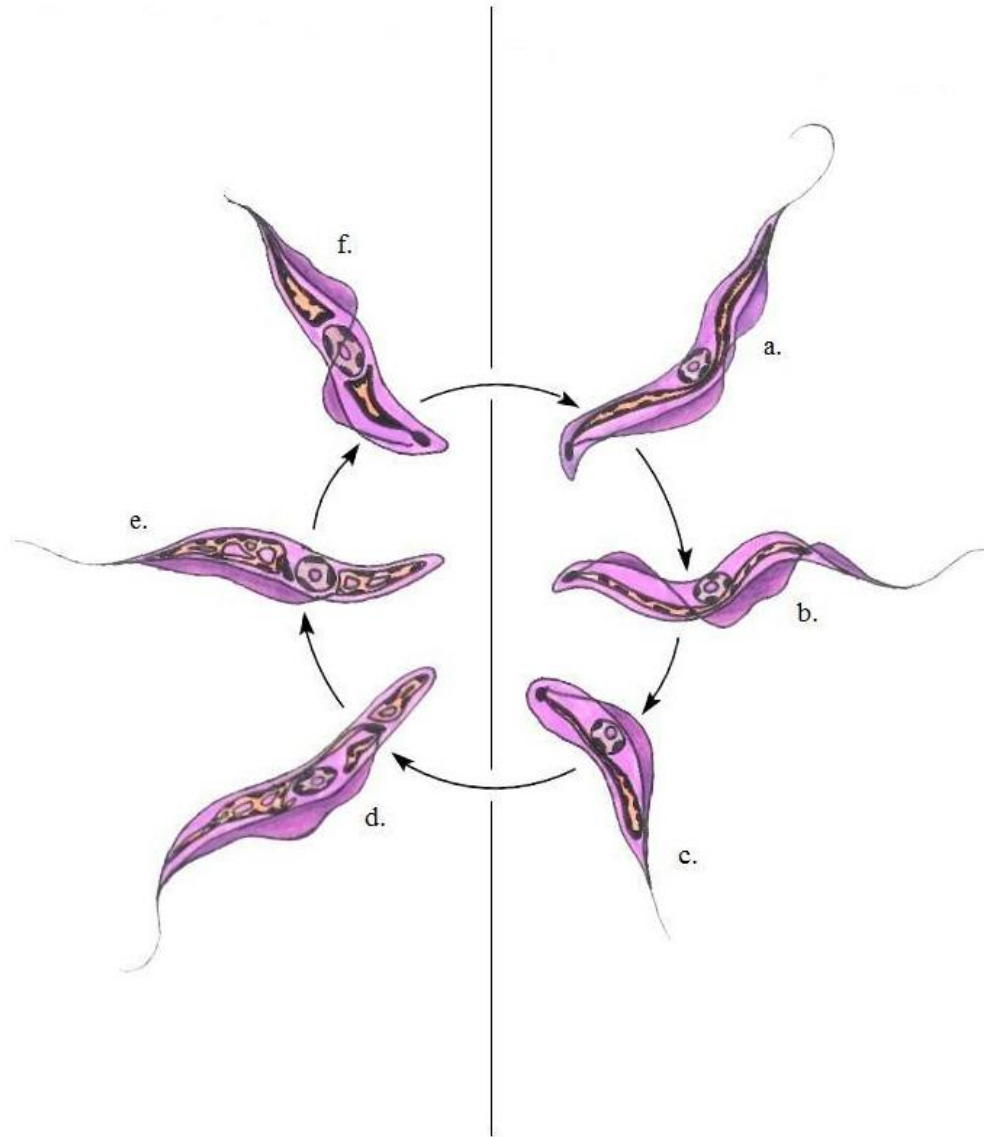
Es fusiforme con un flagelo anterior que se apoya en una estructura de citoesqueleto ubicada en la parte anterior del parásito. Posee un único núcleo voluminoso que ocupa la parte media del cuerpo. Su única mitocondria recorre el cuerpo longitudinalmente hasta el cinetoplasto, estructura que contiene el genoma mitocondrial y que suele encontrarse generalmente subterminal. En esta zona terminal también se encuentra el glucosoma y el bolsillo flagelar, cuya función es la nutrición del parásito por pinocitosis. Muy cercano al bolsillo flagelar se encuentra el cuerpo basal con la función de organizar el citoesqueleto para dar origen al flagelo, que en su recorrido por el parásito, forma una membrana ondulante muy larga que queda fijada a la membrana ondulante y al cuerpo celular (Figura 1).



A. Glucosoma; B. Cinetoplasto (genoma mitocondrial); C. Bolsillo flagelar; D. Cuerpo basal; E. Aparato de Golgi; F. Mitocondria; G. Retículo endoplásmico; H. Núcleo; I. Membrana ondulante; J. Unión del flagelo a la membrana ondulante; K. Fijación del flagelo al cuerpo celular; L. Citoesqueleto complejo subyacente; M. Flagelo anterior

Figura 1. Morfología de tripomastigote

El epimastigote tiene una morfología similar al tripomastigote con la diferencia de la posición del cinetoplasto, que en este caso se encuentra en la parte anterior del parásito, generando así una membrana ondulante mucho más corta (Figura 2).



a. Formas delgadas; b. Formas intermedias; c. Formas rechonchas; d. Forma cíclica; e. Epimastigote; f. Forma metacíclica

Figura 2. Formas de *Trypanosoma*.

Ciclo biológico

Tal como hemos anticipado, las especies de este género cumplen en general un ciclo diheteroxeno entre un hospedador invertebrado y un vertebrado (Figura 3). Cabe aclarar en este punto, que no se pueden designar a los hospedadores como intermediario y definitivo, ya que el género *Trypanosoma* no presenta reproducción sexual.

Cuando un insecto infectado se alimenta del hospedador vertebrado, inocula las formas delgadas del parásito que se multiplicarán por fisión binaria longitudinal una gran cantidad de veces en el torrente sanguíneo mamífero. Estas formas dan lugar a los tripomastigotes, a las formas intermedias y luego a las rechonchas que constituyen el elemento infectante para el vector.

Cuando un insecto sano se alimenta del mamífero infectado, las formas rechonchas dan origen a la forma poliliclica. Obsérvese que el cuerpo basal en esta forma es posterior pero no subterminal como se describió para la forma tripomastigote. Se divide activamente y al ingresar a proventrículo y las glándulas salivales se transforma en epimastigote y vuelve a multiplicarse para transformarse ahora en la forma metacíclica, que será inoculada al mamífero en un próximo acto de alimentación, cerrando así el ciclo. El mosquito pica al rumiante y el parásito entra al tejido subcutáneo a través de la picadura, se dirige hasta los nódulos y vasos linfáticos, pudiendo llegar así a distintos órganos y sistemas del mamífero.

Algunas especies de *Trypanosoma* que cumplen un ciclo monoxeno se transmiten también por contaminación mecánica, mediante artrópodos en los que el protozoo no se desarrolla.

T. equiperdum se desarrolla también en un ciclo monoxeno, pero la vía de infección es venérea.

Este género produce la enfermedad llamada en la gran mayoría de las publicaciones tripanosomiasis sin embargo el nombre correcto y que adopta la Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE) es tripanosomosis.

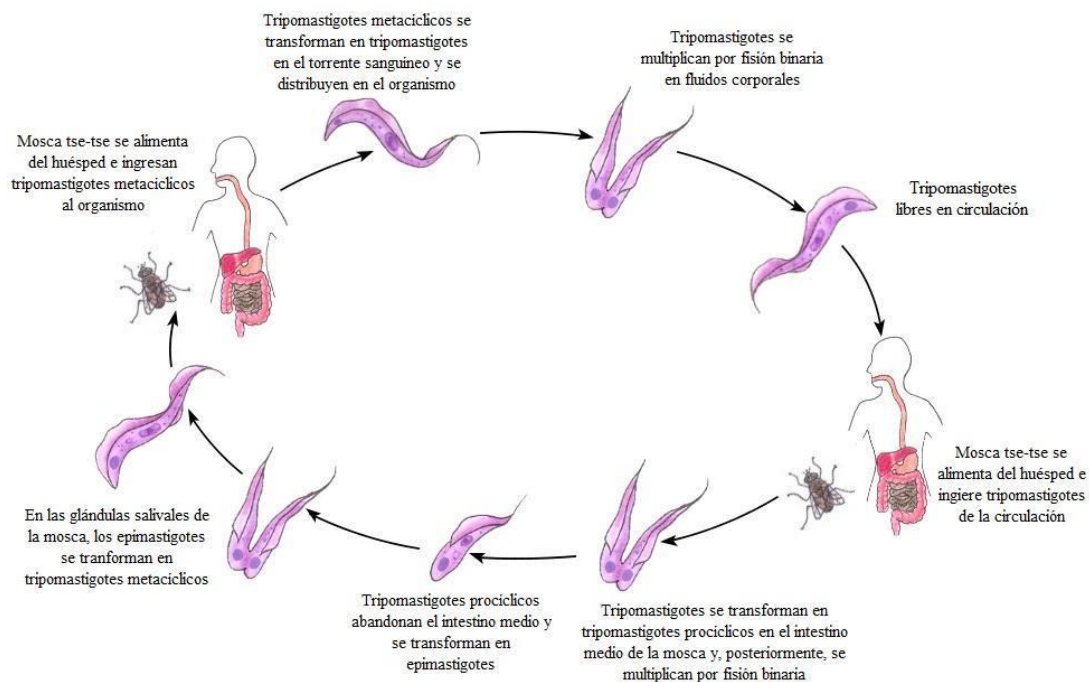


Figura 3. Ciclo biológico del género *Trypanosoma*.

Especies

La Familia Tripanosomatidae se divide en dos tipos según la forma de transmisión del vector:

- Salivaria, transmisión activa por inoculación del contenido de las glándulas salivares (*T. vivax*, *T. evasi*, *T. brucei*, *T. congolense*).

- Stercoraria transmisión pasiva por contaminación con las heces depositadas en el sitio de alimentación *T. cruzi*.

En el género *Trypanosoma* se han incluido una gran cantidad de especies cuya distribución geográfica está definida, en la mayoría de los casos, por la presencia del vector en zonas determinadas. Infecta a una gran variedad de hospedadores de muy diversos taxones y los hospedadores invertebrados que la transmiten (biológica o mecánicamente), también son diversos. Debido a la gran complejidad de este género, en el que una misma especie puede causar diferentes enfermedades según la región geográfica de que se trate y por otra parte, la misma enfermedad puede ser producida por más de una especie de tripanosoma, al no existir una relación unívoca entre especie/enfermedad, en este capítulo se desarrollará la especie más frecuente y la enfermedad que produce en forma conjunta. Se establecerán dos grandes grupos bien diferenciados geográficamente, América Latina y África.

Respecto a los hospedadores vertebrados, en su mayoría son mamíferos, pero se ha descrito *T. avium*, que infecta aves y *T. boissoni* que parasita tiburones y rayas.

***Trypanosoma* y tripanosomosis en América Latina**

Las especies más frecuentes son *T. vivax*, *T. evansi* y *T. equiperdum*.

El género *Trypanosoma* fue introducido en América aproximadamente en el año 1830, en la zona de las Antillas, desde donde se extendió a los países de la región. Actualmente es endémico en Costa Rica, Colombia, Venezuela, Perú, Bolivia, Panamá, Paraguay, Ecuador y en los últimos años fue reportado en Brasil y Argentina.

La patogénesis de la tripanosomosis en América Latina es muy similar, independientemente de la especie que lo esté produciendo y según la etapa de evolución de la enfermedad en el vertebrado.

Al inicio, luego de la inoculación del tripanosoma metacíclico por el vector, se produce la primera etapa de la infección, caracterizada por parasitemia. El organismo responde secuestrando y lisando los eritrocitos, lo que lleva a una hemólisis extravascular, con la consecuente anemia de tipo hemolítica, de instalación aguda e intensa. En un período de 1 a 3 meses, el hematocrito desciende a valores alrededor del 20%. Si alcanza valores cercanos al 15% se produce la muerte del animal en esta etapa. En caso contrario, este proceso continúa, dando lugar a la segunda etapa en la que se produce una inhibición de la eritropoyesis, ahora sin parasitemia detectable. Esta evolución de la infección determina la posibilidad de tratamiento antiparasitario exitoso ya que sólo será efectivo si se realiza durante la primera etapa.

A esto se suma un efecto deletéreo, con daño tisular, por la presencia de los metabolitos excretados por el parásito al utilizar la glucosa producida por el mamífero. Como consecuencia, se deteriora la composición corporal del animal.

Otra acción importante que ejerce el tripanosoma es el daño mecánico, que se produce a nivel de los vasos sanguíneos de pequeño calibre por el movimiento del parásito.

En otro aspecto, el sistema inmunológico del animal no resulta eficiente, por lo que la infección no se autolimita. Ocurre que el tripanosoma tiene la capacidad de cambiar sus antígenos de superficie, de tal manera que, una vez ha generado la respuesta específica humoral (formación de anticuerpos), cambia su expresión génica y no es ahora reconocido por los anticuerpos formados previamente. Este proceso continúa retroalimentándose hasta agotar la capacidad de variabilidad antigénica del parásito.

T. vivax

Parásito de bovinos, búfalos, ovinos, cabras, y en Brasil se lo ha reportado también en caballos.

Su vector es un insecto del género *Glossina*, que no existe en América, razón por la cual, al no encontrarse el vector habitual, el parásito es transmitido en forma mecánica por dípteros como la mosca brava (*Stomoxys calcitrans*), el tábano (diferentes géneros de la Familia Tabanidae) y menos frecuentemente por mosquitos y algunos géneros de la Familia Simuliidae. Produce una enfermedad conocida en América como secadera (Greif et al., 2015).

Secadera

Signología clínica

Las manifestaciones clínicas dependen del estado de avance de la enfermedad. Inicialmente se presentan las lesiones primarias en los vasos sanguíneos, incluyendo el sistema linfático y el corazón. Confluyen en este momento daños de diferente origen: a) mecánicos, que ejerce el parásito por sus movimientos, b) tóxicos, por los productos metabólicos del protozoo, c) inmunomediados. Si la enfermedad avanza y se hace crónica, se deteriora el sistema cardiovascular y se producen las lesiones secundarias, que afectan otros tejidos, como el bazo y el hígado, con una importante disfunción de los mismos. Invade y daña también los órganos reproductivos del animal.

La secadera tiene en general un período de incubación que dura entre 4 y 30 días, para luego desarrollar una infección aguda, que puede llevar a la muerte del animal, o hacerse crónica con daños multisistémicos que, en suma, producen como consecuencia una disminución de fertilidad del rebaño.

En algunos casos la infección es asintomática y el animal se constituye en un portador (muy importante epidemiológicamente), silenciosa fuente de infección para los vectores (Gonzatti et al., 2014).

Son muchos los signos clínicos generales:

- Fiebre recurrente

- Anemia con pancitopenia
- Anorexia y emaciación
- Síndrome hemorrágico y coagulación intravascular
- Adenopatía generalizada
- Edema e incoordinación de miembro posterior
- Aumento de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria
- Caída súbita de la producción de leche
- Inmunodepresión

Se producen además lesiones con cambios estructurales y funcionales en:

- Ovario, con la subsecuente irregularidad de ciclo estral
- Útero gestante, que produce muerte fetal y aborto
- Testículo, con atrofia y degeneración de túbulos seminíferos

T. evansi

Se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, principalmente en zonas tropicales o subtropicales. Parásito de caballos, burros, camellos y ciervos, pero también parasita monos, perros, gatos, ganado vacuno y ovino, cerdos, búfalos y pequeños rumiantes.

En algunas oportunidades infectan mamíferos salvajes, los que desempeñan el importante rol epidemiológico de reservorios, como por ejemplo el carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*).

En América, es transmitido en forma mecánica por una gran variedad de dípteros. Otras vías de transmisión son la vía oral (alimentación con tejidos, sangre infectada y leche), directamente entre animales (mordeduras y lamidos) y la vía venérea. Se menciona además una vía de carácter iatrogénico (uso de jeringas o materiales quirúrgicos contaminados). Recientemente, se ha publicado la transmisión vectorial por la mordedura del murciélago vampiro *Desmodus rotundus*, que además actúa como reservorio del parásito.

Produce una enfermedad que recibe distintos nombres según la zona geográfica de que se hable, aunque derrenguera y surra son las más habituales.

Derrenguera

También denominada surra, mal de las caderas o murriña, ocurre con una amplia distribución geográfica en razón de los múltiples mamíferos, tanto domésticos como salvajes, que puede parasitar y a la capacidad de *T. evansi* de reproducirse en América, con un ciclo monoxeno en ausencia del vector.

Signología clínica

Es una enfermedad anemizante grave, aunque la susceptibilidad del hospedador y la evolución de la enfermedad dependen en gran medida del género del hospedador. El caballo por ejemplo es un animal muy susceptible con un desenlace generalmente fatal.

Los signos frecuentes en la etapa aguda son:

- Fiebre recurrente
- Anemia
- Edemas oculares, orales y de miembros posteriores
- Edemas subcutáneos
- Anorexia
- Caquexia
- Letargia
- Ceguera
- Alteraciones de la homeostasia

Diagnóstico

El diagnóstico de secadera y de derrenguera se realiza por la identificación del protozoo en sangre del animal.

Consiste en la observación microscópica de frotis sanguíneo coloreado con Giemsa. Se debe tomar la muestra a primera hora de la mañana, de un vaso sanguíneo de tamaño regular y bien conservado. Si el frotis se va a realizar en otro momento o lugar, se debe anticoagular la muestra para su traslado. La observación microscópica deberá realizarse a 100X (Imagen 1).

Otro método consiste en cargar con la sangre recién extraída dos capilares heparinizados y fijarlos en un portaobjeto por sus extremos con cinta adhesiva. La observación al microscopio se debe realizar a 400x para detectar el movimiento de los tripanosomas, si los hubiera. No debe mediar demasiado tiempo entre la carga del capilar y la observación microscópica, para evitar falsos negativos por inmovilización de los tripanosomas en la muestra.

Estos métodos no tienen demasiada sensibilidad y tampoco permiten diferenciar especies, salvo con el grado de presunción.

Se utilizan también los métodos de concentración de parásitos como la técnica de Gota gruesa o centrifugación previa de la muestra.

Se usa además el inmunodiagnóstico indirecto como la fijación de complemento, Enzimoinmunoensayo e Inmunofluorescencia indirecta.

Se están usando técnicas de biología molecular como la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para amplificar una fracción específica del genoma del protozoo. Aunque hasta el momento no se ha podido encontrar una secuencia suficientemente específica para cada una de las especies, existen pares de cebadores que permiten determinar grupos de especie.

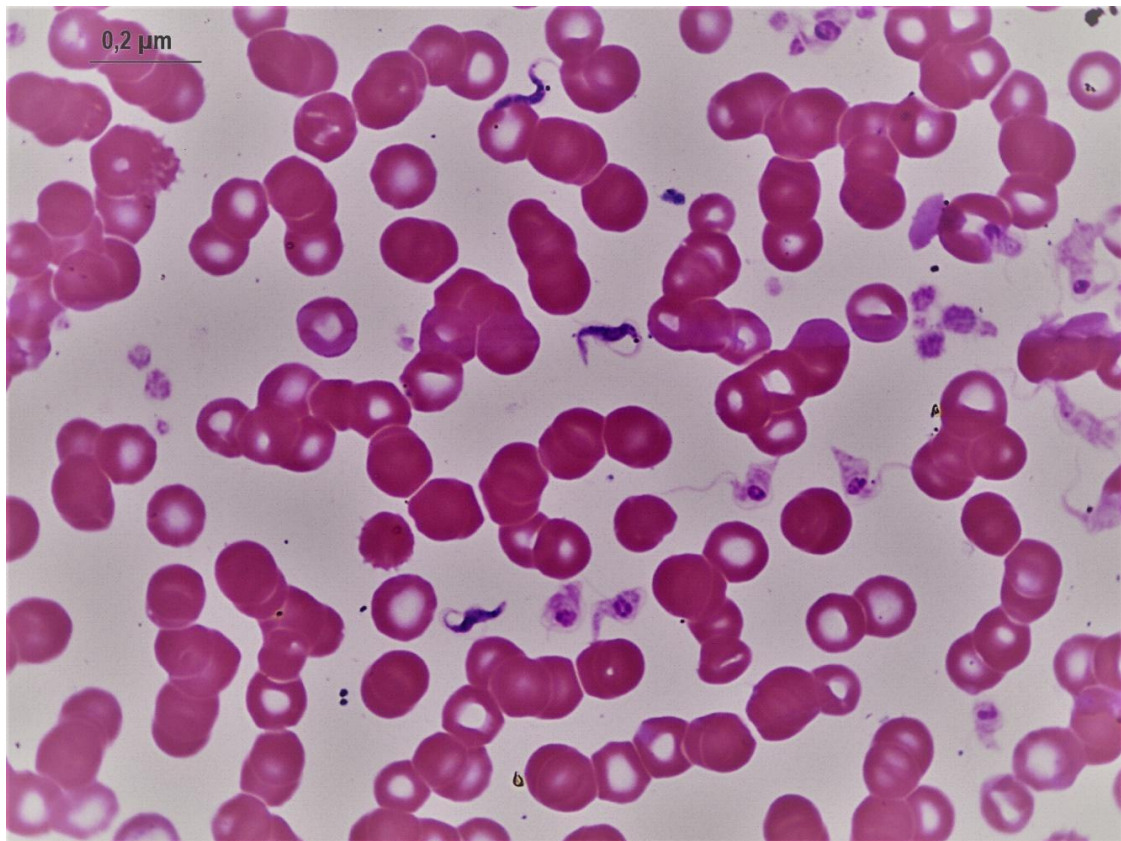


Imagen 1. Observación microscópica de *T. evansi*. 100X.

Tratamiento

Existen diversas drogas antiprotozoos y se debe considerar que muchas de ellas sólo actúan en las etapas de parasitemia.

- Aceturato de diminazene.
- Cloruro de isometamidium.
- Cloruro o bromuro de homidio.
- Dimetilsulfato o cloruro de quinaprinamina.
- Suramina.
- Clorhidrato de melarsomina.

Prevención y control

La mayor parte de las medidas preventivas se centran en el control de los dípteros transportadores y el control veterinario de los animales. No se conoce hasta el presente una protección mediante vacunas.

T. equiperdum

Tiene como hospedadores a los equinos, en los que se desarrolla en un ciclo monoxeno. A diferencia de otros tripanosomas, se transmite sexualmente y es un protozoo de tejido muy

difícil de encontrar en la sangre. Produce una enfermedad llamada durina que se encuentra también en África.

Durina

Se caracteriza por una gran variabilidad en el período de incubación, la evolución, la gravedad de los daños y la duración de la enfermedad. Está presente también en gran parte de Asia, Rusia, zonas de Oriente Medio, suroeste de Europa, Sudamérica y África.

Cumple un ciclo monoxeno, con transmisión venérea a través del coito y se produce porque el protozoo puede atravesar membranas intactas, permanecer inicialmente en la superficie mucosa y posteriormente invadir los tejidos, formando placas edematosas en el tracto genital. Pueden pasar a sangre y alcanzar otras regiones del organismo. Ocasionalmente los potros pueden infectarse durante el parto o por ingestión de leche contaminada. (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2019).

Signología clínica

Inicio:

- descarga vaginal
- edema en genitales y mamario.

Progreso:

- aparición de placas cutáneas edematosas en genitales
- fiebre
- lesiones oculares
- crujido articular
- debilidad, ataxia
- parálisis facial unilateral
- pérdida de peso, emaciación
- anemia

Si bien todos los signos son importantes, la presencia de las placas edematosas en los genitales es patognomónica de la durina. Son lesiones inflamatorias características, con exudado gelatinoso.

Generalmente los síntomas varían en intensidad y gravedad con el tiempo, antes de la recuperación o muerte del animal.

Diagnóstico

El diagnóstico puede orientarse por los signos clínicos en zonas endémicas y confirmarse mediante la identificación microscópica del parásito en sangre, exudados o aspirados de las zonas edematosas, secreciones vaginales de las yeguas y líquido seminal, exudado mucoso del pene y prepucio de los sementales.

Se usa también el diagnóstico serológico; así, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), aconseja la fijación de complemento como método diagnóstico establecido para el movimiento internacional de équidos. Otras pruebas serológicas disponibles son inmunofluorescencia indirecta (IFAT), enzimoimmunoensayo (ELISA) o inmunodifusión en gel de agar (AGID) entre otras.

Tratamiento

No se recomienda su tratamiento, porque los animales mejoran clínicamente, pero permanecen como portadores. Constituye una enfermedad de declaración obligatoria, por lo que los animales infectados deben notificarse a las autoridades sanitarias de la OIE y sacrificarse.

Prevención y control

El control de la enfermedad en los países endémicos se basa en la notificación y el sacrificio sanitario de los animales infectados. El control del movimiento internacional de équidos y del semen de équidos está a cargo de la legislación en cada país y del Código Terrestre de la OIE. Como medida preventiva se recomienda una higiene adecuada en las cubriciones asistidas (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2021).

***Trypanosomas* y tripanosomosis en África**

Algunas de las especies más frecuentes son *T. vivax*, *T. congolense* y *T. brucei*, con sus tres subespecies *T.b. rhodesiense*, *T.b. gambiense* y *T.b. brucei*.

La infección por *T. vivax* en África se produce con un ciclo diheteroxeno, teniendo como vector a moscas del género *Glossina* (Tsé Tsé) que se muestra en la Fig.3. Parasitan bovinos, caprinos, ovinos, búfalos, gamos, antílopes, equinos y varias especies de ungulados silvestres. La enfermedad que produce recibe el nombre vulgar de surra, cachera y cacho hueco (Gonzatti et al., 2014).

Existen además otras especies del género *Trypanosoma* productoras de surra. La enfermedad presenta signos muy similares a los de la secadera ya descrita y su diagnóstico y tratamiento también son similares.

T. congolense

Parásito de vacunos, caballos y camélidos

Nagana

La enfermedad que causa se denomina vulgarmente nagana que en zulú significa “estar deprimido o decaído”. Son también agentes etiológicos de nagana *T. vivax* y *T. brucei brucei*. *T. congolense* produce la forma crónica, en tanto *T. vivax* y *T. brucei brucei* la forma aguda.

Signología clínica

Los signos de la forma aguda son:

- Fiebre intermitente
- Anemia
- Edema
- Lagrimeo
- Inflamación de los ganglios linfáticos
- Aborto
- Disminución de la fertilidad
- Anorexia con disminución del peso

Esta forma aguda lleva a la muerte del animal rápidamente.

Los signos de la forma crónica son:

- digestivos
- nerviosos
- caquexia

Esta forma crónica, más lenta, también lleva a la muerte del animal

T. brucei. Las dos subespecies *T.b. rhodesiense* y *T.b. gambiense* infectan al ganado bovino produciendo también nagana, pero son antropozoonóticas. La transmisión es vectorial por diversas especies del género *Glossina* conocidas como la mosca Tse tsé. En el ser humano se reconoce también la transmisión vertical transplacentaria. Produce la enfermedad del sueño.

La infección por *T.b. gambiense* es endémica en las regiones occidental y central de África y por *T. b. rhodesiense* en la región oriental de África. La Organización Mundial de la Salud ha dirigido la erradicación de la tripanosomosis africana y como resultado de los esfuerzos de control, ha habido una disminución dramática (> 95%) en el número de casos informados en todo el mundo durante los últimos 20 años. En promedio, 1 caso se diagnostica en los Estados Unidos cada año.

El ciclo heteroxeno no tiene diferencia con el explicado a nivel de género, caracterizándose en la primera etapa de la infección, por la presencia de parasitemia. En un período avanzado, los tripanosomas aparecen en el líquido intersticial de varios órganos, como el miocardio y por último, en el sistema nervioso central.

Los seres humanos son el principal reservorio de *T. b. gambiense*, pero esta especie también parasita animales. El principal reservorio de *T. b. rhodesiense* lo constituyen los animales salvajes.

El diagnóstico se realiza por la identificación del protozoo en las muestras, utilizando las mismas técnicas mencionadas anteriormente y recurriendo a PCR para identificar grupos de especies.

Tratamiento

- Quinapiramina,
- Cloruro de isometamidio,
- Bromuro de homidio.

Prevención y control

Se basan en el control de la mosca tse-tsé. Debido a los grandes daños que produce y a los obstáculos que representa para el desarrollo de una industria ganadera productiva y sostenible, se han intentado tres estrategias principales para el control ambiental a gran escala:

- El desbroce de grandes extensiones de terreno
- La eliminación de animales
- La fumigación extensiva con insecticidas

Las tres estrategias han tenido éxito, pero han resultado insostenibles por el alto costo que implican y la frecuencia con que deben realizarse.

El uso de rejillas impregnadas de insecticidas ha dado buenos resultados y es posible su uso continuado (Sellon, & Long, 2014).

Referencias

- Gonzatti, M.I., González-Baradat, B., Aso, P.M. & Reyna-Bello, A. (2014). *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* and trypanosomosis in Latin America: secadera/huequera/cacho hueco. In *Trypanosomes and Trypanosomiasis* (pp. 261-285). Springer, Vienna.
- Greif, G., Rodriguez, M., Reyna-Bello, A., Robello, C. & Alvarez-Valin, F. (2015). Kinetoplast adaptations in American strains from *Trypanosoma vivax*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 773: 69-82.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2019). Durina. En: Código Sanitario para los Animales Terrestres. 2 (12.3) Recuperado de: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_dourine.pdf.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2021). Dourine. En: *Fichas técnicas*. Recuperado de: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/DOURINE.pdf
- Sellon, D.C. & Long, M. (2013). *Equine infectious diseases* E-book. Elsevier Health Sciences.

CAPÍTULO 26

Leishmania infantum. Leishmaniosis visceral canina

Oscar D. Salomón, Victoria Fragueiro Frías y Vanesa Negri

Generalidades

Las leishmaniosis son un conjunto de enfermedades antropozoonóticas producidas por la infección de parásitos del género *Leishmania* en hospedadores vertebrados, distribuida en 98 países, principalmente en el cinturón intertropical del mundo. La población expuesta se estima en 350 millones de personas, con unas 15 millones efectivamente infectadas (Alvar et al., 2012). Incluye un amplio espectro fisiopatogénico, producido por diferentes especies de parásitos, insectos vectores Phlebotominae, reservorios mamíferos y hospedadores ocasionales, en ciclos que comprenden escenarios epidemiológicos muy diversos del desierto a la selva húmeda, del ámbito silvestre al doméstico rural y urbano.

En América se registran hasta el momento 12 de las 22 especies de *Leishmania* capaces de producir cuadros clínicos en humanos, desde las expresiones cutáneas, mucosas por primoinfección o metástasis secundaria, y viscerales de alta letalidad. A su vez, en nuestro continente se han descrito más de 530 especies de Phlebotominae distribuidas en 28 países, de las cuales 36 se han incriminado como vectores primarios, secundarios o permisivos de diferentes especies de *Leishmania* (Shimabukuro et al., 2017).

La definición original de Leishmaniosis incluye la transmisión del agente etiológico por las hembras de díptero Phlebotominae, pero este concepto ha sido desafiado por el ciclo en dípteros ceratopogónidos que transmiten leishmaniosis a canguros en Australia, y el sostenimiento de la infección de algunas especies de *Leishmania* en mamíferos por vía vertical u horizontal. Por otra parte, la infección sin manifestaciones clínicas aparentes, fenómeno registrado en la mayoría de las especies conocidas de *Leishmania*, queda excluida de la definición en su forma más rigurosa, lo cual no disminuye su importancia epidemiológica en los mecanismos de transmisión.

Este capítulo estará dedicado fundamentalmente a la Leishmaniosis visceral americana (LVA), producida por *Leishmania infantum*, con *Lutzomyia longipalpis* como vector primario en la mayor parte del continente, y el perro como el principal reservorio urbano.

Morfología

Durante su ciclo de vida *Leishmania* alterna entre dos formas y estadios básicos exponiéndose a diferentes ambientes, intra y extracelular:

- El estadio intracelular se desarrolla en el hospedador vertebrado a partir de la picadura del flebótomo infectado (Imágenes 1 y 2). Esta forma es el amastigote; ovoide aflagelada, mide entre 2 y 5 μm de diámetro, presenta un núcleo relativamente grande y un kinetoplasto (mitocondria modificada) (Banuls et al., 2007).
- El estadio extracelular se desarrolla en el aparato digestivo del flebótomo, donde el parásito tiene forma promastigote (Imagen 3), alargado, de 20 a 30 μm de longitud y presenta un único flagelo libre en su parte anterior que le permite moverse y trasladarse.



Imagen 1: Amastigotes de *Leishmania*: A) dentro del macrófago.
Instituto Nacional de Parasitología (INP). Dr. Mario Fatała Chabén. Microscopía óptica. Aumento 100X.

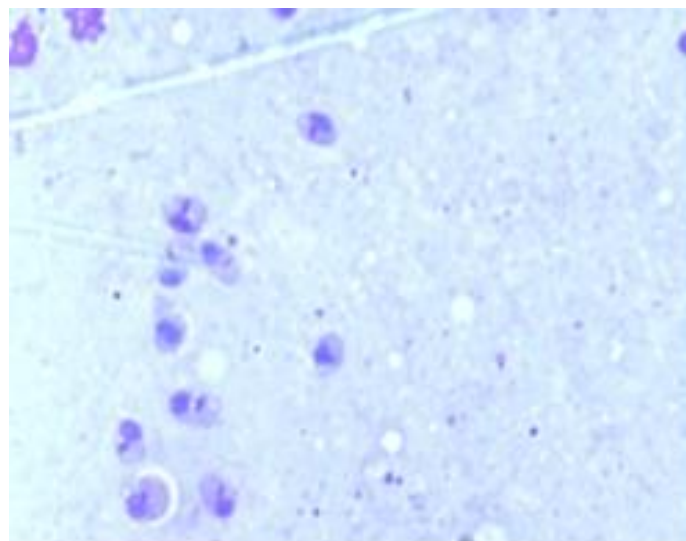


Imagen 2: Amastigotes de *Leishmania*: B) libres, fuera del citoplasma del macrófago.
Instituto Nacional de Parasitología (INP). Dr. Mario Fatała Chabén. Microscopía óptica. Aumento 100X.

Entre la forma aflagelada y la flagelada adopta varias morfologías intermedias, en el flebótomo. Según el orden de aparición a lo largo de esta transformación toman el nombre promastigotes procíclicos, nectomonas, con gran movilidad y rápida división, leptomonas, haptomonas y metacíclicos, estos últimos son infectivos no replicativos. Se sitúan en la hipofaringe del vector y están en condiciones de ser inoculados. Son los responsables de la transmisión de la infección al vertebrado (Imagen 3).

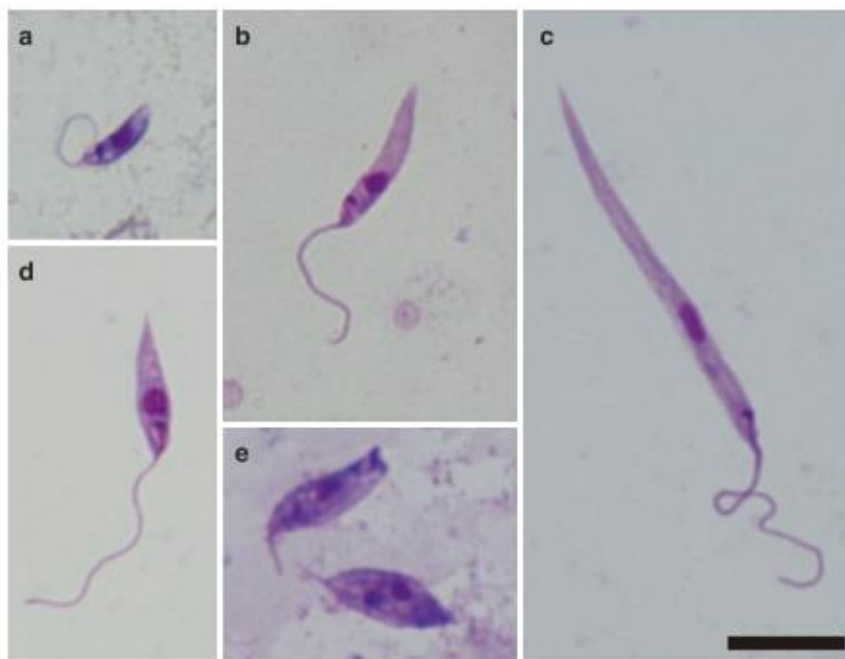


Imagen 3: Distintas morfologías de *Leishmania* en el intestino del flebótomo. Escala 10 μ m. (a) promastigote procíclico; (b) leptomona; (c) nectomona; (d) promastigote metacíclico; (e) dos haptomonas. (Cortesía de J. Sadlova)

Tanto el amastigote como el promastigote son células bien organizadas. La membrana celular es una bicapa lipídica convencional, tapizada por una cubierta de glucoconjugados llamada glucocálix que es clave para la supervivencia del parásito, cuyas moléculas actúan como factores de virulencia y como moléculas de evasión.

El genoma de *Leishmania* está compuesto por:

a) ADN genómico (ADNg) que representa el 80% del genoma total (Morales et al., 2001). Este genoma es diploide, organizado en cromosomas, conformado por 36 pares de cromosomas (García et al., 2005). Se encuentra localizado en el núcleo celular y es el encargado de la replicación del parásito.

b) ADN kinetoplástico (ADNk) constituye el 20% del ADN del parásito. Está constituido por maxicírculos y minicírculos concatenados covalentemente, formando una compacta red de ADN, es extranuclear, equivalente al genoma mitocondrial de los mamíferos.

- Los maxicírculos codifican los ARN ribosomales y algunas proteínas de la mitocondria, tienen aproximadamente 50 maxicírculos por parásito.

- Los minicírculos transcriben ARN guías, encargados de la maduración de los ARN primarios, poseen tres regiones conservadas en todas las especies y una zona variable; hay aproximadamente 10000 por parásito, este alto número de copias y las secuencias conservadas lo hace buen blanco con alta sensibilidad para el diagnóstico (Figura 1).

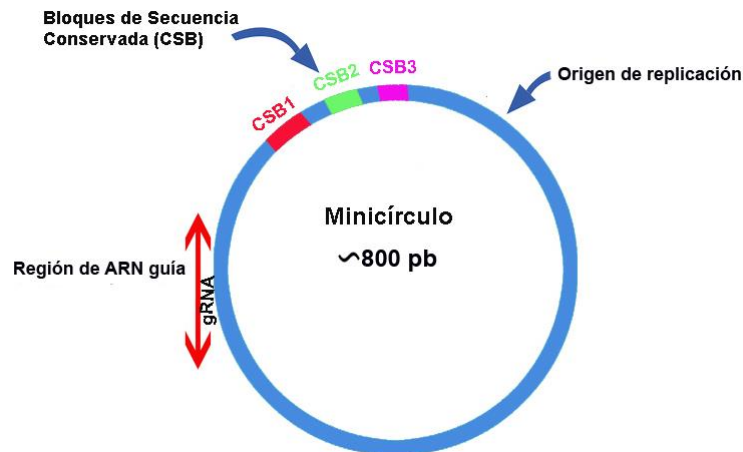


Figura 1: Esquema de un minicírculo de ADNk. Instituto Nacional de Parasitología (INP) Dr. M.Fatala Chaben.

Reproducción: se acepta de forma general que la multiplicación de *Leishmania* es asexual. Se dividen por fisión binaria, por bipartición longitudinal de los promastigotes. Primero lo hace el núcleo, luego el corpúsculo basal, se forma el flagelo y finalmente se divide el citoplasma (Imagen 4). (Banuls, Hide & Prugnotte, 2007).

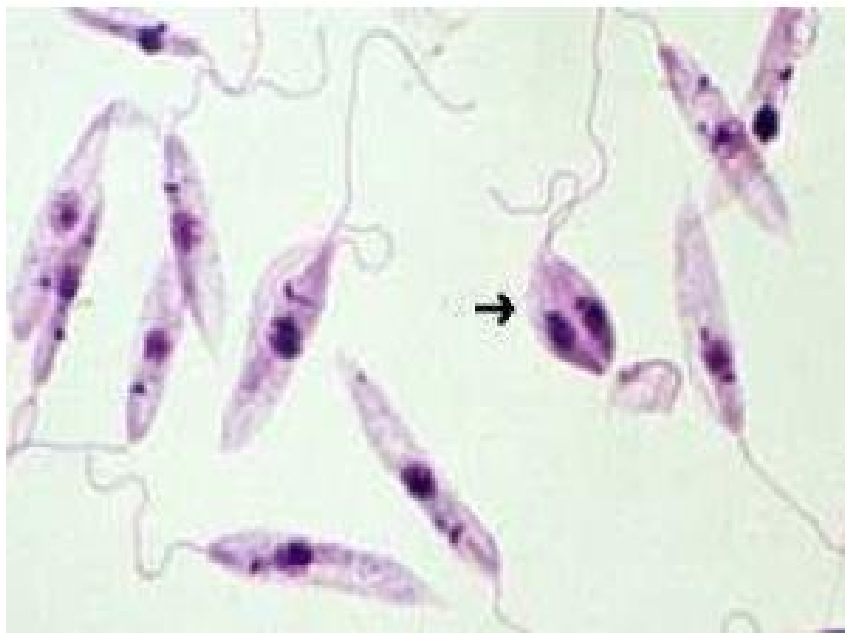


Imagen 4. Promastigotes de *Leishmania tropica* (cultivo); La flecha indica la replicación por fisión binaria longitudinal que ocurre en el intestino del vector; Cortesía de Brian E. Keas (1999).

Transmisión y formas de diseminación

Para *L. infantum* se conocen formas alternativas de transmisión además de la vía vector-mamífero como la transplacentaria de madre a cría (Duprey et al., 2006; Boggiatto, 2011; Toepp et al., 2019), horizontal-sexual (Silva et al., 2009), por transfusión de sangre (Freitas, 2006; Ferreira-Silva et al., 2018), por trasplante-inmunosupresión, uso de jeringas contaminadas o posiblemente intercambio de fluidos; todas éstas pueden tomar relevancia en zonas sin presencia de vector (Quinell & Courtenay, 2009).

Una vez inoculado en el mamífero, hasta encontrar sus células blanco el parásito presenta diferentes estrategias relacionadas al bloqueo de las defensas del hospedador, reclutamiento de las células hospedadoras-aumento de permeabilidad de membrana y manipulación de señales celulares. A estos mecanismos contribuyen factores asociados al vector, como componentes regurgitados de su saliva y microbiota de su sistema digestivo (Kelly et al., 2017).

Asociado a estos mismos eventos de inoculación y supervivencia inicial en el sitio de la picadura del vector se han sugerido los mecanismos de diseminación en el hospedero mamífero, por afluencia de células inflamatorias; migración intensificada de células infectadas desde la piel, principalmente monocitos y neutrófilos, y mayor escape de dichas células mieloides infectadas hacia y desde el ganglio linfático drenante (Thalhofer et al., 2011).

Finalmente, cuando los parásitos son ingeridos por el vector junto a la sangre de vasos periféricos y de la laguna de sangre y líquido intersticial formada por la picadura, a una profundidad subepidérmica de aproximadamente 0,6 mm, las leishmanias deben protegerse del proceso de digestión del insecto y adherirse a las paredes del sistema digestivo para no ser evacuadas en el proceso de alimentación. En este proceso intervienen moléculas de superficie del Phlebotominae y del parásito, la interacción de las microvellosidades del primero y el flagelo del segundo y enzimas segregadas por la Leishmania. Los parásitos según el subgénero, Vianna o Leishmania, se distribuyen espacialmente en diferentes secciones del sistema digestivo del vector, pero ambos luego migran hacia la parte anterior del insecto, donde vuelven a fijarse antes de ser regurgitados en la piel del hospedero mamífero. Para que este último proceso pueda hacerse en contra de la fuerza de succión, pueden intervenir enzimas que degradan parte de las válvulas, haciendo perder fuerza al vacío de la bomba suctora, y generando remolinos en el flujo y a su vez geles secretados por el parásito que dificultan el proceso, obligándolo a picadas repetidas (Bates & Rogers 2004; Rogers et al., 2010).

Ciclo biológico

El inicio del ciclo en el hospedador vertebrado tiene lugar cuando el insecto vector le inocula los promastigotes infectantes o metacíclicos. Muchos de estos parásitos pueden ser eliminados por el hospedador y otros son captados por las células del sistema fagocítico mononuclear, prin-

principalmente los macrófagos. Los parásitos inoculados son englobados en una vacuola parasitófora para tratar de eliminarlos mediante la síntesis y liberación de diversas moléculas, entre las cuales se destaca el óxido nítrico (NO) (Holzmuller et al., 2006).

Dentro de la vacuola los parásitos intentan evadir las reacciones inmunológicas inespecíficas, pierden el flagelo, sufren cambios bioquímicos y moleculares que le permitirán sobrevivir, se transforman en la forma amastigote y se multiplican hasta provocar el estallido del macrófago que los contiene, quedando libres para ser fagocitados por otros macrófagos y neutrófilos próximos. En esta nueva célula hospedadora se repite el proceso multiplicativo y así se favorece la diseminación del *Leishmania infantum*, pudiendo también alcanzar diversos órganos del sistema linfohematopoyético, como médula ósea, ganglios linfáticos, bazo e hígado, entre otros. La progresión de la enfermedad dependerá de varios factores. En relación con el parásito: de la dosis infectante inoculada por el vector, la virulencia y supervivencia a las reacciones dentro del macrófago; en relación con el hospedador infectado: de la eficacia del sistema inmune y predisposición genética (Ovalle et al., 2006).

Para cerrar el ciclo, cuando las hembras de los vectores pican al hospedador vertebrado infectado, porque necesitan ingerir sangre para desarrollar sus huevos, toman parásitos en forma de amastigotes (Figura 2)

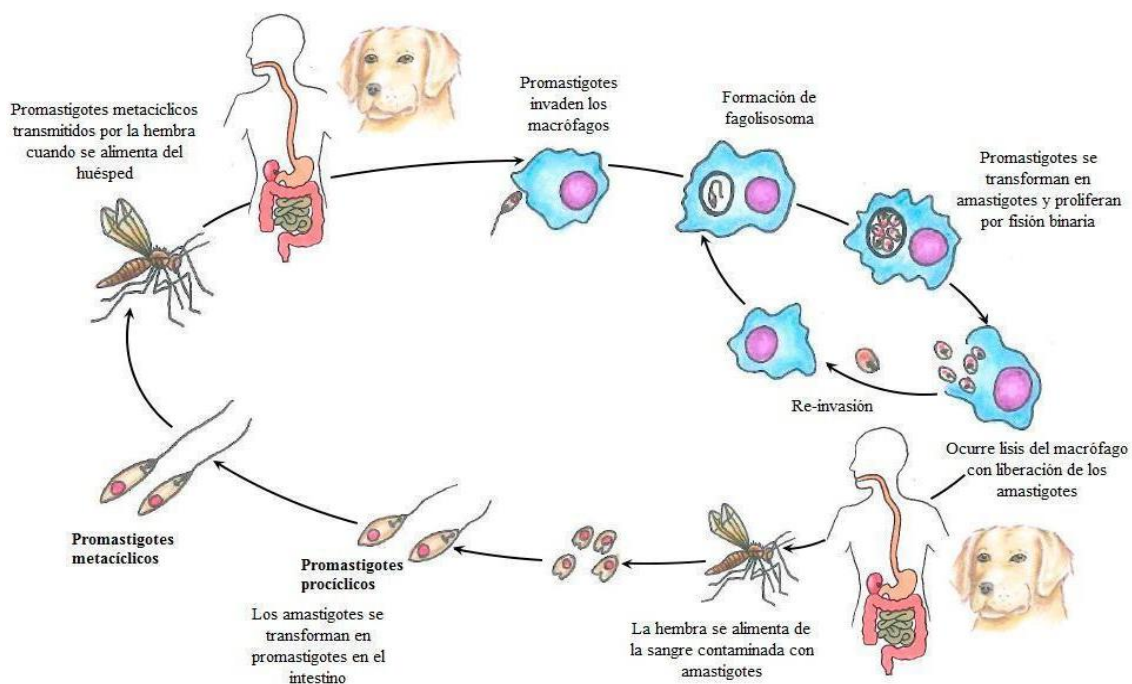


Figura 2. Ciclo de vida de *Leishmania infantum*. Fuente: CDC con modificación por Instituto Nacional de Parasitología (INP) Dr. M.Fatala Chaben.

Patogenia y signología clínica – Leishmaniosis visceral canina

Como se señaló en las secciones anteriores, la diseminación y el desarrollo de la enfermedad depende del tipo y de la eficiencia de la respuesta inmunitaria del perro infectado (Castagnaro et al., 2007). Una vez que los parásitos se encuentren en el espacio dérmico se produce una reacción inflamatoria local, con acumulación de células de Langerhans, inicialmente neutrófilos y eosinófilos, seguidos de macrófagos, células NK y tardíamente de linfocitos.

Las proteínas liberadas de los parásitos en el interior de los macrófagos, se asocian a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) que actúan como transportadoras de antígenos a la superficie del macrófago. Cuando se asocian a las CMH clase I, los antígenos son reconocidos por las células T del tipo CD8+ (Tc citóticas) que terminan con la destrucción del parásito, mientras que cuando se asocian a las de la clase II son reconocidos por las células T del tipo CD4+ (Th o cooperadoras) que permite establecer dos tipos de respuesta según se expresen las subpoblaciones Th1 o Th2 (Portus et al., 2007), que se distinguen por la combinación de citoquinas que secretan y tienen funciones efectoras diferentes. Dependiendo de las citoquinas que actúen en los primeros momentos de la infección, la respuesta se decantará hacia la protección (respuesta Th1) y activación de macrófagos, que lleva a la eliminación por destrucción del parásito, o hacia la progresión (respuesta Th2 no protectora), que inhibe la respuesta Th1 protectora y estimula la proliferación de células B y la secreción de inmunoglobulinas, las cuales fallan en proteger contra el agente patógeno de localización intracelular (Zamora-Chimal et al., 2017).

Las moléculas involucradas en cada respuesta son: interleuquinas (IL), interferón (IFN), factor de necrosis tumoral (TNF) y factor de crecimiento transformador (TGF). Aquellos animales que desarrollan una respuesta Th1, son portadores asintomáticos, en cambio, si desarrollan una respuesta Th2, se desencadena la enfermedad.

La producción de este alto nivel de anticuerpos en los perros afectados por la enfermedad no sólo no sirve para controlar la infección, sino que además puede dar lugar a distintos cuadros inmunopatológicos, como anemias hemolíticas y trombocitopenias inmunomediadas. Estas respuestas inmunopatológicas de autoinmunidad explican en parte las numerosas manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Durante la infección, la antigenemia persistente y prolongada en presencia de anticuerpos frente al parásito va a facilitar la producción de enormes cantidades de inmunocomplejos (ICs) (hipersensibilidad de tipo III), que pueden depositarse en cualquier tejido. Estos ICs pueden dar lugar a cuadros vasculíticos que pueden generar sinovitis/poliartritis, uveítis o depositarse en glomerulonefritis, pudiendo incluso ser capaces de unirse a células sanguíneas, incrementando la gravedad de la anemia, leucopenia y trombocitopenia. En definitiva, la Leishmaniosis clínica se puede ver como una “enfermedad inmunológica múltiple”, inducida por la infección, que conlleva la producción de una respuesta Th2 absolutamente ineficaz en el control de la infección y que promueve profundas y graves alteraciones.

El período de incubación hasta la aparición de signos clínicos puede durar meses o años, (Oliva et al., 2006). Algunos perros desarrollan una enfermedad clínica, mientras que otros siguen siendo portadores asintomáticos pero infecciosos para los flebótomos, pudiendo transmitir a otros perros o humanos (Baneth et al., 2008). Como se mencionó, los signos clínicos de la leishmaniosis canina son variables en función de la respuesta inmune y los mecanismos patogénicos. Entre las manifestaciones clínicas, se pueden presentar (Solano Gallego et al., 2009):

Síntomas inespecíficos generales: linfadenomegalia, pérdida de peso, cambios en el apetito, palidez de las mucosas, esplenomegalia, poliuria y polidipsia, fiebre, vómitos y diarrea.

Síntomas oculares: blefaritis (exfoliativa, ulcerativa o nodular) y conjuntivitis (nodular), queratoconjuntivitis, común o seca, uveítis anterior.

Lesiones cutáneas (manifestación más frecuente): dermatitis ulcerativa erosiva, dermatitis nodular, dermatitis papular, dermatitis pustulosa u onicogriposis (Imagen 5).



Imagen 5. Lesiones cutáneas –Instituto Nacional de Parasitología (INP) Dr. M. Fatała Chaben. Posadas, año 2006.

Leishmaniosis felina

En áreas endémicas de LVC, la enfermedad clínica por *L. infantum* en gatos es rara. En encuestas serológicas o moleculares, las tasas de prevalencia de felinos varían de 0% a más del 60% (Otranto et al., 2017).

Los gatos pueden infectar al vector y, por lo tanto, pueden actuar como un reservorio secundario, siendo los perros el reservorio natural primario. Los signos clínicos suelen estar asociados al deterioro del sistema inmune, como en el caso de coinfecciones retrovirales o terapias inmunosupresoras; los más comunes son: adenomegalias y lesiones cutáneas como dermatitis ulcerosa, exfoliativa, con costras o nodular (principalmente en la cabeza o distal extremidades), lesiones oculares (principalmente uveítis), síndrome de gingivoestomatitis crónica felina, ulcerativo mucocutáneo o nodular lesiones, hipergammaglobulinemia y anemia normocítica leve (Pennisi et al., 2015).

En cuanto al diagnóstico directo, se pueden encontrar amastigotes en muestras provenientes de ganglios linfáticos, médula ósea, piel, mucosas o lesiones oculares. Respecto de las serologías, se utilizan en gran medida las mismas metodologías que para el diagnóstico canino (Western Blot, aglutinación directa; IFI y ELISA (Pennisi et al., 2013); sin embargo, hay poca información disponible sobre su rendimiento diagnóstico en hospedadores felinos.

El tratamiento de gatos tiene una base empírica y no está indicado en los medicamentos más utilizados de uso común en caninos.

Distribución Geográfica

La Leishmaniosis visceral por transmisión vectorial se registra en más de 40 países, aunque los vectores, parásitos, reservorios y ciclos epidemiológicos observados en África, Asia y algunas áreas de Europa son diferentes a los que se presentan en América, incluso con transmisión antroponótica. El parásito *L. infantum*, habría llegado a nuestro continente junto a la conquista europea por intermedio de reservorios caninos, lo que se refleja en su baja diversidad genética y un Phlebotominae americano, *Lu. longipalpis*, al ingerir sangre infectada de dichos perros fue capaz de completar el ciclo, tornándose en un vector efectivo. En América 9 países notifican unos 3500 casos de LV humana anuales correspondiendo más del 90% a Brasil.

La LV fue detectada a principios de siglo XX asociada a áreas selváticas y luego áreas rurales, con el perro doméstico, marsupiales y roedores infectados y sus posibles reservorios, pero fue a partir de la década de 1980 que se comienza a registrar con brotes urbanos y en rápida dispersión desde nordeste brasileño hacia el sur. En el año 2000 la transmisión urbana llegó a Paraguay, en Argentina en el año 2004 se registró el vector en la frontera urbana con Paraguay, en el 2006 el primer caso humano autóctono asociado a canes infectados y en el 2018 se notificó el primer caso humano autóctono en Uruguay.

En nuestro país, en orden decreciente de casos. Se registra LV humana y LVc por transmisión vectorial en Misiones, Corrientes, Santiago del Estero (vector permisivo), Salta, se han presentado posibles casos aislados en Tucumán y Jujuy y LVc por transmisión vectorial en Chaco y Formosa, y vector en Entre Ríos. Sin embargo, se debe destacar que debido al tránsito y tráfico de canes y vías de transmisión alternativa vertical, horizontal o mecánica, se pueden

registrar casos de LVc en todo el territorio argentino (Gould et al., 2013; Salomón et al., 2015; Santini et al., 2018).

Especies

En América se registran nueve especies del género *Leishmania* (tres de ellas con status taxonómico en discusión). *Leishmania infantum* (sinonimia de *Le. chagasi*) es la única asociada a la LV, y en el norte de América del Sur y América Central también a una forma atípica cutánea. En Argentina, además de *Le. infantum*, se han identificado *Le. braziliensis*, la especie más frecuente en casos de leishmaniosis cutánea y mucosa, y casos aislados de *Le. amazonensis* y *Le. guyanensis* (Salomón et al., 2012; OPS 2019a; Martínez et al., 2020)

Diagnóstico

El diagnóstico directo de LVc se realiza mediante la detección del parásito por frotis, cultivo o técnicas moleculares. Sin embargo, no siempre es posible, por lo que el diagnóstico puede ser complementado por pruebas inmunológicas específicas en sangre o en suero (métodos indirectos).

Pruebas parasitológicas

El diagnóstico confirmatorio consiste en la observación directa del parásito, ya sea amastigotes en extendidos de las distintas muestras biológicas (aspirado de médula ósea, ganglio linfático, hígado, bazo, sangre o biopsias cutánea/mucosa); o la observación de los promastigotes en medio específico de cultivo *in vitro*. La sensibilidad del diagnóstico parasitológico o examen directo varía en función de la experiencia del analista, la técnica utilizada para la toma y procesamiento de la muestra, la localización de la lesión, la especie del parásito, así como del tiempo de evolución de la lesión y del uso de tratamientos previos (empíricos o convencionales).

Frotis

Se examina al microscopio utilizando un objetivo de inmersión en aceite con aumento de 100X previamente teñido con alguna técnica de Romanowsky (Giemsa, Field, Wright o Panóptico rápido). Un resultado es positivo cuando se observa la presencia de al menos un amastigote visualizando kinetoplasto, núcleo y membrana. Un resultado es negativo cuando al recorrer todos los campos de todas las láminas no se observa ningún amastigote.

Cultivo

Se procesa la muestra, se cultiva en medios específicos bifásicos (Ej: Senekjie, RPMI 1640, 15% suero fetal bovino) y se observan en microscopio a 40X durante un mes. Un cultivo es positivo cuando se observan promastigotes. Esta técnica diagnóstica incrementa la sensibilidad de la microscopía, pero se reserva para laboratorios especializados.

Inoculación en animales de laboratorio

La inoculación en animales de experimentación es de gran utilidad para aislar cepas de *Leishmania* de difícil crecimiento o a partir de inóculos contaminados. El modelo *in vivo* más utilizado es el hámster (*Mesocricetus auratus*).

Histopatología

Se observa sobre improntas parafinadas teñidas con hematoxilina y eosina (HE) o Giemsa. Es una prueba poco sensible por la distorsión que sufren los parásitos durante el proceso de fijación y tinción, y por la dificultad que implica reconocer los parásitos en cortes histopatológicos.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica tiene por objetivo la detección de una secuencia específica de nucleótidos del ADN parasitario y su amplificación *in vitro*. El producto de PCR puede visualizarse mediante electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La sensibilidad y especificidad de la PCR depende de los iniciadores utilizados, del número de copias de la diana, del método de extracción, del material de biopsia y del protocolo utilizado.

Métodos indirectos

Permiten detectar la presencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en suero o sangre de caninos sospechosos. Los métodos indirectos son la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), cuya especificidad depende del antígeno que se utilice. Para sospecha de LV se recomienda la inmunocromatografía rápida rK39. Las pruebas basadas en anticuerpos pueden ser utilizadas como apoyo diagnóstico.

Inmunocromatografía, rK39

La inmunocromatografía rápida cualitativa, se ha desarrollado utilizando fundamentalmente el antígeno recombinante rK39, es una secuencia peptídica repetitiva de 39 aminoácidos del carbono terminal de una proteína relacionada a la familia de las kinesinas de *Leishmania infantum*, tiene como ventaja que el kit comercial se almacena a temperatura ambiente, el resultado está en 10 minutos, no necesita un laboratorio equipado ni personal especializado, no produce reacciones cruzadas, lográndose incrementar la especificidad. Ofrece la posibilidad de coleccionar muchas muestras en campo. En el caso de tomar múltiples muestras, las mismas deben ser

procesadas lo antes posible, identificadas y conservadas idealmente (2 a 8°C) o congelar (-10 a -20°C) hasta su procesamiento (Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Manual de Diagnóstico y Tratamiento de las Leishmaniosis. -- Asunción: OPS/OMS. -- 2018).

El desafío de disponer de pruebas rápidas, sencillas y de bajo costo está documentado en el reporte de la OMS (WHO/TDR).

Tratamiento

En relación al tratamiento, el mismo tiene como objetivo la cura clínica y no logra la esterilización parasitológica del animal (Noli et al., 2005); es necesario tener en cuenta que un animal infectado pero asintomático no requiere tratamiento (Solano-Gallego et al., 2011).

Existen diversos protocolos, relacionados con los hallazgos clínicos según la gravedad de los signos y/o anomalías de laboratorio (Solano Gallego et al., 2011; Miró et al., 2013).

En nuestro país no se recomienda el uso de drogas utilizadas en el tratamiento de la Leishmaniosis visceral humana para el tratamiento de la LVC.

Profilaxis

Como otras enfermedades de transmisión vectorial, las medidas más efectivas de prevención son aquellas que evitan el contacto con el vector infectado: a) protección de área: manejo ambiental para reducir la abundancia de *Lu. longipalpis* como reducción de materia orgánica que permanece en suelo, desmalezado, y restricción a fuentes alternativas de alimento b) protección individual: uso de productos tópicos o sistémicos con efecto repelente, que dificultan la ingesta del insecto o insecticida, como collares, aplicaciones tópicas y masticables que hayan demostrado efectividad contra *Lu. longipalpis*. En el caso de LVC urbana se estima que las intervenciones deberían abarcar un área de un diámetro no menor a 500 mts, de especial importancia cuando se toman medidas que implican el retiro de reservorios y su reemplazo por animales jóvenes que pueden hacer formas agudas, para lo que deben haberse reducido el riesgo ambiental de infección. En relación con los repelentes se debe tener en cuenta que la efectividad aumenta, como con las vacunas, por efecto de rebaño cuando más animales están protegidos.

La aplicación de insecticida en forma espacial, cubriendo grandes superficies, tiene muy poca residualidad e impacto, pero se indica para bloqueo de foco y disminución de vectores en los primeros casos humanos o caninos. Las vacunas comerciales existentes hasta el momento han demostrado mejor efecto terapéutico o de mejoramiento clínico que profiláctico o de impacto en la transmisión (eliminación de reservorios asintomáticos), por lo que se admiten como medida de acción individual pero no de salud colectiva. Ante nuevas evidencias de vacunas hoy en fase experimental, se admite que la vacuna sería una herramienta altamente eficaz, aunque con los

sistemas antigénicos y de adyuvantes tradicionales hay pocas experiencias exitosas a largo plazo de vacunas parasitarias (OPS 2019a, b).

Debido a las vías alternativas de transmisión también se recomienda evitar el tránsito de animales no infectados a zonas endémicas y de animales infectados a zonas libres de LVc, su reproducción (castración), la convivencia de animales infectados y no infectados y las buenas prácticas en criaderos, especialmente en los que funcionan como emprendimientos familiares sin supervisión profesional o regulación.

Importancia en salud pública

La LV en América, ante la participación de otras especies que actúen como reservorios potenciales, tiene aún en el perro el principal reservorio urbano, dada la oferta parasitaria que implica para los vectores, tanto a nivel individual (densidad de *Leishmania* disponibles para infectar al vector), como poblacional (masa total de parásitos circulantes en un área); potenciado por el estrecho contacto y lazos afectivos inter-específicos perro-humano. Por otra parte, la LV en humanos con expresión clínica, pero sin tratamiento tiene una letalidad superior al 90%. La desnutrición, co-morbilidades, tiempo transcurrido hasta el inicio del tratamiento, competencia inmunitaria reducida y pertenecer a los grupos etarios extremos (infantes y gerontes) son factores de riesgo de gravedad. Por ello, la mortalidad es mayor en el período cuando se instala el ciclo parasitario en una ciudad, al infectar a los hospederos más vulnerables como son individuos en situación de calle con etilismo y contacto estrecho con perros, perros deambulantes sin dueño desnutridos, y en ocasiones con sistemas de salud humana y veterinaria sin la sensibilización de alerta temprana apropiada.

En Argentina, desde la irrupción de la LV urbana, en el período 2006-2018, se acumulan 158 casos humanos con poco menos del 8% de letalidad. Este número total de casos humanos en todo el país es aproximadamente igual a la incidencia anual en algunas ciudades del sur de Brasil, en frontera con Paraguay. Este patrón de menor intensidad de infección en humanos a la esperada según proyección de la información disponible al momento, y la tendencia a la estabilización o reducción de la infección canina (sintomática y asintomática) en valores que pueden llegar al 20% (Lamattina et al., 2019), ha promovido la discusión para el consenso entre los programas de salud y la práctica privada veterinaria, a fin de generar instancias multisectoriales de revisión periódica de evidencias de control, mecanismos de corresponsabilidad tenedor de can-veterinario-estado y registro/libreta sanitaria (Salomón et al., 2012).

Referencias

Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J. & den Boer, M. (2012). Who Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of this incidence. *Plos One*. 7(5): e35671.

- Banuls, A.L., Hide, M. & Prugnolle, F. (2007). Leishmania and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Advances in parasitology*. 64: 1-458.
- Bates, P.A. & Rogers, M.E. (2004). New insights into the developmental biology and transmission mechanisms of Leishmania. *Current molecular medicine*. 4(6): 601-609.
- Castagnaro, M., Crotti, A., Fondati, A., Gradoni, L., Lubas, G., Maroli, M., Oliva G., Paltrinieri S., Solano-Gallego L., Roura X., Zatelli A. & Zini E. (2007). Leishmaniosi canina: linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte I: approccio diagnostico e classificazione del paziente leishmaniotico e gestione del paziente proteinurico. *Veterinaria*. 21(3): 19-32.
- De Freitas, E., Melo, M.N., da Costa-Val, A.P. & Michalick, M.S.M. (2006). Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary parasitology*. 137(1-2): 159-167.
- Duprey, Z.H., Steurer, F.J., Rooney, J.A., Kirshhoff, L.V., Jackson, J.E., Rowton, E.D. & Schantz, P.M. (2006). Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000–2003. *Emerging infectious diseases*. 12(3): 440.
- Ferreira-Silva, M.M., Teixeira, L.A.S., Tibúrcio, M.S., Pereira, G.A., Rodrigues, V., Palis, M., Afonso, P., Alves, M., Feitosa, J.M., Urias, E., Santos, E.M., Carvalho, S.F.G. & Moraes-Souza, H. (2018). Socio-epidemiological characterisation of blood donors with asymptomatic *Leishmania infantum* infection from three Brazilian endemic regions and analysis of the transfusional transmission risk of visceral leishmaniasis. *Transfusion medicine*. 28(6): 433-439.
- García, A.L., Kindt, A., Quispe-Tintaya, K.W., Bermudez, H., Llanos, A., Arevalo, J., Bañails, A.L., De Doncker, S., Le Ray, D. & Dujardin, J.C. (2005). American tegumentary leishmaniasis: antigen-gene polymorphism, taxonomy and clinical pleomorphism. *Infection, Genetics and Evolution*. 5(2): 109-116.
- Holzmueller, P., Hide, M., Sereno, D. & Lemesre, J.L. (2006). *Leishmania infantum* amastigotes resistant to nitric oxide cytotoxicity: Impact on *in vitro* parasite developmental cycle and metabolic enzyme activities. *Infection, Genetics and Evolution*. 6(3): 187-197.
- Gould, I.T., Perner, M.S., Santini, M.S., Saavedra, S.B., Bezzi, G., Maglianese, M.I., Antman, J.G., Gutiérrez, J.A. & Salomón, O.D. (2013). Leishmaniasis visceral en la argentina notificación y situación vectorial (2006-2012) *Medicina (B Aires)*. 73(2): 104-10
- Inbar, E., Shaik, J., Lantorno, S.A., Romano, A., Nzelu, C.O., Owens, K., Sanders, M.J., Dobson, D., Cotton, J.A., Grigg, M.E., Beverley, S.M. & Sacks, D. (2019). Whole genome sequencing of experimental hybrids supports meiosis-like sexual recombination in *Leishmania*. *PLoS Genetic*. 15(5). e1008042.
- Kelly, P.H., Bahr, S.M., Serafim, T.D., Ajami, N.J., Petrosino, J.F., Meneses, C., Kirby, J.R., Valenzuela, J.G., Kamhawi, S. & Wilson, M.E. (2017). The Gut Microbiome of the Vector *Lutzomyia longipalpis* Is Essential for Survival of *Leishmania infantum*. *MBio*. 8(1). pii: e01121-16.

- Lamattina, D., Berrozpe, P.E., Casas, N., Moya, S.L., Giuliani, M.G; Costa, S.A.; Arrabal, J.P. Martínez, M.F., Rivero, M.R., Salas, M., Humeres, C.A., Liotta, D.J., Meichtry, M.B. & Salomón, O.D. (2019). Twice upon a time: The progression of canine visceral leishmaniasis in an Argentinean city. *PLoS One*, 14(7): e0219395.
- Lipoldová, M. & Demant, P. (2006). Genetic susceptibility to infectious disease: lessons from mouse models of leishmaniasis. *Nature Reviews Genetics*. 7(4): 294.
- Martínez, M.F., Kowalewski, M.M., Giuliani, M.G., Acardi, S.A. & Salomón O.D. (2020). Molecular identification of *Leishmania* in free-ranging black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) in northeastern Argentina. *Acta Tropica*. 210:105534.
- Minero, M.A., Chinchilla, M., Marta Guerrero, O. & Castro, A. (2004). Infección de fibroblastos de piel de animales con distinto grado de susceptibilidad a *Leishmania infantum* y *Leishmania mexicana* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Revista de biología tropical*. 52(1): 261-267,
- Morales, M.A., Chicharro, C., Ares, M., Canavate, C., Barker, D.G. & Alvar, J. (2001). Molecular tracking of infections by *Leishmania infantum*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 95(1): 104-107.
- OPS (2019a). Organización Panamericana de la Salud. *Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas*. Washington, D.C. pp.183.
- OPS (2019b). Organización Panamericana de la Salud. *Documento operativo de aplicación del manejo integrado de vectores adaptado al contexto de las Américas*. Washington, D.C. pp.53.
- Ovalle, C.E., Porras, L., Rey, M. Ríos, M. & Camargo, Y.C. (2006). Geographic distribution of *Leishmania* species isolated from patients at the National Institute of Dermatology Federico Lleras Acosta ESE, 1995-2005. *Biomedica*. 26: 145-151.
- Portús, M., Gállego, M., Riera, C., Fisa, R.; Aisa, M.J., Botet, J., Carrió, J., Castillejo, S., Iniesta, L., López, P.; Montoya, L., Muñoz, C., Serra, T. & Gallego, J. (2007). A review of human and canine leishmaniosis in Catalonia, and associated vector distribution. *Revista Ibérica de Parasitología*. 67(1-4): 59-67.
- Quinnell, R.J. & Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*. 136(14): 1915-34.
- Rangel, E.F. & Shaw, J.J. (Comp.) (2018). Brazilian Sand Flies Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control. Rio de Janeiro, *Springer- Fiocruz Eds*. 508pp.
- Rogers, M.E., Corware, K., Müller, I. & Bates, P.A. (2010). *Leishmania infantum* proteophosphoglycans regurgitated by the bite of its natural sand fly vector, *Lutzomyia longipalpis*, promote parasite establishment in mouse skin and skin-distant tissues. *Microbes and Infection*. 12(11): 875-9.
- Salomón, O.D., Mastrángelo, A.V., Santini, M.S., Ruvinsky, S., Orduna, T., Sinagra, A., Luna, C., Riarte, A., Casas, N. & Amiotti, P. (2012). Leishmaniasis visceral: senderos que confluyen, se bifurcan. *Salud Colectiva*. 8(1): 49-63.
- Salomón, O.D., Quintana, M.G., Mastrángelo, A.V. & Fernández, M.S. (2012). Leishmaniasis and climate change-case study: Argentina. *Journal of tropical medicine*. 2012: 601242.

- Salomón, O.D., Feliciangeli, M.D., Quintana, M.G. , Afonso, M.M. & Rangel, E.F. (2015). *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 110(7): 831-46.
- Santini, M.S., Acosta, M.M., Utgés, M.E., Aldaz, M.E. & Salomón, O.D. (2018). Presence of *Lutzomyia longipalpis* and *Nyssomyia whitmani* in Entre Rios, Argentina. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 60, e55.
- Shimabukuro, P.H.F., de Andrade, A.J. & Galati, E.A.B. (2017). Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Genera, species, and their distribution. *Zookeys*. 660: 67-106.
- Silva, F.L., Oliveira, R.G., Silva, T.M., Xavier, M.N., Nascimento, E.F. & Santos, R.L. (2009). Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary parasitology*. 160(1-2): 55-59.
- Thalhofer, C.J., Chen, Y., Sudan, B., Love-Homan, L. & Wilson, M.E. (2011). Leukocytes infiltrate the skin and draining lymph nodes in response to the protozoan *Leishmania infantum chagasi*. *Infection and Immunity*. 79(1):108-17.
- Toepp, A. J., Bennett, C., Scott, B., Senesac, R., Oleson, J. J., & Petersen, C. A. (2019). Maternal *Leishmania infantum* infection status has significant impact on leishmaniasis in offspring. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(2), e0007058.
- WHO/TDR. (2011). Leishmaniasis Visceral Desempeño de Pruebas Rápidas de Diagnóstico. *Diagnostic Evaluation series* N° 4. disponible en <http://www.who.int/tdr/publications/documents/vl-rdt-evaluation.pdf>.
- Zamora-Chimal, J., Hernández-Ruiz, J. & Becker, I. (2017). NKT cells in leishmaniasis. *Immunobiology*. 222(4): 641-646.

Reino Protista

Clado Stramenopiles

Clase Bigyra

Orden Opalinata

Familia Blastocystidae

Género *Blastocystis*

CAPÍTULO 27

Blastocystis spp. Blastocystosis humana

María Inés Gamboa

Generalidades

Blastocystis spp. es un parásito cosmopolita que habita en el tracto intestinal de los humanos y animales. Es uno de los eucariotas intestinales más exitosos identificados hasta la fecha, siendo capaz de infectar a una amplia gama de hospedadores.

Se estima que afecta a más de 1000 millones de personas en el mundo con prevalencias mayores en países en desarrollo. Es uno de los microorganismos hallados con mayor frecuencia en muestras de heces, sin embargo, hay controversias sobre su taxonomía, morfología, ciclo vital y patogenicidad.

La infección humana se asocia con la falta de higiene personal, saneamiento deficiente, contacto con animales y consumo de agua y alimentos contaminados.

Este parásito ha despertado gran interés científico y clínico en los últimos años, por su potencial asociación con enfermedad, sin embargo, no ha sido posible establecer con exactitud su rol patógeno. También ha sido considerado agente oportunista, por su alta prevalencia en pacientes inmunosuprimidos, específicamente en aquellos con VIH/SIDA y cáncer.

La primera descripción cumpliendo criterios de nomenclatura fue hecha por Alexeieff en 1911 llamándolo "*Blastocystis enterocola*", una levadura. En 1912 Brumpt estudiando muestras humanas, lo llamó *Blastocystis hominis*, describiéndolo como una levadura inocua, que podría confundirse con *E. histolytica*. Luego se demostró su filiación con algas marrones y diatomeas, alejándolo de los hongos y protozoarios. Los estudios filogenéticos moleculares permitieron incluirlo en el Clado Stramenopiles, grupo heterogéneo de protistas sin categoría taxonómica. *Blastocystis* es un anaerobio estricto, sensible al oxígeno y cambios en la tonicidad del entorno, con una amplia variabilidad genética y baja especificidad de su hospedador. Requiere la presencia de bacterias para crecer en medios de cultivo, salvo que sea sometido a axenización bajo condiciones controladas. No desarrolla en medios sólidos. Tiene capacidad para digerir bacterias, presenta endosimbiontes bacterianos y se desplaza por la emisión deseudópodos (Costamagna y Visciarelli, 2004).

Morfología

Actualmente, en el GenBank se han descrito secuencias de 33 subtipos (ST) diferentes, basándose en la subunidad pequeña del ARNr, si bien en la literatura solo se encuentran reportados 17 subtipos hasta el momento, de los cuales 9 han sido aislados en humanos y son compartidos con animales (Stensvold et al., 2007). Esto muestra la baja especificidad entre parásito y hospedador, por lo cual se cambió la vieja denominación *B. hominis* por *Blastocystis* spp. Los humanos pueden albergar los ST1-9 y 12; más del 90% de las cepas humanas de *Blastocystis* pertenecen a ST1-4. Los humanos se infectan en su mayoría por el ST3. Se han identificado hospedadores reservorios para todos los subtipos excepto el ST9; existe una especificidad de hospedador críptica para al menos algunos de ellos (Stensvold et al., 2020). La nomenclatura de los subtipos se introdujo cuando se hizo evidente que los nombres de especies anteriores no eran válidos o representaban múltiples entidades muy distintas.

Blastocystis presenta uno o más núcleos, complejo de Golgi, organelas semejantes a mitocondrias y retículo endoplasmático liso y rugoso. Posee una membrana bilaminar que está rodeada por una envoltura mucilaginosa, que podría estar implicada en la adhesión y fagocitosis de bacterias. Crece en cultivos anaeróbicos y se reproduce por fisión binaria. Es un parásito pleomórfico y su forma cambia según las condiciones del microambiente. Los cambios osmóticos, la presencia de ciertas drogas y el status metabólico pueden influenciar la morfología del organismo in vivo e in vitro. Según algunos autores, los límites entre las diferentes morfologías no son discretos y algunas pueden representar formas degradadas del parásito (Vdovenko, 2000).

Forma vacuolar: Es la forma más frecuentemente encontrada en la materia fecal de pacientes infectados y también en los cultivos (Figura 1). Generalmente es de forma esférica, midiendo entre 2 a 200 μm de diámetro (en general 2-40 μ). La mayor parte del cuerpo está constituida por una vacuola cuya función no ha sido completamente dilucidada. En su composición se encuentran tanto lípidos como hidratos de carbono, por lo que se ha especulado con una función de reserva. Otros han propuesto que juega un rol en los procesos de multiplicación parasitaria. La vacuola está rodeada de una fina capa de citoplasma que alberga organelas y varios núcleos.

Forma granular: Esta forma mide entre 6 y 8 μm , posee de 1 a 4 núcleos y gran cantidad de gránulos en el citoplasma y dentro de la vacuola, con diferentes funciones: reproductivos, lipídicos y metabólicos. Se cree que esta forma podría derivar de la forma vacuolar, ante determinados estímulos in vitro.

Forma ameboidal: Esta forma es irregular y posee uno o dos pseudópodos. Mide de 3 a 6 μm , con 1 o 2 núcleos y posee una o varias vacuolas. Se considera una forma intermedia entre la vacuolar y la quística. Se encuentra generalmente en cultivos viejos o luego de la administración de antibióticos y ocasionalmente en materia fecal. Se la asocia a la acción patógena por excretar proteasas y por su hallazgo en heces de pacientes sintomáticos (Kumarasamy et al., 2018). La presencia de bacterias en su interior sugiere un papel en la alimentación del parásito (Rajamanikam et al., 2013).

Forma quística: Mide de 3 a 6 μ y está rodeada de una pared celular multilaminar. Contiene vacuolas, depósitos de lípidos y glucógeno. Tiene entre 1 y 4 núcleos (generalmente 2). Se cree que es una forma de resistencia. Sobrevive 1 mes a temperatura ambiente y 2 meses a 4 °C, pero es sensible a los desinfectantes y las temperaturas extremas (Tan et al., 2013). Los quistes están rodeados por una capa similar a una fibra que se cree que es crucial para la supervivencia (Vdovenko, 2000).

Forma multivacuolar: Mide entre 5 y 8 μ m y no posee cápsula. Presenta múltiples vacuolas de diferentes tamaños y es frecuentemente hallada en materia fecal. Se cree que puede ser una forma intermedia en el proceso de enquistamiento y desenquistamiento.

Forma avacuolar: Forma sin vacuolas, mide 5 μ m.

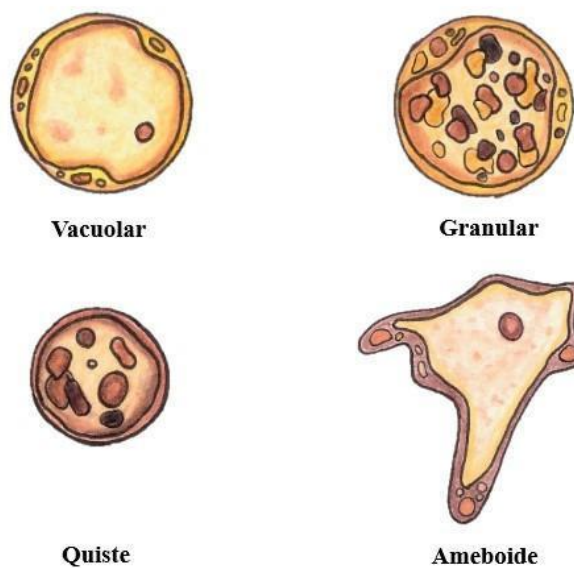


Figura 1. Formas más frecuentes de *Blastocystis* spp.

Transmisión y formas de diseminación

Se asume que *Blastocystis* es transmitido por la vía fecal-oral de la misma manera que los otros protozoos gastrointestinales. También es posible a través del agua, suelo y alimentos contaminados, como entre personas, de animales a personas (zoonosis) y viceversa (antroponosis). El hombre puede infectarse por varios subtipos de *Blastocystis* spp. y algunos animales podrían actuar como reservorios. La alta prevalencia entre los agricultores demostró la presencia de la transmisión zoonótica (Kumarasamy et al., 2018). Se ha detectado en roedores, perros, gatos, cerdos, primates, ganado, aves de corral y animales de cría y silvestres. También pueden intervenir vectores mecánicos, como las moscas (Salinas & Vildozola Gonzales, 2009; del Coco et al., 2017). La forma infectante es el quiste y se cree que la forma ligada a la patogenia es la ameboidal (Lepczyńska et al., 2017).

Ciclo biológico

Una serie de ciclos vitales han sido propuestos para *Blastocystis*, sin embargo, persisten las controversias acerca del modo de reproducción. Se han planteado diversos mecanismos de reproducción. Por un lado, la reproducción asexual por fisión binaria, esquizogonia, endogonia y/o plasmotomía (Zhang et al., 2007). Por otro lado, algunos autores sugieren una reproducción sexual por autogamia, que genera los quistes (Tan, 2008). Se sabe que el ciclo de vida depende de la compatibilidad del subtipo de *Blastocystis* spp. con el hospedador (Sekar & Shanthi, 2015). La infección se produce por vía oral, mediante la ingesta de agua o alimentos contaminados, el contacto con las manos, o a través de animales o personas contaminadas. El hombre ingiere los quistes, en el intestino grueso se produce el desenquistamiento y se libera la forma vacuolar, que se reproduce por fisión binaria y puede transformarse en cualquiera de las otras formas del parásito. El enquistamiento suele producirse tras un cierto periodo de infección en el intestino. Este proceso tiene lugar cuando *Blastocystis* se desplaza por el intestino grueso, hasta que los quistes se excretan en las heces (Vdovenko, 2000). La presencia de formas ameboidales, multivacuolares y avacuolares en el intestino, sugiere la función patógena de estas formas. El enquistamiento se produce en el colon y los quistes salen al ambiente con la materia fecal. Se desconoce aún cómo se produce el paso de las otras formas a la forma vacuolar, para luego enquistar (Figura 2).

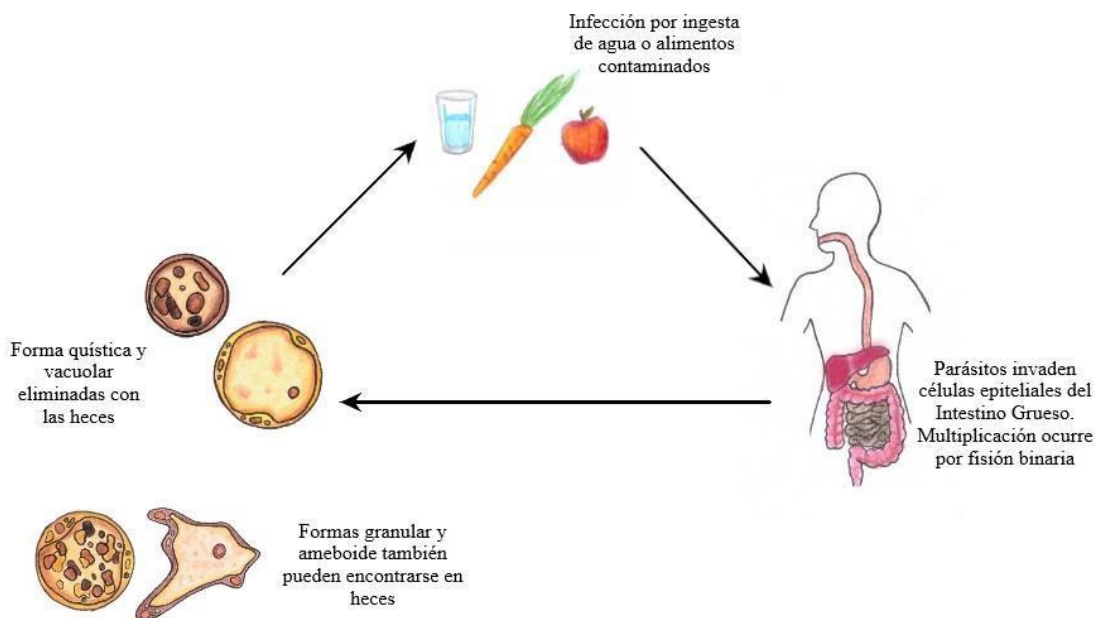


Figura 2. Ciclo biológico de *Blastocystis* spp.

Patogenia

Este protozoo se ha aislado en individuos sintomáticos y asintomáticos, su rol patógeno sigue siendo controvertido (Eroglu et al., 2009). Sin embargo, hay una serie de estudios recientes que muestran que *Blastocystis* es un patógeno emergente (Boorom et al., 2008; Tan, 2008). La mayoría de los estudios informan que *Blastocystis* es un componente común de la microbiota intestinal sana. Se asocia con una mayor riqueza bacteriana y sostienen que es común la portación asintomática a largo plazo. En cambio, estudios recientes han sugerido que *Blastocystis* disminuye las bacterias intestinales beneficiosas, lo que conduce a un estado disbiótico. Estas observaciones discrepantes han llevado a la confusión sobre la relevancia clínica del parásito (Stensvold et al., 2020). En definitiva, la microbiota intestinal humana desencadena importantes mecanismos a nivel molecular y por lo tanto, tiene una influencia crucial en la patogenicidad del parásito (Lepczyńska et al., 2017). Todavía no hay certeza respecto a si *Blastocystis* es un agente que cambia la microbiota intestinal humana o lo contrario, la microbiota comensal ayuda al parásito a colonizar el tracto gastrointestinal (Lepczyńska et al., 2017). Estudios futuros sobre la microbiota intestinal en personas con y sin *Blastocystis* probablemente proporcionen información valiosa para ayudar a determinar el papel en la salud humana.

En general, se asocia la patogenicidad al subtipo infectante. La heterogeneidad de las cepas y la virulencia variable, pueden explicar las diferencias en patogenicidad. Estudios in vitro han demostrado que tanto el parásito como lisados del mismo pueden producir daño en las células del epitelio intestinal, generando apoptosis por cambios en el citoesqueleto. Provocan también la degradación de las proteínas vinculadas a las uniones intercelulares y estos cambios producen alteraciones de la permeabilidad del epitelio, dando como resultado una respuesta inflamatoria. Las células de la mucosa son inducidas por las cisteín-proteasas a producir interleucina-8. Esta es la razón de la pérdida de líquido y la inflamación del intestino en las personas infectadas. Además, *Blastocystis* libera una enzima (IgA-proteasa) que inhibe la acción de la Ig A, evadiendo así el sistema inmune del hospedador, lo que permite la supervivencia del parásito (Parija & Jeremiah, 2013). Las cisteín-proteasas se han evidenciado también en otras parasitosis produciendo daño tisular, evasión inmunitaria e inmunomodulación. Pero en la actualidad se desconoce si los efectos mencionados ocurren in vivo (Stensvold et al., 2020). Antiguamente se asociaba la acción patógena de *Blastocystis* a la carga parasitaria. Actualmente el consenso es que el número de organismos no está relacionado con sintomatología (Costamagna & Visciarelli, 2004; Salinas & Vildozola Gonzales, 2007; Kozubsky & Costas, 2017). Se cree por estudios in vitro que la forma ameboidal es el fenotipo más virulento del parásito. El rol patógeno de *Blastocystis* spp. asociado a la morfología está principalmente relacionado con la forma ameboidal, debido a la capacidad de adhesión de esta forma del parásito al epitelio intestinal, su metabolismo activo, la facilidad de ingerir bacterias y la presencia de proteasas que degradan la IgA y afectan el sistema inmune del hospedador, haciéndolo más susceptible al desarrollo de sintomatología de origen intestinal o extraintestinal. La forma con menor patogenicidad es la granular, porque solo ha sido hallada con alta prevalencia en pacientes asintomáticos (Taylor-Orozco et

al., 2016). Otro estudio ha demostrado que el antígeno 29kDa de *Blastocystis* es un marcador para diferenciar las cepas sintomáticas de las asintomáticas (Abou Gamra et al., 2011).

Signología clínica

La prevalencia de la infección por *Blastocystis* es mayor que la de otros parásitos intestinales, como *Giardia*, *Entamoeba* o *Cryptosporidium*. La asociación entre sintomatología y la presencia del parásito es aún muy controvertida (Eroglu et al., 2009). Cuando están presentes, estos son diarrea, vómitos, estreñimiento, náuseas, prurito plantar, urticaria, dolor abdominal, distensión abdominal y flatulencia. Otras manifestaciones asociadas a la infección gastrointestinal por *Blastocystis* spp. incluyen hemorragia rectal, leucocitos en heces, eosinofilia, hepatomegalia, esplenomegalia, rash cutáneo y angioedema. Al ser un parásito luminal, no causa disentería. Algunos autores asocian los subtipos 1, 3 y 6 a síntomas intestinales, el 2 a pacientes asintomáticos y el 4 a casos de diarrea aguda, pero aún no se ha hallado una correlación concluyente en ese sentido (Vassalos et al., 2010; del Coco et al., 2016; Kozubsky & Costas, 2017). Otros reportes sugieren una asociación entre *Blastocystis* y el síndrome de colon irritable, aunque no ha sido probada una correlación causal (Yakoob et al., 2010). La gran cantidad de asintomáticos positivos para *Blastocystis* spp., sugiere que el estadio de portador existe. Sin embargo, esto no necesariamente descarta su potencial rol patógeno. Se postula que el efecto patológico dependería del estado inmunológico del hospedador. En individuos inmunocomprometidos, como los que están infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la prevalencia de *Blastocystis* se sitúa entre 30 y 38% en los países desarrollados. Aunque hay reportes de casos de gran patogenicidad en pacientes inmunosuprimidos, como aquellos con VIH y pacientes transplantados, no se ha observado una mayor severidad en los síntomas y actualmente el parásito no es considerado como un patógeno oportunista (Costamagna & Visciarelli, 2004; Gijbers et al., 2013; Menéndez Bustelo et al., 2015). De todas formas, está comprobado que ciertas poblaciones son susceptibles de sufrir trastornos asociados a *Blastocystis*, como los pacientes pediátricos y los niños que padecen enfermedades gastrointestinales. Entre los adultos, se aísla comúnmente de las heces de pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pacientes con trasplante renal bajo quimioterapia y pacientes con neoplasias hematológicas (Zali et al., 2004; Kumarasamy et al., 2018). También se describió una asociación entre urticaria y la eliminación de formas ameboidales (Katsarou-Katsari et al., 2008).

Distribución geográfica

Blastocystis spp. es de distribución mundial, endémica de regiones tropicales, subtropicales y países en desarrollo, lo que se asocia a las condiciones sanitarias, nivel socioeconómico,

medidas de higiene y contacto con animales reservorio. No están descritas variaciones estacionales. *Blastocystis* spp. infecta al menos al 5-15% de los individuos en los países desarrollados y al 50-100% de los individuos en los países en desarrollo. En Argentina se registraron prevalencias divergentes según la región y el tipo de población relevada (16,3%-59,6%; Navone et al., 2017). En la ciudad de La Plata, las frecuencias fueron mayores en poblaciones vulnerables (48,7%), que en barrios suburbanos (48%) y en áreas urbanas (25,3%) (Gamboa et al., 2003; 2011).

Diagnóstico

La eliminación de *Blastocystis* spp. puede ser intermitente, por lo tanto, se pedirá al paciente una toma de muestra fecal seriada. En pacientes con heces diarreicas, se recomienda mirar una muestra en fresco al microscopio óptico. El uso de tinta china puede ayudar a visualizar la cápsula mucosa que rodea al parásito. Si las heces son firmes, las técnicas de concentración de la materia fecal por flotación y sedimentación son las más habituales en análisis de rutina, aunque el pleomorfismo de *Blastocystis* puede dificultar el diagnóstico. Las más utilizadas son la de sedimentación de Telemann modificada (solución de formol-sal-éter) y las de flotación de Sheather (solución azucarada) o Willis (solución densa de cloruro de sodio) (Imagen 1 y 2). Pueden utilizarse coloraciones como la tricrómica, hematoxilina férrica o Giemsa. También puede utilizarse un cultivo axénico para anaerobios, pero insume tiempo y no está disponible en cualquier laboratorio. Se han desarrollado kits de ELISA para la detección de anticuerpos. Un método de diagnóstico sofisticado y sensible es la PCR en muestras fecales (Salinas & Vildozola Gonzales, 2007; Kozubsky & Costas, 2017).

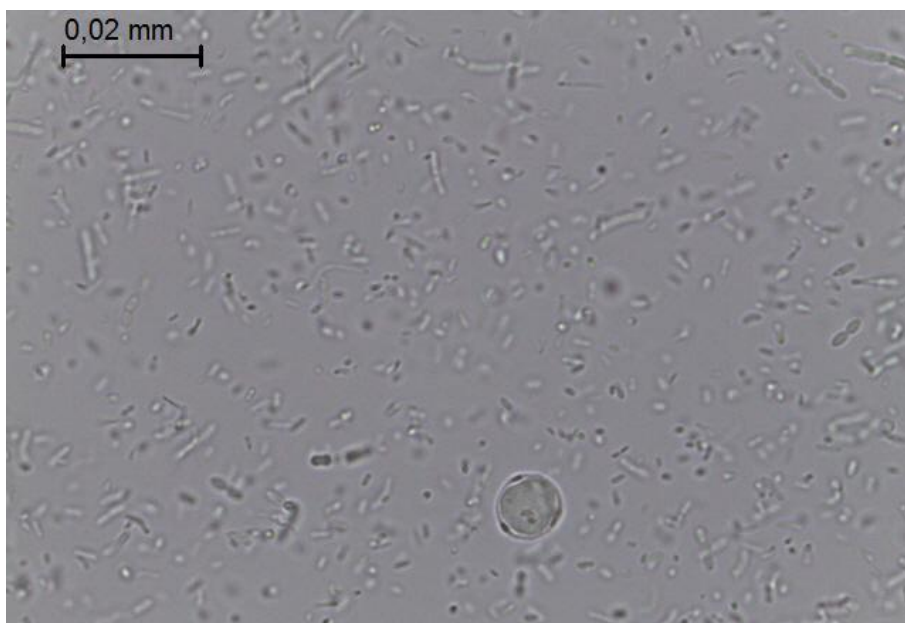


Imagen 1. *Blastocystis* spp. Forma vacuolar.

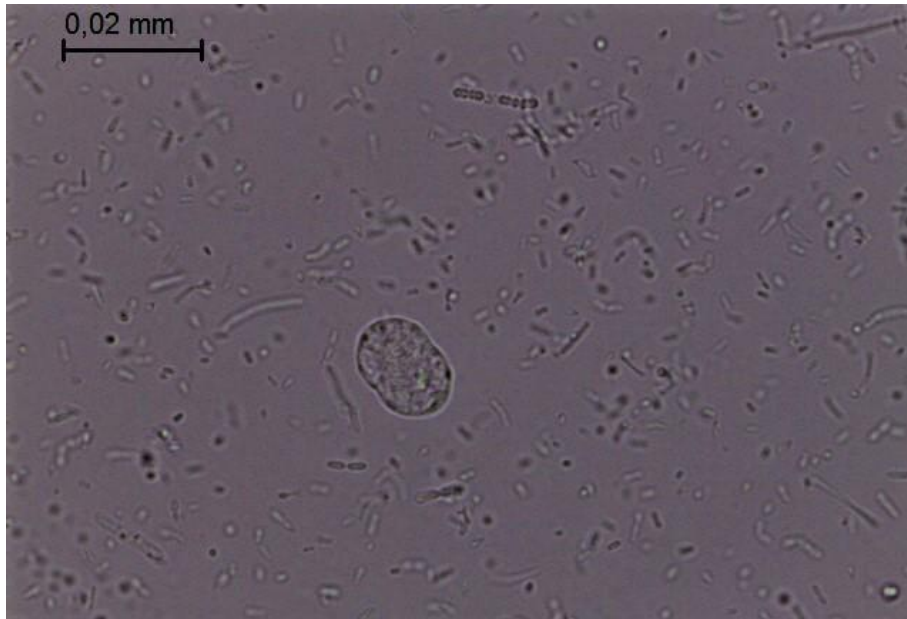


Imagen 2. *Blastocystis* spp. Forma vacuolar en fisión binaria

Tratamiento

No hay consenso sobre el tratamiento, salvo para los pacientes asintomáticos, a los cuales todos los autores recomiendan no tratar. Pese a la controversia en el significado clínico del organismo, los tratamientos utilizados son Metronidazol (1,5 g/día por diez días), Trimetoprima/sulfametoxazol (6 mg/kg/día, la primera y 30 mg/kg/día la segunda, durante siete días), Nitazoxanida (dos veces al día por tres días: 500 mg para adultos, 200 mg de cuatro a doce años y 100 mg para menores de cuatro años) y paromomicina. Sin embargo, algunas cepas desarrollan resistencia contra los fármacos recomendados actualmente, como el metronidazol; por lo tanto, el uso de remedios naturales o dietas especiales tiene muchos aspectos positivos que pueden abordar esta infección.

La literatura ha revelado que el ajo, el jengibre, algunas plantas medicinales y muchas especies contienen los compuestos orgánicos más eficaces para la erradicación del parásito. Actúan inhibiendo las enzimas parasitarias y los ácidos nucleicos, así como la síntesis de proteínas. La eficacia de cualquier compuesto orgánico específico depende del subtipo de *Blastocystis* spp. y, en consecuencia, de su inmunidad al tratamiento (Kumarasamy et al., 2018).

Profilaxis

Las medidas de profilaxis de esta protozoosis están dirigidas al control del agua de consumo y recreacional, la correcta eliminación de las excretas, medidas de higiene personal y de los alimentos y la educación sanitaria de las comunidades en riesgo.

Importancia en salud pública

A pesar de los más de mil millones de portadores en todo el mundo, la importancia para la salud pública sigue siendo desconocida. *Blastocystis* spp. se ha encontrado más comúnmente en el tracto gastrointestinal de individuos sanos. La diversidad y riqueza específica de las bacterias intestinales es mayor en los individuos positivos a *Blastocystis* spp. Se ha demostrado en el ST7 la presencia de bacterias intestinales beneficiosas como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. La contribución zoonótica a la colonización humana por *Blastocystis* spp. es probablemente baja (Stensvold et al., 2020).

Referencias

- Abou Gamra, M.M., Elwakil, H.S., El Deeb, H.K., Khalifa, K.E. & Abd Elhafiz, H.E. (2011). The potential use of 29 kDa protein as a marker of pathogenicity and diagnosis of symptomatic infections with *Blastocystis hominis*. *Parasitology research*. 108(5): 1139-1146.
- Boorom, K.F., Smith, H., Nimri, L., Viscogliosi, E., Spanakos, G., Parkar, U., ... & Jones, M.S. (2008). Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. *Parasites & Vectors*. 1(1): 1-16.
- Costamagna, S. & Visciarelli, E. (2008). *Parasitosis regionales. Un estudio referido a las principales parasitosis de Bahía blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina*. 2da. Ed. Editorial de la Universidad Nacional del Sur.
- Del Coco, V.F., Molina, N.B., Basualdo, J.A. & Córdoba, M.A. (2017). *Blastocystis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros. *Revista Argentina de Microbiología*. 49(1): 110-118.
- Eroglu, F., Genc, A., Elgun, G. & Koltas, I.S. (2009). Identification of *Blastocystis hominis* isolates from asymptomatic and symptomatic patients by PCR. *Parasitology research*. 105(6): 1589-1592.
- Gamboa, M.I., Basualdo, J.A., Córdoba, M.A., Pezzani, B.C., Minvielle, M.C. & Lahitte, H.B. (2003). Distribution of intestinal parasitoses in relation to environmental and sociocultural parameters in La Plata, Argentina. *Journal of helminthology*. 77(1): 15-20.
- Gamboa, M.I., Navone, G.T., Orden, A.B., Torres, F., Castro, L. & Oyhenart, E.E. (2011). Socio-environmental conditions, intestinal parasitic infections and nutritional status in children from a suburban neighborhood of La Plata, Argentina. *Acta Trópica*. 118 (3): 184-189.
- Gijsbers, C.F., Schweizer, J.J. & Büller, H.A. (2013). Protozoa as a cause of recurrent abdominal pain in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 57(5): 603-606.
- Kozubsky, L. & Costas, M.E. (2017). *Parasitología humana para bioquímicos*. Series: Libros de Cátedra.

- Kumarasamy, V., Anbazhagan, D., Subramaniyan, V. & Vellasamy, S. (2018). *Blastocystis* sp., parasite associated with gastrointestinal disorders: an overview of its pathogenesis, immune modulation and therapeutic strategies. *Current pharmaceutical Design*. 24(27): 3172-3175.
- Lepczyńska, M., Białkowska, J., Dzika, E., Piskorz-Ogórek, K. & Korycińska, J. (2017). Blastocystis: how do specific diets and human gut microbiota affect its development and pathogenicity? *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 36(9): 1531-1540.
- Méndez Bustelo, M.J., do Muiño Joga, M., Garabal Sánchez, S., Ben López, E. & Llovo Taboada, J. (2015). *Blastocystis hominis*, un gran desconocido. *Revista Pediatría De Atención Primaria*. 17(65): e39-e44.
- Navone, G.T., Zonta, M.L., Cociancic, P., Garraza, M., Gamboa, M.I., Giambelluca, L.A., Dahinten, S. & Oyhenart, E.E. (2017). Estudio transversal de las parasitosis intestinales en poblaciones infantiles de Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 41: e24.
- Parija, S.C. & Jeremiah, S.S. (2013). Blastocystis: Taxonomy, biology and virulence. *Tropical parasitology*. 3(1): 17.
- Rajamanikam, A. & Govind, S.K. (2013). Amoebic forms of *Blastocystis* spp.-evidence for a pathogenic role. *Parasites & Vectors*. 6(1): 1-9.
- Salinas, J.L. & Vildozola Gonzales, H. (2007). Infección por Blastocystis. *Revista de Gastroenterología del Perú*. 27(3): 264-274.
- Sekar, U., & Shanthi, M. (2015). Recent insights into the genetic diversity, epidemiology and clinical relevance of Blastocystis species. *The Journal of Medical Research*. 1: 33-39.
- Stensvold, C.R., Suresh, G.K., Tan, K.S., Thompson, R.A., Traub, R.J., Viscogliosi, E., ... & Clark, C.G. (2007). Terminology for Blastocystis subtypes—a consensus. *Trends in Parasitology*. 23(3): 93-96.
- Stensvold, C.R. & Clark, C.G. (2016). Current status of Blastocystis: a personal view. *Parasitology international*. 65(6): 763-771.
- Stensvold, C.R., Tan, K.S. & Clark, C.G. (2020). Blastocystis. *Trends in Parasitology*. 36(3): 315-316.
- Tan, K.S. (2008). New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clinical Microbiology Reviews*. 21(4): 639-665.
- Tan, T.C., Tan, P.C., Sharma, R., Sugnaseelan, S. & Suresh, K.G. (2013). Genetic diversity of caprine Blastocystis from Peninsular Malaysia. *Parasitology research*. 112(1): 85-89.
- Taylor-Orozco, V., López-Fajardo, A., Muñoz-Marroquín, I., Hurtado-Benítez, M. & Ríos-Ramírez, K. (2016). *Blastocystis* sp: evidencias de su rol patógeno. *Biosalud*. 15(2): 69-86.
- Vassalos, C.M., Spanakos, G., Vassalou, E., Papadopoulou, C. & Vakalis, N. (2010). Differences in clinical significance and morphologic features of Blastocystis sp subtype 3. *American Journal of Clinical Pathology*. 133(2): 251-258.
- Vdovenko, A.A. (2000). *Blastocystis hominis*: origin and significance of vacuolar and granular forms. *Parasitology Research*. 86(1): 8-10.

- Yakoob, J., Jafri, W., Beg, M.A., Abbas, Z., Naz, S., Islam, M. & Khan, R. (2010). Irritable bowel syndrome: is it associated with genotypes of *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*. 106(5): 1033-1038.
- Zali, M.R., Mehr, A.J., Rezaian, M., Meamar, A.R., Vaziri, S. & Mohraz, M. (2004). Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 57(6): 268-70.
- Zhang, X., Qiao, J.Y., Zhou, X.J., Yao, F.R. & Wei, Z.C. (2007). Morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis* in diarrhea and in vitro. *Parasitology Research*. 101(1): 43-51.

Reino Metazoa

Phylum Cnidaria

Clase Myxozoa

Subclase Mixosporea

Orden Bivalvulida

Familia Ceratomyxidae

Género *Ceratonova*

Familia Enteromyxidae

Género *Enteromyxum*

Familia *Myxobolidae*

Género *Henneguya*

Género *Myxobolus*

Familia Kudoidae

Género *Kudoa*

Familia Parvicapsulidae

Género *Parvicapsula*

Familia Saccoporidae

Género *Tetracapsuloides*

Familia Myxobilatidae

Género *Hoferellus*

Familia Myxidiidae

Género *Myxidium*

Familia Sphaeroporidae

Género *Sphaerospora*

CAPÍTULO 28

Clase Myxozoa. Myxozoanosis

Delfina María Paula Cantatore y María Alejandra Rossin

Generalidades

Los Myxozoa Grassé 1970 comprenden a un grupo monofilético de microorganismos eucariotas, endoparásitos multicelulares obligados con ciclos de vida complejos de una gran diversidad de hospedadores, principalmente de ambientes acuáticos (Lom & Dyková, 2006; Kent et al., 2001; Feist & Longshaw, 2006). Estos organismos fueron reportados por primera vez en 1825 por Jurine y, pese a que ya en 1899 Štolc notó que presentaban características afines a los metazoos, fueron considerados protozoos hasta los años 70' (Siddal et al., 1995). Esto probablemente se debió a que presentan miniaturización y simplificación extrema de su plan corporal asociada al parasitismo, a la ocurrencia de estadios del desarrollo dentro de las células del hospedador y a la presencia de segundos y terceros estadios celulares formados endógenamente durante la proliferación. Una vez confirmada su condición de metazoo a partir de datos moleculares (Smothers et al., 1994) y ultraestructurales (Siddal et al., 1995), su posición filogenética dentro de los metazoos fue incierta por muchos años, dada la divergencia morfológica y molecular extrema que presentan (Kent et al., 2001; Siddal et al., 1995; Canning & Okamura, 2004). Sin embargo, estudios recientes demostraron que los mixozoos son cnidarios altamente modificados (Jiménez-Guri et al., 2007), carentes de verdaderas gametas, embriogénesis, estadios larvales, sistema nervioso, sistema digestivo, cilias y centriolos (Chang et al., 2015). Estos organismos perdieron muchos de los genes responsables del desarrollo multicelular, diferenciación celular y de la coordinación y comunicación intercelular, siendo sus genomas uno de los más pequeños entre los animales (<200 Mb) (Chang et al., 2015).

Hasta el presente, fueron descritas más de 2400 especies de mixozoos (Feist & Longshaw, 2006; Lom & Dyková, 2006), pertenecientes a la (Clase) Subclase Malascosporea (Canning, Curry, Feist, Longshaw & Okamura 2000) (clado basal y poco diverso, con no más de 20 especies descritas) y a la (Clase) Subclase Myxosporea Bütschli 1881 (Kent et al., 2001; Canning & Okamura, 2004). Entonces, los mixozoos representan aproximadamente un 19% de la diversidad específica de los cnidarios (Atkinson et al., 2018). Los continuos descubrimientos de especies de mixozoos sugieren que la diversidad de este grupo está ampliamente subestimada y en este sentido, se cree que existen de una a varias especies de mixozoos por cada especie de pez teleósteo existente. El conocimiento de este grupo de organismos es

parcial; se encuentra sesgado al subtaxa más especioso (Clase) Subclase Myxosporea, a la fase del ciclo de vida más conocida (fase mixospora), a las especies que parasitan peces teleósteos (taxón de hospedadores más importantes) y a las especies con mayor importancia ecológica y/o económica (*Ceratonova shasta* (Noble 1950), *Enteromyxum leei* (Diamant, Lom & Dyková 1994), *Henneguya ictaluri* Pote, Hanson & Shivaji 2000, *Kudoa thyrsites* (Gilchrist, 1924), *Myxobolus cerebralis* Hofer 1903, *Parvicapsula pseudobranchicola* Shulman 1953 y *Tetracapsuloides bryosalmonis* Canning, Curry, Feist, Longshaw & Okamura 1999. Por consiguiente, las diferentes secciones de este capítulo están acorde a estas circunstancias.

Morfología

Los mixozoos son organismos microscópicos. Los miembros de su grupo más diverso y abundante, la (Clase) Subclase Myxosporea, presentan actinosporas de hasta 300 micras (Fig. 1a-c) y mixosporas de entre 10-50 micras (Fig. 1d-ñ) (ambas fases del ciclo de vida) con una gran variedad de formas que resultan en grupos genéricos o morfotipos reconocibles. Tanto las mixosporas como las actinosporas son multicelulares constituidas por células valvares externas que engloban células ameboidales infectivas (esporoplasma) y células capsulogénicas que conforman las cápsulas polares (organelas intracelulares homólogas a los nematocistos de los cnidarios) y que envuelven al filamento polar con función de anclaje al hospedador (Fig. 1a, 1d).

La taxonomía tradicional de los mixozoos se basa principalmente en la morfología, la morfometría y la estructura de las mixosporas maduras (*fase mixospora*, comúnmente hallada en peces). Así, los distintos géneros o morfotipos pueden ser caracterizados por el número (de 2 a 13, raramente 14 o 15) y la forma de la valva, la forma, la posición y el número de cápsulas polares (de 1 a 13), la posición relativa de la sutura y las cápsulas polares y, la presencia de ornamentaciones y/o proyecciones (Feist & Longshaw, 2006; Lom & Dyková, 2006). A nivel específico, sin embargo, la caracterización se basa en la dimensión de la espora y las cápsulas polares, la caracterización de las ornamentaciones y las proyecciones cuando están presentes, el número de vueltas del filamento polar dentro de las cápsulas polares y el número y disposición de/los esporoplasma/s y sus núcleos (Lom & Arthur, 1989).

El número restringido de caracteres con valor taxonómico debido a la simplicidad morfológica asociada al parasitismo (Lom & Arthur, 1989; Lom & Dyková, 2006) limita el uso de los caracteres morfológicos como únicos criterios fiables para la descripción o identificación de especies y para la determinación de sus relaciones filogenéticas (Kent et al., 2001; Canning & Okamura, 2004; Lom & Dyková, 2006). A esto se suma la existencia de malformaciones en las esporas, de plasticidad fenotípica y a la extendida convergencia de morfotipos, resultando en ensambles de especies crípticas (Arthur & Lom, 1985; Bartošová & Fiala, 2011). Consecuentemente, como aspectos complementarios para la descripción y/o determinación de las especies se deben considerar los ciclos de vida, la morfología de las actinosporas, la ultraestructura

de las mixosporas, la histopatología, la morfología y morfometría de los estadios vegetativos, el tropismo tisular, la identidad del hospedador y la distribución geográfica (Lom & Noble, 1984; Lom & Arthur, 1989; Lom & Dyková, 2006; Nielsen et al., 2002). El uso de técnicas moleculares como herramientas de análisis en sistemática ha permitido la caracterización adicional de este grupo de parásitos. Así, varios segmentos de ADN (18S ADNr, 5.8S ADNr, 28S ADNr, ITS1, ITS 2 y EF2) son utilizados para estudiar las relaciones intra e interespecíficas de los mixozoos (Bartošová et al., 2009). Actualmente, la secuencia 18S ADNr es el único fragmento de ADN conocido para un amplio rango de mixozoos, constituyendo la única fuente de información para la reconstrucción de su historia evolutiva. Se sugiere que una descripción o identificación adecuada de una especie debe contener aspectos morfológicos, biológicos y moleculares en conjunto (Kent et al., 2001).

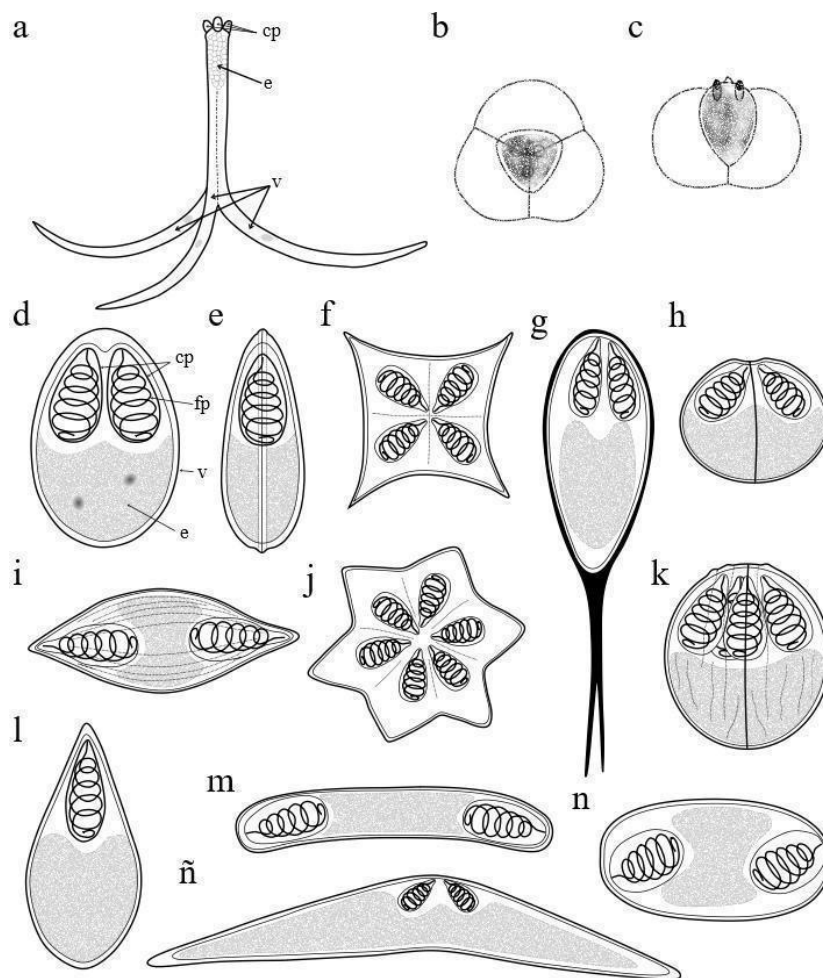


Figura 1. Estructura esquemática de a. actinospora tipo *Triactinomyxon*, b. actinospora tipo *Neoactinomyxon* vista apical, c. actinospora tipo *Neoactinomyxon* vista valvar, d-ñ. morfotipos de mixosporas representativos de los principales géneros (d. *Myxobolus* vista valvar, e. *Myxobolus* vista sutural, f. *Kudoa* (4 valvas), g. *Henneguya*, h. *Sphaerospora*, i. *Myxidium*, j. *Kudoa* (6 valvas), k. *Chloromyxum*, l. *Thelohanellus*, m. *Sphaeromyxa*, n. *Zchokkella* y ñ. *Ceratomyxa*). cp = cápsula polar, e = esporoplasma, fp = filamento polar, v = valva.

Transmisión, formas de diseminación y ciclo biológico

Los mecanismos de transmisión, formas de diseminación, ciclos de vida y estadios de desarrollo son desconocidos o muy poco conocidos para la mayoría de las especies de mixozoos descritas. Si bien, hasta el momento se conoce solamente el ciclo completo de unas 55 especies (Holzer et al., 2018), es probable que un ciclo de vida indirecto con dos hospedadores ocurra en la mayoría de los mixozoos (Kent et al., 2001). Así, un ciclo de vida típico alterna entre un invertebrado como hospedador primario o definitivo, donde ocurre la *fase actinospora* y un vertebrado como hospedador secundario o intermediario donde ocurre la *fase mixospora*. Ambas fases resultan en esporas infectivas (actinosporas y mixosporas respectivamente), liberadas al medio (Fig. 2). Los ciclos conocidos fueron resueltos tanto por estudios controlados de infección (solo 5 de ellos), como por comparación de datos moleculares de ambas fases del ciclo de vida, y en su mayoría pertenecen a especies dulceacuícolas (Eszterbauer et al., 2015).

En la (Clase) Subclase Malacosporea la *fase actinospora* tiene lugar en briozoos, mientras que en la (Clase) Subclase Myxosporea ocurre en oligoquetos, poliquetos o sipuncúlidos; para ambas la *fase mixospora* ocurre principalmente en peces teleósteos. El registro de hospedadores secundarios también incluye a elasmobranquios (Arthur & Lom 1985), anfibios (Eiras 2005), reptiles (Eiras 2005), trematodes (Overstreet, 1976) y cefalópodos (Yokohama & Masuda, 2001). Recientemente, se ha ampliado el rango de hospedadores para incluir a taxa no acuáticos, tales como aves y mamíferos (Friedrich et al., 2000; Lowenstine et al., 2002). La gran mayoría de los mixozoos son hospedador-específicos, infectando a una única especie de hospedador (especies monoxenas), o a un número limitado de especies filogenéticamente relacionadas (especies estenoxenas). No obstante, esto, existen especies que pueden infectar un amplio rango de hospedadores (especies eurixenas), genéticamente distantes (ej. *Myxobolus aeglefini* en gádidos y pleuronéctidos, *Kudoa thyrsites* en diferentes órdenes de peces óseos) (Nielsen et al., 2002; Moran et al., 1999).

Las mixosporas liberadas al medio por el hospedador intermediario (generalmente un pez) son ingeridas por el hospedador definitivo (invertebrado). Una vez ingeridas, las esporas protruyen sus filamentos polares de anclaje, escinden las valvas a través de la sutura y liberan el esporoplasma infectivo. El esporoplasma penetra el epitelio intestinal para localizarse intracelularmente o en el celoma del hospedador definitivo donde tienen lugar la esquizogonia o estadio de proliferación, la gametogonia y la esporogonia. Estas etapas del ciclo de vida darán lugar por multiplicación y diferenciación celular a las actinosporas o malacosporas dentro de un pansporoquiste. Las actinosporas o malacosporas son liberadas al medio con las heces o la muerte del hospedador definitivo permaneciendo en la columna de agua y una vez que establecen contacto con el hospedador intermediario descarga el filamento polar de anclaje. El esporoplasma ameboidal del interior de las actinosporas, que contiene células infectivas secundarias, penetra activamente la piel, las branquias o el epitelio digestivo, comenzando el estadio de proliferación. En muchos géneros (*Hoferellus*,

Kudoa, *Myxidium*, *Myxobolus* o *Sphaerospora*) ocurren ciclos de proliferación en sitios diferentes al tejido u órgano blanco, que aumentan el número de parásitos en el hospedador, sin involucrar la esporogénesis. En el tejido u órgano blanco, los trofozoitos se dividen, generando plasmodios masivos polispóricos, o bien múltiples pseudoplasmodios, que darán lugar a una o dos mixosporas cada uno (Fig. 2). Las infecciones que se generan en tejidos cercanos o comunicados con la superficie externa del hospedador (piel, branquias, intestino, vejiga urinaria, etc.), pueden romperse y liberar las mixosporas infectivas al medio. La diseminación de mixosporas que infectan tejidos más profundos dependerá de la muerte del hospedador, para dar lugar a un nuevo ciclo de infección.

La transmisión es afectada por una gran variedad de factores relacionados con el parásito, el hospedador y el ambiente que operan diferencialmente desde el encuentro de la espora (mixospora o actinospora) con el hospedador (intermediario o definitivo respectivamente) a la liberación de la espora al medio y su posterior dispersión. Así, la dispersión y el encuentro con el hospedador dependerá de la morfología de la espora, de factores ambientales estresores o dispersores, y de la estructura comunitaria del hospedador. La cantidad de eventos de infección que proliferan dependerá de la especificidad y susceptibilidad del hospedador y la cantidad de esporas liberadas dependerá de las condiciones ambientales, principalmente la temperatura, y del tiempo de vida del hospedador (Alexander et al., 2015). A diferencia de las mixosporas, cuyas valvas más duras y resistentes les confieren resistencia prolongada y capacidad infectiva por meses o años, el periodo infectivo de las actinosporas, más lábiles y delicadas, dura unas pocas horas a días (Yokoyama et al., 1993). Sin embargo, el conocimiento de estas etapas es aún fragmentario y muy pobre, y es necesario establecer si lo que se conoce a partir del estudio de unos pocos sistemas puede generalizarse a todos los mixozoos (Alexander et al., 2015).

Aunque muy poco común entre los mixozoos, se demostró que algunas especies del género *Enteromyxum* pueden ser transmitidas directamente entre peces (transmisión horizontal) a través de la ingesta del tejido infectado o de esporas liberadas al medio sin pasar por la fase *actinospora* (Diamant, 1997). Esta ruta de transmisión, fue registrada en sistemas intensivos de cultivo que facilitan la rápida diseminación del parásito, pero no hay registro de su ocurrencia en sistemas naturales.

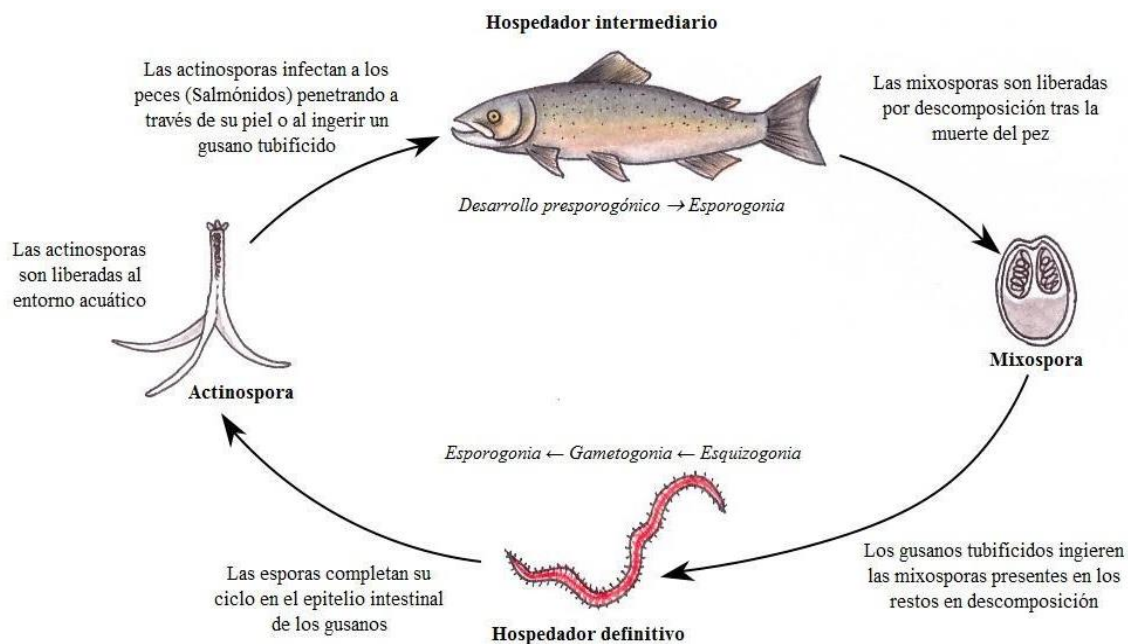


Figura 2. Ciclo de vida esquemático y simplificado de un mixozoo.

Patogenia, signología clínica y diagnóstico

La mayoría de las especies de mixozoos producen infecciones subclínicas o asintomáticas, sin aparente patogenicidad en sus hospedadores (Lom & Dyková, 2006; Kent et al., 2001). Esto probablemente refleja el resultado de los procesos de co-evolución a largo plazo con contra-adaptaciones por parte del parásito a la respuesta inmune y del hospedador a la virulencia (Schmidt-Posthaus & Wahli, 2015). Sin embargo, algunas especies son altamente patógenas y constituyen una seria amenaza, tanto para peces silvestres como de cultivo de ambientes dulceacuícolas y marinos (ej. enfermedad del vértigo causada por *Myxobolus cerebralis*, enfermedad proliferativa del riñón causada por *Tetracapsuloides bryosalmonae*, ceratomyxosis causada por *Ceratomyxa shasta* que afecta a distintas especies de salmónidos), provocando daños ecológicos y económicos sustanciales para la acuicultura y la industria pesquera en todo el mundo (Kent et al., 2001; Lom & Dyková, 2006; Hallett & Bartholomew, 2011). Algunos mixozoos, como por ejemplo los multivalvúlidos del género *Kudoa*, pueden tener un impacto económico para la industria pesquera sin ser patógenos para el hospedador, ya que, aunque se encuentran en poblaciones naturales. Sus infecciones musculares pueden reducir la calidad de la carne y en algunos casos causar miolicuefacción proteolítica postmortem, haciendo que el producto no sea comercializable (Moran et al., 1999).

Los mixozoos infectan prácticamente a todos los tipos celulares, tejidos y órganos del hospedador (Molnar, 2002; Eszterbauer, 2004). Para la mayoría de las especies de mixozoos la esporogénesis es altamente microhábitat-específica. Si bien los mixozoos generan plasmodios o pseudoplasmodios en un tejido particular de un determinado órgano, en algunas especies la

especificidad por el órgano no ocurre y la esporogénesis está asociada solo a un tejido específico (epitelial, muscular, cartilaginoso, conectivo, nervioso, etc.) en cualquier parte del cuerpo (Molnár & Eszterbauer, 2015). En términos generales, los mixozoos pueden clasificarse en *formas histozoicas* o *formas celozoicas* según se encuentren parasitando tejidos propiamente dichos (residen en los espacios intercelulares, vasos sanguíneos o intracelularmente), o parasitando cavidades de órganos (habitan el lumen de distintos órganos como la vesícula biliar y ductos biliares, vejiga natatoria o tracto urinario), respectivamente.

En las infecciones subclínicas o asintomáticas el daño tisular es mínimo, mientras que en infecciones patológicas las mixosporidiosis pueden causar todas clase de cambios regresivos y progresivos en el tejido u órgano infectado, incluyendo atrofia, distrofia, hipertrofia, hiperplasia, necrosis e inflamación. La forma más común de reacción histopatológica ante una mixosporidiosis es la inflamación y posterior formación de granulomas (encapsulamiento del parásito por tejido conectivo y capas tisulares epiteloides), evitando la diseminación del parásito. El tejido infectado, también, puede presentar masas localizadas, nódulos, decoloración, quiste o neoplasia, dependiendo de la susceptibilidad del hospedador y la virulencia del parásito, siendo todas estas patologías inespecíficas.

Los signos clínicos de una infección y la sintomatología asociada ocurren durante la etapa de crecimiento y madurez del plasmodio o pseudoplasmodio en el tejido u órgano blanco. Dentro de un mismo individuo hospedador, pueden variar considerablemente, dependiendo del tejido u órgano infectado y de la especie de parásito (Bradford et al., 2010). Así, por ejemplo, las infecciones en las branquias pueden comprometer la capacidad respiratoria del pez, permitir el ingreso de infecciones secundarias a partir del tejido lesionado, disminuir el apetito, aletargamiento, nado errático, pérdida de equilibrio y/o la muerte. Las infecciones en la piel, escamas y tejido subcutáneo no son consideradas serias, pero si perjudiciales por su efecto estético en peces ornamentales. Las infecciones en el músculo de peces dulceacuícolas y marinos son reportadas en todo el mundo y varían desde inocuas hasta mortales en infecciones severas. Si bien la mayoría de los reportes ocurren en el músculo somático, otros órganos conteniendo tejido muscular también pueden ser afectados (corazón, intestino, branquias, etc.). Sin embargo, la principal consecuencia de una mixosporidiosis muscular es su efecto detrimental sobre la comercialización de la carne de pescado infectada por la presencia de quistes macroscópicos melanizados o la miolicuefacción enzimática postmortem. Las infecciones en el cartílago o el hueso están relacionadas con un número reducido de especies, pudiendo causar deformidades severas cuando la infección ocurre previamente a la osificación (peces juveniles) y afectar otros aspectos biológicos del hospedador, o ser asintomáticas si ocurre posteriormente. Las infecciones en el sistema reproductivo también son causadas por muy pocas especies y el resultado es la consecuente reducción de la fecundidad o castración. Aproximadamente unas 20 especies de mixozoos infectan el cerebro y la médula espinal en peces teleosteos, con escasa o nula respuesta por parte del hospedador. Es posible que una infección en este sistema provoque una encefalitis o cause anomalías comportamentales. El

sistema urinario es blanco de numerosas infecciones causadas por mixozoos, tanto histozoicos como celozoicos. Los daños histopatológicos causados por una mixosporidiosis en este sistema pueden variar desde una inflamación aguda o crónica hasta la necrosis, comprometiéndose la funcionalidad. Sin embargo, no es común que causen efectos irreversibles y los hospedadores pueden reponerse fácilmente. Otros órganos infectados por un gran número de especies de varios géneros son la vesícula biliar y el hígado, principalmente en peces marinos. La mayoría de estas infecciones son inocuas y sin aparente daño a los tejidos, aunque existen registros de colestasis y colangitis obstructivas por proliferación masiva del parásito.

Múltiples factores o condiciones operan en simultáneo afectando la susceptibilidad del hospedador y la patogenicidad del parásito, relacionados a factores bióticos (atributos específicos del hospedador) y abióticos (variables físico-químicas ambientales (Sitjà-Bobadilla et al., 2015)). Entre los factores intrínsecos del hospedador que pueden influenciar el desarrollo de una mixosporidiosis se encuentran la edad, el tamaño corporal, el estado nutricional y el linaje específico de este. Por ejemplo, los peces más jóvenes o pequeños son más susceptibles a las infecciones. Así, la susceptibilidad de los salmones a *M. cerebralis* disminuye con la edad y el tamaño de los peces a medida que el hueso reemplaza al cartílago (tejido blanco de esta especie) (El-Matbouli et al., 1992). Los hospedadores de mixozoos estenoxenos (capaces de infectar múltiples especies emparentadas), no son igualmente susceptibles o no desarrollan los mismos signos clínicos ante la misma infección. Por ejemplo, las distintas especies o diferentes linajes de una misma especie de salmónidos infectados por *M. cerebralis* varían en la susceptibilidad al parásito, y por ende, en la manifestación clínica de la infección (MacConnel & Vincent 2002). Mientras que entre los factores extrínsecos sugeridos se encuentran la temperatura del agua, la altitud (por su relación con la temperatura y la radiación ultravioleta B), factores de estrés y polución (Schmidt-Posthaus & Wahll, 2015). En general, el efecto de la temperatura se asocia en mayor medida a la formación, liberación y supervivencia de actinosporas en el ambiente (Ray et al., 2012). Entonces, es probable que una multiplicidad de factores contribuya en el desarrollo de una mixosporidiosis, siendo difícil discernir entre los efectos en el desarrollo del parásito versus los efectos sobre la resistencia o susceptibilidad del hospedador.

Como los signos clínicos de una mixosporidiosis son inespecíficos y variables según las condiciones, o bien, porque muchos mixozoos no producen ninguna patología evidente, la diagnosis de una infección por mixozoo requiere de la identificación de la mixospora en el tejido u órgano específico de una determinada especie hospedadora. Para ello, se examina una porción de tejido en fresco al microscopio óptico para la caracterización morfológica de la mixospora, en conjunto con estudios histopatológicos (ej. tinción Giemsa), para determinar el sitio específico y la severidad de infección y análisis moleculares para la caracterización genética de la infección, permitiendo así identificar fehacientemente al agente etiológico de una mixosporidiosis (Imagen 1).

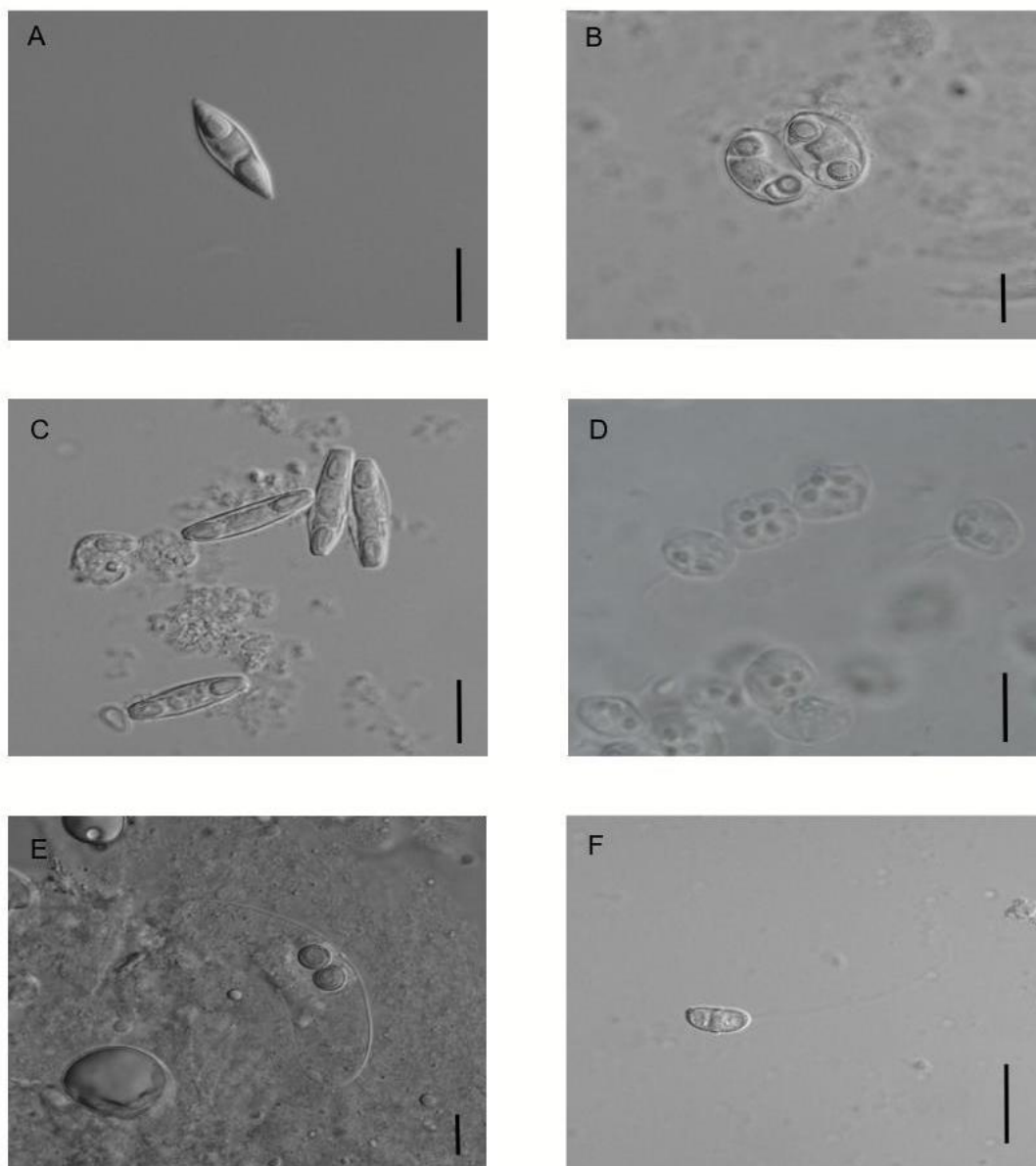


Imagen 1. Microfotografías de ejemplares de algunos de los géneros de Myxozoa parásitos de peces en el Mar Argentino. A) *Myxidium* sp., B) *Zschokkella* sp., C) *Sphaeromyxa* sp., D) *Kudoa rosembuschi*, E) *Ceratomyxa* sp. y F) *Fabespora* sp. Escala = 10 μ m. 100X (inmersión con DIC).

Distribución geográfica

Los mixozoos son componentes ubicuos de todos los ecosistemas, principalmente de aquellos acuáticos. Si bien existen algunas especies eurixenas cosmopolitas, la mayoría de los mixozoos, al ser hospedador-específicos, encuentran restringida su distribución al rango geográfico de los hospedadores involucrados en su ciclo de vida.

Sin embargo, existen mecanismos naturales y antropogénicos mediante los cuales los mixozoos pueden dispersarse y establecerse eficientemente en nuevos ambientes y en consecuencia, desarrollar enfermedades emergentes de importancia ecológica y/o económica, tanto en

peces silvestres como de cultivo (Feist & Longshaw, 2006). La variabilidad que presentan en torno a las estrategias de transmisión, propagación, persistencia en el ambiente y uso de los hospedadores, les confiere la potencialidad de explotar nuevos hospedadores y hábitats (Hallet et al., 2015). Por ejemplo, *M. cerebralis*, parásito de varias especies de salmónidos, fue introducido a Estados Unidos, Nueva Zelanda, Sudáfrica y Australia a través del traslado de peces vivos para cultivo o muertos para consumo humano (Bartholomew & Reno, 2002). Este proceso, también puede ocurrir a través del movimiento de oligoquetos infectados con actinosporas destinados a la alimentación de los peces (Lowers & Bartholomew, 2003).

La dispersión de infecciones por mixozoos es un proceso continuo y dinámico asociado a cambios bióticos y abióticos, que tienen lugar en el contexto del cambio climático global. Sin embargo, el escaso conocimiento de la diversidad y aspectos biológicos específicos de este grupo de parásitos, impide la detección de especies introducidas en aquellos hábitats o especies hospedadoras que aún no fueron estudiadas.

Tratamiento y profilaxis

Hasta el momento, no existen quimioterapias ni vacunas disponibles comercialmente para el tratamiento efectivo de las infecciones por mixozoos. El énfasis está puesto entonces, en la inmunidad del hospedador, la prevención, el control y la implementación de buenas pautas de manejo en situaciones de cultivo.

Las estrategias de prevención y control actuales incluyen acciones que operan modificando las condiciones ambientales, principalmente para disminuir la transmisión de los mixozoos. En comparación con las mixosporas, más duras y resistentes, las actinosporas son generalmente de corta duración y altamente susceptibles. El estadio 'actinospora' puede considerarse, entonces, como el punto débil en el ciclo de vida de los mixozoos y constituir el objeto de las estrategias de prevención y control. Así, las estrategias disponibles ponen énfasis en la prevención de la transmisión hacia los peces a través de la remoción o disminución de la densidad del hospedador invertebrado, donde ocurre la esporogénesis de actinosporas, evitar el período de mayor infección potencial, dada la estacionalidad que suele observarse en la esporogénesis, y/o remover las actinosporas del agua por filtración, exposición a UV u ozono, (Hedrick et al., 2012). Además, se sugiere adoptar medidas de manejo que reduzcan la densidad del stock y mejoren la calidad del agua para reducir el estrés que suprime el sistema inmunológico del hospedador. Muchos mixozoos, principalmente aquellos que causan enfermedades agudas, no matan al hospedador intermediario, a menos que estresores secundarios o inmunosupresores estén actuando en conjunto. Por lo tanto, las mixosporidiosis tienden a ser enfermedades crónicas. Es importante destacar que la presencia del parásito no es una condición que necesariamente termine en el desarrollo de una enfermedad.

La existencia de resistencia innata y adaptativa en los hospedadores ante algunas infecciones específicas surgen como posibilidades promisorias de abordaje de las mixosporidiosis, principalmente aquellas de importancia en acuicultura. En este sentido, actualmente se están

desarrollo líneas de investigación que estudian la selección genética de especies o razas con resistencia innata a infecciones específicas y el desarrollo de vacunas, de terapias inmunológicas específicas o de inmunomoduladores o inmunoestimulantes (Sitjà-Bobadilla et al., 2015).

Importancia en la salud pública

Las mixosporidiosis en humanos son consideradas accidentales, dado que hasta el momento solo se registraron mixosporas maduras en las heces, pero no la presencia de otros estadios de desarrollo ni de esporogénesis. La presentación clínica varía desde asintomática (ej. *Henneguya* spp., *Myxobolus* spp.), respuestas alérgicas (ej. *Kudoa* spp.), a dolor abdominal y gastroenteritis aguda (ej. *Kudoa septempunctata*) (Moncada et al., 2001; Kawai et al., 2012). Todas las infecciones están asociadas al consumo de carne de pescado cruda o poco cocida infectada con esporas (Moncada et al., 2001).

Actualmente, las intoxicaciones alimentarias causadas por el consumo de pescado crudo (sushi, sashimi, ahumados etc.) son consideradas un problema mayor en la salud pública en Japón (Harada et al., 2012). Muchos de los brotes de intoxicación alimentaria registrados en ese país fueron relacionados con el consumo del lenguado *Paralichthys olivaceus* (Paralichthyidae) importado de Korea del Sur donde se cultiva. Este pez es el hospedador intermediario de *Kudoa septempunctata* (Kawai et al., 2012), parásito en el músculo somático. A diferencia de lo que ocurre con otras especies de mixozoos que pasan intactas por el tracto digestivo humano, el esporoplasma de las esporas de *K. septempunctata* tienen la potencialidad de invadir las células epiteliales del intestino humano y comprometer la integridad de la capa celular. Sin embargo, no proliferan ni permanecen el tiempo suficiente en el tejido como para comprometer su funcionalidad a largo plazo (Sugita-Konishi et al., 2014). Pese a su importancia en la salud humana, aún se desconocen aspectos biológicos básicos de este mixozoo como su ciclo de vida, especificidad, estacionalidad y distribución geográfica, así como los mecanismos exactos de la relación entre el parásito y el tejido entérico humano (Sugita-Konishi et al., 2014).

Referencias

- Alexander, J.D., Kerans, B.L., El-Matbouli, M., Hallett, S.L., & Stevens, L. (2015). Annelid-myxosporean interactions. In *Myxozoan evolution, ecology and development* (pp. 217-234). Springer, Cham.
- Arthur, J.R. & Lom, J. (1985). *Sphaerospora araii* n. sp. (Myxosporidia: Sphaerosporidae) from the kidney of a longnose skate (*Raja rhina* Jordan and Gilbert) from the Pacific Ocean off Canada. *Canadian Journal of Zoology*. 63(12): 2902-2906.
- Atkinson, S.D.; Bartholomew, J.L. & Lotan, T. (2018). Myxozoans: ancient metazoan parasites find a home in phylum Cnidaria. *Zoology*. 129: 66-68.

- Bartholomew, J. L. & Reno, P. W. (2002). The history and dissemination of whirling disease. *American Fisheries Society Symposium*, 26: 1-22.
- Bartošová, P. & Fiala, I. (2011). Molecular evidence for the existence of cryptic species assemblages of several myxosporeans (Myxozoa). *Parasitology Research*. 108(3): 573-583.
- Bartošová, P.; Fiala, I. & Hypsa, D.V. (2009). Concatenated SSU and LSU rDNA data confirm the main evolutionary trends within myxosporeans (Myxozoa: Myxosporea) and provide an effective tool for their molecular phylogenetics. *Molecular Phylogeny and Evolution*. 53(1): 81-93.
- Bradford, M.J.; Lovy, J.; Patterson, D.A.; Speare, D.J.; Bennett, W.R.; Stobart, A. R. & Tovey, C. P. (2010). *Parvicapsula minibicornis* infections in gill and kidney and the premature mortality of adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) from Cultus Lake, British Columbia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 67(4): 673-683.
- Canning, E.U. & Okamura, B. (2004). Biodiversity and evolution of the Myxozoa. *Advances in Parasitology*. 56(56): 43-131.
- Canning, E.U.; Tops, S.; Curry, A.; Wood, T.S. & Okamura, B. (2002). Ecology, development and pathogenicity of *Buddenbrockia plumatellae* Schröder, 1910 (Myxozoa, Malacosporea) (syn. *Tetracapsula bryozoides*) and establishment of *Tetracapsuloides* n. gen. for *Tetracapsula bryosalmonae*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 49(4): 280-295.
- Chang, E.S.; Neuhof, M.; Rubinstein, N.D.; Diamant, A.; Philippe, H.; Huchon, D. & Cartwright, P. (2015). Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112(48): 14912-14917.
- Diamant A. 1997. Fish-to-fish transmission of a marine myxosporean. *Diseases of Aquatic Organism*. 30(2): 99-105.
- Eiras, J.C. (2005). An overview on the myxosporean parasites in amphibians and reptiles. *Acta Parasitologica*. 50: 267-275.
- El-Matbouli, M.; Fischer-Scherl, T. & Hoffmann, R.W. (1992). Present knowledge of the life cycle, taxonomy, pathology, and therapy of some Myxosporea spp. important for freshwater fish. *Annual Review of Fish Diseases*. 2: 367-402.
- Eszterbauer, E. (2004). Genetic relationship among gill-infecting *Myxobolus* species (Myxosporea) of cyprinids: molecular evidence of importance of tissue specificity. *Disease of Aquatic Organism*. 58(1): 35-40.
- Eszterbauer, E.; Atkinson, S.; Diamant, A., Morris, D.; El-Matbouli, M. & Hartikainen, H. (2015). Myxozoan life cycle: practical approaches and insights. In B. Okamura; A. Gruhl y J. L. Bartholomew (Eds), *Myxozoan evolutions, ecology and development* (pp 175-198). Cham: Springer.
- Feist, S.W. & Longshaw, M. (2006). Phylum Myxozoa. In Woo, P. T. K. (Ed) *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan Infections* (pp 230-296). CABI, Wallingford.
- Hallett, S.L. & Bartholomew, J. L. (2011). *Myxobolus cerebralis* and *Ceratomyxa shasta*. In P. T. K. Woo; K. Buckmann (Eds) *Fish parasites: pathobiology and protection*. CABI, Wallingford.
- Hallett, S.L.; Hartigan, A. & Atkinson, S.D. (2015). Myxozoans on the move: dispersal modes,

- exotic species and emerging diseases. In B. Okamura; A. Gruhl; J. L. Bartholomew Edit. *Myxozoan evolutions, ecology and development* (pp 343-362). Springer, Cham.
- Harada, T.; Kawai, T.; Jinnai, M.; Ohnishi, T.; Sugita-Konishi, Y. & Kumeda, Y. (2012). Detection of *Kudoa septempunctata* 18S Ribosomal DNA in patient fecal samples from novel food-borne outbreaks caused by consumption of raw olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Clinical Microbiology*. 50(9): 2964-2968.
- Hedrick, R.P.; McDowell, T.S.; Adkison, M.A.; Myklebust, K.A.; Mardones, F.O. & Petri, B. (2012). Invasion and initial replication of ultraviolet irradiated waterborne infective stages of *Myxobolus cerebralis* results in immunity to whirling disease in rainbow trout. *International Journal of Parasitology*. 42(7): 657-666.
- Holzer, A.S.; Bartošová-Sojková, P.; Born-Torrijos, A.; Hartigan, A. & Fiala, I. (2018). The joint evolution of the Myxozoa and their alternate hosts: A cnidarian recipe for success and vast biodiversity. *Molecular Ecology*. 27(7): 1661-1666.
- Jiménez-Guri, E.; Philippe, H.; Okamura, B. & Holland, P.W.H. (2007) *Buddenbrockia* is a cnidarian worm. *Science*. 317(5834): 116-118.
- Kawai, T.; Sekizuka, T.; Yahata, Y.; Kuroda, M.; Kumeda, Y.; Iijima, Y.; Kamata, Y.; Sugita-Konishi, Y. & Ohnishi, T. (2012). Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. *Clinical Infectious Diseases*. 54(8): 1046-1052.
- Kent, M.L.; Margolis, L. & Corliss, J.O. (1994). The demise of a class of protists: taxonomic and nomenclatural revisions proposed for the protist phylum Myxozoa Grassé, 1970. *Canadian Journal of Zoology*. 72(5): 932-937.
- Kent, M.L.; Andree, K.B.; Bartholomew, J.L.; El-Matbouli, M.; Desser, S.S.; Devlin, R.H.; Feist, S.W.; Hedrick, R.P.; Hoffmann, R.W.; Khattra, J.; Hallett, S.L.; Lester, R.J.; Longshaw, M.; Palenzuela, O.; Siddal, M.E. & Xiao, C. (2001). Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 48(4): 395-413.
- Lom, J. & Arthur, J.R. (1989). A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. *Journal of Fish Disease*. 12(2): 151-156.
- Lom, J. & Dyková, I. (2006). Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitologica*. 53(1): 1-36.
- Lom, J. & Noble, E.R. (1984). Revised classification of the Myxosporea Bütschli, 1881. *Folia Parasitologica*. 31(3): 193-205.
- Lowenstine, L.J.; Rideout, B.A.; Gardner, M.; Busch, M.; Mace, M.; Bartholomew, J. & Gardiner, C.H. (2002). Myxozoanosis in waterfowl: a new host record? *Proceedings of the American Society of Zoological Veterinary*. 86-87.
- Lowers, J.M. & Bartholomew, J.L. (2003). Detection of myxozoan parasites in oligochaetes imported as food for ornamental fish. *Journal of Parasitology*. 89(1): 84-91.
- MacConnell, E. & Vincent, E.R. (2002). The effects of *Myxobolus cerebralis* on the salmonid host. In J.L. Bartholomew; J.C. Wilson (Eds.) Whirling disease: reviews and current topics. *American Fisheries Society Symposium* (pp 95-108). American Fisheries Society, Maryland.

- Molnár, K. & Eszterbauer, E. (2015). Specificity of infection sites in vertebrate hosts. In B. Okamura; A. Gruhl & J.L. Bartholomew (Eds). *Myxozoan evolutions, ecology and development* (pp. 295-313). Springer, Cham.
- Moncada, L.I.; López, M.C.; Murcia, M.I.; Nicholls, S., León, F.; Guío, O.L. & Corredor, A. (2001). *Myxobolus* sp., another opportunistic parasite in immunosuppressed patients. *Journal Clinical Microbiology*. 39(5): 1938-1940.
- Moran, J.D.W.; Whitaker, D.J. & Kent, M.L. (1999). Natural and laboratory transmission of the marine myxozoan parasite *Kudoa thyrsites* to Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*. 11(2): 110-115.
- Nielsen, C.V.; Kjøie, M.; Székely, C. & Buchmann, K. (2002). Comparative analysis of 18S rRNA genes from *M. aeglefini* Auerbach, 1906 isolated from cod, plaice and dab, using PCR-RFLP. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 22(3): 201-205.
- Overstreet, R.M. (1976). *Fabespora vermicola* sp. n., the first myxosporidian from a platyhelminth. *The Journal of Parasitology*. 62: 680-684.
- Ray, A.R.; Holt, R.A. & Bartholomew, J.L. (2012). Relationship between temperature and *Ceratomyxa shasta*-induced mortality in Klamath River salmonids. *Journal of Parasitology*. 98(3): 520-527.
- Schmidt-Posthaus, H. & Wahli, T. (2015). Host and environmental influence on development of disease. In B. Okamura; A. Gruhl y J. L. Bartholomew (Eds), *Myxozoan evolutions, ecology and development* (pp 281-294). Springer, Cham.
- Siddall, M.E.; Martin, D.S.; Bridge, D.; Desser, S.S. & Cone, D.K. (1995). The demise of a phylum of protists: phylogeny of Myxozoa and other parasitic Cnidaria. *The Journal of Parasitology*. 81: 961-967.
- Sitjà-Bobadilla, A.; Schmidt-Posthaus, H.; Wahli, T.; Holland, J. W. & Secombes, C.J. (2015). Fish immune responses to Myxozoa. In B. Okamura; A. Gruhl y J. L. Bartholomew (Eds), *Myxozoan evolutions, ecology and development* (pp 235-280). Springer, Cham.
- Smothers, J.F.; von Dohlen, C.D.; Smith, L.H. & Spall, R.D. (1994). Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. *Science*. 26(5179): 1719-1721.
- Sujita-Konishi, Y.; Sato, H. & Ohnishi, T. (2014). Novel foodborne disease associated with consumption of raw fish, olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Food Safety*. 2: 141-150.
- Yokoyama, H. & Masuda, K. (2001). *Kudoa* sp. (Myxozoa) causing a post-mortem myoliquefaction of North Pacific giant octopus *Paroctopus dofleini* (Cephalopoda: Octopodidae). *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*. 21(6): 266-268.
- Yokoyama, H.; Ogawa, K. & Wakabayashi, H. (1993). Involvement of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Annelida) in the transmission of *Hoferellus carassii* (Myxosporea: Myxozoa), the causative agent of kidney enlargement disease (KED) of goldfish *Carassius auratus*. *Fish Pathology*. 28(3): 135-139.

Reino Fungi

Phylum Microsporidia

Microsporidia incertae sedis

Género *Microsporidium*

Género *Endoreticulatus*

Familia Nosematidae

Género *Nosema*

Género *Vittaforma*

Familia Enterocytozoonidae

Género *Enterocytozoon*

Familia Unikaryonidae

Género *Encephalytozoon*

Familia Pleistophoridae

Género *Trachipleistophora*

Género *Pleistophora*

Familia Tubulinosematidae

Género *Anncaliia*

CAPÍTULO 29

Phylum Microsporidia. Microsporidiosis humana

Silvana Carnevale y Jorge Néstor Velásquez

Generalidades

Los microsporidios son organismos eucariontes intracelulares, parásitos obligados, que carecen de mitocondrias, de un aparato de Golgi típico y de peroxisomas y cuyos ribosomas se asemejan a los de células procariotas (Canning & Lom, 1986).

La posición taxonómica de este grupo se ha revisado habiendo sido históricamente considerados protozoarios y posteriormente relacionándose los con hongos (Canning & Lom, 1987; Fast et al., 1999).

Este grupo consiste en más de 200 géneros con más de 1400 especies que infectan a un amplio rango de vertebrados e invertebrados. Hasta el presente son diez los géneros de microsporidios que han sido identificados como causantes de infecciones en humanos, incluyendo *Encephalitozoon*, *Enterocytozoon*, *Trachipleistophora*, *Pleistophora*, *Anncalia*, *Nosema*, *Vittaforma*, *Tubulinosema*, *Microsporidium* y *Endoreticulatus* (Choudhary et al., 2011; Watts et al., 2014; Pariyakanok et al., 2015).

Morfología

Las características morfológicas de los microsporidios difieren en los distintos estadíos: esporo, meronte, esporonte y esporoblasto.

Esporo

Los esporos son estructuras de forma variable (esférica, piriforme, cilíndrica), de un tamaño aproximado de 1 a 20 μm . Las especies que afectan al hombre y los mamíferos poseen esporos que tienen un tamaño aproximado de 1.0-3.0 μm por 1.4-4.0 μm con un aspecto que generalmente es oval, redondeado o piriforme (Canning & Lom, 1987).

La pared de los esporos consiste en un exosporo y un endosporo, con una membrana plasmática que encierra al citoplasma. En su interior se encuentra el núcleo, ribosomas, retículo endoplásmico y el aparato de extrusión (Canning & Lom, 1987). El núcleo reúne las características que poseen los núcleos de las células eucarióticas y puede ser único o doble. El aparato de

extrusión consta de un tubo polar, el complejo saco polar-disco ancho, el polaroplasto y la vacuola posterior (Vávra & Larsson, 1999). El tubo polar se origina desde el complejo saco polar-disco ancho en el extremo anterior del esporo y forma espirales en la región posterior del mismo (Didier et al., 1998).

Los esporos, por medio de su aparato de extrusión, desarrollan su túbulo polar e infectan la célula hospedadora inyectando el núcleo, que luego de su extrusión se denomina esporoplasma (Vavra & Larsson, 1999).

Meronte

El esporoplasma en el interior de la célula hospedadora se desarrolla transformándose en un meronte. Los merontes o esquizontes se pueden dividir en células hijas. Son de forma redondeada, ovoide o irregular rodeados de una unidad de membrana. El núcleo puede ser único (monocarion), doble (diplocarion) o multinucleado. En el citoplasma se encuentran organelas tales como el retículo endoplasmático liso o rugoso, ribosomas libres y zonas de Golgi. No poseen lisosomas ni mitocondrias (Vavra & Larsson, 1999).

Esporonte

La transición de meronte a esporonte se produce cuando un material electrodense es depositado en la fase externa de la membrana plasmática. Cuando las células son cubiertas por el material electrodense se denominan esporontes.

El núcleo puede ser único (monocarion), doble (diplocarion) o multinucleado. El aparato de extrusión se comienza a desarrollar (Vavra & Larsson, 1999).

Esporoblasto

El esporonte se divide en células hijas denominadas esporoblastos. Los esporoblastos son células que maduran y se transforman en esporos sin futuras divisiones. Los esporoblastos son generalmente ovoides (Canning & Lom, 1986). El núcleo puede ser único (monocarion) o doble (diplocarion) (Vavra & Larsson, 1999).

Características morfológicas según género y especie

La relación de las diferentes estructuras de los microsporidios (esporos, merontes, esporontes y esporoblastos) con el citoplasma de la célula hospedadora es diferente según el género y la especie. Las formas en que se relacionan son el contacto directo entre el parásito y el citoplasma de la célula hospedadora y el contacto indirecto con el mismo (Vavra & Larsson, 1999), que puede estar dado por el desarrollo en el interior de vacuolas parasitóforas o por la formación de un saco membranoso o pansporoblasto o vesícula esporófora.

Para la identificación morfológica de algunos géneros y especies es necesario tener presentes algunas características de los esporos y de los estadíos intracelulares. En el cuadro 1 se describen las características morfológicas de algunos de los microsporidios que infectan al hombre.

Características	<i>Enterocytozoon bienersi</i>	<i>Encephalitozoon spp.</i>	<i>Nosema spp.</i>
Tamaño de los esporos	1.6 x 1.0 µm	2.5 x 1.5 µm	5.0 x 2.5 µm
Número de túbulos polares	5 a 7	5 a 7	7 a 12
Núcleos	Uninucleado	Uninucleado	Binucleado
Contacto con la célula hospedadora	Contacto directo	En vacuola parasitófora	Contacto directo
Características especiales	Tienen discos electro-densos y electrolucen-tes		Tienen esporogonia diploes-poroblástica

Características	<i>Vittaforma corneae</i>	<i>Pleistophora spp.</i>	<i>Trachipleistophora spp.</i>
Tamaño de los esporos	4.5 x 1.2 µm	3.4 x 2.8 µm	4.0 x 2.4 µm
Número de túbulos polares	5 a 7	9 a 12	11
Núcleos	Binucleado	Uninucleado	Uninucleado
Contacto con la célula hospedadora	Contacto directo	Membrana o vesícula es-porófora	Membrana o vesícula espo-rófora
Características especiales	Tienen esporogonia te-traesporoblástica	Tienen esporogonia mul-tinucleada	Tienen esporogonia no multi-nucleada

Cuadro 1. Características de los microsporidios que infectan a los humanos.

Transmisión y formas de diseminación

La transmisión horizontal es la ruta más común de infección en mamíferos (Didier et al., 1998). Las personas o animales infectados con microsporidios liberan esporos que constituyen la forma infectante al ambiente por medio de la materia fecal, orina y secreciones respiratorias. En el cuadro 2 se detallan los mecanismos de transmisión de los microsporidios que infectan al hombre.

Transmisión de persona a persona	SÍ
Transmisión hídrica	SÍ: <i>Pleistophora</i> sp., <i>Nosema</i> sp., <i>E. bienewisi</i> , <i>E. intestinalis</i>
Transmisión alimentaria	SÍ: <i>E. bienewisi</i>
Transmisión zoonótica	SÍ: <i>E. cuniculi</i> , <i>E. hellem</i> , <i>E. bienewisi</i> , <i>E. intestinalis</i>
Transmisión sexual	SÍ: <i>E. intestinalis</i>
Transmisión por aire	SÍ: <i>E. hellem</i>
Otras rutas	NO

Cuadro 2. Mecanismos de transmisión de los microsporidios.

El reservorio de algunos géneros y especies de microsporidios que infectan al hombre lo constituyen diferentes animales (Didier et al., 1998).

La especie *E. bienewisi* ha sido identificada en las materias fecales de diferentes animales: perros, gatos, conejos, monos, vacas, llamas, ovejas, cerdos, gallinas, caballos, marmotas, zorros, mapaches, halcones, castores, ratas almizcleras, antílopes (del Águila et al., 1999; Mansfield et al., 1998; Mathis et al., 1999; Rinder et al., 2000; Reetz et al., 2002; Buckholt et al., 2002). La especie *E. intestinalis* ha sido descrita en la materia fecal de diferentes animales: gorilas, perros, burros, vacas, cabras y cerdos (Bornay-Linares et al., 1998). La especie *E. cuniculi* causa infección en numerosos mamíferos, incluyendo conejos, ratas, caballos, perros, gatos, leopardos y otros (Canning & Lom, 1986). *E. hellem* se identificó en los enterocitos, lámina propia e hígado de las aves (Black et al., 1997).

Ciclo biológico

En el ciclo de vida de los microsporidios se pueden describir tres fases (Figura 1). La fase 1 es la infectiva. Las formas infectivas de los microsporidios son los esporos. La fase comienza cuando los mismos son liberados y luego son ingeridos o inhalados por el hospedador susceptible. Los esporos, por medio de su aparato de extrusión, desarrollan su túbulo polar e infectan la célula hospedera inyectando el núcleo, que luego de su extrusión se denomina esporoplasma. El proceso por el cual el espora inyecta su contenido en la célula hospedadora se denomina germinación. La otra posibilidad es que la célula hospedadora fagocite los esporos u otros estadios (Didier et al., 1998).

La fase 2 o estadio proliferativo comienza cuando el esporoplasma inicia su multiplicación dentro de la célula hospedera. El meronte o esquizonte es el término utilizado para describir las estructuras incluidas en esta fase (Didier et al., 1998). La fase proliferativa se desarrolla en contacto directo con el citoplasma de la célula hospedera (*Nosema*, *Enterocytozoon*), en una vacuola parasitófora (*Encephalitozoon*), en un saco membranoso (*Pleistophora*, *Trachipleitophora*, *Theolania*), o rodeado por retículo endoplásmico (*Endoreticulatus*, *Vittaforma*).

La división se realiza por fisión binaria (*Encephalitozoon*, *Nosema*, *Vittafforma*) o cariocinesis sin citoquinesis, dando lugar a células multinucleadas (*Enterocytozoon*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora*).

La fase 3 o esporogonia comienza cuando el meronte se transforma en esporonte. La división de los esporontes se realiza por fisión binaria (*Encephalitozoon*, *Nosema*, *Vittafforma*) (Didier et al., 1998) o cariocinesis sin citoquinesis dando lugar a células multinucleadas (*Enterocytozoon*, *Pleistophora*). La división final de los esporontes son los esporoblastos. Los esporoblastos maduran y se transforman en esporos (Vavra & Larsson, 1999; Canning & Lom, 1986). La figura 1 ilustra el ciclo biológico de *Enterocytozoon* sp y los diferentes estadios de desarrollo. En la figura 2 se grafican los estadios de los microsporidios humanos más comunes.

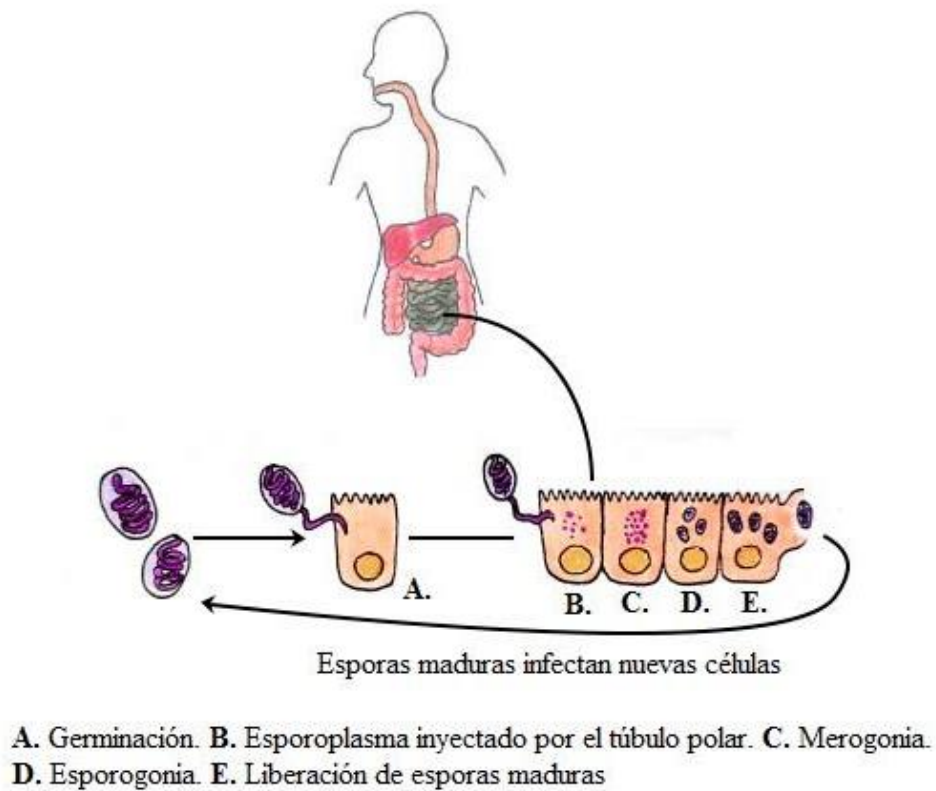


Figura 1. Ciclo biológico de *Enterocytozoon* sp.

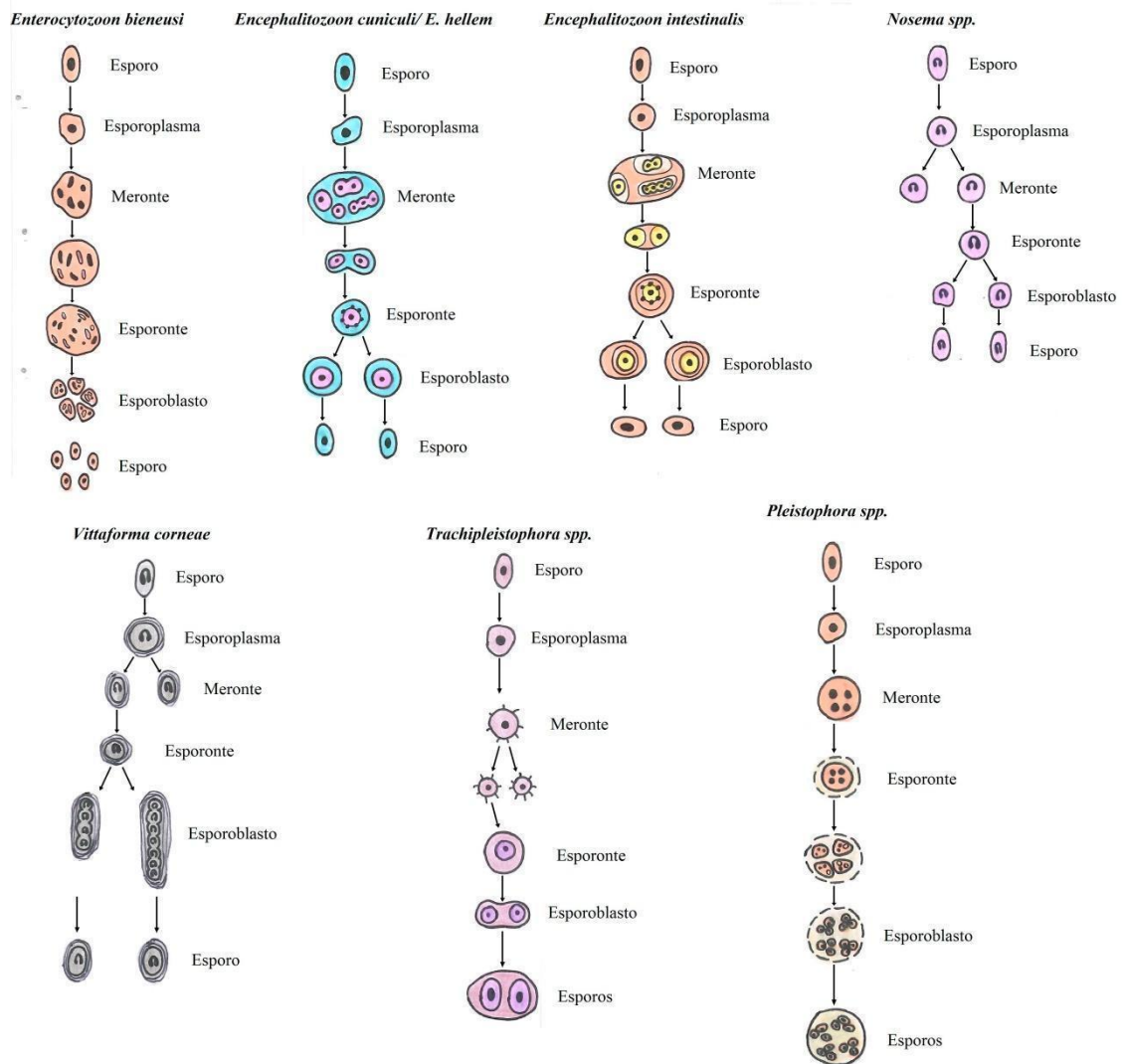


Figura 2. Estadios de desarrollo de los microsporidios más comunes que infectan al hombre.

Patogenia y signología clínica

Las especies *E. bieneusi* y *E. intestinalis* son las más frecuentes que infectan el aparato digestivo (Franzen & Müller, 1999). Se observa generalmente atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas (Kotler & Orenstein, 1998). El infiltrado en lámina propia a predominio de mononucleares es un hallazgo frecuente (Kotler & Orenstein, 1998).

El cuadro 3 sintetiza las principales manifestaciones clínicas de las diferentes especies de microsporidios que infectan al hombre.

Género y especies	Manifestaciones clínicas
Encephalitozoon	
<i>E. cuniculi</i>	Hepatitis, peritonitis, encefalitis, uretritis, prostatitis, nefritis, sinusitis, queratoconjuntivitis, cistitis, diarrea, celulitis, infección diseminada
<i>E. hellem</i>	Queratoconjuntivitis, sinusitis, neumonitis, nefritis, prostatitis, uretritis, cistitis, diarrea, infección diseminada
<i>E. intestinalis</i>	Diarrea, perforación intestinal, colangitis, nefritis, queratoconjuntivitis
Enterocytozoon	
<i>E. bieneusi</i>	Diarrea, síndrome de desgaste, colangitis, rinitis, bronquitis
Trachipleistophora	
<i>T. hominis</i>	Miositis, queratoconjuntivitis, sinusitis
<i>T. anthropoptera</i>	Encefalitis, infección diseminada, queratitis
Pleistophora	
<i>P. ronneafiei</i>	Miositis
<i>Pleistophora</i> sp.	Miositis
Anncaliia	
<i>A. vesicularum</i>	Miositis
<i>A. algerae</i>	Queratoconjuntivitis, miositis, Infección en piel
<i>A. connori</i>	Infección diseminada
Nosema	
<i>N. oculorum</i>	Queratoconjuntivitis
Vittaforma	
<i>V. corneae</i>	Queratoconjuntivitis, infección del tracto urinario, diarrea
Tubulinosema	
<i>Tubulinosema</i> sp.	Miositis
Microsporidium	
<i>M. africanus</i>	Úlcera de córnea
<i>M. ceylonensis</i>	Úlcera de córnea
Endoreticulatus	
<i>Endoreticulatus</i> sp.	Miositis

Cuadro 3. Manifestaciones clínicas de los microsporidios que infectan al hombre.

Distribución geográfica

Los microsporidios han sido reconocidos como agentes infecciosos alrededor de todo el mundo, tanto en países desarrollados como en desarrollo (Eeftinck Schattenkerk et al., 1991),

con prevalencias que oscilan entre el 1 y 50% dependiendo de la región geográfica, el método diagnóstico y las características demográficas de la población estudiada.

Los estudios de prevalencia basados en el examen de materia fecal demuestran que la prevalencia de *E. bienersi* es de 15-30% en Europa, Norteamérica y Australia y 20-45% en América del Sur (Hirschfeld et al., 1993).

La prevalencia de *E. intestinalis* es del 1 a 10% en los países industrializados, aunque en algunos puede alcanzar al 71%. En América del Sur la prevalencia es baja.

Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico estándar dependen de la detección de los organismos en fluidos (por ejemplo: aspirados duodenales, bilis, orina, lavado broncoalveolar), heces y muestras de biopsia por microscopía óptica o electrónica.

Los fluidos y heces se pueden colorear con diferentes técnicas para identificar esporos por microscopía óptica, lo que no permite determinar la especie (García, 2002). Las coloraciones incluyen las basadas en las coloraciones tricrómicas modificadas (Weber et al., 1992; Moura et al., 1996) y en sustancias quimioluminiscentes. En la imagen 1A muestra esporos en heces con la técnica tricrómica de Weber.

El examen de las muestras de biopsia comprende diferentes protocolos de fijación, inclusión y coloración, y su observación por microscopía óptica. Entre las coloraciones, están la hematoxilina-eosina, Giemsa, Azur II y especiales para identificar microsporidios basadas en el cromotropo, que permiten observar algunas formas del ciclo que incluyen esporos, merontes y esporontes (Kotler & Orenstein, 1998), sugiriendo la presencia de una infección causada por microsporidios, pero no permite identificar la especie. En la imagen 1B se observan esporos de microsporidios en biopsia duodenal coloreada con Azur II.

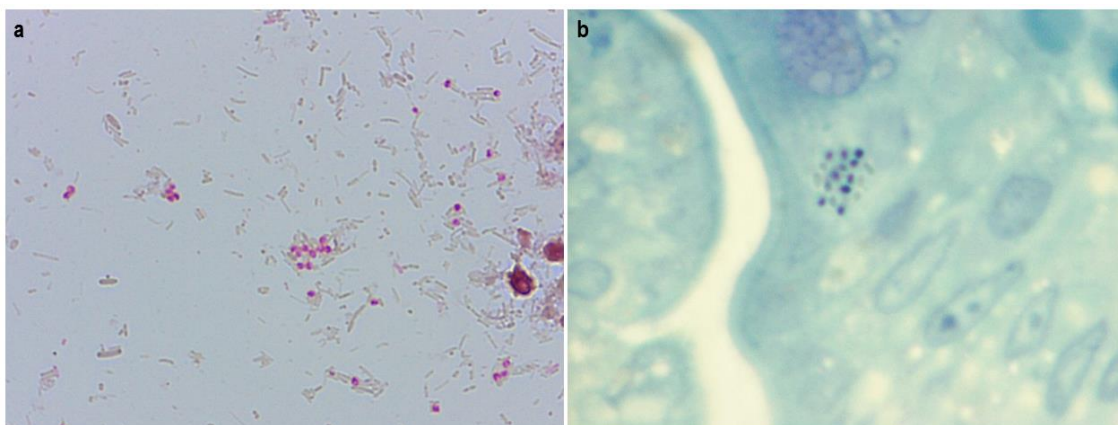


Imagen 1. Esporos de microsporidios. A) heces coloreadas con tinción tricrómica de Weber. B) biopsia duodenal coloreada con Azur II. 100X.

La microscopía óptica presenta un desafío, debido al pequeño tamaño de los organismos (alrededor de 3 μm), con un límite de detección de 10³-10⁴ esporas / gramo de heces. Mientras tanto, la microscopía electrónica es el procedimiento definitivo para la identificación de especies, pero requiere equipo costoso y especializado y tiene una baja sensibilidad. La identificación de especies de microsporidios es clínicamente útil, debido a la existencia de diferencias en la respuesta a la terapia y depende de la ultraestructura y/o análisis molecular. Las técnicas moleculares que han sido desarrolladas para el diagnóstico de microsporidiosis humana corresponden a PCR, polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), análisis por Southern blot, polimorfismo conformacional de cadena simple (SSCP), hibridación *in situ*, secuenciación de ADN, PCR en tiempo real, Luminex, amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) y kit comercial multiplex (da Silva et al., 1996; Nasarudin et al., 2015). Las secuencias blanco más comúnmente usadas en el diagnóstico y la identificación de especies de los microsporidios que infectan humanos corresponden a fragmentos de los genes del ARN ribosomal (ARNr), con mayor énfasis en la subunidad pequeña y en el espaciador intergénico transcrito (ITS).

También existen técnicas inmunológicas tales como la inmunofluorescencia, que permiten la detección de microsporidios utilizando anticuerpos monoclonales específicos y anticuerpos policlonales (Moura et al., 1999).

Tratamiento

El albendazol y la fumagilina son los fármacos más utilizados para el tratamiento de la microsporidiosis, cuyos blancos son la β -tubulina y la metionina aminopeptidasa 2 respectivamente. El albendazol es eficaz para el tratamiento de infecciones producidas por *Encephalitozoon* spp., pero no lo es para *E. bienewisi*. La fumagilina tiene un rango de eficacia mucho más amplio contra los microsporidios, incluyendo *Encephalitozoon* spp. y *E. bienewisi*.

Actualmente se están llevando a cabo nuevos estudios que utilizan otros blancos terapéuticos tales como triosafofato isomerasa, quitina sintasa, poliaminas y topoisomerasa IV (Han & Weiss, 2018).

En pacientes con SIDA y diarrea la terapéutica para la microsporidiosis es la utilización del tratamiento específico para cada especie y el tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART). El tratamiento con HAART mejora la inmunidad y, al elevar el recuento de las células CD4 a valores mayores de 200/mm³, los síntomas desaparecen y disminuyen o desaparecen los esporos en materia fecal.

Profilaxis

Los esporos de microsporidios pueden sobrevivir y permanecer infectivos en el ambiente, en condiciones habituales por días hasta semanas (Franzen & Müller, 1999). Algunos géneros pueden sobrevivir en agua a 4°C durante un año (Franzen & Müller, 1999). En el medio hospitalario pueden sobrevivir por al menos un mes (Canning & Lom, 1986). Algunos esporos permanecen viables por más de 10 años (Didier et al., 1998). Las condiciones y los medios que se utilizan para eliminar los esporos son variadas.

De acuerdo con las rutas de transmisión más frecuentes, la prevención de la microsporidiosis está asociada a las medidas de higiene personal, a evitar tomar agua o alimentos contaminados, a evitar el contacto con animales infectados.

En pacientes inmunodeprimidos, hervir el agua y/o beber agua embotellada es de extrema utilidad, aunque la mejor profilaxis es la restauración de la inmunidad celular.

Importancia en salud pública

La microsporidiosis es un problema importante para los pacientes inmunodeficientes, incluidos aquellos con SIDA, trasplantados de órganos, trasplante de médula ósea, aquellos con enfermedad neoplásica en quimioterapia, los que reciben terapia inmunomoduladora para enfermedades vasculares del colágeno, pero también se está considerando cada vez más en ancianos y niños. Las infecciones por microsporidios en humanos pueden causar infecciones gastrointestinales, cerebrales, renales, hepáticas, oculares, musculares, sinusales, respiratorias o diseminadas. La infección en hospedadores inmunocompetentes suele ser crónica y asintomática, pero en pacientes inmunodeprimidos puede llevar a la muerte.

La prevalencia global de la infección por microsporidios en personas infectadas por el VIH oscila entre el 0,7 y el 81,3%, con una prevalencia combinada estimada del 11,8% en general, significativamente más alta en los países de ingresos bajos que en los países de ingresos medios. En pacientes con SIDA y diarrea la mortalidad puede alcanzar del 56 al 69% de los casos (Eeftinck Schattenkerk et al., 1991).

En Argentina se han identificado las especies *E. bienersi* y *E. intestinalis* como causa de infecciones oportunistas en pacientes con VIH.

Referencias

- Black, S.S., Steinhart, L.A., Bertucci, D.C., Rogers, L.B. & Didier, E.S. (1997). *Encephalitozoon hellem* in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Veterinary Pathology*. 34: 189-198.
- Bornay-Linares, F.J., da Silva, A.J., Moura, H., Schwartz, D.A., Visvesvara, G.S., Pieniazek, N.J., Cruz-Lopez, A., Hernandez-Jauregui, P., Guerrero, J. & Enriquez, F.J. (1998). Immunologic,

- microscopic, and molecular evidence of *Encephalitozoon intestinalis* (*Septata intestinalis*) infection in mammals other than humans. *Journal of Infectious Diseases*. 178: 820-820.
- Buckholt, M.A., Lee, J.H. & Tzipori, S. (2002). Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: an 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Applied and environmental microbiology*. 68(5): 2595.
- Canning, E.U., Hollister, W.S., Colbourn, N.I., Curry, A. & Gobel, U.B. (1993). Human microsporidiosis: site specificity, prevalence and species identification. *AIDS*. 7(Suppl. 3): S3-S7.
- Canning, E.U. & Lom, J. (1986). *The microsporidia of vertebrates*. Academic Press. London.
- Canning, E.U. & Lom, J. (1987). *The microsporidia of vertebrates*. Academic Press, Inc., New York, N.Y.
- Choudhary, M.M., Metcalfe, M.G., Arrambide, K., Bern, C., Visvesvara, G.S., Pieniazek, N.J., Bandea, R.D., Deleon-Carnes, M., Adem, P., Choudhary, M.M., Zaki, S.R. & Saeed, M.U. (2011). *Tubulinosema* sp. microsporidian myositis in immunosuppressed patient. *Emerging Infectious Diseases*. 17:1727-1730.
- Del Aguila, C., Izquierdo, F. & Navajas, R. (1999). *Enterocytozoon bieneusi* in animals: rabbits and dogs as new host. *Journal of Eukariotic Microbiology*. 43: 93S.
- Didier, E.S., Snowden, K.F. & Shadduck, J.A. (1998). Biology of microsporidian species infecting mammals. *Advances in Parasitology*. 40: 283-320.
- Eeftinck Schattenkerk, J.K., van Gool, T., van Ketel, R.J., Bartelsman, J.F., Kuiken, C.L., Terpstra, W.J. & Reiss, P. (1991). Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-1-infected individuals. *Lancet*. 337: 895-898.
- Fast, N.M., Logsdon, J.M. & Doolittle, W.F. (1999). Phylogenetic analysis of the TATA box binding protein (TBP) gene from *Nosema locustae*: evidence for a microsporidia-fungi relationship and spliceosomal intron loss. *Molecular Biology and Evolution*. 16: 1415-1419.
- Franzen, C. & Müller, A. (1999). Cryptosporidia and microsporidia-waterborne diseases in the immunocompromised host. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 34(3): 245-262.
- Han, B. & Weiss, L.M. (2017). Microsporidia: obligate intracellular pathogens within the fungal kingdom. *Microbiology Spectrum*. 5(2):10.1128/microbiolspec.FUNK-0018-2016.
- Kotler, D.P. & Orenstein, J.M. (1998). Clinical síndromes associated with microsporidiosis. *Advances in Parasitology*. 40: 321-349.
- Mansfield, K.G., Carville, A., Hebert, D., Chalifoux, L., Shvetz, D., Link, C., Tzipori, S. & Lackner, A. (1998). Localization of persistent *Enterocytozoon bieneusi* infection in Normal rhesus macaques to the hepato-biliary tree. *Journal Clinical Microbiology*. 36: 3071-3074.
- Mathis, A., Breitenmoser, A.C. & Deplazes, P. (1999). Detection of new *Enterocytozoon* genotypes in faecal samples of farm dogs and a cat. *Parasite*. 6: 189-193.
- Moura, H., da Silva, J.L.N., Sodre, F.C., Brasil, P., Wallmo, K., Walquist, S., Wallace, S., Croppo, G.P. & Visvesvara, G.S. (1996). Gram-chrotrape: a new technique that enhances detection of microsporidial spores in clinical samples. *Journal of Eukariotic Microbiology*. 43: 94S-95S.

- Pariyakanok, L., Satitpitakul, V., Putaporntip, C. & Jongwutiwes, S. (2015). Femtosecond laser-assisted anterior lamellar keratoplasty in stromal keratitis caused by an Endoreticulatus-like microsporidia. *Cornea*. 34:588-591.
- Reetz, J., Rinder, H., Thomschke, A., Manke, H., Schewebs, M., Bruderek, A. (2002). First detection of the microsporidium *Enterocytozoon bieneusi* in non-mammalian hosts (chickens). *International Journal Parasitology*. 32: 785-787.
- Rinder, H., Thomschke, A., Dengjel, B., Gothe, R., Löscher, T. & Zahler, M. (2000). Close genotypic relationship between *Enterocytozoon bieneusi* from humans and pigs and first detection in cattle. *Journal of Parasitology*. 86: 185-188.
- Vávra, J. & Larsson, J.I. (1999). Structure of the microsporidia. In: The Microsporidia and Microsporidiosis. Eds. Wittner M, Weiss LM. American Society for Microbiology, Washington, D C. pp. 7- 84.
- Velásquez, J.N., di Risio, C.A., Etchart, C., Chertcoff, A.V., Astudillo, O.G. & Carnevale, S. (2019). Multimethodological approach to gastrointestinal microsporidiosis in HIV-infected patients. *Acta Parasitologica*. 64:658-669.
- Watts, M.R., Chan, R.C., Cheong, E.Y., Brammah, S., Clezy, K.R., Tong, C., Marriott, D., Webb, C.E., Chacko, B., Tobias, V., Outhred, A.C., Field, A.S., Prowse, M.V., Bertouch, J.V., Stark, D. & Reddel, S.W. (2014). *Anncalia algerae* microsporidial myositis. *Emerging Infectious Diseases*. 20:185-191.
- Weber, R., Bryan, R.T., Owen, R.L., Wilcox, C.M., Gorelkin, L. & Visvesvara, G.S. (1992). Improved light-microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. *New England Journal of Medicine*. 326:161-166.
- Weber, R., Bryan, R.T., Schwartz, D.A. & Owen, R.L. (1994). Human microsporidial infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 7: 426-461.

CAPÍTULO 30

Nosema apis. Nosemosis

Santiago Plischuk

Generalidades

Nosema apis es una de las especies de microsporidios mejor conocidas, su descripción data de 1909 y fue llevada a cabo por el científico alemán Enoch Zander, luego de observar sus esporos en células del tubo digestivo de abejas⁴. Al momento, *N. apis* solo se ha hallado asociada a la abeja europea *Apis mellifera*⁵. La enfermedad que este organismo es capaz de producir en su hospedador se denomina Nosemosis o Nosemiasis y debido a la importancia sanitaria que posee en la industria apícola, se han investigado desde entonces innumerables aspectos inherentes a la misma. Como toda especie de microsporidio, posee un complejo aparato interno de infección que consiste principalmente en un tubo largo y enrollado llamado filamento o tubo polar. En 2019, el análisis de estudios moleculares enfocados a resolver la filogenia de la familia Nosematidae indicó que este microsporidio, así como las demás especies de *Nosema* tratadas en este capítulo, pertenecen al género *Vairimorpha* (Tokarev et al., 2020); por razones prácticas, no obstante, se las tratará de acuerdo a la nomenclatura clásica.

Morfología

La morfología de *N. apis* varía con el estado en el que se halle en su ciclo de vida, el cual se puede generalizar en dos fases, una vegetativa y una de resistencia. En sus formas vegetativas (merontes y esporontes), *N. apis* posee aspecto desde ameboide a ovoide, sin ninguna cubierta de resistencia, o bien incipiente. Los cuerpos de transmisión resistentes (esporos) son ovoides, con una cubierta quitinosa bien desarrollada, refringentes al microscopio óptico, midiendo⁶ en promedio 5,0 x 2,9 micras (Figura 1B).

⁴ Zander (1909). Observación que previamente también había realizado E. Dönhoff (véase White, 1919).

⁵ Si bien, al menos experimentalmente, la especie de abejorro *Bombus fervidus* sería susceptible también a *N. apis* (Showers et al., 1967).

⁶ Medidas según Zander (1911). Pueden hallarse variaciones en sucesivas publicaciones de otros autores.

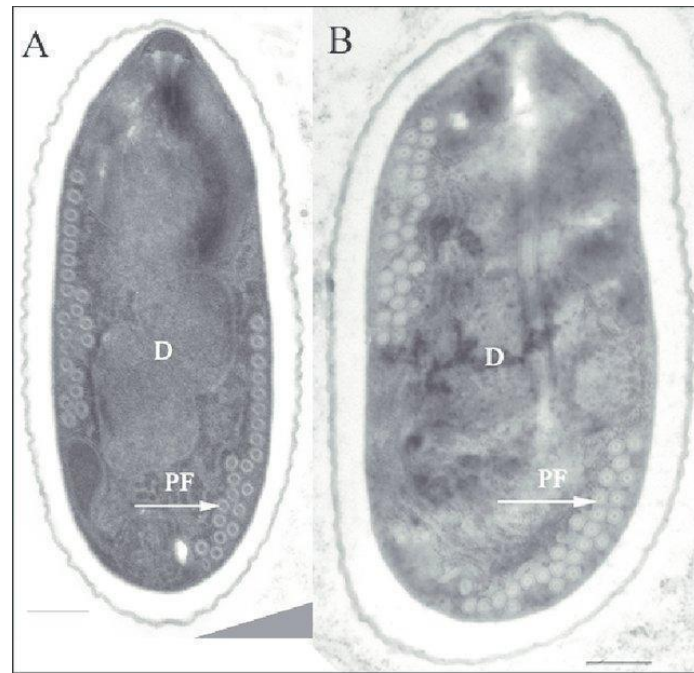


Figura 1. Esporos de (A) *Nosema ceranae* y (B) *Nosema apis*. D: diplocarion; PF: filamento polar. Escala 0,5 μm [Microscopía electrónica de Transmisión] (Tomado de Paxton, 2010)

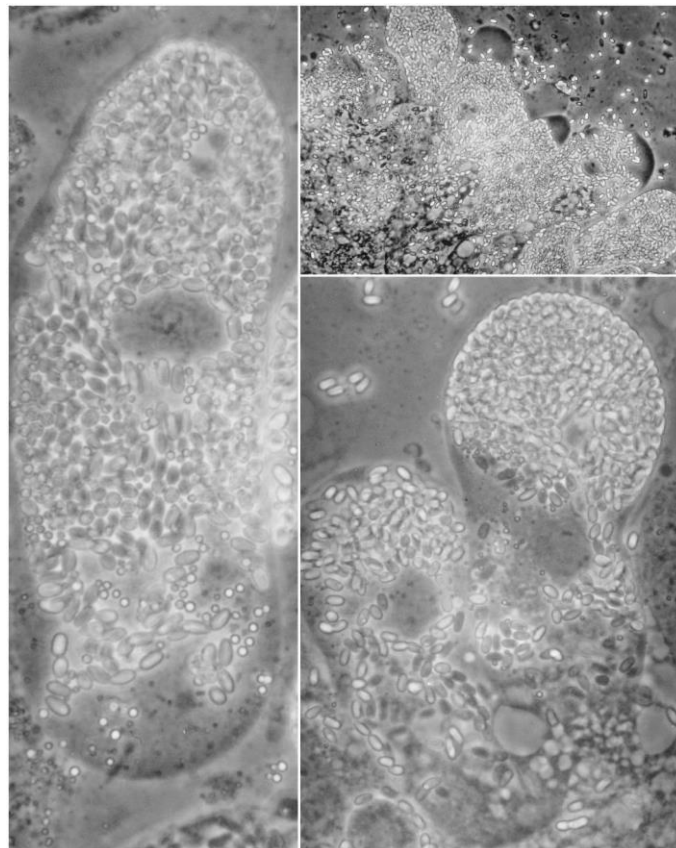


Figura 2. Fotomicrografías (contraste de fases) de *Nosema ceranae* realizadas a partir de preparados frescos (solución salina) de tubo digestivo de *A. mellifera*. A) Epitelio intestinal infectado [LT: Luz del tubo digestivo] (Escala = 50 μm). B) y C) Enterocitos infectados (Escalas = 10 μm).

Especies

La nosemosis se atribuyó durante casi 100 años a *N. apis* hasta que, en el año 2006, otra especie denominada *Nosema ceranae* (*Vairimorpha ceranae*) fue reportada como un segundo agente etiológico, con una amplia dispersión mundial, afectando tanto a *Apis cerana* (“abeja de la India”, su especie hospedadora original) como a *A. mellifera* (Fries et al., 1996; Higes et al., 2006; Klee et al., 2007).

El espectro de investigaciones inherentes a ambas especies de *Nosema* es extremadamente amplio a nivel mundial, y especialmente desde la detección de *N. ceranae* en *A. mellifera*, los trabajos acerca de esta especie se multiplicaron rápidamente (véase Grupe & Quandt, 2020). Los estudios focalizados en esta nueva asociación mostraron que *N. ceranae* diferiría de *N. apis* tanto en su estructura esporal interna, ciclo vital y sintomatología, como en la dinámica de la enfermedad a nivel de la colonia afectada (Forsgren & Fries, 2010). Otra marcada diferencia entre *N. apis* y *N. ceranae* reside en su espectro hospedador: mientras *N. apis* solo ha sido aislada de *A. mellifera*, se han reportado detecciones de *N. ceranae* asociada a todas las especies conocidas de *Apis*, así como a otras especies de las familias Apidae, Andrenidae, Megachilidae, Halictidae, Colletidae, Melittidae y Vespidae (Plischuk et al., 2009; Li et al., 2012; Ravoet et al., 2014; Porrini et al., 2017; Müller et al., 2019), si bien su carácter patogénico en la mayoría de estos potenciales hospedadores no ha sido aún verificada.

Una tercera especie, *Nosema neumanni* (*Vairimorpha neumanni*), se ha descrito recientemente asociada a *A. mellifera* (Chemurot et al., 2017). Su núcleo también es diplocariótico, pero sus esporos son de menor tamaño (2,4 x 1,8 micras en promedio) y su filamento polar presenta un menor enrollamiento (10-12 vueltas) en comparación con los esporos de *N. apis* (más de 30) y *N. ceranae* (20–23).

El mayor inconveniente para la identificación de estas tres especies es la similitud externa que presentan sus esporos, tanto en tamaño como en morfología (Fig. 1). Por lo tanto, para una correcta diagnosis son necesarias técnicas de tipo molecular (Martín-Hernández et al., 2007; O.I.E., 2008; Chemurot et al., 2017; Grupe & Quandt, 2020).

Transmisión y formas de diseminación

La transmisión ocurre en forma horizontal⁷, tanto durante la trofalaxia⁸ como por la vía oro-fecal durante (por ej.) la limpieza de las celdas o el forrajeo, como las vías más comunes. Los esporos ingresan al hospedador por vía oral y una vez en su intestino medio, el cual presta

⁷ Transferencia desde un individuo hospedador a otro, excepto desde progenitores directamente a la descendencia inmediata (Onstad et al., 2006).

⁸ Transferencia de alimentos u hormonas entre individuos mediante el contacto de aparatos bucales)

condiciones adecuadas (pH, concentración de iones, etc.), el filamento polar se evierte violentamente, perforando una célula del epitelio intestinal. El esporoplasma logra ingresar a esa célula hospedadora donde lleva a cabo la mayor parte de su ciclo (Fries, 1993).

Ciclo biológico

Nosema apis es un parásito intracelular obligado, cuyo ciclo consta de una alternancia de fases merogónica y esporogónica, con formación de cuerpos de transmisión resistentes denominados esporos, siendo estos últimos los únicos estados capaces de sobrevivir fuera de la célula hospedadora (Figura 2). Una vez ingeridos éstos por el hospedador y bajo disparadores aún no bien determinados, el tubo o filamento polar es extruido rápidamente y penetra en una célula epitelial, permitiendo vehicular su esporoplasma (material nuclear y parte del citoplasma) hasta dentro de ésta. Una vez reestructurado el patógeno en (y a expensas de) la célula hospedadora, sobreviene una etapa de división y multiplicación (merogonia) del estado vegetativo o meronte. Posteriormente una fase esporogónica da lugar a la formación de esporontes y finalmente esporos, los que salen a la luz del tubo digestivo luego de provocar el estallido de la célula. Una vez allí podrán reinfectar otras células cercanas o bien se evacúan al exterior con las heces, permaneciendo infectivos para reiniciar el ciclo en otro individuo que los ingiera (Keeling & Fast, 2002; Smith, 2009).

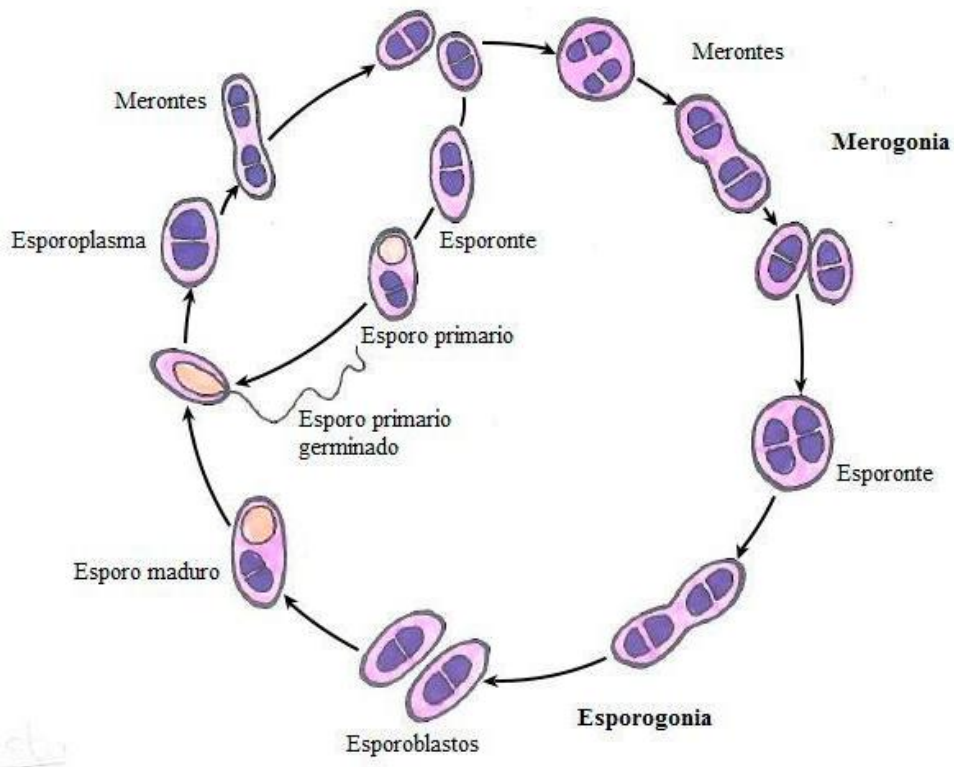


Figura 2. Ciclo biológico de *Nosema* spp.

Patogenia y signología clínica

Se considera que la Nosemosis puede ser causada por dos⁹ especies del género *Nosema*: *N. apis* y *N. ceranae*, y afecta a las formas adultas del insecto (COLOSS Workshop, 2009; Higes et al., 2010a). Esta enfermedad se ha reportado en prácticamente todos los países con prácticas de apicultura (Bailey & Ball, 1991; Matheson, 1996). Los signos más comúnmente observados en las colonias de abejas son el acortamiento de su vida útil, especialmente de las obreras (Mayack & Naug, 2009), produciendo por consiguiente una reducción de la capacidad de búsqueda de alimento, y la disminución de productividad y fortaleza de las colmenas (Botías et al., 2013a). Los síntomas más comunes de la infección por *Nosema* a nivel individual son la disentería y las lesiones microscópicas dentro del intestino y los túbulos de Malpighi (Grupe & Quandt, 2020). En los últimos 15 años se ha indagado más profundamente acerca de los citados agentes etiológicos debido a su posible responsabilidad en el llamado Síndrome de Desplazamiento de Colmenas (S.D.C.) (véase Bibliografía ampliatoria).

Distribución Geográfica

En la actualidad, los registros de *N. apis* muestran una amplitud geográfica casi mundial pero una baja prevalencia. Exceptuando algunos casos en los que *N. apis* presenta mayores prevalencias que *N. ceranae* (Fries, 2009), esta última especie ha mostrado no sólo una amplia distribución geográfica, sino también prevalencias elevadas (COLOSS Workshop, 2009). Se ha propuesto que *N. ceranae* podría estar desplazando a *N. apis* por competencia sobre el mismo hospedador (Klee et al., 2007), o bien que la dominancia de *N. ceranae* con respecto a *N. apis* solo esté reflejando la capacidad de la primera para sobrevivir y completar su ciclo de vida bajo rangos más amplios en cuanto a las condiciones circundantes (Martín-Hernández et al., 2009; Higes et al., 2007, 2010b). *Nosema neumannii*, por su parte, solo se ha detectado en Uganda, África (Chemurot et al., 2017).

Diagnóstico

Clásicamente se ha diagnosticado la enfermedad mediante homogeneizaciones mecánicas o manuales y posterior observación de una alícuota de la suspensión resultante al microscopio. Posterior a la descripción de *N. ceranae* (y recientemente de *N. neumannii*), con similitudes mor-

⁹ Aún se desconoce si *N. neumannii* posee la capacidad de producir una enfermedad equivalente (Chemurot et al., 2017).

fológicas y amplia distribución, la identificación óptica dejó de considerarse inequívoca. Por consiguiente, comenzaron a desarrollarse técnicas moleculares más sensibles y específicas (Aurori et al., 2011; Bartolomé et al., 2020).

Para cuantificar los esporos presentes en una muestra también se pueden llevar a cabo diferentes técnicas: I) Por microscopía óptica, realizando conteos de esporos mediante la utilización de un hemocitómetro o cámara de Neubauer, y II) utilizando técnicas moleculares, mediante *quantitative (o Real-time) Polymerase Chain Reaction* (qPCR). La obtención de la intensidad de la infección mediante primera de ellas se basa en el conteo directo de esporos maduros en un volumen conocido de líquido. Matemáticamente se extrapola el resultado al volumen total de la muestra y se obtiene el resultado. Si bien cuenta con la ventaja de contabilizar únicamente los esporos maduros (forma que representa la intensidad de la infección propiamente dicha), resulta lenta y depende del criterio y experiencia del observador. La segunda técnica resulta más rápida y objetiva, pero cuenta con la desventaja de considerar no solo los esporos maduros sino todo el material genético del parásito presente en la muestra, sobreestimando el resultado final (Burgeois et al., 2009; COLOSS Workshop, 2009; Aurori et al., 2011).

Tratamiento

El tratamiento para la nosemosis se basa tanto en la aplicación de antiparasitarios como en la profilaxis. La droga más efectiva para combatirla es la Fumagilina (sal de biciclohexilamonio), obtenida del hongo *Aspergillus fumigatus* (Webster, 1994; Botías et al., 2013b). La aplicación de esta droga, sin embargo, se halla prohibida en numerosos países debido a su residualidad en la miel. Otros químicos capaces de tener cierto efecto (aunque de menor efectividad) contra la nosemosis, son el Timol, las Sulfas o el Toltrazuril (van der Heever, 2016; Rodríguez García, 2018).

Profilaxis

Además del posible tratamiento antiparasitario a los individuos, el material (colmenas, marcos, cuadros con cera labrada, etc.), debe mantenerse desinfectado. Para ello se lo expone a los gases liberados de una solución de ácido acético glacial, a fin de inactivar los esporos. El material de madera también puede flamearse con soplete. Algunas de las buenas prácticas de manejo recomendadas son la eliminación periódica de panales obsoletos, la ubicación de colmenas en sitios sin alta humedad ni sombra excesiva y con una variada oferta de flora melífera (Formato & Smulders, 2011).

Referencias

- Aurori, C.M., Dezmirean, D.S. & Moritz, R.F. (2011). *Nosema apis* and *N. ceranae* in Western honeybee (*Apis mellifera*) - geographical distribution and current methods of diagnosis. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*. 68(1-2).
- Bailey, L. & Ball, B.V. (1991). *Honey bee pathology*. 2nd Ed. London: Academic Press.
- Bartolomé, C., Buendía-Abad, M., Benito, M., Sobrino, B., Amigo, et al. (2020). Longitudinal analysis on parasite diversity in honeybee colonies: new taxa, high frequency of mixed infections and seasonal patterns of variation. *Scientific Reports*. 10(1): 1-9.
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Barrios, L., Meana, A. & Higes, M. (2013a). *Nosema* spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. *Veterinary Research*. 44(1): 25.
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Meana, A. & Higes, M. (2013b). Screening alternative therapies to control Nosemosis type C in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Research in Veterinary Science*. 95(3): 1041-1045.
- Bourgeois, A.L., Rinderer, T. E., Beaman, L.D. & Danka, R.G. (2010). Genetic detection and quantification of *Nosema apis* and *N. ceranae* in the honey bee. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103(1): 53-58.
- Chemurot, M., De Smet, L., Brunain, M., De Rycke, R. & de Graaf, D.C. (2017). *Nosema neu-manni* n. sp. (Microsporidia, Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, *Apis mellifera* in Uganda. *European Journal of Protistology*. 61: 13-19.
- Chen, Y.P., Evans, J.D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., et al. (2009). Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 56(2): 142-147.
- COLOSS Workshop (2009). *Nosema disease: lack of knowledge and work standardization*. Guadalajara, España.
- Formato, G. & Smulders, J.M. (2011). Risk management in primary apicultural production. Part 1: bee health and disease prevention and associated best practices. *Veterinary Quarterly*. 31(1): 29-47.
- Forsgren, E. & Fries, I. (2010). Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*. 170 (3–4): 212-217.
- Fries, I. (1993). *Nosema apis*: A parasite in the Honey bee colony. *Bee World*. 74(1): 5-19.
- Fries, I. (2009). *Nosema ceranae* in European honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 103: S73–S79.
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S.B. & Pieniazek, N.J. (1996). *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae). Morphological and molecular characterization of microsporidian parasite of the Asian honey bees *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology*. 32: 356-365.

- Grupe, A.C. & Quandt, C.A. (2020). A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. *PLoS Pathogens*. 16(6): e1008580.
- Higes M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, et al. (2008). How natural infection by *Nosema ceranae* causes honey bee colony collapse. *Environmental Microbiology*. 10: 2659-2669.
- Higes, M., García-Palencia, P., Botías, C., Meana, A. & Martín-Hernández, R. (2010b). The differential development of microsporidia infecting worker honey bee (*Apis mellifera*) at increasing incubation temperature. *Environmental Microbiology Reports*. 2(6): 745-748.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R. & Meana, A. (2007). Experimental infection of *Apis mellifera* honey bees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 94: 211-217.
- Higes, M., Martín-Hernández & R., Meana, A. (2006). *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*. 92: 81-83.
- Higes, M., Martín-Hernández R. & Meana, A. (2010a) *Nosema ceranae* in Europe: An emergent type C nosemosis. *Apidologie*. 41: 375-392.
- Keeling, P. (2009). Five questions about microsporidia. *PLoS Pathogens*, 5(9), e1000489.
- Keeling, P.J. & Fast, N.M. (2002). Microsporidia: Biology and Evolution of Highly Reduced Intracellular Parasites. *Annual Review of Microbiology*. 56: 93-116.
- Klee J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., et al. (2007). Widespread dispersal of the Microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 96: 1-10.
- Li, J., Chen, W., Wu, J., Peng, W., An, J., et al. (2012). Diversity of *Nosema* associated with bumblebees (*Bombus* spp.) from China. *International Journal for Parasitology*. 42(1): 49-61.
- Martín-Hernández R., Meana, A., García-Palencia, P., Martín, P., Botías, C., et al. (2009). Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia. *Applied and Environmental Microbiology*. 75: 2554-2557.
- Martín-Hernández R., Meana, A., Prieto, L., Martínez Salvador, A., Garrido-Bailón, E., Higes, M. (2007). Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 73: 6331-6338.
- Matheson, A. (1996). World bee health update. *Bee World*. 77: 45-51.
- Mayack, C., Naug, D. (2009). Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*. 100(3): 185-188.
- Müller, U., McMahon, D.P. & Rolff, J. (2019). Exposure of the wild bee *Osmia bicornis* to the honey bee pathogen *Nosema ceranae*. *Agricultural and Forest Entomology*. 21(4): 363-371.
- O.I.E. (2008). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 1 (2.2.4): 410-414.
- Onstad D.W., Fuxa, J.R., Humber, R.A., Oestergaard, J., Shapiro Ilan, D.I., et al. (2006). *An Abridged Glossary of Terms Used in Invertebrate Pathology*. Society of Invertebrate Pathology.
- Paxton, R.J. (2010). Does infection by *Nosema ceranae* cause "Colony Collapse Disorder" in honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Apicultural Research*. 49(1): 80-84.

- Plischuk, S., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Lucía, M., Botías, C., et al. (2009). South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*. 1(2): 131-135.
- Porrini, M.P., Porrini, L.P., Garrido, P.M., Porrini, D.P., Muller, F., et al. (2017). *Nosema ceranae* in South American native stingless bees and social wasp. *Microbial Ecology*. 74: 761-764.
- Ravoet, J., De Smet, L., Meeus, I., Smagghe, G., Wenseleers, T. & de Graaf, D.C. (2014). Widespread occurrence of honey bee pathogens in solitary bees. *Journal of Invertebrate Pathology*. 122: 55-58.
- Ringuelet, R.A. (1947). Difusión de las enfermedades parasitarias de las abejas en la Argentina y las medidas para combatirlas. Ministerio de Agricultura de la Nación. *Arg. Publ. Misc.* N° 261. 15 pp. Buenos Aires.
- Rodríguez García, C. (2018). *Nuevas estrategias para el control de la nosemosis en Apis mellifera*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Showers R.E., Jones, F.A. & Moeller, F.E. (1967). Cross-Inoculation of the Bumble Bee *Bombus fervidus* with the Microsporidian *Nosema apis* from the Honey Bee. *Journal of Economic Entomology*. 60(3): 774-777.
- Smith, J.E. (2009). The ecology and evolution of microsporidian parasites. *Parasitology*. 136(14): 1901.
- Stankus, T. (2008). A Review and Bibliography of the Literature of Honey Bee Colony Collapse Disorder: A Poorly Understood Epidemic that Clearly Threatens the Successful Pollination of Billions of Dollars of Crops in America. *Journal of Agricultural & Food Information*. 9(2): 115-143.
- Tokarev, Y.S., Huang, W.F., Solter, L.F., Malysh, J.M., Becnel, J.J. & Vossbrinck, C.R. (2020). A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics. *Journal of Invertebrate Pathology*. 169: 107279.
- Van den Heever, J.P., Thompson, T.S., Otto, S.J.G., Curtis, J.M., Ibrahim, A. & Pernal, S.F. (2016). Evaluation of Fumagilin-B® and other potential alternative chemotherapies against *Nosema ceranae*-infected honeybees (*Apis mellifera*) in cage trial assays. *Apidologie*. 47: 617-630.
- Van Engelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., et al. (2009). Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLoS ONE*. 4(8): e6481.
- Webster, T.C. (1994). Effects of Fumagillin on *Nosema apis* and Honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*. 87(3): 601-604.
- White, G.F. (1919). *Nosema*-disease (N° 780). US Department of Agriculture.
- Zander, E. (1909). Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienen-Zeitung*. 31: 196-204.
- Zander, E. (1911). *Handbuch der Bienenkunde II. Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Bienen*. Stuttgart.

Los autores

Coordinadores

Radman, Nilda Ester

Docente Investigadora, Cátedra Parasitología Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Médico Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; Bacterióloga Clínica e Industrial (FCV-UNLP); Profesora Titular, Cátedra de Parasitología Comparada, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial (FCV-UNLP); directora del Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias (LAPAHUZO). Especialista en parasitología; Docente de cursos de grado, posgrado, pasantías y prácticas pre-profesionales; Numerosas publicaciones en revistas y eventos relacionados con la parasitología y otras enfermedades transmisibles; Directora y codirectora de numerosos proyectos de investigación, extensión y voluntariado universitarios; Organizadora de la propuesta: Observatorio de riesgo sanitario (a consideración); Especial preparación en Parasitosis Humanas y Animales; Presidenta de la Comisión Internacional de Cambio Climático y Desarrollo Sostenible. Integrante de la comisión directiva de la Asociación Parasitológica Argentina (APA).

Gamboa, María Inés

Docente Investigadora, Cátedra Parasitología Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Licenciada en Biología, UNLP; Doctora en Ciencias Naturales, UNLP. Profesora Adjunta, Cátedra de Parasitología Comparada, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial (FCV-UNLP); Codirectora del Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias (LAPAHUZO). Docente de cursos de grado, posgrado, pasantías y prácticas pre-profesionales. Autora/co-autora de capítulos de libros, publicaciones y comunicaciones científicas en el área de las Zoonosis parasitarias. Directora/Codirectora de proyectos/programas de Investigación, Extensión y Voluntariado Universitario sobre de las parasitosis zoonóticas en comunidades vulnerables de la periferia de La Plata y Ensenada. Integrante de la comisión directiva de la Asociación Parasitológica Argentina (APA).

Mastrantonio Pedrina, Franca Lucrecia

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Integrante de Proyectos y Programas de Investigación, Extensión y Voluntariado sobre

salud animal y zoonosis parasitarias, FCV-UNLP; Becaria Doctoral UNLP. Tema: Eco-epidemiología de la Hepatozoonosis canina en la Localidad de Punta Lara, Partido de Ensenada.

Autores

Archelli, Susana

Bacteriólogo Clínico e Industrial. Ex Docente, Cátedra Parasitología Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Autora/co-autora de capítulos de libro, publicaciones y comunicaciones científicas en el área de Parasitología y Zoonosis parasitarias. Participante en proyectos de extensión e investigación sobre Zoonosis parasitarias. Codirectora del Subprograma de Parasitología del Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina. Ex profesional del Laboratorio del Hospital Especializado Dr. Noel H. Sbarra.

Butti, Marcos Javier

Personal técnico del Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias (LA-PAHUZO), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Adscripto a la docencia, Cátedra de Parasitología Comparada, Departamento de Epizootiología y Salud Pública, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial (FCV-UNLP); Autor y co-autor de publicaciones y comunicaciones científicas en el área de la Diotophymosis y otras zoonosis parasitarias; Integrante de Proyectos de Investigación, Extensión y Voluntariado Universitario; Integrante de la Comisión Directiva, Asociación Parasitológica Argentina (APA) y de la Subcomisión de Parasitología Clínica, Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología (SADEBAC- AAM).

Cantatore, Delfina María Paula

Doctor en Ciencias, Área Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata (FCEyN-UNMdP); Licenciatura en Ciencias Biológicas (FCEy N-UNMdP); Docente adscripto en Biotaxonomía, FCEyN-UNMdP; Investigadora Adjunta, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IIMyC-CONICET); Investigador Responsable PICT período 2018-2020, IIMyC, UNMdP-CONICET; Programa de Cooperación Bilateral CONICET-ASCR, período 2017-2018, IIMyC, UNMdP-CONICET y Biology Center CAS, ASCR; Autor y coautor de Publicaciones referidas a Myxozoos parásitos de peces marinos y aguas continentales: biodiversidad, biología, interacción parásito-hospedador, ecología, filogenia y evolución. FCEyN-IIMyC-CONICET.

Carnevale, Silvana

Licenciada en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires (UBA); Magister en Epidemiología, Gestión y Políticas de Salud. Universidad Nacional de Lanús; Doctora Área Ciencias Biológicas UBA; Profesional de planta Categoría Principal, Carrera Profesional Sanitaria, Departamento de Parasitología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (ANLIS); Investigadora independiente, Carrera de Investigador Científico y Tecnológico. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); Investigación: Estudios morfológicos y moleculares sobre el proceso de diseminación multiorgánica de los protozoarios entéricos en pacientes infectados por VIH. ANLIS - Hospital de Infecciosas "Dr. Francisco J. Muñiz"; Autora de numerosas publicaciones sobre la temática.

Ciarmella, María Laura

Docente Investigador, Cátedra Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. Licenciada en Biología, UNLP; Bacterióloga Clínica e Industrial, UNLP; Especialista en Ambiente y Patología Ambiental, UNLP; Doctora en Ciencias Naturales, UNLP. Autora/co-autora de capítulos de libro, publicaciones y comunicaciones científicas en el área de Parasitosis y Nutrición Infantil. Integrante de proyectos de Investigación. Directora y Coordinadora de proyectos/programas de Extensión acerca de las parasitosis intestinales y nutrición en comunidades vulnerables de la periferia de La Plata y Berisso.

Corvalán, Valeria Vanesa

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Becaria doctoral en Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET); Docente Jefe de Trabajos Prácticos en la Cátedra de Producción de Aves y Pilíferos, Carrera de Medicina Veterinaria FCV-UNLP; Adscripta Diplomada a la docencia, Cátedra de Parasitología Comparada, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial FCV-UNLP; Directora de Proyectos de Extensión Universitaria FCV-UNLP; Integrante de Proyectos de Investigación y Extensión Universitaria (CEPAVE y FCV-UNLP); Autora y co-autora de publicaciones y comunicaciones científicas en el área de eco-epidemiología de las zoonosis parasitarias y las parasitosis intestinales humanas y animales.

Costamagna, Sixto Raúl

Bioquímico, UNC; Master internacional en enfermedades parasitarias, Universidad de Valencia, España; Doctor en Bioquímica, Universidad Nacional del Sur; Especialista Consultor en Parasitología, FBA; Co-Director Carrera de Especialista en Bioquímica Clínica, Área Parasitología, FFyB UBA. Director, codirector y profesor de cursos de grado y posgrado en Parasitología Clínica

en Argentina y el exterior; relator en Congresos de la especialidad, Miembro de Comités Científicos. Presidente de la Asociación Parasitológica Argentina, Fundador Revista Argentina de Parasitología; director del Centro para el estudio de las Parasitosis (UNS), Evaluador de Revistas científicas nacionales e internacionales; Autor y coautor de capítulos de libros, publicaciones en Revistas, trabajos presentados en Congresos y participante de Proyectos de investigación acreditados. Consultor temporario OPS. Miembro de la Asociación de Revistas y Editores de Ciencias de la Salud (Argentina). Representante del Ente Coordinador de Unidades Académicas de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB). Director de Laboratorio Bioquímico Hospitalario.

Costas, María Elena

Licenciada en Ciencias Bioquímicas. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos semi dedicación de Parasitología, Facultad de Cs. Exactas, UNLP. Coordinador y docente, asignatura optativa Gestión de calidad en el Laboratorio, Facultad de Cs. Exactas, UNLP. Corresponsable del Subprograma de Parasitología del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina. Ex jefe de Unidad de Diagnóstico e internación del Hospital Zonal Especializado en Crónicos El Dique, Ensenada, Partido de La Plata. Coautora del Libro de cátedra Parasitología Humana para Bioquímicos. Parte 1. Parásitos Intestinales. EdULP 2017. Directora de proyectos de Extensión sobre Parasitosis intestinales en poblaciones infantiles, Facultad Cs. Exactas, UNLP. Participante en proyectos de extensión e investigación sobre Zoonosis parasitarias, Facultad Cs. Exactas, UNLP.

Eiras, Diego

Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Médico Veterinario. FCV-UNLP; Profesor Adjunto. Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Departamento de Epizootiología y Salud Pública; FCV-UNLP; Profesor Adjunto y Coordinador del Curso “Legislación Veterinaria y Ética”, FCV-UNLP; director técnico. Laboratorio de Diagnóstico en animales pequeños (DIAP); Miembro y coordinador, Comisión de Patología Clínica, Comisión de Artrópodos vectores y Enfermedades Asociadas de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD). Campo investigación: Enfermedades transmitidas por vectores en perros; bioética aplicada a las enfermedades zoonóticas.

Fernández, Gustavo

Bioquímico, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste (FACENA-UNNE); Magíster en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles, Universidad Nacional de Misiones. Especialista en Salud Pública, Facultad de Medicina, UNNE; Diplomado en Geomática Aplicada a la Salud, Universidad Nacional de Córdoba- Instituto Gulich – CONAE; Profesor Adjunto, Cátedra Parasitología Humana y Cátedra Prácticas Hospitalarias, Carrera de Bioquímica, FACENA-UNNE; Investigador Responsable Área Parasitología del Instituto

de Medicina Regional, UNNE; Docente Adscripto Cátedra de Infectología y Cátedra Enfermedades Tropicales, Facultad de Medicina, UNNE; Co-director de "Diplomatura Superior en manejo de Infecciones en la Atención Primaria de la Salud", Facultad de Medicina, UNNE.

Fragueiro Frías, Victoria

Médica Veterinaria. Universidad del Salvador. Buenos Aires; jefa del servicio de Patología del Departamento de Patología, Clínica y Tratamiento. INP "Dr. Mario Fatała Chabén". ANLIS. Malbrán; Referencia Nacional en el Diagnóstico parasitológico, serológico y molecular de Leishmaniasis humana y canina; Formada en el "Programa de entrenamiento en diagnóstico de Leishmaniasis para las Américas". Cali, Colombia. 2016. Participante en Programa Nacional de Leishmaniasis- Referencia Nacional del Diagnóstico de Leishmaniasis; Participante del Programa Regional de Evaluación Externa Directa del Desempeño para el Diagnóstico Microscópico de Leishmaniosis (PEED): Investigador en Tipificación de especies de *Leishmania* sp. mediante técnicas moleculares-INP. "An rK28-Based Immunoenzymatic Assay for the Diagnosis of Canine Visceral Leishmaniasis in Latin America". Lauricella, ma; Maidana, CG; Fragueiro Frías, V; Romagosa, CM; Negri, V; Benedetti, R; Sinagra, AJ; Luna, C; Tartaglino, L; Laucella, S; Reed, SG; Riarte AR.

Garijo, Sergio

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Profesional Independiente: clínica, nutrición, laboratorio y cirugía de mascotas no tradicionales (aves, reptiles y mamíferos). Asesoría técnica en cría de cabras, faisanes y criaderos de chichillas. Asesoría técnica en reproducción, mantenimiento y cría de canarios. Asistente a numerosos eventos y cursos relacionados con animales exóticos.

Kosubzky, Leonora

Licenciada en Ciencias Bioquímicas. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata (Fac. Cs. Exactas, UNLP); Profesor titular dedicación exclusiva de Parasitología. Fac. Cs. Exactas, UNLP. Coordinador y docente, asignatura optativa Microbiología Avanzada Fac. Cs. Exactas, UNLP; Corresponsable del Subprograma de Parasitología del Programa de Evaluación Externa de Calidad, Fundación Bioquímica Argentina; Coautora del Libro de Cátedra Parasitología Humana para Bioquímicos. Parte 1. Parásitos Intestinales. EdULP 2017; Coautora de los capítulos 48 a 52 correspondientes a la Sección 4.- Enfermedades Parasitarias. En "Microbiología Estomatológica. Fundamentos y Guía Práctica". - Negroni M. 3º Edición. Editorial Médica Panamericana. 2018. directora de Proyectos de Extensión sobre Parasitosis intestinales en poblaciones infantiles. Participante en proyectos de extensión e investigación sobre Zoonosis parasitarias. Ex jefe del Servicio de Laboratorio Central del Hospital Interzonal Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica" de La Plata.

Magistrello, Paula Natalia

Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP); Especialista en Bioquímica Clínica área Parasitología, acreditado por el Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Buenos Aires; Ayudante diplomado dedicación simple, Cátedra de Parasitología, (FCE-UNLP); Bioquímica asistencial de planta permanente, Sector Parasitología Coprología, Sala Bioquímica Especializada, Laboratorio Central. HIAEP "Sor María Ludovica" de La Plata; jefe de Unidad de Consulta. Sala Bioquímica Especializada. Laboratorio Central. HIAEP "Sor María Ludovica" de La Plata; Participación en Actividades de Extensión sobre prevención y diagnóstico de toxocariosis y parasitosis infantiles intestinales. Autor y coautor de Publicaciones sobre parasitología.

Maydana, Mara Noemí

Médica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (FCM-UNLP); Especialista en Infectología Pediátrica. Colegio de Médicos de La Plata (COLMED); Especialista en Pediatría 2015. COLMED; Médica de Planta del Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Sor María Ludovica de La Plata; Infectóloga pediatra del Hospital Italiano de La Plata; Becaria en Protocolo "Estudio de impacto de enfermedad meningocócica". Estudio multicéntrico, centro participante HIAEP sor María Ludovica; Subinvestigadora en Protocolos de Investigación Clínicos, Hospital Italiano de La Plata; Especialista revisora en Pediatría en Red 3. Dr. Juan Alberto Reichenbach. Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. Autora en publicaciones referidas a la especialidad.

Minvielle, Marta Cecilia

Médica, Docente Universitaria Adscripta, Bacterióloga Clínica e Industrial, Magister en Microbiología Molecular y Doctora en Ciencias Médicas; Profesora Adjunta, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (FCM-UNLP). Autora/co-autora de libros, capítulos de libro, publicaciones y comunicaciones científicas en el área de Parasitosis y Nutrición Infantil. Directora de Proyectos Científicos y Programas/Proyectos de Extensión, UNLP enfocados en la problemática de las infecciones parasitarias, alteraciones de la nutrición y riesgo cardiovascular en preescolares y escolares de comunidades vulnerables del área de influencia, UNLP.

Moré, Gastón

Técnico Agropecuario, Escuela MSRF, Las Flores, Argentina; Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Doctor en Ciencias Veterinarias, FCV-UNLP; Posdoctorado en el Friedrich-Loeffler-Institut, Wusterhausen, Alemania con el "Georg Forster Research Fellowship", Fundación Alexander von Humboldt. 2011-2012; Investigador Independiente CONICET. Profesor adjunto simple Parasitología y Enfermedades Parasitarias, FCV-UNLP; Área de experiencia: diagnóstico serológico y molecular de infecciones producidas por protozoos Apicomplexa.

Negri, Vanesa

Bachiller Universitaria en Ciencias con orientación en Biotecnología, Universidad Nacional General San Martín (UNSAM); Referencia Nacional en el Diagnóstico parasitológico, serológico y molecular de Leishmaniasis humana y canina en el Depto. Clínica, Patología y Tratamiento del Instituto Nacional de Parasitología “Dr. Mario Fatała Chaben”. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”; Participante del Programa Nacional de Leishmaniasis- Referencia Nacional del Diagnóstico de Leishmaniasis; Participante del Programa Regional de Evaluación Externa Directa del Desempeño para el Diagnóstico Microscópico de Leishmaniasis (PEED); Investigador en Tipificación de especies de *Leishmania* sp. mediante técnicas moleculares-INP

“Restricted Outbreak of American Tegumentary Leishmaniasis with High Microfocal Transmission” Krolewiecki, AJ; Gil, JF; Quipildor, M; Cajal, SP; Pravia, C; Juarez, M; Villalpando, C; Locatelli, FM; Chanampa, M; Castillo, G; Oreste, MF; Hoyos, CL; Negri, V; Nasse JR. (2013) *Am J Trop Med Hyg.*; 88(3): 578–582.

Ortega, Emanuel Eneas

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Docente de grado. Auxiliar Diplomado, Cátedra de Parasitología Comparada, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial en las materias de Parasitología Comparada y Zoonosis parasitarias FCV-UNLP; Integrante de Proyectos de Investigación, Extensión y Voluntariado sobre Parasitología y Salud Pública FCV-UNLP.

Osen, Beatriz Amelia

Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Bacterióloga Clínica e Industrial. UNLP; jefa de Trabajos Prácticos, Cátedra de Parasitología General, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial. FCV-UNLP; Integrante del Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias (LAPAHUZO); Participante en Proyectos de Incentivos Docentes, Extensión y Voluntariado Universitario en carácter de integrante, coordinadora y codirectora; Profesional a cargo, Sala de Situación Epidemiológica del Hospital Zonal General de Agudos Dr. Lucio Meléndez de Adrogué. Almirante Brown.

Paladini, Antonela

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP); Microbióloga Clínica e Industrial. (FCV-UNLP); Auxiliar diplomado, Cátedra de Parasitología Comparada en las materias de Parasitología Comparada y Zoonosis parasitarias (FCV-UNLP); Integrante de proyectos y programas de Investigación, Extensión y Voluntariado (FCV-UNLP); Becaria Doctoral UNLP. Tema: Presencia e identificación de genotipos de *Echinococcus granulosus sensu lato* en bovinos de la Provincia de Buenos Aires.

Pezzani, Betina Cecilia

Doctora en Ciencias Naturales, Licenciada en Ciencias Biológicas (orientación Zoología). Facultad Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (FCNyM-UNLP); Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, (FCM) UNLP; Especialista en Docencia Universitaria; Investigadora UNLP; Codirectora de Proyecto Investigación “Estudio de patologías transmisibles y nutrición en población infantil”, UNLP; Delegada Regional, Asociación Parasitológica Argentina; Codirectora Programa Estable “Control de las Parasitosis Intestinales y Nutrición”, FCM; Publicaciones; Mínyielle, M.C.; Zubiri, K.; De Andrea, M.; Ceccarelli, S.; Ciarmela, M.L.; Pezzani, B.C. 2020. Pharmacological and Educational Intervention for the control of Intestinal Parasitic Infections in pre-school children in La Plata, Argentina. World Journal of Advance Healthcare Research 4 (5), 150-158.

Plischuk, Santiago

Doctor en Ciencias Naturales. Licenciado en Biología. Técnico especialista en tratamiento de efluentes industriales. Investigador adjunto CONICET en el área de Ciencias Agrarias. Docente de grado y postgrado. Autor/co-autor de un libro, capítulos de libro, artículos de divulgación, publicaciones y comunicaciones científicas en relación a patologías de insectos de importancia agroeconómica. Director de la Revista de la Sociedad Entomológica Argentina (RSEA). Miembro fundador de la Sociedad Latinoamericana de Investigación de Abejas (SOLATINA). Responsable/integrante de proyectos de investigación nacional e internacional.

Pruzzo, Cesar Iván

Médico Veterinario, Doctor en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata (FCV-UNLP); Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, FCV-UNLP; Miembro del Área de Parasitología, Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE); Duela del hígado (*Fasciola hepatica*) y sus hospedadores intermediarios en Argentina, Programa de cooperación Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Argentina (MINCyT)- Ecos.

Rossin, María Alejandra

Licenciada en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata (FCEyN-UNMdP); Doctora en Ciencias, Área Biología, FCEyN-UNMdP; docente colaborador en Biología Animal, FCEyN-UNMdP; Investigador adjunto de CONICET; Investigador Responsable de PICT periodo 2019-2022 y 2020-2023, UNMdP; Autor y coautor de publicaciones relacionadas al estudio taxonómico de todos los taxones (mixosporidios, microsporidios, monogeneos, digeneos, cestode, nematodes y copépodos) que parasitan la gran diversidad de peces de esta región y relaciones existentes entre las características del hospedador y ambiente que pueden modular o influir en las características de una población o comunidad parasitaria; Investigador en parasitofauna de peces dulceacuícolas de la región pampeana.

Salomón, María Cristina

Bioquímica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba (UNC); Master Internacional en Enfermedades Parasitarias Tropicales. Universidad de Valencia. España; Magister en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo); Especialista en Docencia Universitaria. UNCuyo; Especialista en Bioquímica Microbiológica, orientación en Parasitología. Ministerio de Salud. Mendoza; Especialista en Bioquímica con orientación en Inmunoserología. Consejo Deontológico. Ministerio de Salud. Mendoza; Diplomada en Educación para Profesionales de la Salud. Facultad de Ciencias Médicas (FCM-UNCuyo); Prof. Titular Área de Parasitología, FCM-UNCuyo; Prof. Titular Curso defensas Existentes, Obstetricia y Medicina. Universidad del Aconcagua (UDA); Docente en la Diplomatura Puericultura y Lactancia Materna, UDA; Docente investigador, Programa de Incentivos del Ministerio de Educación de la Nación; Integrante del Consejo de Investigaciones (CIUDA-UDA). Autor y coautor de numerosos capítulos de libro y publicaciones en revistas.

Salomón, Oscar Daniel

Licenciado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; Universidad de Buenos Aires (FCEyN-UBA); Master en Salud Pública. School of Medicine; Yale University; USA; Doctor en Ciencias Biológicas (FCEyN-UBA); Director del Instituto Nacional de Medicina Tropical, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (INMeT-ANLIS); Investigador Principal, Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); Miembro Consejo Asesor Científico-Técnico: Entomología en Salud Pública - Organización Panamericana de la Salud (OPS), Geographical Yellow Fever Risk Mapping - World Health Organization; Scientific Advisory Board - Global Research Collaboration for Infectious Disease Preparedness Network. Punto Nacional de Contacto Temático Salud- PND- Oficina de Enlace Argentina – Unión Europea. SECyT; Co-coordinación Red Investigación de la leishmaniasis en Argentina – REDILA-. Asesor técnico científico Programa Nacional de Leishmaniasis; Área de experiencia: Leishmaniasis tegumentaria y visceral – INMeT (Fuentes principales: FONCyT/MinCyT, Ministerio de Salud, IDRC, NIH, TDR-WHO).

Storino, Rubén

Profesor Titular, Cátedra de Salud Pública. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata (FCM- UNLP); Profesor Titular, Cátedra de Historia de la Medicina. FCM- UNLP; Profesor Adjunto a cargo de la Titularidad. Cátedra de Humanidades Médicas. FCM- UNLP; director del Centro Integral de Atención de Enfermedad de Chagas "Dr. Miguel Jörg" de la Fundación INCALP de La Plata.

Unzaga, Juan Manuel

Doctor en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP), Master en Enfermedades Parasitarias Tropicales, Facultad de Farmacia, Universitat de Valencia, España, Médico Veterinario (FCV-UNLP), Bacteriólogo Clínico e Industrial (FCV-UNLP). Profesor Adjunto, Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias (FCV-UNLP), Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA-FCV-UNLP), director de Gestión Institucional, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial (FCV-UNLP).

Unzaga, María Florencia

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP). Profesora Adjunta Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos. Coordinadora Suplente Curso de Enfermedades de Aves y Pilíferos (FCV-UNLP). Docente Investigadora: Programa de Incentivos a Docentes- Investigadores. Integrante del Servicio de Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos (LADEAP). Miembro Titular, Junta del Departamento de Producción (FCV-UNLP). Docente en el Proyecto de Extensión “Organización para la Producción”, UNLP. Docente del Programa anual de Ofertas Permanentes de Prácticas Profesionalizantes en Granja: para alumnos de los colegios agropecuarios de la región. Jefa de Trabajos Prácticos Cátedra de Semiología. Coordinadora Suplente Curso de Semiología. Directora de Adscripto a la Docencia en Semiología (FCV-UNLP). Autora de capítulos de libros y numerosos trabajos científicos y académicos de la especialidad.

Vazquez, María Victoria

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta (FCAYV-UCASAL); Especialista en Diagnóstico de Laboratorio Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. (FCV-UNLP); Adscripto graduado en el Curso de Parasitología del Departamento de Epizootiología y Salud Pública (FCV-UNLP); responsable del Área de PCR del Laboratorio de Diagnóstico en animales pequeños (DIAP). Diagnóstico microscópico y molecular de enfermedades parasitarias e infecciosas en pequeños animales.

Velásquez, Jorge Néstor

Médico. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. (FCM-UBA); Doctor en Medicina. Área Medicina Interna. UBA; Magister en Administración Sanitaria. Universidad Católica de Salta (UCS); Especialista en Bacteriología y Ciencias Microbiológicas. Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación; Especialista en Enfermedades Infecciosas. Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación.; jefe de Trabajos Prácticos, Infectología. Departamento de Medicina FCM-UBA; jefe Unidad de Internación Sala 11, División VIH-SIDA. Hospital de Infecciosas “Dr. Francisco J. Muñiz”; Investigación: Estudios morfológicos y moleculares sobre el proceso de diseminación multiorgánica de los protozoarios entéricos en pacientes infectados por VIH. ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán - Hospital de Infecciosas “Dr. Francisco J. Muñiz”. Autor de numerosas publicaciones sobre la temática.

Vezzani, Darío

Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (FCEyN-UBA); Licenciado en Ciencias Biológicas FCEyN-UBA; Investigador Independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). *Dirofilariasis* in Argentina: Historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. *Veterinary Parasitology* (2006). Artificial container-breeding mosquitoes and cemeteries: a perfect match. *Tropical Medicine and International Health* (2007). Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South America: risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. *Veterinary Parasitology* (2011)

Parasitología comparada : modelos parasitarios : parte I : Protozoos / Susana Archelli ... [et al.] ; coordinación general de Nilda Ester Radman ; María Inés Gamboa ; Franca Lucrecia Mastrantonio Pedrina ; ilustrado por Luciana Paula Davies. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2023.

Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-2205-2

1. Parasitología. I. Archelli, Susana. II. Radman, Nilda Ester, coord. III. Gamboa, María Inés, coord. IV. Mastrantonio Pedrina, Franca Lucrecia, coord. V. Davies, Luciana Paula, ilus. CDD 636.089696

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2022
ISBN 978-950-34-2205-2
© 2022 - Edulp

n
naturales


Edulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA