

Protozoos parásitos de importancia sanitaria: un abordaje transdisciplinario

Juan Manuel Unzaga y María Lorena Zonta
(coordinadores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS
VETERINARIAS

FACULTAD DE
CIENCIAS NATURALES
Y MUSEO


edulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

PROTOZOOS PARÁSITOS DE IMPORTANCIA SANITARIA: UN ABORDAJE TRANSDISCIPLINAR

Juan Manuel Unzaga

María Lorena Zonta

(coordinadores)

Facultad de Ciencias Veterinarias

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



*Este libro está dedicado a aquellas/os alumnas/os que
por curiosidad o convicción eligieron conocer y descubrir
las distintas formas de vida de estos seres microscópicos...*

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de La Plata y a la Editorial EDULP por generar espacios para la publicación y difusión de obras de interés tanto para el estudiantado como para el público en general.

Al Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CONICET-UNLP) y al Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA-FCV-UNLP) por brindar las instalaciones y el equipamiento necesario para realizar nuestras investigaciones.

Al Centers for Disease Control and Prevention (CDC) que proporcionó el permiso para utilizar fotografías correspondientes al grupo de protozoos “Ameboides” y “Flagelados”.

A la Dra. Andrea Dellarupe y a la Lic. Laura Morote por la confección de los dibujos de los ciclos de vida y a la Dra. María Lorena Zonta por la colaboración con las láminas de los distintos grupos de protozoos.

Al Sr. Isidoro Ercoli y a la Sra. Selva Peñaloza por el incondicional apoyo en las tareas que se desarrollan en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA-FCV-UNLP).

Al Médico Veterinario Nicolás Devitture por su colaboración en la confección de los dibujos del capítulo 17 *Toxoplasma gondii*.

Un buen libro es una voz sabia junto a ti.

Abel Pérez Rojas

Índice

Prólogo _____ 9

Introducción _____ 10

PRIMERA PARTE

Subreino Protozoa

Ameboides

Capítulo 1

Endolimax nana (parásito intestinal no patógeno) _____ 18

Andrea C. Falcone y Graciela T. Navone

Capítulo 2

Entamoeba coli (parásito intestinal no patógeno) _____ 23

Paola Cociancic y Graciela T. Navone

Capítulo 3

Entamoeba histolytica/E. dispar/E. moshkovskii/E. bangadesí _____ 28

Andrea Servián, M. Lorena Zonta y Graciela T. Navone

Capítulo 4

Iodamoeba bütschlii (parásito intestinal no patógeno) _____ 36

M. Lorena Zonta y Graciela T. Navone

SEGUNDA PARTE

Subreino protozoa

Flagelados

Capítulo 5

Chilomastix mesnili (parásito intestinal no patógeno) _____ 42

Andrea C. Falcone y Graciela T. Navone

Capítulo 6

- Enteromonas hominis* (parásito intestinal no patógeno) _____ 47
Paola Cociancic y Graciela T. Navone

Capítulo 7

- Giardia lamblia/G. duodenalis/G. intestinalis* (parásito intestinal patógeno) _____ 51
M. Lorena Zonta, Andrea Servián y Graciela T. Navone

Capítulo 8

- Leishmania infantum* _____ 61
Andrea Dellarupe, J. Octavio Estévez y Diego F. Eiras

Capítulo 9

- Dientamoeba fragilis* _____ 72
Andrea Servián y Graciela T. Navone

Capítulo 10

- Tritrichomonas foetus y Trichomonas vaginalis* _____ 78
César I. Pruzzo, Federico A. Illanes y M. Lorena Zonta

TERCERA PARTE**Subreino protozoa****Ciliados****Capítulo 11**

- Balantidium coli* (parásito intestinal patógeno) _____ 89
Paola Cociancic y Graciela T. Navone

CUARTE PARTE**Subreino protozoa****Apicomplejos****Capítulo 12**

- Babesia vogeli, Rangelia vitalii* y otros piroplasmas en pequeños animales _____ 95
Diego F. Eiras, M. Victoria Vázquez, Darío Vezzani y Gastón Moré

Capítulo 13

- Cryptosporidium* spp. _____ 103
Lorena A. De Felice, Carina Basset y Juan M. Unzaga

Capítulo 14

Isospora spp. _____ 115

Bruno Fitte, Lorena A. de Felice, Diego F. Eiras, y Juan M. Unzaga

Capítulo 15

Neospora caninum _____ 121

Lucía Campero, Andrea Dellarupe, Magdalena Rambeaud y M. Cecilia Venturini

Capítulo 16

Sarcocystis spp. _____ 134

Elisa Helman, Andrea Dellarupe y Gastón A. Moré

Capítulo 17

Toxoplasma gondii _____ 144

Mariana Bernstein, María L. Gos, Kevin D. Steffen, Lais Pardini, Juan M. Unzaga

y María C. Venturini

Capítulo 18

Hepatozoon canis _____ 162

Diego F. Eiras, Franca Mastrantonio y M. Victoria Vázquez

QUINTA PARTE**Reino chromista****Capítulo 19**

Blastocystis sp. (parásito intestinal potencialmente patógeno) _____ 176

Andrea C. Falcone, Andrea Servián, M. Lorena Zonta y Graciela T. Navone

Glosario _____ 183

Los autores _____ 189

CAPÍTULO 9

Dientamoeba fragilis

Andrea Servián y Graciela T. Navone

Clasificación

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophorea

Clase: Zoomastigophora

Orden: Trichomonadida

Familia: Monocercomonadidae

Dientamoeba fragilis es un flagelado intestinal muy cercano taxonómicamente al género *Trichomonas*. Generalmente, se lo halla en estadio de trofozoíto, aunque se ha reportado ocasionalmente la presencia de formas quísticas y prequísticas en muestras clínicas. Desde su primera descripción por Jepps & Dobell en 1918, se lo clasificó como una ameba por su movilidad mediante seudópodos. Posteriores estudios ultraestructurales y moleculares lo han ubicado definitivamente dentro de los flagelados. La ausencia de flagelos externos en los trofozoítos apoya la sugerencia de que *D. fragilis* se ha adaptado secundariamente a la vida en el intestino, al perder dependencia de estos apéndices móviles en favor de adoptar una apariencia amebiana y un estilo de locomoción. Sin embargo, aún se estudian los mecanismos de su trasmisión y su potencial patogénico.

Morfología

Los **trofozoítos** son ameboides y poseen un flagelo intracitoplasmático. Son muy delicados y se desintegran rápidamente en las heces o en el agua. Presentan un tamaño que varía de 5 a 10 μm , con un rango usual de 9 a 12 μm . La mayoría presenta dos núcleos (binucleados), aunque también se pueden hallar formas con 1 a 4 núcleos. Los núcleos presentan un cariosoma central con la cromatina fragmentada en 4 a 8 gránulos. No presentan cromatina periférica sobre la membrana nuclear. El citoplasma puede ser granular, fino o grueso, vacuulado y contener bacterias, levaduras y otros detritos. El mismo se encuentra diferenciado en ecto y

endoplasma. Los trofozoítos emiten seudópodos hialinos que pueden ser lobulados o de bordes dentados (Fig. 1 A y B).

Los **quistes** fueron ocasionalmente descriptos en exámenes de muestras fecales humanas. Son redondeados y tienen una pared gruesa distintiva con una zona de separación alrededor, denominado espacio peritrófico¹⁰. Su diámetro es de 5-6 μm . Contienen uno o dos núcleos con cariosoma central, una delgada membrana nuclear sin cromatina. Al igual que en el trofozoíto, el cariosoma central está a menudo fragmentado en gránulos. Carecen de mitocondrias, pero en su lugar presentan hidrogenosomas¹¹ localizados en el citoplasma de los quistes. El axostilo se extiende desde la región anterior hasta la región posterior del quiste (Fig. 1 C). Las formas **pre-quisticas** miden entre 4-5 μm siendo un 50 % más chico que el trofozoíto, con citoplasma más denso y raramente contiene inclusiones (Fig. 1 D).

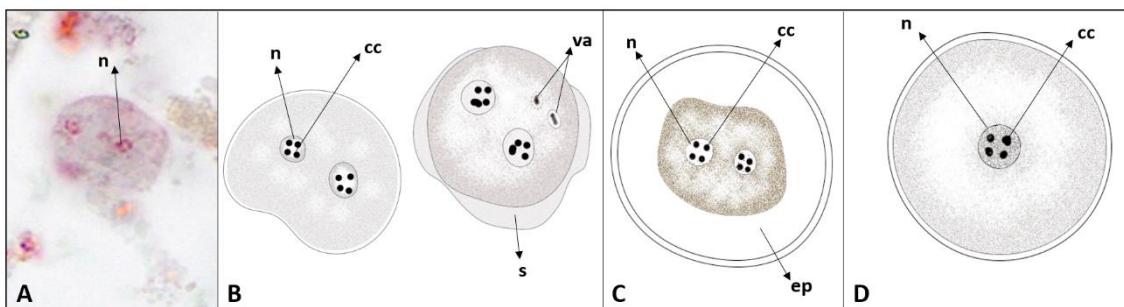


Figura 1. *Dientamoeba fragilis*. (A) Imagen de un trofozoíto con tinción tricrómica. Gentileza de DPDx, Centers for Disease Control and Prevention (<https://www.cdc.gov/dpdx>). (B) Esquema de trofozoítos. (C) Esquema de un quiste. (D) Esquema de un prequito. Abreviaturas: cc, cariosoma central; ep, espacio peritrófico; n, núcleo; s, seudópodo; va, vacuola.

Caracterización molecular

El genotipado molecular y el análisis de secuencias del gen 18S han demostrado que existen dos formas genéticamente distintas de *D. fragilis*, denominados genotipo 1 y 2. Aún no se han descripto diferencias en la biología o patogenia entre estas variantes.

Ciclo biológico

Los trofozoítos de *D. fragilis* viven en la luz del intestino grueso, donde se multiplican a través de la fisión binaria, y posteriormente se eliminan en las heces.

¹⁰ El espacio peritrófico es el que se delimita entre la pared externa del quiste y el parásito enquistado.

¹¹ Los hidrogenosomas son organelos en los cuales radica la producción de ATP y que se presentan en microorganismos eucarióticos que viven en ambientes con déficit de oxígeno.

El ciclo evolutivo y su modo de transmisión no han sido totalmente dilucidados. Hasta el momento se describieron dos rutas posibles. Por un lado, se ha propuesto que la vía de contagio implica la transmisión a través de huevos de nemátodos (Dobell, 1940). La alta tasa de coinfección hallada entre *D. fragilis* y *Enterobius vermicularis* llevó a postular que este oxiuro podía ser un probable vector (Girginkardesler et al., 2008, Roser et al., 2013). Esta suposición se basa también en la biología de especies relacionadas, en particular, *Histomonas meleagridis*, un parásito de las aves galliformes, que se transmite a través de los huevos del nemátodo *Heterakis gallinarum*. Pero, la prueba más sólida de este tipo de transmisión fue la detección de ADN de *D. fragilis* en huevos de *E. vermicularis* (Ögren et al., 2013; Röser et al., 2013).

Por otra parte, el hallazgo de formas quísticas y pre-quísticas sugieren que la transmisión por vía oro-fecal es otro mecanismo probable.

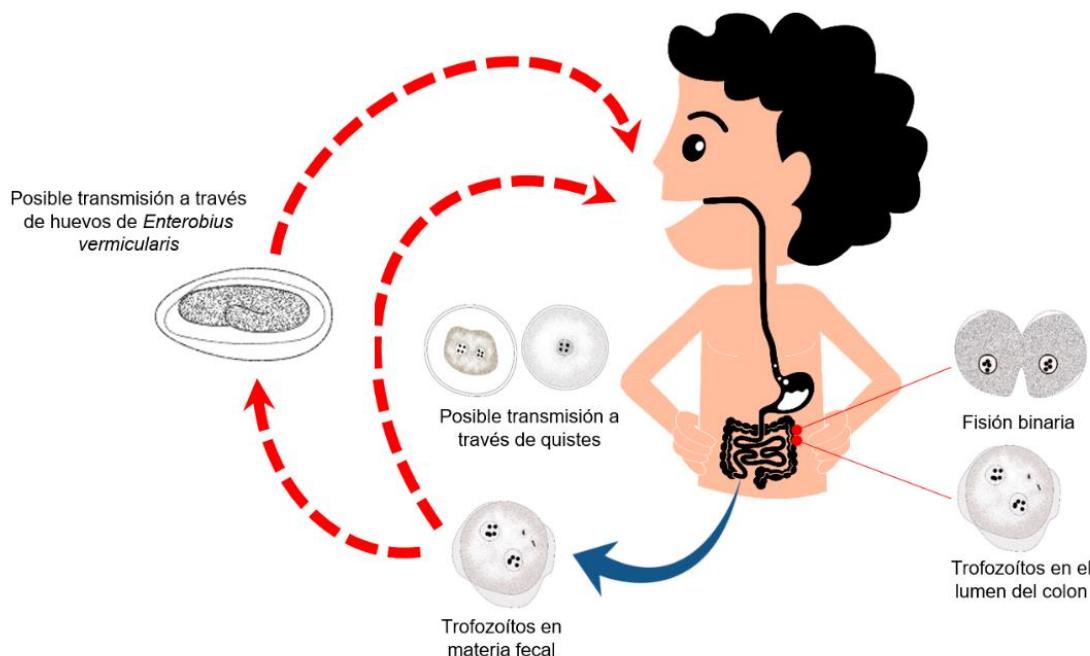


Figura 2. Ciclo de vida de *Dientamoeba fragilis*.

Patogenicidad, sintomatología y tratamiento

Si bien muchos autores consideran que esta especie no es patógena, en algunas personas puede provocar diarrea y molestias abdominales. Las manifestaciones clínicas reportadas han sido descritas como similares a las de colitis, apendicitis o síndrome del intestino irritable.

Cuando se encuentra en pacientes con síntomas gastrointestinales sin ningún otro patógeno, *D. fragilis* debe considerarse como causa de estos y, por lo tanto, los individuos deben recibir el tratamiento adecuado (Barrat et al., 2011). Se ha reportado varios fármacos efectivos para *D. fragilis*, tales como iodoquinol, clioquinol, paromomicina y metronidazol, siendo este último el más comúnmente indicado (Vandenberg et al., 2007).

Epidemiología

Dientamoeba fragilis es un protozoo con distribución cosmopolita. Su prevalencia varía según el método empleado para su diagnóstico. Sobre la base de diferentes procedimientos, su frecuencia oscila entre el 0,2% y el 82,0%, y contrariamente a lo observado para otros protozoos intestinales, es generalmente mayor en los países desarrollados. Si solo se tienen en cuenta los estudios epidemiológicos moleculares, se observa una alta prevalencia (>20%) en varias regiones del mundo, incluidos países de Europa, Oriente Medio y América del Sur (Cacciò, 2018).

Varios estudios sugieren que la mayor prevalencia de este parásito se observa en niños y se considera el resultado de hábitos de higiene poco desarrollados y la susceptibilidad a las infecciones entéricas (Cacciò, 2018). Sin embargo, otros afirman que es más frecuente en adultos y adolescentes y que la prevalencia en mujeres es mayor que en hombres (Barrat et al., 2011).

Las discrepancias halladas entre los estudios en cuanto a los datos de prevalencia y distribución por edad de este protozoo pueden deberse a los distintos diseños de investigación empleados, las técnicas diagnósticas utilizadas y la población objeto de estudio (Gomila et al., 2003).

En Argentina, *D. fragilis*, se encontró en la provincia de Salta, tanto en muestras de agua de río (Poma et al., 2012), como en habitantes de una zona rural en una prevalencia de 2,7% (3/112) (Menghi et al., 2007).

Por otra parte, estudios en Buenos Aires, en particular en la ciudad de La Plata, determinaron prevalencias de 0,1% (2/1411) en niños de ambos sexos, menores de 14 años (Cociancic et al., 2021) y del 2.0% (29/1434) en niños que concurrían a jardines, comedores y escuelas de barrios (Kozubsky & Costas, 2017). Mientras que, una mayor frecuencia (7,0%; 291/4025) se detectó en un estudio de muestras fecales remitidas al Laboratorio de Parasitología y Gastroenterología del Hospital de Pediatría “Prof. Dr. Juan P. Garrahan” (Ferioli et al., 2020).

Respecto de las infecciones en animales, *D. fragilis* se encontró en primates no humanos (gorilas), ganado (cerdos) y mascotas (perro y gato) (Lankester et al., 2010; Chan et al., 2016). El hallazgo de este parásito en ganado y mascotas sugiere un potencial de transmisión zoonótica (Cacciò, 2018).

Diagnóstico y observación

El diagnóstico en búsqueda de trofozoítos y quistes incluye:

- examen directo en preparaciones húmedas.
- examen a través de técnicas de enriquecimiento (e.g. concentración por sedimentación: formol-acetato de etilo; y por flotación: Willis con solución saturada de cloruro de sodio/ Sheather con solución sobresaturada de sacarosa).
- preparaciones temporarias con solución de iodo (Lugol).
- preparaciones permanentes con tinción tricrómica o hematoxilina férica.

- PCR convencional y PCR en tiempo real.
- coprocultivo.

El diagnóstico microscópico de rutina requiere que las muestras estén frescas o recientemente emitidas, dada la fragilidad relativa de los trofozoítos y su similitud morfológica con otros protozoos. De hecho, la etapa de trofozoíto no suele detectarse si se utilizan métodos de concentración de heces. Estos estadios se pueden pasar fácilmente por alto o identificar mal porque son de color pálido y sus núcleos a veces se asemejan a los de *Endolimax nana* o *Entamoeba hartmanni*. A esto se suma la intermitencia en la emisión del parásito. Con el fin de superar estos inconvenientes, se recomienda la prueba de diagnóstico microscópico que combina el muestreo en 3 días consecutivos con un fijador (e.g. formalina 5-10%), seguido de un método de concentración y una tinción permanente, como la tricrómica (Van Gestel et al., 2019).

Sin embargo, las técnicas más sensibles para la detección de *D. fragilis* incluyen la PCR convencional y la PCR en tiempo real. La alta sensibilidad reportada para estas metodologías hace que una única muestra sea suficiente para el diagnóstico.

Otros métodos alternativos incluyen el coprocultivo, el cual es muy laborioso y presenta una sensibilidad y especificidad mucho menor a las técnicas moleculares previamente mencionadas.

Referencias

- Barratt, J. L. N., 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.
- Cacciò, S. M. (2018). Molecular epidemiology of *Dientamoeba fragilis*. *Acta Tropica*, 184, 73-77.
- Chan, D., Barratt, J., Roberts, T., Phillips, O., Šlapeta, J., Ryan, U., & Stark, D. (2016). Detection of *Dientamoeba fragilis* in animal faeces using species specific real time PCR assay. *Veterinary Parasitology*, 227, 42-47.
- Clark, C. G., Röser, D., & Stensvold, C. R. (2014). Transmission of *Dientamoeba fragilis*: pinworm or cysts? *Trends in Parasitology*, 30(3), 136-140.
- Cociancic, P., Torrusio, S. E., Garraza, M., Zonta, M. L., & Navone, G. T. (2021). Intestinal parasites in child and youth populations of Argentina: Environmental factors determining geographic distribution. *Revista Argentina de Microbiología*, 53, 225-232.
- Dobell, C. (1940). Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man: X. The life-history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. *Parasitology*, 32(4), 417-461.
- Ferioli, S., Perazzo, J. M., & Paulin, P. (2020). Prevalencia de parásitos intestinales en muestras de pacientes atendidos en el Hospital de Pediatría “Prof. Dr. Juan P. Garrahan”, Argentina, 2018-2019. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 54(4), 455-460.
- Gamboa, M. I., Giambelluca, L. A., & Navone, G. T. (2014). Distribución espacial de las parasitosis intestinales en la ciudad de La Plata, Argentina. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 74.

- Girginkardeşler, N., Kurt, Ö., Kilimcioğlu, A. A., & Ok, Ü. Z. (2008). Transmission of *Dientamoeba fragilis*: evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. *Parasitology International*, 57(1), 72-75.
- Gomila, B., Amselem, L., Esteban, J. G., & València, V. (2003). DIENTAMOEISIS: ¿UNA PROTOZOOSIS INTESTINAL OLVIDADA? Servicio de Microbiología, Hospital General de Castellón, Castellón.
- Jepps, M. W., & Dobell, C.** (1918). *Dientamoeba fragilis* n.g., n. sp., new intestinal amoeba from man. *Parasitology*, 10, 352-367.
- Kozubsky, L., & Costas, M. E. (2017). Parasitología humana para bioquímicos. Series: Libros de Cátedra. Universidad Nacional de La Plata; La Plata: EDULP, 256 págs. ISBN 978-950-34-1574-0. Libro digital, PDF (Libros de cátedra).
- Lankester, F., Kiyang, J. A., Bailey, W., & Unwin, S. (2010). *Dientamoeba fragilis*: initial evidence of pathogenicity in the western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 41(2), 350-352.
- Menghi, C. I., Iuvaro, F. R., Dellacasa, M. A., & Gatta, C. L. (2007). Investigación de parásitos intestinales en una comunidad aborigen de la provincia de Salta. *Medicina (Buenos Aires)*, 67(6), 705-708.
- Munasinghe, V. S., Vella, N. G., Ellis, J. T., Windsor, P. A., & Stark, D. (2013). Cyst formation and faecal-oral transmission of *Dientamoeba fragilis*—the missing link in the life cycle of an emerging pathogen. *International Journal for Parasitology*, 43(11), 879-883.
- Ögren, J., Dienus, O., Löfgren, S., Iveroth, P., & Matussek, A. (2013). *Dientamoeba fragilis* DNA detection in *Enterobius vermicularis* eggs. *Pathogens and Disease*, 69(2), 157-158.
- Poma, H. R., Cacciabue, D. G., Garcé, B., Gonzo, E. E., & Rajal, V. B. (2012). Towards a rational strategy for monitoring of microbiological quality of ambient waters. *Science of the Total Environment*, 433, 98-109.
- Röser, D., Nejsum, P., Carlsgart, A. J., Nielsen, H. V., & Stensvold, C. R. (2013). DNA of *Dientamoeba fragilis* detected within surface-sterilized eggs of *Enterobius vermicularis*. *Experimental Parasitology*, 133(1), 57-61.
- Stark, D., Garcia, L. S., Barratt, J. L. N., Phillips, O., Roberts, T., Marriott, D., & Ellis, J. T. (2014). Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(7), 2680-2683.
- Van Gestel, R. S., Kusters, J. G., & Monkelbaan, J. F. (2019). A clinical guideline on *Dientamoeba fragilis* infections. *Parasitology*, 146(9), 1131-1139.
- Vandenberg, O., Souayah, H., Mouchet, F., Dediste, A., & Van Gool, T. (2007). Treatment of *Dientamoeba fragilis* infection with paromomycin. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 26(1), 88-90.