

Parasitosis regionales

Un estudio referido a las principales parasitosis de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Sixto Raúl Costamagna / Elena C. Visciarelli

Compiladores



Sixto Raúl Costamagna (Compilador)

Parasitosis regionales

Este libro es el resultado de trabajos de investigación sobre las principales parasitosis presentes en humanos, animales y el medio ambiente, que desde hace un tiempo se vienen desarrollando desde la Cátedra de Parasitología Clínica, del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, para construir el mapa parasitológico de la ciudad de Bahía Blanca y la región.

Está destinado a la comunidad de Profesionales de la Salud y al público en general, para un mejor conocimiento de las principales parasitosis que se presentan en el sur de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Con la información aquí presentada, los profesionales bioquímicos, médicos, asistentes sociales, enfermeros, estudiantes y responsables de la salud pública, dispondrán de un elemento de consulta con información regional sobre Parasitología Humana. Se trata de una herramienta para la consulta diaria del profesional que debe hacer diagnósticos clínicos o de laboratorio.

Colaboradores

Bua, Jacqueline - Casas, Nilda - Dupin, Mauricio J.
García, Gabriela - García, Susana - Gentile, Teresa
Lucchi, Leandro - Méndez, Oscar - Menghi, Claudia
Ruiz, Andrés - Venturiello, Stella - Visciarelli, Elena



Parasitosis regionales

Un estudio referido a las principales parasitosis
de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Compiladores:

Costamagna, S.R.
Visciarelli, E.C.

Colaboradores:

Basabe, N.
Bua, J.
Casas, N.
Casero, R.
Dupin, J.
Ferrero, A.
García, G.
García, S.
Gatta, C.
Gentile, T.

Guagliardo, S.
Gutierrez, M. M.
Lucchi, L.
Menghi, C.
Prat, M. I.
Ruiz, AM.
Salomón, M. C.
Tanzola, R. D.
Tonelli, R.
Venturiello, S.



**Editorial de la
Universidad Nacional del Sur**

E-mail: ediuns@uns.edu.ar



**Red de Editoriales
Universitarias Nacionales**

Foto de tapa:
Quiste de *Trichinella spiralis* al SEM.
Fotografía: Costamagna S. R., 2004

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723
Impreso en la Universidad Nacional del Sur
Bahía Blanca - Argentina
2ª Edición (Reimpresión). Mayo 2008

ISBN: 978-987-1171-89-7
© 2008 - Ediuns

AUTORES

- **COSTAMAGNA, Sixto Raúl.**
Doctor en Bioquímica. Master Internacional en Enfermedades Parasitarias Tropicales. Especialista, Consultor, Asociación Bioquímica Argentina, orientación Parasitología. Profesor Asociado Ordinario, Cátedra de Parasitología Clínica de las carreras de Bioquímica y de Medicina en la Universidad Nacional del Sur.
- **GARCIA, Susana H. †**
Licenciada en Biología. Universidad Nacional del Sur.
- **VISCIARELLI, Elena C.**
Doctora en Bioquímica. Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Parasitología Clínica de la carrera de Bioquímica en la Universidad Nacional del Sur.
- **LUCCHI, Leandro D.**
Bioquímico. Ayudante de Docencia de la Cátedra de Parasitología Clínica de la carrera de Bioquímica en la Universidad Nacional del Sur.
Inspector de Medio Ambiente, Municipalidad de Bahía Blanca.
- **BASABE, Norma.**
Bioquímica. Ayudante de Docencia de la Cátedra de Parasitología Clínica de la carrera de Bioquímica en la Universidad Nacional del Sur.
- **DUPIN, Mauricio Javier.**
Bioquímico. Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Naval Puerto Belgrano.
- **VENTURIELLO, Stella.**
Doctora en Bioquímica. Profesora Adjunta, Universidad de Buenos Aires. Instituto de estudios de la inmunidad humoral (CONICET-UBA). Investigadora independiente del CONICET.

- **MENGHI, Claudia Irene.**
Bioquímica. Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Master Internacional en Enfermedades Parasitarias Tropicales (Universidad de Valencia, España). Jefa de Trabajos Prácticos a cargo del Área Parasitología del Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas, UBA.
- **GATTA, Claudia.**
Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ayudante de Primera y Bioquímica Asistencial del Área Parasitología del Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas, UBA.
- **CASAS, Nilda.**
Licenciada en Bioquímica. Ex-Jefa de la Sección Parasitología del Servicio de Laboratorio Central del Hospital Interzonal de Agudos Dr. José Penna. Bahía Blanca.
- **CASERO, Rodolfo.**
Bioquímico. Especialista en Parasitología Universidad Nacional de Cordoba. Jefe del Departamento de Parasitología del Hospital Nacional de Clinicas, Universidad Nacional de Córdoba. Docente Instructor Carrera de Post Grado en Parasitología de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Coordinador del Area de Microbiología, Secretaria de Salud, Municipalidad de Córdoba.
- **RUIZ, Andrés Mariano.**
Doctor en Ciencias Químicas. Director del Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben".
- **GENTILE, Teresa.**
Doctora en Bioquímica. Jefe de Trabajos Prácticos en la Universidad de Buenos Aires. Investigadora Adjunta del CONICET.
- **BUA, Jacqueline.**
Doctora en Ciencias Biológicas. Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben".
- **GARCIA, Gabriela.**
Doctora en Ciencias Biológicas. Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben".

- **FERRERO, Adriana A.**
Doctora en Biología. Profesora Adjunta Ordinaria, Cátedra de Zoología de Invertebrados II de la carrera de Lic. en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Sur.
- **GUTIÉRREZ, María Mercedes.**
Licenciada en Ciencias Biológicas. Auxiliar de docencia de Cátedra de Zoología de Invertebrados II de la carrera de Lic. en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Sur.
- **PRAT, María Inés.**
Doctora en Bioquímica. Profesora Adjunta, Cátedra de Inmunología de las carreras de Bioquímica y de Medicina, Universidad Nacional del Sur.
- **GUAGLIARDO, Silvia E.**
Licenciada en Ciencias Biológicas. Profesora de Biología. Doctora en Biología. Ayudante Categoría A con dedicación Exclusiva de la Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos de Interés Comercial de la Universidad Nacional del Sur.
- **TANZOLA, Rubén Daniel.**
Licenciado en Zoología. Doctor en Biología. Profesor Adjunto con dedicación Exclusiva de la Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos de Interés Comercial, responsable de las asignaturas Interacciones Bióticas y Parasitología de la Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Sur.
- **SALOMÓN, María Cristina.**
Bioquímica. Master Internacional en Enfermedades Parasitarias. Universidad de Valencia, España. Magister en Biología Celular y Molecular Universidad Nacional de Cuyo. Especialista en Parasitología por el Consejo Deontológico pcia de Mendoza. Profesora Adjunta a cargo Área de Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo. Profesora Titular Microbiología y Parasitología, Carrera de Obstetricia Universidad del Aconcagua.
- **TONELLI, Rosa Lydia.**
Bioquímica y Farmacéutica. Especialista en Bacteriología y en Parasitología por el Consejo Deontológico de pcia de Mendoza. Jefa de Trabajos Prácticos, Área de Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.

PRÓLOGO

Desde hace ya bastante tiempo, desde la Cátedra de Parasitología Clínica, del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, trabajamos investigando las principales parasitosis presentes en humanos, animales y el medio ambiente en nuestra ciudad y Región.

Hoy presentamos, ante la comunidad y Profesionales de la Salud, la Segunda Edición de "**Parasitosis Regionales**" con observaciones propias, algunas de ellas ya publicadas, ampliadas con los principales conceptos de las parasitosis que se presentan en el sur de la Provincia de Buenos Aires, Argentina, para un mejor conocimiento. En esta nueva Edición se han incorporado nuevos colaboradores, que al igual que los existentes tienen una sólida formación Parasitológica y de reconocido prestigio nacional e internacional, ampliando la lista de temas tratados.

Hemos desarrollado los parásitos y las parasitosis más prevalentes en nuestra ciudad y zona, con el convencimiento de que una más acotada información será mejor recepcionada por el público al cual está destinada. De ninguna manera pretende ser un Tratado de Parasitología Humana, pero sí creemos que con la información aquí presentada, nuestros profesionales bioquímicos, médicos, asistentes sociales, enfermeros, estudiantes y responsables de la salud pública, al igual que el público interesado, dispondrán de un elemento de consulta con información regional. Creemos que es una herramienta para la consulta diaria, que esperamos sea de utilidad para el profesional que debe hacer diagnósticos, clínicos o de laboratorio, diariamente.

Un profundo y sincero agradecimiento a los prestigiosos profesionales autores de los diferentes capítulos y a todos aquellos que colaboraron aportando valiosa información epidemiológica desde los diferentes Hospitales de la ciudad, por su desinteresada colaboración. Sin el aporte solidario de cada uno de ellos no habríamos logrado esta nueva Edición de **Parasitosis Regionales**.

Sixto Raúl Costamagna y Elena C. Visciarelli
Editores

INDICE

1. Parasitología: generalidades	11
2. Enfermedad de Chagas	25
3. Amebas parásitas y otras Amebas Intestinales	75
4. <i>Dientamoeba fragilis</i>	85
5. <i>Blastocystis hominis</i>	91
6. Giardiosis	105
7. <i>Chilomastix mesnili</i>	111
8. <i>Isospora belli</i> y <i>Cyclospora cayetanensis</i>	113
9. Cryptosporidiosis	119
10. Toxoplasmosis	125
11. <i>Trichomonas vaginalis</i>	139
12. <i>Acanthamoeba</i> y otras Amebas Patógenas de Vida Libre	161
13. Teniosis	183
14. Cisticercosis.....	189
15. Himenolepiosis	191
16. <i>Diphylidium caninum</i>	195
17. Hidatidosis Humana	197
18. Dermatitis Esquistosomiásica (Dermatitis por Cercarias)	211
19. Trichinellosis	215
20. Ascariosis	229
21. Larva Migrans Visceral	237
22. Enterobiosis u Oxyurosis	239
23. Trichuriasis o Tricocefalosis	249

24. <i>Strongyloides stercoralis</i>	253
25. Anisakidosis	273
26. Miasis	279
27. Pediculosis	299
28. Pulicosis	317
29. Sarna	323
30. Demodocidosis	331
31. Inmunoparasitología	337
32. El diagnóstico de las Parasitosis	359
33. Diagnóstico inmunológico de las Parasitosis	381
34. Las Parasitosis en Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina	397
35. Parásitos de importancia sanitaria en aguas del Arroyo Napostá, Aguas de consumo y de Recreación en Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. ...	411
36. Investigación de Amebas de Vida Libre en piscinas cubiertas de Bahía Blanca...	415
37. Bibliografía	419

PARASITOLOGIA: Generalidades

Sixto Raul Costamagna

La **Parasitología** es la parte de la Biología que tiene que ver con los fenómenos de dependencia entre dos seres vivos (Craig y Faust, 1974)

Estos seres vivos, viven como parásitos, es decir organismo que vive a expensas de otro (generalmente de mayor tamaño, llamado Hospedador) y que puede comportarse como el elemento injuriante, agresor y capaz de producir reacciones de distinta índole en el organismo parasitado.

HOSPEDADOR (o huésped u hospedero, como se lo menciona en alguna literatura) individuo que alberga un parásito, y que puede ser agredido o injuriado y que puede reaccionar contra él.

PARASITO: el que come al lado de otro. LOGOS: Tratado.

Parasitología, según Mas Coma, 1995, es la ciencia que estudia el fenómeno del parasitismo. Parasitismo: se refiere a la presencia de un ser (llamado parásito) en otro ser (llamado hospedador).

En 1976, la Asociación de Parasitólogos Españoles (APE), reconoce como término correcto para su uso el de HOSPEDADOR, eliminando el de Huésped u Hospedero. La Cátedra de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur adopta este criterio por considerarlo el más acertado.

PARASITISMO no es lo mismo que PARASITOSIS.

Entendemos por PARASITISMO al fenómeno ecológico en el que el parásito se establece, en forma temporal o permanentemente, sobre la superficie o en el interior del hospedador, del cual obtendrá mientras viva y a partir de sustancias propias y necesarias, aquellas que el parásito necesita para su subsistencia, sin reportar a cambio, beneficio o compensación equivalente (Mas Coma, 1995). Una de las características principales de los parásitos es su "dependencia metabólica respecto del hospedador".

Entendemos por PARASITOSIS a un caso de parasitismo en los que existen manifestaciones clínicas producto del parasitismo. Es un grado de parasitismo. No todos los estados de parasitismo provocan parasitosis; pero sí, todas las parasitosis se refieren a un parasitismo.

Con estos nuevos conceptos, ahora podemos decir que la PARASITOLOGIA es una rama de la Ecología que estudia integralmente el fenómeno del parasitismo, además del conocimiento morfológico y funcional de los parásitos, las relaciones parásito-hospedador y los factores ambientales y socio-culturales que influyen sobre esta comunidad.

En la PARASITOLOGIA, se pueden diferenciar cuatro períodos (Mas Coma, 1995):

1. Empírico, que abarca desde la Prehistoria a Lineo (Lineo, 1758). En este período, el invento del microscopio por parte de Van Leeuwen Hoeck produce un giro importante, describiéndose muchos parásitos microscópicos. Surge así la necesidad de ordenar, de ponerle nombres a cada microorganismo, de sistematizar, originándose la llamada "Nomenclatura Binomial de Lineo".
2. Sistemático: entre 1758 y 1850. Aquí se ejecutan las ideas de sistematización de Lineus.
3. Experimental: 1850-1921. Aquí avanzan los conocimientos en virtud de que se logran reproducir los ciclos de algunos parásitos, descartándose la idea de la llamada "generación espontánea" que imperaba hasta ese momento.
4. Aplicada: desde 1921 en adelante. Aquí se profundiza en Epidemiología, Inmunología, Medicina, Veterinaria, Biología celular y posteriormente molecular y genómica.

ASOCIACIONES ANIMALES

La vida de los individuos en la naturaleza, en forma aislada, es un fenómeno casi excepcional, ya que unos se asocian con otros, formando conglomerados a los efectos de contribuir al desarrollo y bienestar común, explotándose unos a otros con distinto grado de utilización y/o perjuicios.

Estas asociaciones pueden ser de individuos de la misma especie (asociaciones iso-específicas), o de diferente especie (asociaciones aniso-específicas).

ASOCIACIONES ISOESPECIFICAS, INTRA u HOMOESPECIFICAS: son asociaciones animales de una misma especie. A ella pertenecen las grandes colectividades de

animales vertebrados e invertebrados que pueden presentar o no diferencias morfofuncionales:

1. Asociaciones isoespecíficas homomorfas: los individuos que componen esta asociación solamente se diferencian por sus caracteres sexuales (rebaños, manadas, etc.).
2. Asociaciones isoespecíficas heteromorfas: los individuos no solamente se diferencian por el sexo, sino que aparecen formas asexuadas y otras relacionadas con el trabajo, con una morfología bien definida y condicionada (enjambres, avisperos, hormigueros, etc.).

ASOCIACIONES ANISOESPECIFICAS, INTER o HETEROESPECIFICAS: son asociaciones de animales constituidas por individuos de especies diferentes.

Entre los miembros de esta asociación existe toda una gama de beneficios (para uno o para ambos) que permiten diferenciarlos en función de los diferentes grados de relaciones, en las siguientes categorías:

1. **Inquilinismo:** asociación de dos especies diferentes, donde una de ellas utiliza a la otra para que le sirva de albergue.
2. **Comensalismo:** una de las especies utiliza a la otra al solo efecto de procurarse el alimento. Si bien no le ofrece nada a cambio, tampoco lo perjudica.
3. **Mutualismo:** cuando la asociación beneficia a ambos asociados.
4. **Simbiosis:** se trata de "una asociación más íntima" e imprescindible entre dos especies diferentes que se prestan un beneficio recíproco. Puede ser obligatoria.
5. **Parasitismo:** es una asociación simbiótica, en la cual un individuo llamado hospedador es lesionado hasta cierto punto, por las actividades del otro llamado parásito (Markell y Voge). Debe existir una relación íntima entre las dos especies y es ese estrecho contacto prolongado lo que diferencia al parasitismo de la predación.

TIPOS DE PARASITISMO:

- Parasitismo obligado: se refiere al hecho de que el parasitismo como forma de vida, es la única posibilidad; no puede vivir de otra manera.
- Parasitismo facultativo: el parásito puede subsistir al estado libre o bien como comensal, y cuando se le presenta la oportunidad se convierte en parásito.
- Parasitismo accidental: se refiere a aquellos parásitos que parasitan a una especie animal que no corresponde con su biología normal. Ejemplo: un *Diphyllidium caninum* en humanos.

- Hiperparasitismo: se refiere a los parásitos de los parásitos (es decir, hiperparásitos). Los hiperparásitos son parásitos de otro parásito que a su vez parasita a un hospedador.
- Poliparasitismo: presencia de dos o más parásitos de una misma especie, en un mismo hospedador. Varios *Ascaris lumbricoides*, varios ejemplares de *Taenia saginata*.
- Pluriparasitismo: presencia de dos o más parásitos pero de diferente género, en un mismo hospedador. Ejemplo: en un mismo hospedador encontramos *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Enterobius vermicularis*, etc.
- Multiparasitismo (o super-parasitismo): cuando en un mismo hospedador encontramos dos o más especies parásitas, pero correspondientes a un mismo género. Ejemplo: un paciente parasitado con dos especies de Plasmodios: *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium malariae*.
- Hospedador paraténico: es aquel hospedador de transporte, sin que el parásito evolucione en él; solamente lo transporta (Hospedador de espera).
- Parasitismo extraviado: parásito que equivoca su especie hospedadora en una fase de su ciclo biológico. Generalmente no puede llegar a adulto en este hospedador. Ejemplo: *Toxocara cati* que produce la llamada "Larva migrans".
- Parásito errático: parásito que equivoca su microhábitat, dentro de un mismo hospedador (*Fasciola hepatica*, *Ascaris lumbricoides*)

DISEMINACION DE LOS PARASITOS

Los parásitos se diseminan para producir infección o infestación (ver diferencia más adelante) por:

1. Suelo o aguas contaminadas.
2. Alimentos que contengan estadios infectantes o infestantes resistentes del parásito.
3. Artrópodos.
4. Animales domésticos o salvajes que contengan al parásito.
5. De persona a persona, a través de su ropa de cama, ropa o medio ambiente cercano que esté contaminado, por las manos contaminadas.
6. Uno mismo (auto infección o infestación, retroinfestación o infección), generalmente ano-boca.

Los parásitos que se comunican con órganos abiertos hacia el exterior (aparato digestivo, urinario, respiratorio) eliminan sus formas vegetativas, quistes, huevos

o larvas, con la materia fecal, orina, esputo y contaminan de esta forma la tierra, los alimentos, el agua de bebida, etc. A veces el estadio eliminado al exterior no es infestante, pero madura en el medio externo y se hace infestante o infectante luego (*Toxoplasma gondii*, *Ascaris lumbricoides*, etc.)

En otros casos, insectos hematófagos pueden ser transmisores de enfermedades parasitarias por diferentes mecanismos (*Leishmania* sp., *Trypanosoma* sp., *Plasmodium* sp., etc), interviniendo en lo que se conoce como "ciclo de vida del parásito".

En el caso de la Hidatidosis, por ejemplo, el perro (hospedador definitivo del parásito), elimina con sus heces los huevos del parásito que está en su intestino, contaminando aguas, verduras, suelos, etc., que serán fuente de contaminación para el hombre y otros hospedadores como la oveja, en los que producirá la enfermedad mencionada.

En otras parasitosis, como la Oxyuriasis, se pueden producir contagios a través de alimentos o elementos contaminados y autoinfestaciones por la vía ano-boca (ya que el tiempo de maduración del huevo es breve).

Los ectoparásitos son diseminados por: contacto directo, cohabitación o por contacto con ropas contaminadas.

Otras formas de diseminación de los parásitos son:

- Por artrópodos de hábitos coprófagos (cucarachas, moscas, etc.) por:
 1. Su defecación (sin necesidad de ser hospedador intermediario).
 2. Transporte a través de sus patas.
- El viento
- Medios de transporte, equipaje, comida.
- Por transfusiones sanguíneas, transplantes de órganos.
- Vía transplacentaria
- Vía quirúrgica (Hidatidosis secundaria).

Infeción parasitaria: del griego "infícere" (infectar, impregnar). Término utilizado para indicar la entrada y multiplicación de un parásito en el organismo de un hospedador. Ejemplo: coccidios, amebas, plasmodios (Lombardero, 1971).

Infestación parasitaria: del latín "infestare" (devastar). Término empleado para aquellos parásitos que no se multiplican en el organismo del hospedador. Ejemplo:

algunos *Ascaris*, garrapatas, etc. (Lombardero, 1971). A este concepto agregaríamos que si bien puede haber aumento de la carga parasitaria, ésta está limitada por la propia biología del parásito, no es indefinida. Ejemplo: Trichinellosis.

VIAS DE PENETRACION

1. Aparato digestivo: por agua, tierra o alimentos contaminados.
2. Piel: a. activamente: atraviesan la piel por sus propios medios (*Ancylostomas*)
b. pasivamente: 1) Por puerta de entrada abierta por un artrópodo, por inoculación (*Plasmodios*).
2) Por puerta de entrada producida por erosiones al rascarse el hospedador (*Chagas*).
3. Mucosas: por transmisión sexual: *Trichomonas vaginalis*, etc.
4. Vía transplacentaria: *Chagas*, *Toxoplasmosis*, etc.
5. Vía transfusional: *Chagas*, *Paludismo*, *Toxoplasmosis*, etc.
6. Vía quirúrgica: por trasplantes de órganos: *Toxoplasmosis*, *Chagas*, etc.

CLASIFICACION DE LOS PARASITOS DE ACUERDO CON SU UBICACION EN EL HOSPEDADOR

Los parásitos pueden tener especificidad parasitaria y ser atraídos de una manera a veces muy específica y exclusiva por un hospedador determinado, o desarrollarse cuando son introducidos en él.

Desde el punto de vista de su ubicación topográfica en los hospedadores, los parásitos se pueden dividir en:

- **ECTOPARASITOS:** viven "sobre" el hospedador, en el pelo, piel, o en alguna de sus cavidades naturales fácilmente accesibles.
- **MESOPARASITOS:** parásitos que viven en cavidades abiertas como la boca, fosas nasales, vagina.
- **ENDOPARASITOS:** viven dentro del hospedador. Tienen su microhábitat en cavidades profundas del organismo, en los tejidos o en la sangre (éstos últimos son llamados hemoparásitos).

Todos los órganos del cuerpo humano pueden ser invadidos por parásitos, pero en general éstos se desarrollan en determinados tejidos u órganos y muchas veces

mueren si no llegan allí. Excepcionalmente, si el sujeto parasitado ofrece terreno favorable y/o si la carga parasitaria es grande, la parasitosis puede desarrollarse en localizaciones poco usuales.

Especificidad parasitaria es un término que se utiliza para indicar o señalar el grado de dependencia de un parásito respecto de sus hospedadores.

Es importante conocer la especificidad por determinado microhábitat (tropismo), dado que:

- Se deduce el tipo de PATOLOGÍA.
- Es importante para decidir respecto del sitio de la TOMA DE MUESTRAS.
- Define el TIPO DE PARÁSITO: hemo, entero o histoparásito, etc.

TIPOS DE HOSPEDADORES

1. NORMAL: es el hospedador que utiliza con mayor frecuencia el parásito en áreas endémicas. Está más adaptado a él y generalmente le ocasiona la menor patología al hospedador.
2. VICARIANTE: todas las otras especies de hospedadores que utiliza el parásito, además del normal. Aquí puede no estar muy adaptado y puede producir más patología o bien diseminar el parásito a zonas donde el hospedador normal no está presente. (Ejemplo: *Trypanosoma brucei brucei*: hospedador normal, sin sintomatología, el antílope; hospedador vicariante, con síntomas, el ganado).
3. DEFINITIVO: es el hospedador que alberga la forma adulta o donde ocurre la reproducción sexuada del parásito.
4. INTERMEDIARIO: es el hospedador que alberga la fase o estadio larvario o asexuado del parásito.

Los hospedadores intermediarios se clasifican en:

- a. ACTIVOS: buscan al hospedador e inoculan o inyectan activamente las formas infectantes (anofelinos, glosinas) o bien depositan los parásitos sobre la superficie de la piel, junto con sus deyecciones (triptanosomas).
- b. PASIVOS: no buscan al hospedador definitivo (la vaca no nos busca, el cerdo tampoco); o bien por contaminación externa o interna.

DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LOS PARASITOS

- COSMOPOLITAS: existencia únicamente ligada a la presencia del hombre (si son de evolución directa), o al hombre y al otro u otros hospedadores (si son de evolución indirecta)
- REGIONALES o ENDEMICOS: existencia no dependiente solo del hombre, sino además condicionada por otros factores como: humedad, temperatura, tensión de oxígeno, etc.

ACCIONES DE LOS PARASITOS SOBRE SUS HOSPEDADORES

Los parásitos pueden ejercer las siguientes acciones o daños sobre sus hospedadores, en forma aislada o simultánea: tóxica, irritativa, inflamatoria, expoliatriz, mecánica, compresiva, obstructiva, traumática, infecciosa por facilitar la entrada de agentes infecciosos en el hospedador, eliminación de sustancias paralizantes, despolimerizantes e hipersensibilizantes, acción debilitante del hospedador, castración parasitaria que se presenta en Trematodos gasterópodos: las larvas de *Fasciola hepatica* en *Limnaea truncatula* a quien destruye las gónadas para provocar un gigantismo en el caracol, etc. Son variables y dependen de la intensidad (desde nulas, hasta provocar la muerte del hospedador), del tamaño del parásito, del tipo y virulencia, del tipo de tejido y órgano atacado y del estado del hospedador y de su capacidad para desarrollar resistencia frente al parásito y que ésta no desencadene fenómenos de autoinmunidad.

CLASIFICACION DE LOS PARASITOS DE ACUERDO CON SU ESPECIFICIDAD ALIMENTARIA

1. MONOFAGOS (o estenotróficos): una sola sustancia alimentaria, pero de un solo hospedador. Ejemplo: Piojos: solo se alimentan de sangre, pero de una sola especie: piojo del cerdo, piojo del hombre, etc.
2. POLIFAGO (o eutrofo): una sustancia, pero de cualquier hospedador. Ejemplo: pulgas: sangre, de cualquier hospedador.

LOCALIZACION de los PARASITOS (Hábitats parasitarios en el hombre)

1. Aparato circulatorio: sangre: *Plasmodium* spp., *Tripanosoma* spp. etc.
2. Aparato respiratorio: *Pneumocystis carinii*, *Paragonimus* sp.
3. Aparato digestivo: pese a los cambios de pH, enzimas digestivas y al peristaltismo, es un buen hábitat para protozoos y helmintos intestinales.
4. Sistema Reticulo Endotelial (SER): *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*.
5. Sistema nervioso central: Neurocisticercosis, Toxoplasmosis cerebral.
6. L.C.R.: fase final de Trypanosomiosis africana, Amebas de vida libre.
7. Sistema linfático: Filarias
8. Sistema muscular: *Trichinella spiralis*, larvas de cestodos, *Toxoplasma gondii*.
9. Uretra y/o vagina: *Trichomonas vaginalis*.
10. Piel: típico de los ectoparásitos (temporales o permanentes), como Piojos, Garrapatas, parásito de la Sarna.
11. Dermis: Onchocercosis, Filariasis (*Loa-Loa*).
12. Pelos del cuerpo y de la cabeza

Todos los parásitos deben encontrar rápidamente su hospedador y una vez en él, su microhábitat, ya que de ello depende su ALIMENTACION y la posibilidad posterior de REPRODUCCION y DISEMINACION posterior.

El conocimiento de hábitat nos permite deducir la patología que puede llegar a producir en el hospedador, el tipo de tratamiento y las posibilidades diagnósticas de la parasitosis producida.

El conocimiento de las vías de entrada nos permiten inferir medidas de profilaxis y prevención.

El conocimiento de las vías de salida es importante a los fines diagnósticos y epidemiológicos.

MODO DE EVOLUCION DE LOS PARASITOS

1. **Evolución directa:** desarrolla por entero su ciclo en un mismo individuo, o parcialmente en el medio exterior. (*Entamoeba* spp.; *Giardia* spp.; *Ascaris* spp. etc). El parásito posee un solo hospedador, es un parásito MONOXENO. El medio ambiente es un factor limitante para la diseminación de estos parásitos (de sus formas de resistencia: quistes, huevos)
2. **Evolución indirecta:** posee uno o más hospedadores intermediarios. Viven su estadio adulto en un hospedador (llamado definitivo) y el estadio larvario en otro

u otros hospedadores (llamados intermediarios). Son parásitos HETEROXENOS, es decir, tienen varios hospedadores (dos o más) para completar su ciclo biológico o ciclo de vida, por lo que desde este punto de vista y en función del número de hospedadores que posea, un parásito de evolución indirecta o heteroxeno, puede ser:

- DIHETEROXENO: si posee un solo hospedador intermediario.
 - POLIHETEROXENO: si posee dos o más hospedadores intermediarios.
- En este tipo de evolución, también el medio ambiente es un factor limitante para que el ciclo se cierre.
- Evolución o ciclo AUTOHETEROXENO: el hospedador es a la vez definitivo e intermediario (alberga la forma adulta y larvaria del parásito); no obstante, para que se complete el ciclo es necesario un segundo hospedador (*Trichinella spiralis*, etc.).
 - AUTOHETEROXENO FACULTATIVO: puede o no ser autoheteroxeno. La evolución normal es diheteroxena. Ejemplo: *Toxoplasma gondii*, *Taenia solium*.
 - MONOXENIA SECUNDARIA: Puede presentar una evolución heteroxena o bien monoxena (uno u otro, pero no los dos a la vez). Ejemplo: *Hymenolepis nana*.

GLOSARIO MINIMO

- Período prepatente: es el período existente entre la infección y la aparición de las primeras formas detectables del agente infeccioso (importante para el diagnóstico etiológico, de laboratorio, por métodos directos).
- Período de incubación: es el período existente entre la infección y la aparición de los primeros signos y síntomas de la enfermedad (importante para el diagnóstico o presunción clínica de la enfermedad).
- Parasitismo: es la asociación entre seres vivos, donde existe unilateralidad de beneficios y donde uno de los asociados es perjudicado por esta asociación.
- Hospedador definitivo: es aquél que presenta al parásito en su fase madura o de actividad sexual.
- Hospedador intermediario: es aquél que presenta al parásito en su fase o estadio larvario o de reproducción asexual.
- Patogenicidad: capacidad del parásito de producir daño o enfermedad en el hospedador.
- Fase aguda: es el período, post-infección o infestación, donde los síntomas clínicos son más marcados. Hay aumento de IgM.
- Fase crónica: es el período que sigue a la fase aguda. Se caracteriza por la

disminución de la sintomatología clínica, existiendo equilibrio biológico entre el hospedador y el agente parasitario. El número de parásitos se mantiene más o menos constante. Este equilibrio puede desplazarse hacia una nueva fase aguda (reagudización), o hacia la curación (por inmunidad o medicamentos).

- Parasitemia: se refiere a la presencia de parásitos en la sangre del hospedador.
- Profilaxis: conjunto de medidas tendientes a la prevención, erradicación o control de enfermedades o situaciones perjudiciales para los seres vivos.
- Portador sano: individuo parasitado que no presenta síntomas pero que puede transmitir la parasitosis a otros individuos de la misma especie. Portador enfermo, ídem. pero enfermo.
- Reservorio: es el hospedador que mantiene las formas infestantes de un parásito en la naturaleza, sin manifestaciones clínicas Ejemplo: desdentados (armadillos) para *Trypanosoma cruzi* (Lombardero, 1971). Disemina al parásito entre individuos de otras especies hospedadoras. Trichinellosis: ratas respecto del cerdo y éste respecto del hombre.
- ZONOSIS (OMS, 1976): enfermedades e infecciones de vertebrados transmisibles al hombre o viceversa. Paso de infecciones entre animales y el hombre y viceversa.

Sobre la base de la dirección de transmisión del agente, tenemos:

1. ANTROPOZONOSIS: del animal al hombre.
2. ZOOANTROPONOSIS: del hombre al animal.
3. ANFIXENOSIS: indistintamente una u otra dirección.

NOMENCLATURA BINOMIAL

La situación que originó la idea de nombrar y sistematizar debemos buscarla en los diferentes nombres que tienen los animales y los distintos microorganismos en los diversos lugares del mundo.

Por esta razón, y a los fines de poner un poco de orden en este aspecto, Lineo (1717-1778), en 1758 sugiere dar nombres unificados, con lo que da inicio a la NOMENCLATURA BINOMIAL que posteriormente originará el CODIGO INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA ZOOLOGICA (CINZ), con lo que cada especie tendrá su nombre único.

Se llama BINOMIAL porque cada organismo será nombrado por dos nombres: Género y Especie. Están escritos en latín y serán distinguidos en el texto: subrayados o cursiva.

El género lleva mayúscula inicial y la especie se escribe toda con minúscula.

Cuando se deba escribir el nombre de un microorganismo, se hará de la siguiente manera: Género, especie, autor, año en que fue descubierta. Si hubiese una redescrición aceptada posterior, se escribe al descubridor con el año entre paréntesis y luego quien la redescrive. Ejemplo: *Moniesia expansa* (Rudolphi, 1802) Branchard, 1891, quiere decir que en 1802 la describe por primera vez Rudolphi, mientras que en 1891 Branchart efectúa la redescrición más completa y detallada de esta especie.

Cuando en un texto se nombra un parásito por vez primera, debe ir completo. Ejemplo: *Trichomonas vaginalis* (Donné, 1837); la segunda vez y las sucesivas que se lo nombra, el género se abrevia y no se pone el descubridor: *T. vaginalis*.

Si una misma especie es descripta simultáneamente por dos autores diferentes (Ley de la sinonimia), siempre es válida la denominación de la primera publicación.

A veces hay sub-género y sub-especie, en ese caso se escribe de la siguiente manera:

Trypanosoma (*Trypanosoma*) *brucei gambiense* (Dutton, 1902)
(género) (sub-género) (especie) (sub-especie) (autor de la sub-especie)

Abreviatura: *T* (*T*) *b. gambiense*.

FORMA CORRECTA DE NOMBRAR LA ENFERMEDAD PARASITARIA

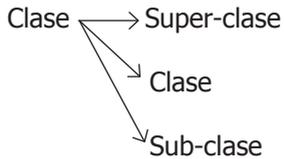
Actualmente todas las parasitosis terminan en "osis". Ejemplos: Toxoplasmosis, Trichomonosis, Amebosis, Trichinellosis, Giardiosis, Ascariosis, Oxyuriasis, Pediculosis, Tripanosomosis, etc.

CATEGORIAS TAXONOMICAS

- Dominio
- Reino
- Phylum
- Clase
- Orden
- Familia
- Tribu
- Género
- Especie

Para cada categoría se pueden hacer las siguientes divisiones

Reino → Sub-Reino



La PARASITOLOGIA incluye once Phyla o Phylum:

Sub-Reino PROTOZOA:

- Phylum SARCOMASTIGOPHORA
- Phylum APICOMPLEXA
- Phylum CILIOPHORA
- Phylum MICROSPIRIDIA o MICROSPORA
- Phylum MIXAZOA (*)

HELMINTOS (vermes)

- Phylum PLATHELMINTES
- Phylum NEMATODA
- Phylum ACANTOCEPHALA (*)
- Phylum ANELIDA (*)

ARTROPODOS

- Phylum PENTASTOMIDA (*)
- Phylum ARTROPODA

(*) De escasa importancia en Parasitología Humana.

TERMINACIONES: Las únicas terminaciones unificadas y reconocidas son:

Superfamilia ———→ "oidea"

Familia —————→ "idae"

Sub-Familia —————→ "inae"

Tribu —————→ "ini"

ESPECIE EN PARASITOLOGIA

Según Dobzansky, desde un punto de vista evolucionista, la Especie existe desde que se forma. Es una comunidad de reproducción mayor y más amplia de individuos sexuales y que se fecundan entre sí y que comparten un acervo de genes comunes. Están aisladas de otras especies.

Según Mayr, define a Especie como un grupo de poblaciones naturales, real o potencialmente intercruzables, aisladas reproductivamente de otros grupos análogos.

En Parasitología, el concepto morfológico de Especie es el que más perdura aún. Aquí aparece el problema de hasta qué punto está una Especie y comienza otra solo por diferencias morfológicas; por ello: "una Especie es tal y no otra cuando lo dice el especialista del grupo" (Mas Coma, 1975).

En Parasitología, al necesitar el parásito un determinado hospedador (especificidad), nos permite tener un elemento de juicio importante para definir una nueva especie.

Hymenolepis nana e *H. fraterna*, son iguales morfológicamente pero tienen diferentes hospedadores.

Abreviaturas de Especie:

- Una Especie : sp
- Varias Especies de un género : spp
- Sub-Especie indeterminada de una especie : ssp
- Más de una sub-Especie dentro de una Especie: sspp

LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Andrés Mariano Ruiz
Jacqueline Búa
Gabriela Andrea García

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben"
Avda. Paseo Colón 568, 1063 Buenos Aires, Argentina

1. INTRODUCCIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad de Chagas, es producida por un protozooario hemoflagelado, denominado *Trypanosoma cruzi*. Este parásito fue descubierto en 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas, en Minas Gerais, Brasil. En esa zona, las viviendas estaban infestadas por triatomos y los niños sufrían una enfermedad desconocida, caracterizada por anemia, edema palpebral y daño cardíaco (Chagas C, 1909). La enfermedad así descrita por Chagas pasó inadvertida casi un cuarto de siglo, hasta que empezaron a describirse casos en Argentina (Mazza S, 1926) y en otros países del continente.

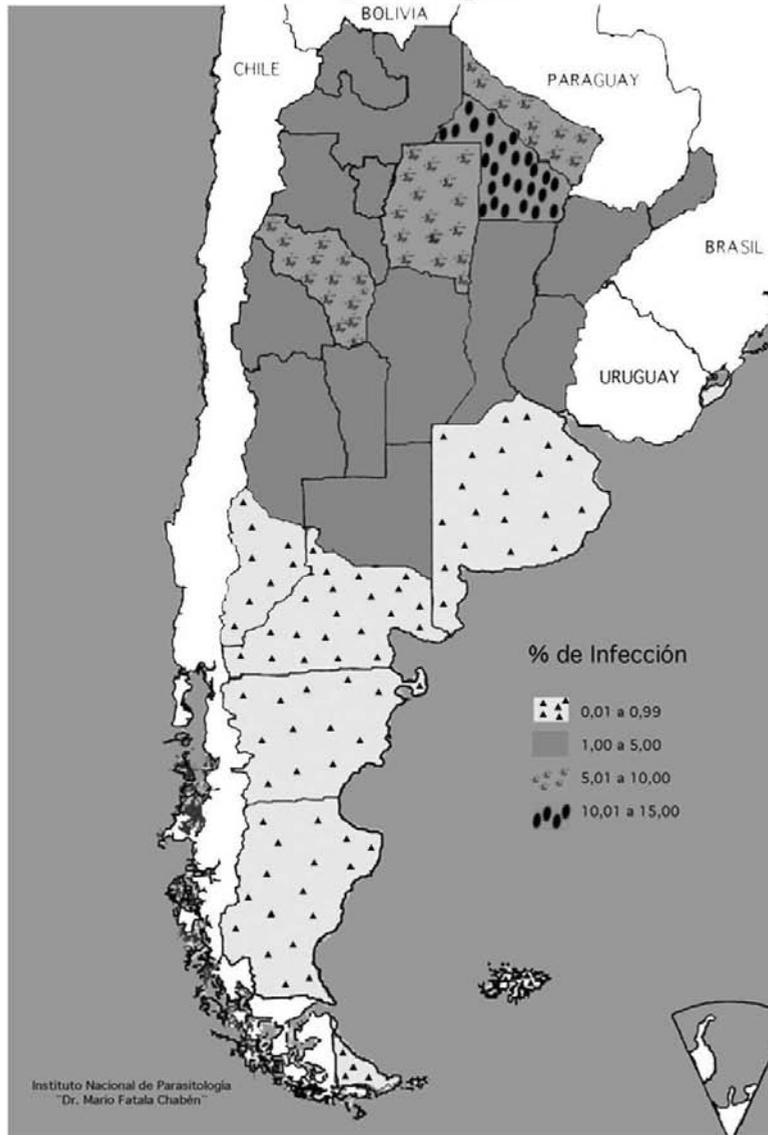
La enfermedad de Chagas se denomina también Tripanosomiasis Americana pues se halla exclusivamente distribuida en el continente americano. El área de prevalencia de la enfermedad humana coincide con el área de distribución geográfica de los vectores, triatomos domiciliarios, extendiéndose desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de la Argentina y Chile (Report of the World Health Organization Expert Committee, 1991). La magnitud de la prevalencia de la infección es variable, con cifras que oscilan entre 0.05% en el sur de Estados Unidos (Farrar W y col., 1972) y del 18.3% en Bolivia. La Organización Mundial de la Salud ha determinado que más de 50 millones de personas están expuestas al riesgo de infectarse por *T. cruzi* en los países del Cono Sur, estimándose que la población infectada es de alrededor de 6 millones de habitantes (Tabla 1) (Scientific Publication 547, PAHO, 1994)

Tabla 1: Prevalencia de Infección por *T. cruzi* en países del Cono Sur

Países	Población en riesgo	Nº de infectados	% de infectados
Argentina	6.900.000	2.330.000	7.21
Bolivia	1.800.000	1.333.000	18.23
Brasil	41.054.000	2.000.000	1.33
Chile	1.000.000	187.000	1.42
Paraguay	1.475.000	397.000	9.28
Uruguay	975.000	37.000	1.20
Total	53.204.000	6.284.000	2.90

Esta parasitosis tiene mayor importancia en Sud América, tanto por las altas tasas de prevalencia como por la extensión de las áreas endémicas. La misma causó en 1994 la pérdida anual de 2.740.000 años de vida ajustados por edad (Disability-Adjusted Life Year, DALYs), ocupando el tercer lugar entre las enfermedades tropicales de las Américas, luego de malaria y schistosomiasis. En la Argentina se estima una población infectada de 2.330.000 de habitantes siendo el 7.2% la tasa de infección en la población adulta en el año 1993 (Esquivel ML y col., 1994). La evaluación serológica realizada durante el año 2000 en niños menores de 15 años en áreas rurales mostró una prevalencia de 2% y una prevalencia global en mujeres embarazadas del 6.5% (Segura EL, 2002). En el año 1999 se estimó en 2500 el número de niños congénitamente infectados (Blanco SB y col., 1999). La figura 1 muestra las tasas de serología reactiva por provincia en Argentina a partir del estudio de varones convocados al servicio militar en el año 1993. Las mismas varían entre 0.3% en Río Negro a 13.5% en Chaco. Esta prevalencia mostraba una notable disminución con respecto a las mismas muestras en el periodo 1965-1969 (Segura EL y col., 1987 y 2000).

Figura 1: Prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la República Argentina



El Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica SINAVE, notificó 6 casos agudos vectoriales y 150 casos congénitos en el año 2001 en todo el país (Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2001)

2. *TRYPANOSOMA CRUZI* Y SU CICLO BIOLÓGICO

El *T. cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, es un parásito protozoario digenético que alterna su ciclo de vida natural entre un huésped vertebrado y otro invertebrado. La ubicación sistemática del parásito es la siguiente:

Reino : *Protista*

Subreino: *Protozoa*

Phylum: *Sarcomastigophora*

Clase: *Zoomastigophora*

Orden: *Kinetoplastida*

Familia: *Trypanosomatidae*

Género: *Trypanosoma*

Subgénero: *Schizotrypanum*

Especie: *cruzi* (Chagas C, 1909; Hoare CA, 1972)

El género *Trypanosoma* se divide en dos secciones: *Salivaria* y *Estercoraria* (Hoare CA, 1972). *T. cruzi* pertenece a la segunda y es el único patógeno dentro de esta sección. La principal característica de los organismos clasificados en *Estercoraria* es que son transmitidos por un insecto vector que elimina con sus deyecciones las formas infectantes del parásito.

Este parásito se ubica dentro del orden *Kinetoplastida*, cuya característica principal corresponde a la presencia del kinetoplasto, una estructura que concentra una malla de ADN mitocondrial cerca de la base del flagelo, formando parte integral del sistema mitocondrial. El ADN del kinetoplasto (ADNk) corresponde al 30% del ADN total del parásito y está compuesto de una red formada por maxicírculos y minicírculos (Englund P y col., 1996).

Como miembro de la familia *Trypanosomatidae*, se caracteriza por la presencia de un flagelo que emerge de una invaginación llamada bolsillo flagelar, un cuerpo paraflagelar y un kinetoplasto único (Cox F, 1993).

El flagelo presenta un axonema típico compuesto por 9 pares de microtúbulos

periféricos más 2 microtúbulos centrales. El cuerpo paraflagelar es una estructura extra-axonema conformada por filamentos asociados entre sí por puentes proteicos (Farina M y col., 1986).

Desde el punto de vista morfológico la superficie celular de los tripanosomátidos está compuesta por tres estructuras: el glicocalix, la bicapa lipídica y los microtúbulos sub-peliculares. Los glicoconjugados se encuentran uniformemente distribuidos sobre la superficie del cuerpo celular y el flagelo. La bicapa lipídica contiene proteínas integrales de membrana uniformemente distribuidas, excepto en áreas muy especializadas como el bolsillo flagelar y la base del flagelo. Los microtúbulos sub-peliculares localizados debajo de la membrana plasmática constituyen el citoesqueleto de los tripanosomátidos y se encuentran conectados con el retículo endoplásmico (De Souza W, 1999).

Existen organelas características de los tripanosomátidos, como ser los reservosomas, los glicosomas y los ácidocalcisomas. Los reservosomas son compartimentos pre-lisosomales localizados en la región posterior del parásito y estarían involucrados en el almacenaje de macromoléculas a ser usadas en la metacicloogénesis (De Souza W, 1999). Los glicosomas son organelas que pertenecen al grupo de los peroxisomas y contienen enzimas involucradas en la oxidación de aminoácidos y lípidos (Opperdoes F y col., 1991). Los ácidocalcisomas son organelas acídicas que concentran calcio y que pueden observarse al microscopio como vesículas vacías rodeadas por un material electrodenso periférico (Docampo R y col., 1995; De Souza W, 1999).

El estudio de la expresión de genes en kinetoplástidos reveló novedosos procesos post-transcripcionales que en un principio no habían sido observados en otros organismos, como el "*trans*-splicing" y la edición de ARN ("*RNA editing*").

La producción de ARNm maduros en tripanosomas es un proceso que difiere bastante con la mayoría de los eucariotas, ya que no se conocen promotores para la ARN polimerasa II al comienzo de cada gen y la transcripción ocurre de forma policistrónica. Sin embargo, los genes pertenecientes a un mismo transcripto pueden mostrar una marcada diferencia en la expresión (Gibson W y col., 1988; Bringaud F y col., 1993), hecho que demuestra que en los tripanosomátidos el control de la expresión génica opera primariamente a nivel post-transcripcional (Vanhamme L y col., 1995).

Los transcriptos policistrónicos o primarios son procesados para formar los ARNm mediante dos procesos acoplados: "*trans*-splicing" y poliadenilación. El "*trans*-splicing" se define como la unión de dos moléculas de ARN que poseen distinto origen físico de transcripción, proceso diferente del "*cis*-splicing", que implica el corte de

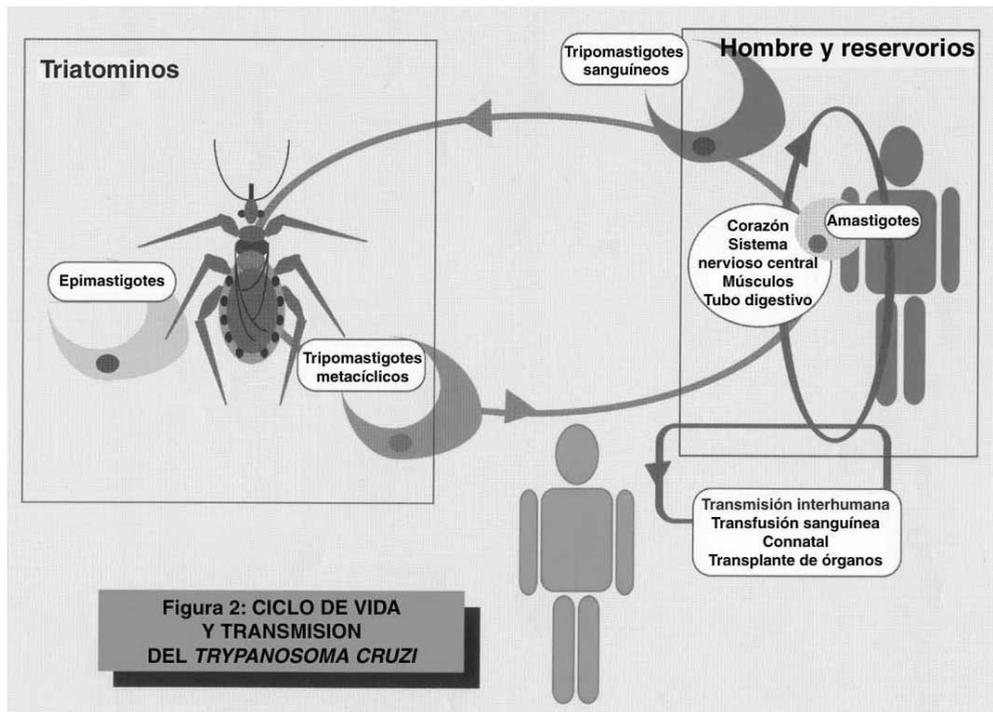
secuencias internas del ARN y posterior unión de la misma molécula de ARN (Agabian N, 1990).

El *trans*-splicing ocurre en el extremo 5´ de los transcriptos en donde se inserta una molécula de 39 bases llamada miniexón. El miniexón es el extremo 5´ de una molécula de ARN mayor denominada "Splice leader", secuencia que se encuentra codificada en el genoma nuclear en bloques de repeticiones en tándem, y tiene el único promotor descrito para la ARN polimerasa II (Gilinger G, 2001). La maquinaria del "*trans*-splicing" reconoce una secuencia rica en pirimidinas que se encuentra río arriba del sitio aceptor AG, donde se realiza el corte del ARN. El otro proceso acoplado a la transcripción es la poliadenilación de los transcriptos, mediada por una poli-adenilato polimerasa en una adenina receptora. Involucrados en estos procesos se encuentran varias proteínas de localización nuclear, que poseen dominios definidos para su unión al ARN, como los RRM ("RNA recognition motifs"), y el dominio SR, ricos en Serina y aRginina, responsable de las interacciones proteína-proteína (Ismaili N, 1999). Estas proteínas que se unen al ARN podrían ser importantes en el proceso de maduración de los ARN.

En protozoos kinetoplástidos existe una forma particular del procesamiento del ARN. Varios genes para proteínas mitocondriales están codificados en los maxicírculos del kinetoplasto, pero muchos de estos genes están incompletos. La generación de ARNm funcionales involucra la adición o delección post-transcripcional de uridinas (U) mediante un proceso conocido como edición del ARN o "RNA editing". Este proceso es mediado por pequeños RNAs denominados RNAs guías (RNAG) codificados en los maxi y en los minicírculos (Stuart K Y col., 1998).

El *T. cruzi* se mantiene en la naturaleza a través de dos grupos de hospedadores: uno intermediario, formado por numerosas especies de insectos de la subfamilia *Triatominae*, familia *Reduviidae* del orden *Hemiptera*, de hábitos hematófagos, y otro definitivo que puede ser cualquier mamífero incluyendo al hombre (Hoare CA, 1972). La transmisión del vector al hombre se facilita debido al hábito del insecto de deyectar inmediatamente después de alimentarse. Si se trata de un insecto infectado, deposita las deyecciones cargadas de tripomastigotes metacíclicos sobre la piel o las mucosas de un humano. Los parásitos penetran, ya sea por el mismo orificio de la picadura o a través de las heridas generadas por rascado o directamente a través de las mucosas, e invaden las células adyacentes. En el interior de las mismas, los parásitos se redondean y se diferencian a amastigotes, forma bajo la cual se duplican por división binaria simple. Después de varias generaciones, los amastigotes se

diferencian a tripomastigotes, abandonando la célula hospedadora debido a la lisis de la misma, pasando a la circulación desde dónde invadirán nuevas células, reiniciando el ciclo de transmisión (figura 2).



El ciclo biológico de *T. cruzi* en el vector comienza cuando un triatominos sano se alimenta sobre un mamífero infectado, e ingiere tripomastigotes circulantes junto con la sangre. En el tubo digestivo del insecto, el parásito se redondea dando lugar al estadio esferomastigote y posteriormente se diferencia a epimastigote, el cual se reproduce activamente por división binaria en el intestino medio del insecto. Los epimastigotes finalmente se diferencian a tripomastigotes metacíclicos infectantes en la parte distal de la ampolla rectal (Schmidt GD y col., 1977) y son así eliminados con las deyecciones.

Las primeras evidencias que *T. cruzi* exhibía un amplio grado de diversidad genética lo demostró el análisis electroforético de las variantes enzimáticas, conocidas como isoenzimas, proponiéndose la existencia de tres "clusters" isoenzimáticos en *T. cruzi*,

denominados Z1, Z2 y Z3 (Miles MA y col., 1977). Z1 y Z3 están asociados principalmente con el ciclo selvático y Z2 con el ciclo doméstico de transmisión.

Posteriormente, utilizando un análisis taxonómico numérico se logró demostrar la existencia de dos grupos filogenéticos, muy heterogéneos que difieren en sus propiedades biológicas (Tibayrenc M, 1995).

Se encontró además analizando el RNA ribosomal de *T. cruzi*, un dimorfismo en el producto de amplificación del gen 24S rRNA que permitió definir dos grupos de cepas (Souto RP y col., 1993).

También se ha demostrado variabilidad en los genes que codifican para el miniexón en este parásito. Se ha determinado la presencia de dos grupos discretos con secuencias de 39 bases idénticas en el exón, intrones muy conservados de 73 bases y una región intergénica muy divergente (Murthy VK y col., 1992). Fue posible identificar en dos grupos las cepas de *T. cruzi* de acuerdo a los productos de amplificación (Fernandes O y col., 1998).

Finalmente, se encontró una excelente correlación entre la división de *T. cruzi* por análisis basados en el rDNA y los basados en el análisis del mini-exon, los cuales pudieron ser corroborados por las amplificaciones del ADN al azar. Estos estudios permitieron la definición de dos linajes principales en *T. cruzi* (Souto RP y col., 1996) con una distancia genética suficiente para definir las como subespecies o inclusive hasta considerarlas dos especies diferentes (Briones MR y col., 1999).

Esta división es sustentada por muchos marcadores bioquímicos y moleculares y los dos linajes son ahora conocidos como *T. cruzi* I y *T. cruzi* II. *T. cruzi* I equivale al zimodema Z1 de Miles y col., y al grupo 2 de Souto y col. Estas cepas corresponden al ciclo selvático de transmisión y producen una baja parasitemia en ratones infectados. Por el contrario el linaje *T. cruzi* II, corresponde al zimodema Z2 y al grupo 1 de Souto y col. Las cepas correspondientes a este linaje se relacionan con el ciclo doméstico de transmisión, asociado con mamíferos, causan altas parasitemias e infecciones en los humanos en las áreas endémicas.

Recientemente se ha descrito un marcador inmunológico que permite definir la discriminación entre los dos linajes, ya que los anticuerpos anti-TSSA (trypomastigote small surface antigen), reconocen únicamente al linaje II sugiriendo que las infecciones humanas son debidas a este grupo de parásitos (Di Noia JM y col., 2002)

3. VIAS DE TRANSMISIÓN

La principal vía de transmisión de la infección por *T. cruzi* es la vectorial, la cual se lleva a cabo en el ciclo doméstico del que forman parte el hombre, los mamíferos domésticos y los triatominos adaptados al hábitat domiciliario y peridomiciliario. También existe un ciclo silvestre al que el hombre puede acceder.

Los triatominos son insectos hematófagos primitivamente silvestres. Algunos se adaptaron secundariamente a la vivienda humana, pero la mayoría de las especies conserva sus hábitos primitivos, viviendo en ecotopos naturales. Aún las especies domiciliarias, vectores principales de la transmisión de *T. cruzi* en el ciclo doméstico, conservan hábitats silvestres en ciertas áreas.

Las especies *Triatoma infestans* Klug (Zeledón R, 1983), *Rhodnius Prolixus* Stal, y *Pastronylus megistus* Burmeister son importantes desde el punto de vista epidemiológico, por su adaptación al domicilio y por su abundancia y eficacia como vectores en la transmisión de *T. cruzi*. El grado de domiciliación de los distintos vectores, y por lo tanto la antigüedad de su relación con el hombre, varían. La especie más antigua en la vivienda humana es el *T. infestans*, existiendo registros arqueológicos de esta especie hallados juntamente con restos humanos. Desde el punto de vista epidemiológico, *T. infestans* es el vector más importante dada su amplia distribución y su hábito casi exclusivamente doméstico. Como especies peridomiciliarias o en vías de adaptación se encuentran *T. dimidiata*, *T. sórdida*, *T. guasayana*, *T. patagónica*, *T. braziliensis*, *T. rubrofasciata*, *T. lignarius* y *R. pallescens*. En Sudamérica los insectos esencialmente selváticos son *T. proctata* y *T. sanguisuga* y en Norteamérica *T. platensis* y *T. rubrovaria* (Cerisola JA y col., 1974).

Los reservorios domésticos más importantes del *T. cruzi* son el perro y el gato (Ruiz AM y col., 1985 a). Las aves son refractarias a la infección debido a la existencia de un factor plasmático que lisa a los tripanosomas. La presencia de parásitos, en el caso de los gatos y perros revela mayores porcentajes de positividad que en humanos, subrayando la importancia de estos reservorios domésticos como fuentes de parásitos circulantes, disponibles para la transmisión en el medio doméstico y elevando el riesgo de transmisión al humano (Gurtler R y col., 1996). Los animales de corral: bovinos, ovinos, caprinos, equinos y porcinos, no han sido hallados infectados por *T. cruzi* en los pocos casos estudiados (Ruiz AM y col., 1985 a).

Si bien la vía de transmisión por el vector es la más importante, existen otras como ser transfusional, transplacentaria, por trasplantes de órganos, por accidentes de laboratorio; y con muy baja frecuencia la vía digestiva y la vía sexual.

La vía transfusional es el mecanismo responsable del aumento de casos de infección chagásica en zonas urbanas, siendo la causa de la contaminación de los bancos de sangre por donantes que desconocen su seropositividad (Wendel S, 1998). En la mayoría de los países del Cono Sur las normas nacionales indican el uso de al menos dos técnicas de diagnóstico para realizar un tamizaje serológico de la sangre infectada por *T. cruzi* en los bancos de sangre. En nuestro país, desde 1998 el Ministerio de Salud realiza inspecciones al respecto en bancos de sangre y servicios de hemoterapia públicos y privados. Cerisola y colaboradores verificaron que el riesgo de transfusión aumenta proporcionalmente con el número de transfusiones y que los parásitos permanecen viables hasta 18 días en las condiciones de almacenamiento de la sangre en los bancos de sangre (Cerisola JA y col., 1972 b).

La transmisión congénita o connatal es muy poco frecuente y puede producirse con alta o baja parasitemia tanto en forma intrauterina como en el momento del parto (Bittecourt A, 1988). En evaluaciones realizadas durante 1998 en nuestro país se determinó una tasa de transmisión vertical del 0.9% (OPS, 1999). El mecanismo por el cual algunos niños de madres con infección chagásica se infectan esta aún bajo estudio.

La transmisión del parásito por vía del trasplante de órganos favorece la infección dada la inmunosupresión terapéutica a la que es sometido el receptor (Jost L y col., 1977). En nuestro país se observó que la reactivación de la infección en receptores chagásicos renales fue del 21% y la transmisión de la infección a través del donante en receptores no chagásicos fue del 18.7% (Riarte A y col., 1999). Por otro lado, el seguimiento de pacientes chagásicos crónicos sometidos a trasplante de médula ósea por un periodo de siete años, mostró un índice de reactivación de la infección del 2% con un 20% de parasitemias positivas (Dictar M y col., 1998).

La posibilidad de que la infección chagásica se produzca por vía buco-gastroentérica esta documentada por varios autores. Los mecanismos de entrada observados son la ingestión de carne de animales infectados o de alimentos contaminados con secreciones de los mismos (Wood F, 1942; Shikanai-Yasuda M y col., 1991). La posibilidad de transmisión de la infección por la ingestión de leche materna es de muy baja frecuencia y es considerada de bajo riesgo.

La transmisión sexual puede considerarse posible, ya que se ha encontrado el parásito en sangre menstrual (Jorg M y col., 1980).

Por último y con menor frecuencia la transmisión también puede ocurrir accidentalmente por la manipulación de material de laboratorio, animales parasitados, cultivo de tejidos infectados, insectos transmisores, etc.

4. EVOLUCIÓN CLÍNICA Y PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS_

La enfermedad de Chagas presenta tres fases en la evolución de su historia natural: aguda, crónica asintomática o indeterminada y crónica sintomática. Menos del 5% de los infectados presentan manifestaciones clínicas patognomónicas (complejo de Romaña, chagoma de inoculación, chagoma hematógeno, otros) en el período agudo que dura aproximadamente 4 meses. Si bien en la mayoría de los casos, la etapa aguda de la enfermedad es asintomática, pasando desapercibida cuando se presentan síntomas clínicos, la enfermedad aguda es letal en el 1% de los pacientes (Andrade ZA y col., 1979). Los casos más graves se producen en niños pequeños que se infectan durante el primer año de vida.

De no mediar tratamiento específico, o agravamiento con muerte en la fase aguda, el paciente pasa a la denominada fase indeterminada, donde la única evidencia de la infección es un análisis de laboratorio mostrando una serología reactiva y a veces un estudio parasitológico positivo, no presentando sintomatología clínica, ni alteraciones en estudios convencionales como electrocardiograma o radiografía de tórax. Aproximadamente 2 a 3 de cada 10 pacientes infectados que no recibió tratamiento, después de 20-30 años de la infección, desarrollan lesiones que caracterizan a la fase crónica asintomática de la infección.

Si bien el parásito puede invadir cualquier célula, tiene cierta predilección por el músculo cardíaco y esquelético y por el sistema nervioso central, por lo tanto las manifestaciones clínicas más importantes son las miocarditis y las meningoencefalitis, así como lesiones en el sistema nervioso autónomo del intestino. Se ha descrito un posible compromiso de la sustancia blanca subcortical del cerebro provocando compromiso cognitivo (Magnone CA y col., 1994).

El corazón se encuentra a veces agrandado por dilatación e hipertrofia y puede presentar lesiones que como el aneurisma de punta del ventrículo izquierdo, parece

deberse a trastornos en el sistema de conducción (Rosenbaum M y col., 1968). El examen microscópico del tejido cardíaco revela áreas de fibrosis e infiltrados mononucleares sin relación con la presencia de parásitos, que sólo excepcionalmente, llegan a detectarse en este período. Hay lesiones tanto en el músculo contráctil, como en el sistema de conducción. La fibrosis y la tendencia a la autoperpetuación del proceso inflamatorio sin relación con el parásito, dan un cuadro de miocarditis microfocal difusa y fibrosante, característica de este período. En el tubo digestivo se detecta una destrucción neuronal del sistema autónomo y focos de infiltrados mononucleares. La destrucción neuronal sería la causa fundamental de la aparición de megavisceras (megacolon y megaesófago) (Andrade ZA, y col., 1979).

El mecanismo fisiopatológico de la enfermedad de Chagas no se ha aclarado totalmente y hasta el momento se han propuesto diversas hipótesis no mutuamente excluyentes para explicar el desarrollo de la miocardiopatía chagásica crónica.

Existen dos hipótesis principales para explicar el origen de la patología chagásica. Por un lado, el dogma que atribuye la etiología de esta enfermedad a procesos autoinmunes y por otro, el planteo mucho más reciente que su desarrollo está directamente relacionado con la persistencia del parásito en los tejidos afectados (Tarleton R y col., 1999).

Existen evidencias que apoyan un origen autoinmune de la patogénesis chagásica, como ser: 1) la inducción de lesiones semejantes a las producidas por esta enfermedad mediante la inmunización con fracciones subcelulares que presentan reactividad cruzada con componentes del hospedador (Esteva MI y col., 1983; Ruiz AM y col., 1985 b), 2) la presencia de anticuerpos en el suero de pacientes chagásicos crónicos con reactividad contra tejidos de miocardio, vascular, intersticial y nervioso (Cabeza Meckert P y col., 1991; Gea S y col., 1993; Kalil J y col., 1996), 3) la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra neuroreceptores, cuya unión con el epitope alteran el funcionamiento normal de las células de los órganos blanco (Sterin-Borda L y col., 1999, Sterin-Borda L y col., 2000) 4) la transferencia de la enfermedad a través de células inmunes o suero en ausencia de parásitos (Hontebeyreie-Joskowicz M y col., 1987; Silva-Barbosa SD y col., 1997) y 5) la presencia de antígenos de reactividad cruzada entre el parásito y el mamífero (Van-Voorhis W y col., 1993; Levin M y col., 1989). Sin embargo, a pesar de estas evidencias aun falta demostrar en forma fehaciente el rol de esta respuesta autoinmune como mediadora del daño tisular (Tarleton R y col., 1999).

La persistencia del parásito como causal de la patología es la hipótesis alternativa a la autoinmunitaria. Esta hipótesis postula que la persistencia de *T. cruzi* en los

órganos blanco de la enfermedad es suficiente para el desarrollo de la misma no requiriendo de un componente autoinmune, el cuál si existe, también sería gatillado por la presencia del parásito (Tarleton R y col., 1999). El planteo surgió a partir de la utilización de técnicas mucho más sensibles, como inmunohistoquímica, reacción de la polimerasa en cadena (PCR) *in situ* o standard, que permitieron la detección del parásito en tejidos con focos inflamatorios a partir de hospederos con infección crónica, correlacionando la presencia de *T. cruzi* con el daño tisular (Ben Younes-Chennoufi A y col., 1988; Lane J y col., 1997; Tarleton R y col., 1997).

La existencia de sustentos para ambas hipótesis sugiere que tanto la presencia del parásito como la respuesta autoinmune generada por el mismo estarían involucradas en la patogenia de la enfermedad de Chagas.

Por otro lado, se demostró que existen moléculas de superficie del parásito que interactúan con neurorreceptores de los órganos blanco produciendo la activación de los mismos y ocasionando modificaciones fisiológicas (von Kreuter y col., 1989). Recientemente se identificó el primer antígeno de *T. cruzi*, denominado Tc13 Tul, que interactúa y activa al receptor adrenérgico de corazón. La región C-terminal de este antígeno se une a la segunda horquilla extracelular del receptor adrenérgico cardíaco (García GA y col., 2003) produciendo un aumento de la contractilidad del corazón y del AMPc intracelular. Esto indicaría que este antígeno juega un rol crucial en la desregulación de este receptor luego de la infección y por otro lado, sugeriría su relación con la génesis del síndrome disautonómico característico de la enfermedad de Chagas (Joensen LG y col., 2003). Aun queda por determinar si el antígeno Tc13 Tul está directamente relacionado con la patogénesis y si requiere de la presencia del parásito para producir su efecto.

Además de las hipótesis discutidas se han propuesto otros mecanismos para explicar la etiología de la miocardiopatía chagásica crónica, como ser, trastornos en la microcirculación (Morris S y col., 1990) y la denervación del sistema nervioso autónomo (Köberle F y col., 1960).

5. RESPUESTA INMUNE

La infección por *T. cruzi* modifica en forma generalizada el sistema inmunológico, produciendo alteraciones inespecíficas, que a su vez originan las respuestas específicas hacia el parásito. Se ponen así en marcha prácticamente todos los mecanismos

inmunes efectores conocidos y todos ellos participan en la resistencia a la infección. Desde el inicio de la infección, la respuesta inmune defiende al hospedador de la invasión parasitaria, sin embargo posteriormente se establece un equilibrio con el parásito, que conduce a la cronicidad. (Tarleton R, 1993). Esto puede deberse tanto a la existencia de un nivel insuficiente de respuesta para eliminar al parásito, como a diversos mecanismos de escape del mismo.

Hace varios años que se estableció la importancia de los mecanismos inmunes disparados en los primeros días de la infección en el control de la replicación temprana del parásito (Trishmann TM, 1986). También se demostró que la carga parasitaria en la fase aguda se relaciona con la parasitemia y con el desarrollo de la patología en la etapa crónica (Marinho CRF, 1998).

El papel que cumple la respuesta inmune celular en la resistencia a la infección, ha quedado bien establecido, ya que cepas de ratones genéticamente deficientes en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ o timectomizados presentan un aumento en la susceptibilidad a la infección, mientras que a nivel del miocardio el infiltrado inflamatorio es de menor magnitud (Tarleton R, 1990; Rottemberg M y col., 1992).

La respuesta humoral está caracterizada por la presencia de anticuerpos fijadores del complemento. En el transcurso de la infección se produce una gran variedad de anticuerpos específicos debido a la extensa variedad de antígenos parasitarios capaces de inducir una respuesta inmune. Estos anticuerpos se conservan de por vida, por lo que su detección en las personas infectadas no tratadas es criterio de diagnóstico de la infección por el parásito. En el humano y en ratón la primera inmunoglobulina específica detectada durante la infección es la IgM y 10 a 40 días después de la infección aparecen las IgGs específicas (Vattuone N y col., 1973; Hofflin J y col., 1987).

En modelos experimentales se observó que las cepas resistentes de ratones presentan mayores niveles de IgG específica y más tempranamente que las cepas susceptibles (Tarleton R y col., 1983) y que ratones genéticamente deficientes en linfocitos B sucumben a la infección (Kumar S y col., 1998), estos datos demuestran que la producción de anticuerpos es absolutamente necesaria para el control de infección.

El papel de las células T en el período crónico de la infección es poco claro, pudiendo ejercer una acción colaboradora en la activación de células B específicas contra el parásito (Burgess DE y col., 1980) productoras de anticuerpos IgG1 e IgG2a (Marinho CRF, 1998). En esta etapa hay linfocitos T CD8⁺ que destruyen células parasitadas

que presentan antígenos asociados a MHC-I (Nickell SP y col., 1993). La importancia de mecanismos inmunes está documentada por la exacerbación de la patología y el aumento de la carga de parásitos en el tejido miocárdico en modelos de depleción continua de células CD8⁺ y/o CD4⁺ (Tarleton R y col., 1994). A pesar de los niveles elevados de IFN encontrado en el suero de los ratones crónicos (Antúnez M y col., 2000), éste no parece relacionado con las bajas parasitemias en esta etapa (Silva JS y col., 1992). El infiltrado inflamatorio de los corazones de ratones infectados con *T. cruzi* está principalmente compuesto por linfocitos T CD8⁺ y se producen citoquinas tanto de tipo Th1 como Th2 (Tarleton R y col., 1994).

Los mediadores inflamatorios liberados durante una infección actúan regulando los niveles de moléculas de adhesión (CAMs) como s-VCAM, s-PSelectina y CD44, las cuáles son muy importantes en las interacciones intercelulares. La formación de lesiones inflamatorias en la infección por *T. cruzi* involucra adhesión entre las membranas citoplasmáticas de las células musculares cardíacas con los linfocitos y/o macrófagos (Andrade Z y col., 1994). En pacientes crónicamente infectados se encontró un incremento de s-VCAM-1 y s-PSelectina, encontrándose una correlación positiva entre esta última y la severidad de la enfermedad y una disminución de los niveles de CD44 en pacientes chagásicos crónicos con miocardiopatía severa (Laucella S y col., 1996). Aún queda por dilucidar, cual es la función de estas moléculas en la patogénesis de la infección crónica.

6. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de laboratorio de la infección por *T. cruzi* es importante para el control y tratamiento de la Enfermedad de Chagas, ya que aporta información fundamental para el desarrollo de medidas de control de la endemia (Chuit R. y col., 1989; Report of the World Health Organization Expert Committee, 1991). En el caso de la transmisión vectorial, uno de los instrumentos de la vigilancia entomológica, es el seguimiento serológico de los niños desde el comienzo del programa, poniendo en evidencia nuevas infecciones por la conversión serológica. La detección de la madre chagásica y el seguimiento de su hijo también se realiza por métodos de diagnóstico serológico y parasitológico (Blanco S y col., 1993). El control obligado de la sangre donada para transfusiones, se realiza en nuestro país y en los países del Cono Sur de América, por serología (Normas para el Diagnóstico de la Infección Chagásica, 1996, Schmunis G A, 1991).

Los métodos de diagnóstico de laboratorio se basan en procedimientos que ponen en evidencia al parásito (parasitológicos) o que permiten detectar anticuerpos contra el mismo (serológicos). Si bien la demostración de la presencia del parásito es el diagnóstico indiscutible de infección chagásica, sólo es posible practicarlo con éxito en la etapa aguda de la enfermedad, pues en las etapas indeterminada y crónica, su sensibilidad es baja (50 % o menos).

6. 1. Métodos Parasitológicos

La demostración del parásito en la sangre periférica puede hacerse simplemente observando una gota de sangre fresca entre porta y cubreobjeto o en gota gruesa. Este sencillo método permite diagnosticar aproximadamente la mitad de enfermos con un cuadro agudo de enfermedad de Chagas. Sin embargo, algunos procedimientos que concentran previamente los parásitos logran una mayor sensibilidad diagnóstica. Entre ellos, el método de Strout (Strout RG, 1962.) es el más práctico y sensible (95-100% en casos agudos) y se basa en la observación microscópica del sedimento de la sangre coagulada centrifugada en su totalidad.

Además de estos métodos de búsqueda microscópica directa del parásito en la sangre, se emplean como métodos de enriquecimiento el xenodiagnóstico y el hemocultivo. El xenodiagnóstico es un método para detectar la presencia de *T. cruzi* en sangre periférica; aumentando la probabilidad de encontrar al parásito a través del insecto vector. El método consiste en alimentar al vector sobre el paciente (insectos en el 2do y 3er estadio ninfal), permitiendo que el parásito se multiplique en la luz de el intestino del insecto. Luego de un período fijo (30 y 60 días), se observan las heces al microscopio buscando la presencia de parásitos (Segura EL, 1987 b). La sensibilidad del método es del 100% en los casos agudos y del 50% en los casos crónicos de infección.

El hemocultivo (Abramo-Orrego L. y col., 1980) es otro método de diagnóstico parasitológico, sin embargo, aunque el parásito se desarrolla bien en diversos medios de cultivo, la sensibilidad de este método es buena en casos agudos y congénitos pero insuficiente en los casos crónicos.

La detección del ADN de *T. cruzi* por Reacción en Cadena por la Polimerasa (PCR) (Mullis KB, 1987), es una técnica de amplificación de material genético que involucra enzimas termorresistentes, nucleótidos y secuencias de ADN específicas. Esta técnica permite la replicación de ADN *in vitro* e involucra la síntesis de millones de copias de un

segmento específico del mismo. La reacción de PCR asegura una sensibilidad superior a cualquier técnica parasitológica, ya que posibilita la detección de la infección, aun habiendo sólo un 2 % del ADN de un único organismo, en una muestra sanguínea de un paciente infectado. Son diversas las secuencias de ADN del parásito que han sido elegidas para amplificarlas mediante este método. Un ADN muy repetitivo, el ADN nuclear satelital, puede ser amplificado con mucha sensibilidad mediante los "primers" Tcz1-Tcz2 que flanquean una secuencia de 195 bases (Moser DR y col., 1989). Otros «primers» muy utilizados en la detección de *T. cruzi* son los que flanquean una región del ADN del kinetoplasto 121 y 122 ó S35 y S36 que amplifican una región de 330 bases (Sturm NR y col., 1989). Otras secuencias del *T. cruzi* han sido amplificadas con fines diagnósticos, y resumidos en una revisión reciente (Guhl F y col., 2002), pero la mejor sensibilidad y detección de todas las cepas del parásito fue lograda con la amplificación de la secuencia del ADN satelital (Virreira M y col., 2003).

6. 2. Métodos Inmunoserológicos

La detección de anticuerpos generados por la infección con *T. cruzi* puede efectuarse por numerosos métodos inmunológicos. La utilidad de estos métodos y su aplicación depende de las diferentes situaciones epidemiológicas y de los recursos humanos y técnicos de los servicios de salud.

A partir de 1913 en que Guerreiro y Machado publicaron la reacción de fijación del complemento, se han descrito una gran variedad de pruebas serológicas con diferente sensibilidad, especificidad y nivel de reactividad. En la actualidad las técnicas de elección en la mayoría de los laboratorios son la hemoaglutinación, la inmunofluorescencia indirecta, las técnicas inmunoenzimáticas y las de aglutinación de partículas de última generación.

Reacción de Hemoaglutinación Indirecta Cuantitativa (HAI): La prueba se hace en policubetas con fondo en U, con diluciones seriadas con un factor de dos del suero del paciente en presencia de hematíes de cordero o ave sensibilizados con antígenos del parásito. La reactividad se visualiza como un manto de aglutinación del 50-100% en el fondo del pocillo. Esta técnica tiene una sensibilidad de alrededor del 98 % y una especificidad variable. Ha sido evaluado en varios centros referenciales con paneles de gran número de sueros (Camargo y col., 1986).

Reacciones de aglutinación de partículas como latex o gelatina: Estos ensayos han mostrado aceptables niveles de sensibilidad y especificidad con procedimientos simples

de y de fácil aplicación. Diversos antígenos pueden ser acoplados a estas partículas (Cerisola y col., 1980).

Reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI): El antígeno consiste en epimastigotes de cultivos axénicos tratados con formol y fijados a láminas de vidrio, pudiendo conservarse por varios meses, a - 20°C (Alvarez M. y col., 1968). La formación de complejos Ag-Ac con diluciones seriadas de suero, se revela con anti-Inmunoglobulina G humana marcada con fluoresceína. La prueba tiene alta sensibilidad (98 - 99 %) y especificidad.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA): Los métodos inmunoenzimáticos han sido aplicados satisfactoriamente para la detección de antígenos y anticuerpos contra diversas enfermedades infecciosas. Esta técnica se basa en la adsorción pasiva del antígeno a una fase sólida (superficie de poliestireno). En una segunda etapa, el antígeno adsorbido es puesto en contacto con una dilución apropiada de suero. Luego se adiciona antigamaglobulina humana unida a una enzima (conjugado) y por último se agrega el sustrato enzimático correspondiente, lo que dará una coloración característica. El color es directamente proporcional a la cantidad de conjugado ligado al complejo antígeno-anticuerpo, y en consecuencia a la concentración de anticuerpos presentes en la muestra. Existen varias pruebas de ELISA para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* que emplean diferentes antígenos que van desde mezclas proteicas (Voller A, 1975; Cura EN, y col., 1993). hasta grupos de moléculas sintéticas, o proteínas recombinantes (Da Silveira JF y col., 2001).

El inmunodiagnóstico de la enfermedad de Chagas puede efectuarse con dos criterios distintos: a) tamizaje o descarte, para identificar fácilmente la infección, en sangre de donantes para transfusiones o en epidemiología; con técnicas rápidas y muy sensibles o b) de manera más precisa, cuando así lo exijan las necesidades clínicas o epidemiológicas.

En ambos casos el resultado se obtiene con no menos de dos reacciones diagnósticas practicadas simultáneamente. Para ello se deben combinar las reacciones serológicas considerando qué tipo de antígenos se utilizan para las mismas, que tipo de anticuerpos se demuestran. Practicando simultáneamente dos reacciones serológicas, se puede efectuar el diagnóstico de infección chagásica con una sensibilidad del 98 al 99,5%. Si las dos reacciones efectuadas coinciden en sus resultados se puede certificar o descartar el diagnóstico de infección chagásica. Para aquellas muestras con reacciones discordantes se debe solicitar nueva muestra y si la discordancia se repite, se recurrirá al Centro de Referencia Provincial o Nacional.

El criterio empleado para conocer el valor diagnóstico de una prueba, es evaluar su capacidad para distinguir una población de infectados de otra de no infectados . Como no existe una prueba de referencia, la evaluación debe hacerse sobre la base de paneles de sueros de referencia, sueros de personas con infección comprobada por métodos parasitológicos y de personas no infectadas. Con estos paneles se determinan la sensibilidad y la especificidad de una prueba dada y, en condiciones de calibración seleccionadas se fija el título de corte para esa prueba.

Es imprescindible que cada laboratorio que realiza el diagnóstico, instale un programa de control interno, considerando las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y un monitoreo de los procesos, tanto interno como externo, para asegurar la confiabilidad de los resultados (Cura EN y col., 1992 a y b).

7. LA ERRADICACIÓN DE LA ENDEMIAS

7.1 Control vectorial

La enfermedad de Chagas constituye la principal enfermedad tropical de la República Argentina y su prevalencia está directamente relacionada con las condiciones socio-económicas de la población, los índices de analfabetismo, desnutrición y mortalidad infantil (Pinto Dias JC y col., 1994). La realidad epidemiológica de Latinoamérica, sumada al desconocimiento de la fisiopatogenia y a la falta de un tratamiento específico eficaz, ha determinado que la mejor terapéutica para luchar contra esta endemia es una buena profilaxis.

Las acciones para controlar la transmisión de la enfermedad de Chagas en Argentina tienen como inicio actividades efectuadas por Cecilio Romaña en Chaco, Carlos A. Soler en La Rioja y Carlos Bravo en Catamarca en la década del 50. A partir de 1962 se organizó el Servicio Nacional de Chagas y el Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la enfermedad de Chagas "Dr. Mario Fatała Chabén", teniendo como objetivos efectuar el control de la transmisión vectorial e interhumana, respectivamente. Los beneficios de las acciones desarrolladas durante los últimos 40 años de funcionamiento del Programa, se observaron en la modificación de las prevalencias serológicas en varones de 18 años, a ser incorporados para el Servicio Militar, que de un 10.3 % de prevalencia en los años 1965-1969 desciende al 1.6 % en 1994, pudiéndose atribuir esta diferencia a las acciones de control vectorial (Chuit R, 1994; Segura EL y col., 2000).

Con el objeto de producir un control efectivo y duradero de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas se implementó una Estrategia de Participación Comunitaria en la década del 90, que consistió en la detección del triatomino o rastros del mismo, mediante el uso de sensores de cartón, por parte de la comunidad, la notificación de la presencia de vectores (Wisnivesky-Colli C y col., 1988) y el tratamiento de las viviendas con insecticidas de efecto residual en manos de un agente sanitario. Estas acciones fueron acompañadas por la Iniciativa de Salud del Cono Sur (INCOSUR) bajo la coordinación de la Organización Panamericana de la Salud y del Programa de Control de Enfermedades Tropicales, cuyo objetivo fue la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional de la enfermedad de Chagas en 6 países del Cono Sur, incluyendo la Argentina (Moncayo A, 1994). La aplicación de esta nueva estrategia horizontal participativa mostró mejores resultados que los obtenidos por el programa de control de tipo vertical como ser: la detección de mayor número de casas con vectores, la reducción del número de insectos capturados dentro de las viviendas y una disminución de 5 veces de los costos. Se observó que de una infección inicial de los *T. infestans* por *T. cruzi* del 38 % en las comunidades, luego de tres años en las áreas que trabajó el agente sanitario/comunitario mostraron una infección de los vectores del 0% y las trabajadas por el programa de control de acción vertical fue del 10% (Chuit R, 1994). Se logró un descenso del índice de infestación promedio del 17.6% al 1.75% en viviendas luego del ataque químico con insecticidas y de la instalación de un programa de vigilancia que incluye la revisión sistemática de biosensores (OPS, 1999).

7.2 Control de la sangre a transfundir

Para evitar la transmisión del *T. cruzi* a través de una transfusión de sangre es necesario realizar serología para Chagas a todos los donadores con el objeto de detectar los infectados. Luego de la detección la prevención puede llevarse a cabo descartando la sangre con serología reactiva esterilizando la misma con drogas que afecten la viabilidad del parásito (Storino R, 1994).

Una de las drogas más utilizadas en la esterilización de la sangre es el violeta de Genciana o cristal violeta. Si bien a las dosis utilizadas estas drogas no producen efectos tóxicos, pueden provocar una coloración azulada fugaz en el paciente (Storino R, 1994). Otras sustancias que han demostrado en experimentos *in vitro* ser efectivos como agentes tripanocidas en sangre infectada son: anfotericina B, WR6026 (Chiari y col., 1996), psoralen más luz ultravioleta A (Gottlieb P y col., 1996) y el SKF525A, proadifen (Franke de Cazzulo B y col., 1998). Recientemente se demostró que un

análogo de la hormona juvenil de triatominos, es un potente esterilizante de sangre infectada (Esteva MI y col., 2002).

Dado que existen estudios experimentales que demuestran una falta de seguridad en la esterilización parasitaria de sangre contaminada con el *T. cruzi* tratada con violeta de Genciana (Celentano A y González Cappa S, 1988), se cree que la mejor profilaxis es descartar totalmente para cualquier transfusión la sangre serológicamente reactiva.

7.3 Quimioterapia específica y diseño de nuevas drogas

La quimioterapia específica no solo apunta a curar la infección, sino también a las ventajas obtenidas como resultado de la eliminación del parásito. Dichas ventajas producen un impacto tanto a nivel individual como colectivo, por un lado disminuyendo la probabilidad de desarrollar la enfermedad de Chagas con los años; y por el otro, bajando la oferta parasitaria y de esta manera dificultando la cadena de transmisión, ya que se disminuye el riesgo de la transmisión congénita y transfusional.

Actualmente las únicas drogas autorizadas como antiparasitarios específicos son el Benznidazol y el Nifurtimox. Ambas drogas son de administración oral exclusivamente y la duración del tratamiento es de 30 a 60 días. El Benznidazol (Radanil®) pertenece a la clase de los nitroimidazoles, cuyo derivado sintético es el N-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamida. El nifurtimox (Lampit®) pertenece a la clase de los nitrofuranos. La sustancia activa se define como 3-metil-4-(5' nitrofurfuriliden-amino)-tetrahidro-4 H-1,4-tiazida-1,1 dióxido. Estos fármacos tripanocidas y antichagásicos poseen las desventajas de producir una amplia gama de efectos colaterales y presentar diferencias en cuanto a su eficacia terapéutica, pudiendo esto último relacionarse con la susceptibilidad o resistencia de la cepa de *T. cruzi* infectante (Stoppani A, 1999). Es fundamental la supervisión médica semanal durante el periodo de tratamiento para controlar signos de intolerancia a las drogas como: rash cutáneo, trastornos digestivos, fiebre, fenómenos neurotóxicos, periféricos y/o centrales, discrasias sanguíneas, a fin de tomar las conductas apropiadas. Los efectos indeseables desaparecen una vez suspendida la medicación. Para evaluar la respuesta a la quimioterapia específica, se recomienda utilizar la combinación diagnóstica, clínica, inmunoserológica y parasitológica, teniéndose en cuenta para determinar su eficacia, la ausencia del parásito, la disminución significativa de la concentración de anticuerpos o la negativización de la serología (Sosa Estani S y col., 1999).

El modo de acción del nifurtimox y el benznidazol no es comprendido totalmente. Los

efectos tóxicos del nifutimox se explican a través de su reducción intracelular dando origen al radical nitro anión ($R\text{-NO}_2^-$), el cual entra en un ciclo redox generando O_2^- y H_2O_2 . La presencia de radicales libres es letal para el *T. cruzi*, ya que no posee los mecanismos necesarios para su eliminación. Los efectos tóxicos del benznidazol serían debidos a la producción de metabolitos reducidos del grupo nitro, los cuáles se unirían covalentemente a macromoléculas celulares (Morello A, 1988). Ambas drogas reducen las concentraciones de glutatión, tripanotona y glutatiónil espermidina, tres compuestos involucrados en el mantenimiento del equilibrio redox intracelular de tripanosomátidos (Maya J y col., 1997).

Actualmente, es reconocida la eficacia del nifurtimox (Bocca Tourres CL, 1969, Cerisola JA y col., 1969, Fernandez JJ y col., 1969, Rubio M y col., 1969) y el benznidazol (Barclay CA, 1978; Lugones H, 1978; Mamone MJ, 1981) en la fase aguda de la enfermedad y en niños menores de 12 años (Moya PR y col., 1985; Sosa Estani S y col., 1998), presentando una eficiencia terapéutica que oscila entre el 56% y el 98% de los pacientes tratados. En los niños, se negativiza la serología convencional (2 reacciones), en diferentes períodos, según la edad. Hoy se dispone de marcadores serológicos, tales como anticuerpos contra proteínas de *T. cruzi*, que desaparecen un año después de finalizado el tratamiento específico en niños entre 6 y 12 años de edad (Sosa S y col., 1998). En el primer año de vida en los niños bajo tratamiento se observa con frecuencia el estancamiento del crecimiento ponderal, lo que no debe inducir a suspender el tratamiento, que debe ser de 30 días de duración.

En la fase indeterminada de la infección, diferentes autores concluyeron que el tratamiento realizado con ambas drogas es efectivo (Cançado JR y col., 1979; Cerisola JA, 1977; Edjen J, 1969; Maekel GA, 1969; Schenone H, 1968), basándose en una menor evolución hacia estadios con lesiones orgánicas (Viotti R y col., 1994), la desaparición o disminución de la parasitemia evaluada a través de xenodiagnóstico hasta 48 meses después de finalizado el tratamiento, y la disminución de los títulos serológicos (Ferreira H de O, 1976; Viotti R y col., 1994; Wagner Pinto L, 1969; Sosa Estani S y col. datos no publicados), si bien en la mayoría de los casos la serología persistió reactiva (Cerisola JA, 1972 a; Ferreira H de O, 1976). Cabe destacar que hasta un 64% de los pacientes negativizaron su serología cuando se utilizaron antígenos recombinantes para evaluar la efectividad terapéutica en esta etapa (Krettli A y col., 1982, 1984; Sosa Estani S y col., 1998; Altcheh J y col., 2003). Se ha desarrollado recientemente un ensayo inmunoenzimático que utiliza como antígeno a una proteína recombinante denominada F29 que es capaz de detectar tempranamente el éxito terapéutico (Sosa Stani S y col., 1998; Ruiz AM y col., 1997; Fabbro D y col., 2003).

Las normas de tratamiento recomienda indicar tratamiento a todo paciente niño o adulto, cursando fase aguda o con exacerbación de una infección antigua por estar inmunocomprometido y a todo niño en fase indeterminada, hasta los 14 años de edad. En mayores de 14 años el profesional médico debe discutir la conveniencia del tratamiento con el paciente. Se recomienda efectuar controles de laboratorio clínico intratratamiento, los controles mínimos deben ser hematológico y hepatograma. No se debe realizar un tratamiento si no existe la seguridad que la vivienda del paciente está libre de vinchucas. Por otro lado, el mismo está contraindicado en embarazadas y pacientes con trastornos neurológicos, hepáticos o renales severos.

7.4 Diseño racional de nuevas drogas

Dadas las consideraciones mencionadas sobre las drogas actualmente utilizadas, es importante el desarrollo de nuevas estrategias quimioterápicas más efectivas y seguras. Lamentablemente la industria farmacéutica no posee incentivo económico para financiar esta necesidad y por lo tanto la gente de los países no desarrollados continúan sin poder resolver este problema sanitario; sin embargo, la investigación básica puede ayudar a su resolución. La identificación de nuevos procesos metabólicos esenciales para la supervivencia del parásito funda las bases para el diseño racional de drogas. Este es un proceso multidisciplinario que consta de la identificación de una molécula blanco, el diseño de un inhibidor específico y por último el estudio farmacológico (Fairlamb A., 1996). En los últimos años se han ido describiendo diversas vías metabólicas del parásito que presentan puntos de divergencia con su hospedador mamífero.

Estos descubrimientos sumados a los aportes realizados por el Proyecto Genoma del *T. cruzi*, el conocimiento de la estructura molecular de las proteínas y la bioinformática brindaron la posibilidad de identificar nuevos blancos para medicamentos específicos.

7.5 Investigaciones sobre una vacuna

A lo largo de los años se han realizado intentos para producir una respuesta inmune protectora contra la infección por *T. cruzi* utilizando diversas técnicas que abarcan desde la atenuación de parásitos hasta la nueva tecnología de inmunización génica. En todos los casos sólo se han logrado protecciones parciales, lo que indica la posibilidad de estar bastante lejos de obtener una vacuna esterilizante. Sin embargo, la

obtención de una vacuna profiláctica sería de gran valor, ya que una disminución de la carga parasitaria durante la fase aguda puede resultar en una menor transmisión vectorial y en una fase crónica con menores alteraciones (Ruiz AM y col., 1994). Hasta hace algunos años en la mayoría de los casos se evaluaba la efectividad de un reactivo vacunante sólo en la etapa aguda de la infección, mediante el control de la parasitemia y la mortalidad o sobrevida después del desafío con las formas infectantes del parásito y son pocos los trabajos que tomaron como criterio de evaluación la protección contra el desarrollo de patología en los modelos crónicos (Basombrío M y col., 1982; Ruiz AM y col., 1985 b; Zuniga C y col., 1997).

En los primeros estudios sobre inmunización protectora se utilizaron como inmunógenos parásitos vivos atenuados (Menezes H, 1971), muertos con diversos tratamientos físicos o químicos (Kierszenbaum F y Budzko D, 1975; Hanson W y col., 1976), y otros tripanosomátidos (Souza M y Roitman I, 1971). Sin embargo, la existencia de reacciones cruzadas entre los antígenos del *T. cruzi* y del hospedador y las lesiones observadas en los tejidos de los huéspedes infectados sugieren que no sería adecuada la utilización de preparaciones antigénicas complejas como inmunógenos (Texeira M y col., 1975; Ruiz AM y col., 1985 b). En la década del 70 Segura y colaboradores comenzaron a estudiar el efecto inmunoprotectivo de fracciones subcelulares del parásito obtenidas por presión y descompresión (Segura EL y col., 1974). La vacunación con una fracción enriquecida en membranas y flagelos, denominada fracción flagelar, utilizando *Bordetella pertussis* como adyuvante produce en ratones una respuesta inmune protectora con un 90% de sobrevida luego del desafío con formas infectantes del parásito (Segura EL y col., 1976; Ruiz AM y col., 1986). Por otro lado, esta misma fracción muestra una reducción de las lesiones en los tejidos de los ratones inmunizados luego del desafío (Ruiz AM y col., 1985 b).

La técnica de producción de anticuerpos monoclonales y los avances en los métodos de obtención de las proteínas permitió una mejor identificación, aislamiento y purificación de las proteínas del parásito. Es así que comenzaron a identificarse las proteínas del parásito capaces de generar una respuesta humoral en hospedadores inmunizados o infectados (Grogli M y col., 1985).

Son numerosas las proteínas del parásito purificadas y ensayadas en protocolos de inmunoprotección. Algunos ejemplos son: glicoproteínas de superficie (Scott M y col., 1984; Scott M y col., 1985); antígenos purificados con anticuerpos monoclonales (Ruiz AM y col., 1990; Gomes Y y col., 1995) y proteínas purificadas a través de columnas de afinidad (Plumas-Marty B y col., 1993). Los resultados informados son en general una disminución significativa de parasitemia luego del desafío que, no siempre se

encuentra acompañada con un aumento en la sobrevivencia. Es importante aclarar que en ninguno de los casos se obtuvo una protección esterilizante. El amplio espectro de resultados obtenidos utilizando diferentes tipos de adyuvantes con el mismo antígeno demuestran la importancia del mismo en la obtención de una respuesta inmunoprotectora en modelos experimentales (Ruiz AM, 1986; Scott M y col., 1984; Plumas-Marty B y col., 1993).

Si bien el uso de antígenos más definidos purificados a partir del parásito es preferible al uso de extractos crudos, tiene como desventaja la difícil obtención de los mismos en las cantidades adecuadas. El advenimiento de la biología molecular y las técnicas de ADN recombinante permitieron clonar, expresar y producir en grandes cantidades los antígenos a estudiar. A fines de los años 80 comienza la identificación de antígenos mediante rastreo de genotecas del parásito con sueros humanos infectados (Ibáñez C y col., 1987). Las proteínas más inmunogénicas poseen repeticiones de aminoácidos en su extremo C-terminal (Ibáñez C y col., 1988) y se encuentran principalmente en las formas del parásito presentes en el hospedador mamífero (Souto-Padrón T y col., 1989). Dichos antígenos se clasifican dentro de una superfamilia denominada Superfamilia de Antígenos de Superficie de Tripomastigotes o superfamilia de las Trans-sialidasas (TS) (Campetella O y col., 1992; Schenkman y col., 1994). Diferentes miembros de esta superfamilia, entre ellos SAPA ("shed acute phase antigen"), el dominio catalítico de la TS y la región amino de TSA-1 ("trypomastigote surface antigen-1), fueron expresados en sistemas bacterianos o baculovirus y ensayados en experimentos de inmunoprotección en ratones (Wrightsmán y col., 1994; Nasser J y col., 1997; Pereira-Chioccola V y col., 1999). La inmunización con estos antígenos recombinantes induce buenos títulos de anticuerpos dirigidos contra la región C-terminal de las proteínas. Sin embargo, la respuesta no es protectora, mientras que los dirigidos hacia la región N-terminal son capaces de producir protección pasiva contra la infección por *T. cruzi* (Chuenkova M y col., 1995; Franchin G y col., 1997). Los ratones inmunizados sólo con la región C-terminal del antígeno TSA-1 no sobreviven al desafío, mientras que el 70% de los ratones desafiados sobreviven cuando se utiliza como inmunógeno la porción N-terminal de este antígeno (Wrightsmán R y col., 1994). Basándose en estos resultados se postula que la región C-terminal de estos antígenos presenta un mecanismo de evasión de la respuesta inmune que dirige la misma hacia epitopes que no son necesarios para la supervivencia del parásito (Wrightsmán R, 1994; Frasch A, 2000). La respuesta inmunoprotectora del TSA-1 es mediada por células, ya que la transferencia adoptiva de células linfoides productoras de IFN- γ y TNF- β protegen a ratones *naive* de la muerte por la infección con *T. cruzi* (Wizel B y col., 1997). Por otro lado, la inmunización con el antígeno SAPA recombi-

nante es capaz de disminuir la parasitemia y bajar la mortalidad de un 67 a un 25% luego del desafío, siendo esta protección mediada por células y no por anticuerpos (Nasser J y col., 1997).

Un mayor conocimiento de la respuesta inmune del hospedador y los elementos mediadores de la resistencia al parásito, así como de la patogénesis de la enfermedad llevan a postular que un buen candidato para una vacuna contra la infección por *T. cruzi* debe generar una respuesta tanto humoral como celular de tipo Th1 y Tc1. La caracterización de la respuesta inmune protectora está permitiendo una búsqueda racional de los antígenos a ser ensayados en protocolos de vacunación experimental, planteándose el concepto de vacuna inmunomoduladora.

Los avances recientes en la tecnología de vacuna de ADN (también llamada inmunización genética o plasmídica o vacuna de ADN desnudo), hacen de la misma un vehículo atractivo para el desarrollo de una vacuna contra la infección por *T. cruzi* tanto por razones inmunológicas como económicas. La inmunización se realiza con un ADN plasmídico que codifica el gen de interés, siendo este ADN tomado y expresado por la células del hospedador. La expresión del gen "extraño" es capaz de inducir la respuesta inmune del hospedador. La atracción de esta nueva generación de vacunas reside en su capacidad de inducir tanto una respuesta humoral como celular, sin correr los riesgos asociados a una vacuna a organismos vivos; presentando, además, la ventaja de no requerirse pasos de expresión y purificación del inmunógeno (Donnelly y col., 1997). Por otro lado, el ADN plasmídico actúa como adyuvante, ya que posee propiedades inmunoestimuladoras atribuidas a secuencias de oligonucleótidos de simple cadena conteniendo motivos CpG no metilados (Tokunaga T y col., 1984).

El antígeno TSA-1 es uno de los blancos de los linfocitos T citotóxicos CD8+ tanto en la infección experimental como en humanos (Wizel B y col., 1997; Wizel B y col., 1998a). La identificación de este antígeno como un blanco de la respuesta inmune protectora contra *T. cruzi* llevó a Wizel y colaboradores a utilizar TSA-1 en protocolos experimentales de inmunización genética. La inoculación plasmídica de TSA-1 induce tanto respuesta humoral como celular, siendo esta última mediada por linfocitos T citotóxicos CD8+. Luego del desafío la sobrevivencia de los ratones inmunizados es del 55% al 80 % mayor que en los grupos controles (Wizel B y col., 1998 b). La inmunización génica con TSA-1 conjuntamente con los plásmidos que codifican para IL-12 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) produce un incremento en la resistencia a la infección por *T. cruzi* y una marcada disminución del daño tisular asociado a la fase crónica de la enfermedad (Garg N y col., 2002),

demonstrando que la inmunización genética profiláctica puede prevenir el desarrollo de la enfermedad de Chagas.

Otro antígeno evaluado mediante la inmunización genética es la porción catalítica de la TS (Costa F y col., 1998). Las células CD4+ y CD8+ producidas luego de la inmunización con este antígeno secretan IFN- γ pero no IL-4 o IL-10 e inhiben la replicación intracelular del *T. cruzi* (Rodrigues M y col., 1999). La inmunización plasmídica con otra proteína de la superfamilia de antígenos de superficie de tripomastigotes, la proteína regulatoria del complemento (CRP), presenta mejores resultados que la inmunización con la CRP recombinante, ya que sólo la vacuna a ADN induce la producción de anticuerpos líticos y protege contra el desafío (Sepulveda P y col., 2000).

La magnitud y la naturaleza de la respuesta inmune puede ser diferencialmente regulada mediante la inmunización genética con diferentes citoquinas. La administración de plásmidos codificando para IL-12 o IFN- γ incrementan la respuesta de tipo Th1, mientras que la administración de IL-4 aumenta la respuesta Th2 (Chow Y y col., 1998). La inmunización conjunta de proteínas del flagelo de *T. cruzi* con adenovirus recombinantes conteniendo el gen de IL-12 resulta en una fuerte respuesta inmune celular, 100% de sobrevida y 90% de reducción de la parasitemia (Wrightsmann R y Manning, 2000).

Los resultados obtenidos hasta el momento dan gran incentivo para continuar el estudio de esta nueva estrategia para el desarrollo de una vacuna preventiva o terapéutica contra la enfermedad de Chagas. La identificación de péptidos blanco de una respuesta inmune protectora sumada a la tecnología de inmunización plasmídica brinda la posibilidad de desarrollar vacunas conformadas por multiepitopes.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abbas A, Murphy K and Sher A. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 383: 787-793.

Abramo-Orrego L, Lansetti JC, Bozzini PJ, and Martini GJW de. 1980. Hemocultivo como método de diagnóstico de la Enfermedad de Chagas. *Medicina (Buenos Aires)*, 40: 56-62.

- Agabian N. 1990. Trans-splicing of nuclear pre-mRNA. *Cell*, 61: 1157-1160.
- Agüero F, Verdun R, Frasch A and Sanchez D. 2000. A random sequencing approach for the analysis of the *Trypanosoma cruzi* genome: general structure, large gene and repetitive DNA families and gene discovery. *Genome Res*, 10: 1996-2005.
- Altchek J, Corral R, Biancardi MA y Freilij. 2003. Anticuerpos anti-F2/3 como marcador de curación de niños con infección congénita por *Trypanosoma cruzi*. *Medicina (Buenos Aires)*, 63: 37-40.
- Akira S. 2000. The role of IL-18 in innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.*, 12: 59-63.
- Aliberti J, Cardoso M, Martins G, Gazzinelli R, Vieira L and Silva J 1996. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes. *Infect. Immun.*, 64: 1961-1967.
- Almeida D, Carvalho A, Branco J, Pereira A, Correa L, Vianna P, Buffolo E and Martinez E 1996. Chagas disease reactivation after heart transplantation: efficacy of allopurinol treatment. *J. Heart Lung Transplant*, 15: 988-992.
- Alvarez M, Cerisola JA y Roweder RW, 1968. Test de Inmunofluorescencia para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Boletín Chileno de Parasitología* 23: 4-9.
- Andersson B, Aslund L, Tammi M, Tran A, Hoheisel J and Petterson U. 1998. Complete sequence of a 93.4 kb contig from chromosome 3 of *Trypanosoma cruzi* containing a strand-switch region. *Genome Res.*, 809-816.
- Andrade ZA y Andrade de SG. 1979. Patologia. En: *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. Brener Z. y Andrade ZA. Ed. pp. 199-248. Guanabara Koogan S.A.~ Rio de Janeiro. Brasil.
- Andrade Z, Andrade S, Correa R, Sadigursky M and Ferrans V 1994. Myocardial Changes in Acute *Trypanosoma cruzi* Infection. Ultrastructural Evidence of Immune Damage and the Role of Microangiopathy. *Am. J. Pathol.*, 144: 1403-1411.
- Antúnez M and Cardoni R. 2000. IL-12 and IFN- γ production, and NK cell activity, in acute and chronic experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Immunol. Letters*, 71: 103-109.

- Antúñez M and Cardoni R. 2001. Early IFN- γ production is related to the presence of IL-18 and the absence of IL-13 in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Inmunol. Let.*, 79: 189-196.
- Barclay CA, Cerisola JA, Lugones H, Ledesma O, Lopez Silva J y Mouzo G. 1978. Aspectos farmacológicos y resultados terapéuticos del benznidazol en el tratamiento de la infección chagásica. *La Prensa Médica Argentina*, 65: 7, 239-244.
- Basombrío M. and Besuschio S. 1982. *Trypanosoma cruzi* culture used as vaccine to prevent chronic Chagas' disease. *Infect. Immun.*, 36: 351-356.
- Ben Younes-Chennoufi A, Hontebeyrie-Joskowic M, Tricottet V, Eisen H, Reynes M and Said G. 1988. Persistence of *Trypanosoma cruzi* antigens in the inflammatory lesions of chronically infected mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82: 77-83.
- Bittencourt A. 1988. Parasitic infection in pregnancy and the new born. En C Macleod (Ed.), *American Trypanosomiasis (Chagas' disease)*. Oxford. Oxford Medical Publication, pp: 62-86
- Blanco SB, Cura EN, Tulián L, Chuit R, Hurvitz A, Villalonga C, Scopell AM, Garbarino G y Segura EL. 1993. Detección de la madre y el niño chagásico en la transmisión materno infantil. *Medicina (Buenos Aires)* 53 (1): 44.
- Blanco SB, Segura EL, Gurtler RE. 1999 El control de la transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en la República Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*, 59 (II): 138-142.
- Bocca Tourres CL. 1969. La enfermedad de Chagas en período agudo y su tratamiento con el Bay 2502. *Bol. Chil. Parasitol.* 24: 24-27.
- Bond C, Zhang Y, Berriman M, Cunningham M, Fairlamb A and Hunter W. 1999. Crystal structure of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase in complex with trypanothione, and the structure based discovery of new natural products inhibitors. *Structure*, 7: 81-89.
- Borges A, Cunningham M, Tovar J and Fairlamb A. 1995. Site directed mutagenesis of the redox-active cysteines of *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Biochem.*, 228: 745-752.

Brandao A, Urmenyi T, Rondinelli E, Gonzalez A, Miranda A and Degrave W. 1997. Identification of transcribed sequenced (ESTs) in the *Trypanosoma cruzi* genome project. Mem. Inst. Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro), 92: 863-866.

Bringaud F and Baltz T. 1993. Differential regulation of two distinct families of glucose transporter gene in *Trypanosoma brucei*. Mol. Cell. Biol., 13: 1146-1154.

Briones MR et al. 1999. The evolution of two *Trypanosoma cruzi* subgroups inferred from rRNA genes can be correlated with the interchange of American mammalian faunas in the Cenozoic and has implications to pathogenicity and host specificity. Mol Biochem Parasitol 104: 219-232

Burgess DE and Hanson WL. 1980. *Trypanosoma cruzi*: The T-cell dependence of the primary immune response and the effects of the depletion of T-cells and Ig-bearing cells in immunological memory. Cell. Immunol., 52: 176-186.

Camargo ME, Segura EL, Kagan IG, Pacheco Souza JM, de Rocha Cavalheiro J, Yanovsky JF and Guimaraes MCS. 1986. Three years of collaboration of the standardization of Chagas' disease serodiagnosis in the Américas: an appraisal. Bull. Panam. Health Org., 20: 233-244.

Campetella O, Sanchez D, Cazzulo J and Frasch A 1992. A superfamily of *Trypanosoma cruzi* surface antigens. Parasitol. Today, 8: 378-381.

Cano M, Gruber A, Vazquez M, Cortes A, Levin M, Gonzalez A, Degrave W, Rondinelli E, Zingales B, Ramirez J, Alonso C, Requena J and Silveira J D. 1995. Molecular karyotype of clone CL Brener chosen for the *Trypanosoma cruzi* genome project. Mol. Biochem. Parasitol., 71: 273-278.

Cançado JR, Brener Z. 1979. Terapeutica En: *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. Brener Z, y Andrade ZA. Ed., pp: 363-424.

Cardoni,RL. 1997. La respuesta inflamatoria en la infeccion aguda con *Trypanosoma cruzi*. Medicina (Buenos Aires), 57: 227-34.

Celentano A and González Cappa S. 1988. Enfermedad de Chagas y transfusión sanguínea. Actividad tripanocida del clorhidrato de maprotilina y del violeta de genciana. Medicina (Buenos Aires), 48: 265.

Cerisola JA. 1969. Evolución serológica de pacientes con enfermedad de Chagas aguda tratados con Bay 2502. Bol. Chile. Parasitol. 24: 54-59.

Cerisola JA, Lugones H y Rabinovich LB. 1972. Tratamiento de la enfermedad de Chagas. 6o Premio Científico F. Antonio Rizzuto 1972. Fundación Rizzuto, Buenos Aires, Argentina, pp: 77.

Cerisola JA, Rohweder R, Segura EL, Del Prado, C.E., Alvarez, M. y Martini GJW de. 1974. El xenodiagnóstico. Normatización, utilidad. Publ. Ministerio de Bienestar Social. Secret. de Estado de Salud Pública. Buenos Aires. Argentina

Cerisola JA 1977. Chemotherapy of Chagas infection in man. Scientific Publication, PAHO, No 347.

Cerisola JA, Alvarez M y de Martini GJW. 1980. Reacción de aglutinación de partículas de látex para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Medicina (Buenos Aires), 40(supl.1): 132-136

Chagas C. 1909. Nova trypanozomiase humana. Estudo sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de Nova entidade mórbida da homem. Mem. Inst. Osw. Cruz. 1: 1-62.

Chiari E, Oliveira AB, Prado MA, Alves RJ, Galvao LM and Araujo FG. 1996. Potential in use of WR6026 as prophylaxis against transfusion-transmitted American Tripanosomiasis. Antimicrob. Agents Chemother., 40(3): 613-615.

Chow Y, Chiang B, Lee Y, Chi W, Lin W, Chen Y and Tao M. 1998. Development of Th1 and Th2 populations and the nature of immune responses to hepatitis B virus DNA vaccines can be modulated by codelivery of various cytokines genes. J. Immunol., 160: 1320-1329.

Chuenkova M and Pereira M. 1995. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase: enhancement of virulence in a murine model of Chagas disease. J. Exp. Med., 181: 1693-1703.

Chuit R, Subías E, Pérez A, Paulone I, Wisnivesky-Colli C and Segura EL, 1989. Usefulness of serology for the evaluation of transmission in endemic areas of Chagas' disease. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 22: 119-124.

Chuit R. 1994. Control vectorial de la Enfermedad de Chagas en la República Argentina. *Acta Toxicol. Argent.*, 2: 36-37.

Costa F, Franchin G, Pereira-Chioccola V, Ribeiro M, Schenkman S and Rodrigues M. 1998. Immunization with a plasmid DNA containing the gene of trans-sialidase reduces *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Vaccine*, 16: 768-774.

Cox F. 1993. Parasitic Protozoa. In F. Cox (Eds.), *Modern Parasitology. A textbook of parasitology*. Blackwell Scientific Publication, pp: 1-23.

Cura EN, Ruíz AM, Velázquez E, Malagrino N, Törn A y Segura EL. 1993. Estandarización de un kit confirmación (FATALAKIT) para el inmunodiagnóstico de la infección por el *Trypanosoma cruzi*. *Medicina (Buenos Aires)*, 53 (1): 44.

Cura EN, de Titto EH y Segura EL. 1992. Control de Calidad del Inmunodiagnóstico de Chagas. *Manual de Procedimientos*. eds. INDIECH, Buenos Aires, pp: 1-43.

Cura EN, de Titto EH y Segura EL. 1992 b. El diagnóstico y su control de calidad en la infección por *T. cruzi*. In: *Actualizaciones en la enfermedad de Chagas*. Madoeri, RJ, Madoeri, C. and Cámara, MI (editors). Organismo Oficial del Congreso Nacional de Medicina Córdoba, Argentina, pp: 125-132.

Da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends Parasitol.* 2001, 17 (6): 286-291.

DeSouza, W. 1999. A short review on the morphology of *Trypanosoma cruzi*: from 1909 to 1999. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)*, 94: 17-36.

Dictar M, Sinagra A, Veron M, Luna C, Dengra C, De Rissio AM, Bayo R, Ceraso D, Segura E, Koziner B and Riarte A. 1998. Recipients and donors of bone marrow transplants suffering from Chagas disease: management and preventive therapy of parasitemia. *Bone Marrow Transpl.*, 21: 391-3.

Di Noia JM, Buscaglia CA, De Marchi CR, Almeida IC y Frasch ACC. 2002 A *Trypanosoma cruzi* small surface molecule provides the first immunological evidence that Chagas' disease is due to a single parasite lineage. *J. Exp. Med.* 195: 401- 413.

Docampo R, Scott D, Verseci A and Moreno S. 1995. Intracellular Ca²⁺ storage in acidocalcisomes of *Trypanosoma cruzi*. *Biochem. J.*, 310: 1005-1012.

Donnelly J, Ulmer J, Shiver J and Liu M. 1997. DNA Vaccines. *Annu. Rev. Immunol.*, 15: 617-648.

Edjen J. 1969. Efecto del Bay 2502 en adultos asintomáticos con infección chagásica crónica. *Bol. Chil. Parasitol.*, 24: 99-100.

Engel J, Doyle P and McKerrow J. 1999. Efecto anti parasitario de inhibidores de cistein proteasas *in vitro* e *in vivo* en la enfermedad de Chagas experimental. *Medicina (Buenos Aires)*, 59: 171-175.

Englund P, Guilbride D, Hwa KY, Johnson C, Li C, Rocco L and Torri A. 1996. Kinetoplast DNA: structure and replication. En D. Smith and M. Parsons (Eds.), *Molecular biology of parasitic protozoa*, New York. IRL Press, pp: 75-87.

Esquivel M and Segura E. 1994. Estimación del número de infectados chagásicos en Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*, 54 (1): 91-92.

Esteva M, Ruiz A, Cabeza-Meckert P, Cazzulo J and Segura E. 1983. Antigens of the microsomal fraction of *Trypanosoma cruzi* which produce pathology in mice. *J. Protozool.*, 30: 168.

Esteva M, Ruiz AM and Stoka AM. *Trypanosoma cruzi*: methoprene is a potent agent to sterilize blood infected with trypomastigotes. 2002. *Exp. Parasitol.*, 100: 248-251.

Fabro D, Velazquez E, Mendoza N, Streiger M, Arias E, Del Barco M, Amicone N. y Ruiz AM. Evaluación del tratamiento específico en infección por *Trypanosoma cruzi*. XIX Reunión Científica de la Sociedad Argentina de Protozoología, Junio 2003. Libro de resúmenes DG6.

Fairlamb A 1996. Pathways to drug discovery. *The Biochemist*, Feb/Mar, 11-16.

Fairlamb A. 1999. Future prospects for the chemotherapy of Chagas disease. *Medicina (Buenos Aires)*, 59: 179-187.

Farina M, Attias M, Souto-Padron T and Souza WD. 1986. Further studies on the organization of the paraxial rod of trypanosomatids. *J. Protozool.*, 33: 552-557.

Farrar W, Gibbins S, and Whitefield S. 1972. Low prevalence of antibody to *Trypanosoma cruzi* in Georgia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21: 404-406.

Fernandez JJ, Cedillos RA y Godoy GA. 1969. Tratamiento de la enfermedad de Chagas con Bay 2502. *Bol. Chil. Parasitol.*, 24 (1-2): 51-53.

Fernandes O, et al. 1998 Brazilian isolates of *Trypanosoma cruzi* from humans and triatomines classified into two lineages using mini-exon and ribosomal RNA sequences. *Am J Trop Med Hyg.*, 58: 807-811.

Ferrari I, Lorenzi H, Santos M, Brandariz S, Requena J, Schijman A, Vazquez M, da Silveira J, Ben-Dov C, Medrano C, Ghio S, Bergami PL, Cano I, Zingales B, Urmenyi T y col. and Levin M. 1997. Towards the physical map of the *Trypanosoma cruzi* nuclear genome: construction of YAC and BAC libraries of the reference clone *T. cruzi* CL Brener. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)*, 92: 843-852.

Ferreira HO. 1976. Ensaio terapêutico-clínico com o benznidazol na doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo*, 18, Nº 5: 357-364.

Franchin G, Pereira-Chioccola V, Schenkman S and Rodrigues M. 1997. Passive transfer of a monoclonal antibody specific for a sialic acid-dependent epitope on the surface of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote reduces infection in mice. *Infect. Immun.*, 65: 2548-2554.

Franke de Cazzulo B, Bernacchi A, Esteva MI, Ruiz AM, Castro J, Cazzulo JJ. Trypanocidal effect of SKF525A, proadifen, on different developmental forms of *Trypanosoma cruzi*. 1998. *Medicina (Buenos Aires)*, 58: 415-418.

Frasch A. 2000. Functional diversity in the trans-sialidase and mucins families in *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol. Today*, 16: 282-286.

Frohme M, Hanke J, Aslund L, Petterson U and Hoheisel JD. 1998. Selective generation of chromosomal cosmid libraries within the *Trypanosoma cruzi* genome project. *Electrophoresis*, 19: 478-481.

García G, Joensen J, Búa J, Ainciart N, Perry S and Ruiz AM. 2003. *Trypanosoma cruzi*: Molecular identification and characterization of new members of the Tc13 family. Description of the interaction between the Tc13 antigen from Tulahuén strain and the second extracellular loop of the β -1 adrenergic receptor. *Exp. Parasitol.* 103: 112-119.

Garg N and Tarleton RL. 2002. Genetic immunization elicits antigen-specific protective immune responses and decreases disease severity in *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect. Immun.* 70: 5547-5555.

Gazzinelli RT, Oswald IP, Hieny S, James SL and Sher A. 1992. The microbiocidal activity of interferon-g treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor-b. *Eur. J. Immunol.*, 22: 2501-2506.

Gea S, Ordoñez P, Cerban F, Iosa D, Chizzolini C and Vottero-Cima E. 1993. Chagas' disease cardioneuropathy. Association of anti-*Trypanosoma cruzi* and anti-sciatic nerve antibodies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 49: 581-588.

Gibson W, Swinkels B and Borst P. 1988. Post-transcriptional control of the differential expression of phosphoglycerate kinase genes in *Trypanosoma brucei*. *J. Mol. Biol.*, 201: 315-325.

Gilinger G and Bellofatto V. 2001. Trypanosome spliced leader RNA genes contain the first identified RNA polymerase II gene promoter in these organisms. *Nucleic Acid Res.* 29: 1556-1564.

Gomes Y, Abath F, Furtado A, Regis L, Nakazawa M, Montenegro L, Vouldoukis I, Morin CA and Monjour L. 1995. A monoclonal antibody against blood forms of *Trypanosoma cruzi* lyses the parasite *in vitro* and inhibits host cell invasion. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 50: 57-69.

Gottlieb P, Margolis-Nunno H, Robinson R, Shen L, Chimezie E, Horowitz B and Ben-Hur E. 1996. Inactivation of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote forms in blood components with a psoralen and ultraviolet A light. *Photchem. Photobiol.*, 63: 562-565.

Grogl M, and Kuhn R. 1985. Identification of antigens of *Trypanosoma cruzi* which induce antibodies during experimental Chagas disease. *J. Parasitol.*, 71: 183-191.

Guhl F, Jaramillo C, César Carranza J, Vallejo G. 2002 Molecular characterization and diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. Arch. Med. Res. 33: 362–370.

Gurtler RE, Ceceres MC, Castanera M, Canale D, Lauricella M, Chuit R, Cohen JE, Segura EL, 1996. Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of vector *Triatoma infestans* fed on infected humans and dogs in Northwest Argentina. Am J Trop Med Hyg, 54(6) en prensa.

Hammond D and Gutteridge W. 1984. Purine and pyrimidine metabolism in the trypanosomatidae. Mol. Biochem. Parasitol., 13: 243-261.

Hanke J, Sánchez DO, Henriksson J, Aslund L, Petterson U, Frash ACC and Hoheisel JD. 1996. Mapping the *Trypanosoma cruzi* genome: Analyses of representative cosmid libraries. BioTechniques, 21: 686-693.

Hanke J, Frohme M, Laurent J, Swindle J and Hoheisel J. 1998. Hybridization mapping of *Trypanosoma cruzi* chromosomes III and IV. Electrophoresis, 19: 482-485.

Hanson W, Chien J, Chapman W and Roberson E. 1976. Immunization of mice with irradiated *Trypanosoma cruzi* grown in cell culture: relation of numbers of parasites immunizing injections and route of immunization to resistance. Int. J. Parasitol., 6: 341.

Henderson G, Ulrich P, Fairlamb A, Rosenberg I, Pereira M, Sela M and Cerami A. 1988. "Subversive" substrates for the enzyme trypanothione disulfide reductase: alternative approach to chemotherapy of Chagas disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 85: 5374-78.

Henriksson J, Porcel B, Rydaker M, Ruiz A, Sabaj V, Galanti N, Cazzulo J, Frasch A and Pettersson U. 1995. Chromosome specific markers reveal conserved linkage groups in spite of extensive size variation in *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol., 73: 62-74.

Hoare CA. 1972. En: The Trypanosomes of mammals. A zoological Monography. Blackwell Sc. Publ. Ed., Oxford and Edinburg, pp: 60-80

Hofflin J, Sadler R, Araujo F, Page W and Remington J. 1987. Laboratory acquired Chagas' disease. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 81: 437-440.

Hoft DF, Lynch RG and Kirchhoff LV. 1993. Kinetic analysis of antigen-specific immune responses in resistant and susceptible mice during infection with *Trypanosoma cruzi* J. Immunol., 151: 7038-7047.

Hoft D, Schnapp A, Eickhoff C and Roodman S. 2000. Involvement of CD4+ Th1 cells in systemic immunity protective against primary and secondary challenges with *Trypanosoma cruzi*. Infect. Immun., 68: 197-204.

Holscher C, Kohler G, Muller U, Mossmann H, Schaub G and Brombacher F. 1998. Defective nitric oxide effector functions lead to extreme susceptibility of *Trypanosoma cruzi*-infected mice deficient in gamma interferon receptor or inducible nitric oxide synthase. Immunology, 66: 1208-15.

Hontebeyrie-Joskowicz M, Said G, Milon G, Marchal G and Eisen H. 1987. L3T4+ T cells able to mediate parasite-specific delayed-type hypersensitivity play a role in the pathology of experimental Chagas' disease. Eur. J. Immunol., 17, 1027-1033.

Hunter CA, Ellis NL, Slifer T, Kanaly S, Grunig G, Fort M, Rennick D and Araujo FG. 1997. IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi* J. Immunol., 158: 3311-6.

Hunter CA, Slifer T and Araujo F. 1996. Interleukin-12-mediated resistance to *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon Infect. Immun., 64: 2381-2386.

Ibáñez C, Affranchino JL, and Frasch C. 1987. Antigenic determinants of *Trypanosoma cruzi* defined by cloning of parasite DNA. Mol. Biochem. Parasitol., 25 : 175-184.

Ibáñez CF, Affranchino JL, Macina RA, Reyes MB, Leguizamón S, Camargo ME, Aslund L, Petterson U and Frasch ACC. 1988. Multiple *Trypanosoma cruzi* antigens containing tandemly repeated aminoacid sequence motifs. Mol. Biochem. Parasitol., 30: 27-34.

Ismaili N, Perez-Morga D, Walsh P, Mayeda A, Pays A, Tebabi P, Krainer AR, Pays E. 1999. Characterization of a SR protein from *Trypanosoma brucei* with homology to RNA-binding *cis*-splicing proteins. Mol. Biochem. Parasitol., 102: 103-115.

Joensen L, Borda E, Kohout T, Perry S, García G, Sterin-Borda L. 2003. *Trypanosoma cruzi* antigen that interacts with the β 1-adrenergic receptor and modifies myocardial contractile activity. Mol. Biochem. Parasitol., 127: 169-177.

Jorg M and Oliva R. 1980. Presencia de tripomastigotes en sangre menstrual de mujeres con tripanosomiasis cruzi. Rev. Arg. Parasitol., 1: 128.

Jost L, Turin M, Etchegoyen F, Leiguarda R, Taratuto A and Iotti R. 1977. Meningo-encefalitis chagásica en pacientes con tratamiento inmunosupresor por trasplante renal. Rev. Neurol. Arg., 3: 425.

Kalil J and Cunha-Neto E. 1996. Autoimmunity in Chagas disease cardiomyopathy: fulfilling the criteria at last? Parasitol. Today, 12: 396-399.

Kierszenbaum F and Budzko D. 1975. Immunisation against experimental Chagas disease by using culture forms of *Trypanosoma cruzi* killed with the solution of sodium perchlorate. Infect. Immun., 12: 461.

K"berle F and Alcantara F. 1960. Mecanismo do destrucao neuronal do sistema nervoso periferico na molestia de Chagas. Hospital (Rio de Janeiro), 57: 173-178.

K"berle F. 1963. Patogenia do mesoesofago brasileiro e europeo. Rev. Goiana Med. 9: 79-116.

Krettli AU and Brener Z. 1982. Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to anti-living trypomastigote antibodies. J. Immunol, 128: 2009-2011.

Krettli AU, Ca"ado JR, Brener Z. 1984. Criterion of cure of human Chagas'disease after specific chemotherapy, recent advances. Mem. Ins. Oswaldo Cruz, 79: 157-164.

Kumar S and Tarleton R. 1998. The relative contribution of antibody production and CD8+T cells function to immune control of *Trypanosoma cruzi*. Parasite Immunol., 20: 207-216.

Lane J, Olivares-Villagomez D, Vnencak-Jones C, McCurley T and Carter C. 1997. Detection of *Trypanosoma cruzi* with the polimerase chain reaction and in situ hybridization in infected murine cardiac tissue. Am. J. Trop. Med. Hyg., 56: 588-595.

Laucella S, de Titto E, Segura E, Orn A and Rottemberg M. 1996. Soluble cell adhesion molecules in human Chagas'disease: association with disease severity and stage of infection. Am. J. Trop. Med. Hyg., 55: 629-634.

Levin M, Mesri E, Bernarous R, Levitus G, Schijman A, Levy-Yeyati P, Chiale P, Ruiz A, Kahan A, Rosembaum M, Torres H and Segura E. 1989. Identification of major *Trypanosoma cruzi* antigenic determinants in chronic Chagas' heart disease. Am. J. Trop. Med. Hyg., 41: 530-538.

Lugones H. 1978. Actualización terapéutica. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas Agudo en niños. Pediatría, 2:103-105.

McCabe R, Meagher S and Mullins B. 1991. Gamma interferon supresses acute and chronic *Trypanosoma cruzi* infection in cyclosporin-treated mice. Infect. Immun., 59: 1633-1638.

Maekel GA. 1969. Evaluación clínica y serológica de la droga Bay 2502 en pacientes con infección chagásica crónica. Bol. Chil. Parasitol., 24: 95-96.

Mamone MJ. 1981. Modernos Fármacos en la Terapéutica de la Enfermedad de Chagas. XIII Congreso de Neurología de la República Argentina. Asociación Médica Argentina, Iguazú, Misiones.

Marinho CRF, Imperio-Lima MR, Grisoto MG and Alvarez JM. 1998. Influence of acute-phase parasite load on pathology, parasitism, and activation of the immune system at the late chronic phase of Chagas disease. Infect. Immun., 67: 308-318.

Marsh I and Bradley M. 1997. Substrate specificity of trypanothione reductase. Eur. J. Biochem., 243: 690-694.

Maya J, Repetto Y, Agosin M, Ojeda J, Tellez R, Gaule C and Morello A. 1997. Effects of nifurtimox and benznidazole upon glutathione and trypanothione content in epimastigote, trypomastigote and amastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol., 86: 101-106.

Mazza S. 1926. Caso de Schizotripaniosis humana observado en Jujuy. Rev. Univ. Buenos Aires, Argentina, 4:400-403.

Menezes H. 1971. Aplicacao de vacina viva avirulenta de *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 13: 144.

Meyer ZBC, Cramer S, Trumpfheller C, Fleischer B and Frosch S. 1997. *Trypanosoma cruzi* induces strong IL-12 and IL-18 gene expression in vivo: correlation with interferon-gamma (INF γ) production. Clin. Exp. Immunol, 110: 378-85.

Miles MA y col. 1977 The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg, 71: 217-225.

Moncayo A. 1994. Iniciativa de los Países del Cono Sur. Acta Toxicol. Argent., 2: 34-35.

Morello A. 1988. The biochemistry of the mode of action of drugs and the detoxication mechanisms in *Trypanosoma cruzi*. Comp. Biochem. Physiol., 90 C: 1-12.

Morris S, Tanowitz H, Wittner M and Bilezikian J. 1990. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. Circulation, 82: 1900-1909.

Mosmann TR, Cherwinsky H, Bond MW, Giedlin MA y Coffman RL. 1986. Two Types of murine T cell clones. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J. Immunol, 136: 2348-2355

Moya PR, Paolasso R D, Blanco, Lapasset M, Sanmartino C, Baso B, Moretti E, Cura D, 1985. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas con Nifurtimox durante los primeros meses de vida. Medicina (Buenos Aires), 45: 553-558,.

Moser DR, Kirchoff LV and Donelson JE. 1989. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol., 27:1477-1482.

Mullis KB. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods Enzymol, 155: 335.

Muñoz-Fernández MA, Fernández MA and Fresno M. 1992. Synergism between tumor necrosis factor- α and Interferon- γ on macrophage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. Eur. J. Immunol., 22: 301-307.

Murthy VK, Dibbern KM and Campbell DA. 1992. PCR amplification of mini-exon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. Mol Cell Probes 6: 237-243.

Nabors G and Tarleton R. 1991. Differential control of INF- γ and IL-2 production during *Trypanosoma cruzi* infection. J. Immunol., 146: 3591-8.

Nasser J, Gómez L, Sánchez D, Guerin M and Basombrio M. 1997. Immunogenicity of the recombinant SAPA protein of *Trypanosoma cruzi* for mice. J. Parasitol., 83: 76-81.

Nickell SP, Stryker GA and Arevalo C. 1993. Isolation from *Trypanosoma cruzi*-infected mice of CD8+, MHC-restricted cytotoxic T cells that lyse parasite-infected target cells. J. Immunol., 150: 1446-1457.

Nogueira N and Cohn Z. 1977. *Trypanosoma cruzi*: uptake and intracellular fate in normal and activated macrophages. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26: 194-203.

Normas para el Diagnóstico de la Infección Chagásica. 1988. Resolución Ministerio Salud y Acción Social No. 2373. Ley No. 22360 de la República Argentina. Actualización 1996, ANEXO pág. de este manual.

Opperdoes F and Michels P. 1991. The evolutionary origin of glycosomas. Parasitol. Today, 7: 105-109.

OPS. 1999. VIII^a Reunión de la Comisión Intergubernamental para la Eliminación de *Triatoma Infestans* y la Interrupción de la Tripanosomiasis Americana por Transfusión. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Iniciativa del Cono Sur (INCOSUR). 16 al 18 de marzo 1999. Tarija, Bolivia.

O'Sullivan M, Zhou Q, Li Z, Durham T, Rattendi D, Lane S and Bacchi C. 1997. Polyamine derivatives as inhibitors of trypanothione reductase and assessment of their trypanocidal activities. Bioorg. Med. Chem., 5: 2145-2155.

Pereira-Chioccola V, Costa F, Ribeiro M, Soares I, Arena F, Schenkman S and Rodrigues M. 1999. Comparison of antibody and protective immune responses against *Trypanosoma cruzi* infection elicited by immunization with a parasite antigen delivered as naked DNA or recombinant protein. Parasite Immunol., 21: 103-110.

Petray P, Rottenberg ME, Grinstein S and Orn A. 1994. Release of nitric oxide during the experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol.*, 16: 193-199.

Pinto Dias JC, Briceño-Leon R and Storino R. 1994. Aspectos sociales, económicos, políticos, culturales y psicologicos. En R. Storino and J. Milei (Eds.), *Enfermedad de Chagas Buenos Aires, Doyma Argentina*, pp: 527-548.

Porcile PE, Santos MRM, Souza RT, Verbisck V, Brandao A, Urmenyi T, Silva R, Rondinelli E, Lorenzi H, Levin MJ, Degrave W, da Silveira JF. 2003 A refined molecular karyotype for the reference strain of the *Trypanosoma cruzi* genome project (clone CL Brener) by assignment of chromosome markers. *Gene* 308: 53-65.

Plata F, Garcia-Pons F and Wiertzerbin J. 1987. Immune resistance to *Trypanosoma cruzi*. Synergy of specific antibodies and recombinant interferon gamma *in vivo*. *Ann. Inst. Pasteur Immunol.*, 138: 397-415.

Plumas-Marty B, Taibi A, Pessoa H, Verwaerde C, Loyens M, Pommier V, Velge P, Capron A and Ouaiissi A. 1993. *Trypanosoma cruzi* glutathione-binding proteins (TcGBP): protection induced by native proteins in an experimental model and analysis of the antibody response. *Res. Immunol*, 144: 553-563.

Porcel B, Tran A, Tammi M, Nyarady Z, Rydaker M, Urmenyi T, Rondinelli E, Petterson U, Andersson B and Åslund L. 2000. Gene Survey of the pathogenic protozoan *Trypanosoma cruzi*. *Genome Res.*, 10: 1103-1107.

Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica, SINAVE. 2000-2001. Boletín Epidemiológico Nacional, Ministerio de Salud: 34

Report of the World Health Organization Expert Committee. 1991. In: Control of Chagas' disease. World Health Organization (editor) Technical Report Series N° 811 pp: 1-95.

Riarte A, Luna C, Sabatiello R, Sinagra A, Schiavelli R, De Rissio AM, Maiolo E, García M, Jacob N, Pattin M, Lauricella M, Segura E and Vazquez M. 1999. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience 1989-1996. *Clin. Infect. Dis.*, 29: 561-7.

- Rodrigues M, Riberao M, Pereira-Chioccola V, Renia L and Costa F. 1999. Predominance of CD4 TH1 and CD8 Tc1 cells revealed by characterization of the cellular immune response generated by immunization with a DNA vaccine containing a *Trypanosoma cruzi* gene. *Infect. Immun.*, 67: 3855-3863.
- Rosenbaum M, Elizari M, Lazzari JO. 1968. *Los Hemibloqueos*. Ed. Paidós, Buenos Aires.
- Rottemberg M, Rodriguez D and Orn A. 1992. Control of *Trypanosoma cruzi* infection in mice deprived of T-cell help. *Scand. J. Immunol.*, 36: 261-268.
- Rubio M y Donoso F. 1969. Enfermedad de Chagas en niños y tratamiento con Bay 2502. *Bol. Chil. Parasitol.*, 24: 43-48.
- Ruiz AM, Wisnivesky-Colli C, Gurtler R, Lázzari I, Bujas M y Segura EL. 1985 a. Infección por *Trypanosoma cruzi* en humanos, perros y cabras de áreas rurales de la Pcia. de Córdoba. *Medicina (Buenos Aires)*, 45:539- 546.
- Ruiz A, Esteva M, Meckert PC, Laguens R and Segura E. 1985 b. Protective immunity and pathology induced by inoculation of mice with different subcellular fractions of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica*, 42: 299-309.
- Ruiz A, Esteva M, Riarte A, Subías E and Segura E. 1986. Immunoprotection of mice against *Trypanosoma cruzi* with lyophilized flagellar fraction of the parasite plus adjuvant. *Immunol. Lett.*, 12: 1-4.
- Ruiz A, Esteva M, Subias E, Moreno M, Rosenstein A, Velázquez E and Segura E. 1990. Monoclonal antibodies against the flagellar fraction of epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* II. Immunoprotection against metacyclic trypomastigotes obtained by immunization of mice with an affinity purified antigen. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 30: 115.
- Ruiz A, Búa J and Segura E. 1994. Antígenos del *Trypanosoma cruzi*: Perspectivas futuras. En R. Storino and J. Milei (Eds.), *Enfermedad de Chagas*, Buenos Aires, Argentina. Doyma Argentina, pp: 629-640.
- Ruiz AM, Velazquez E, Sosa Stani S, Porcel B y Segura EL. 1997. Desarrollo de un ensayo inmunoenzimático para la evaluación del tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Medicina (Buenos Aires)*, 55 (3): 44.

Santos M, Cano M, Schijman A, Lorenzi H, Vazquez M, Levin M, Ramirez J, Brandao A, Degraive W and Silveira JD. 1997 a. The *Trypanosoma cruzi* genome project: nuclear karyotype and gene mapping of clone CL Brener. Mem. Inst. Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro), 92: 821-828.

Santos M, Lorenzi H, Porcile P, Carmo MD, Schijman A, Brandao A, Araya J, Gomes H, Chiurillo M, Ramirez J, Degraive W, Levin M and Silveira JD. 1999. Physical mapping of a 670 kb region of chromosomes XVI and XVII from the human protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* encompassing the genes for two immunodominant antigens. Genome Res., 9: 1268-1276.

Schenkman S, Eichinger D, Pereira M and Nussenzweig V. 1994. Structural and functional properties of Trypanosomas trans-sialidase. Annu. Rev. Microbiol., 48: 499-523.

Schenone H, Alfaro E, Reyes H y Taucher E. 1968. Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. Bol. Chil. Parasitol., 23 :149-154.

Schmidt GD, and Roberts LS. 1977. En: *Foundations of Parasitology*, C.V. Mosbs ComPans .Ed. Saint Louis U.S.A., pp: 63-64.

Schmunis GA, 1991. *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas' disease: status in the blood supply in endemic and nonendemic countries [Review] *Transfusion*, 31 (6): 547-557.

Scientific Publication 547. 1994. En Chagas disease and the nervous system. Washington DC. Pan American Health Organization.

Scott M, Bahr G, Moddaber F, Afchain D and Chedid L. 1984. Adjuvant requirements for protective immunization of mice using a *Trypanosoma cruzi* 90 K cell surface glycoprotein. Int. Archs. Allergy Appl. Immun., 74: 373-377.

Scott M, Neal R and Woods N. 1985. Immunization of marmosets with *Trypanosoma cruzi* cell surface glycoprotein (GP90). Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 79: 451-454.

Segura EL, Cura EN, Paulone I, Vazquez C and Cerisola JA. 1974 . Antigenic makeup of subcellular fractions of *Trypanosoma cruzi*. J. Protozool., 21: 571-574.

Segura E, Paulone I, Cerisola J and Cappa SG. 1976. Experimental Chagas disease: protective activity in relation with subcellular fractions of the parasite. *J. Parasitol.*, 62: 131-133.

Segura EL, Perez AC, Yanovsky JF, Andrade J, y Wynne de Martini JG. 1987 a. Disminución de la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de Chagas) en hombres jóvenes de la Argentina. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 100: 493-510.

Segura EL. 1987 b. Xenodiagnosis. In: *Chagas' disease vectors*. Volume II - Anatomic and physiological aspects. Brener, R. R. and Stoka, A. M. (editors). CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. USA, pp 41-45.

Segura E, Cura E, Sosa Estani S, Andrade J, Lansetti J, De Rissio A, Campanini A, Blanco S, Gurtler R and Alvarez M. 2000. Long-term effects of a nationwide control program on the seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection in young men from Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 62: 353-62.

Segura EL. 2002. El control de la enfermedad de Chagas en la República Argentina. En: El control de la enfermedad de Chagas en los países del cono sur de América. Historia de una iniciativa internacional, 1991/2001, Silveira AC y col., Organización Panamericana de la Salud: Cap 2, pag 45.

Sepulveda P, Hontebeyrie M, Liegeard P, Mascilli A and Norris K. 2000. DNA-based immunization with *Trypanosoma cruzi* complement regulatory protein elicits complement lytic antibodies and confers protection against *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect. Immun.*, 68: 4986-4991.

Shikanai-Yasuda M, Marcondes CB and Guedes L. 1991. Possible transmission of acute Chagas disease in Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 13: 351.

Silva J, Twardzik D and Reed S. 1991. Regulation of *Trypanosoma cruzi* Infections *in vitro* and *in vivo* by Transforming Growth Factor ? (TGF-?). *J. Exp. Med.*, 174: 539-545.

Silva JS, Morrissey PJ, Grabstein KH, Mohler KM, Anderson D and Reed SG. 1992. Interleukin 10 and Interferon ? regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J. Exp. Med.*, 175: 169-174.

Silva-Barbosa SD, Cotta-de-Almeida V, Riederer I, De Meis J, Dardenne M, Bonomo A and Savino W . 1997. Involvement of laminin and its receptor in abrogation of heart graft rejection by autoreactive T cells from *Trypanosoma cruzi*-infected mice. J Immunol., 159: 997-1003.

Sosa Estani S, Segura E, Porcel B, Ruiz A, Velazquez E and Yampotis C. 1998. Chemotherapy with benznidazole in children in undetermined phase of Chagas disease. Am. J. Trop. Med. Hyg., 59: 526-529.

Sosa Estani S and Segura E. 1999. Tratamiento de la infección por *Trypanosoma cruzi* en fase indeterminada. Experiencia y normatización actual en Argentina. Medicina (Buenos Aires), 59: 166-170.

Souto-Padron T, Reyes M, Leguizamon S, Campetella O and Frasc A. 1989. *Trypanosoma cruzi* proteins which are antigenic during human infections are located in defined regions of the parasite. Eur. J. Cell. Biol., 50: 272-278.

Souto RP, et al. 1996 DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol., 83: 141-152

Souto RP and Zingales B. 1993 Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. Mol. Biochem. Parasitol., 62: 45-52.

Souza M and Roitman I. 1971. Protective effects of *Leptomonas pessoai* against the infection of mice by *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Microbiol., 2: 187.

Spinella S, Liegeard P and Joskowicz MH. 1999. *Trypanosoma cruzi*: Predominance of IgG2a in non-specific humoral response during experimental Chagas disease. Exp. Parasitol., 74: 46-56

Sterin-Borda L, Gorelik G, Postan M, Gonzalez Cappa S and Borda E. 1999. Alterations in cardiac beta-adrenergic receptors in chagasic mice and their association with circulating beta-adrenoceptor-related autoantibodies. Cardiovasc. Res., 41: 116-125.

Sterin-Borda L and Borda E. 2000. Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of chagasic peripheral dysautonomia. Ann. N Y Acad. Sci. 917: 273-280.

- Stoppani A. 1999. Quimioterapia de la enfermedad de Chagas. *Medicina (Buenos Aires)*, 59: 147-165.
- Storino R. 1994. Chagas transfusional. En R. Storino and J. Milei (Eds.), *Enfermedad de Chagas*, Buenos Aires, Argentina. Doyma Argentina S.A., pp: 279-291.
- Strout RG. 1962. A method for concentrating hemoflagellates. *J. Parasitol.*, 48: 100-103.
- Stuart K, Kable ML, Allen TE, Lawson S. 1998. Investigating the mechanism and machinery of RNA editing. *Methods*, 15: 3-14.
- Sturm NR, Degraeve W, Morel C, Simpson L. 1989 Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas disease. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 33: 205-214.
- Tanaka Y, Tanowitz H and Bloom B. 1983. Growth of *Trypanosoma cruzi* in a cloned macrophage cell line and in a variant defective in oxygen metabolism. *Infect. Immun.*, 41: 1322-31.
- Tarleton R and Kuhn R. 1983. Changes in cell population and immunoglobulin-producing cell in the spleen of mice infected with *Trypanosoma cruzi*: Correlation with parasite-specific antibody response. *Cell Immunol.*, 80: 392.
- Tarleton R. 1990. Depletion of CD8+ T cells increase susceptibility and reserves vaccine-induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Int. J. Parasitol.*, 144: 717.
- Tarleton RL. 1993. Pathology of American trypanosomiasis. En K. S. Warren (Eds.), *Immunology and molecular biology of parasitic infections*. London. Blackwell Sc Pub., pp: 64-71.
- Tarleton R, Sun J, Zhang L and Postan M. 1994. Depletion of T-cell subpopulations results in exacerbation of myocarditis and parasitism in experimental Chagas' disease. *Infect. Immun.*, 62: 1820-1829.
- Tarleton R, Zhang L and Dows M. 1997. Autoimmune rejection of neonatal heart transplants in experimental Chagas' disease is a parasitic-specific response to infected host tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 3932-3937.

Tarleton R and Zhang L. 1999. Chagas disease etiology: Autoimmunity or parasite persistence?. *Parasitol. Today*, 15: 94-99.

Teixeira A, Texeira M and Santos Buch C. 1975. The immunology of experimental Chagas' disease. IV. Production of lesions in rabbit similar to those of chronic Chagas' disease in man. *Am. J. Pathol.*, 80: 163-180.

Tibayrenc M. 1995 Population genetics of parasitic protozoa and other microorganisms. *Adv Parasitol.*, 36: 47-115.

Tokunaga T, Yamamoto H and Shimada S. 1984. Antitumor activity of doxyribonucleic acid fraction from mycobacterium bovis BCG. 1. Isolation, physicochemical characterization and antitumor activity. *J. Natl. Cancer Inst.*, 72: 955.

Trishmann TM. 1986. *Trypanosoma cruzi*: Early parasite proliferation and host resistance in inbred strains of mice. *Exp. Parasitol.*, 62: 194-201.

Truyens C, Angelo-Barrios A, Torrico F, Damme J, Heremans H and Carlier Y. 1994. Interleukin -6 (IL-6) production in mice infected with *Trypanosoma cruzi*: Effect of its paradoxical increase by anti IL-6 monoclonal antibody treatment on infection and acute-phase and humoral immune responses. *Infect. Immun.*, 62: 692-696.

Urmenyi T, Bonaldo M, Soares M and Rondinelli E. 1999. Construction of a normalized cDNA library for the *Trypanosoma cruzi* genome project. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 46: 542-544.

Urbina J, Payares G, Molina J, Sanoja C, Liendo A, Lazard K, Piras M, Piras R, Perez N, Wincker P and Ryley J. 1996. Cure of short and long-term experimental Chagas disease using D0870. *Science*, 273: 969-971.

Vanhamme L and Pays E. 1995. Control of gene expression in Trypanosomas. *Microbiol. Rev.*, 59: 223-240.

Van-Voorhis W, Barret L, Koelling R and Farr A. 1993. FL-160 proteins of *Trypanosoma cruzi* are expressed from a multigene family and contains two distinct epitopes that mimic nervous tissues. *J. Exp. Med.*, 178: 681-694.

- Vattuone N, Szarfman A and Gonzalez-Cappa S. 1973. Antibody response and immunoglobulin levels in human with acute or chronic Chagas' disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 76: 45-47.
- Verdun R, Di Paolo N, Urmenyi TP, Rondinelli E, Frasch ACC and Sanchez DO. 1998. Gene discovery through Expressed Sequence Tag sequencing in *Trypanosoma cruzi*. *Infect. Immun.*, 66: 5393-5398.
- Vespa G, Cunha F and Silva J. 1994. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite in vitro. *Infect. Immun.*, 62: 5177-82.
- Viotti R, Vigliano C, Armenti H y Segura EL. 1994. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: Clinical and serological evolution of patients with long-term follow-up. *Am Heart J*, 127:151-162.
- Virreira M, Torrico F, Truyens C, Alonso-Vega C, Carlier Y, Svodoba M (2003) Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 98: 574-582.
- Voller A. 1975. Microplateenzyme me-linked immunosorbent assay for Chagas disease. *Lancet*, pp: 426-428.
- von Kreuter BF and Santos-Buch CA. 1989. Modulation of *Trypanosoma cruzi* adhesion to host muscle cell membranes by ligands of muscarinic cholinergic and beta adrenergic receptors. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 36: 41-50.
- Wagner Pinto L, Fourniol D, Di Santo L 1969. Experiencia terapéutica con el Bay 2502 en un grupo homogéneo de pacientes adultos con infección chagásica crónica. *Bol. Chil. Parasitol.*, 24: 103-104.
- Wendel S. 1998. Transfusion-transmitted Chagas'disease. *Curr. Opin. Hematol.*, 5: 406-411.
- Wisnivesky-Colli C, Paulone I, Chuit R, Perez A and Segura E. 1988. A new method for the detection of reinfested households during surveillance activities of control programmes of Chagas'disease. *Rev. Arg. Microbiol.*, 96: 20.

Wizel B, Nunes N and Tarleton R. 1997. Identification of *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase family members as targets of protective CD8+ TCL response. J. Immunol., 159: 6120-6130.

Wizel B, Palmieri M, Mendoza C, Arana B, Sidney J, Sette A and Tarleton R. 1998 a. Human infection with *Trypanosoma cruzi* induces parasite antigen-specific cytotoxic T lymphocyte responses. J. Clin. Investig., 102: 1062-1071.

Wizel B, Garg N and Tarleton R. 1998 b. Vaccination with trypomastigote surface antigen 1 encoding plasmid DNA confers protection against lethal *Trypanosoma cruzi* infection. Infect. Immun., 66: 5073-5081.

Wood F. 1942. The persistence of *Trypanosoma cruzi* in dead cone nose bugs. Am. J. Trop. Med., 22: 613.

Wrightsmann R, Dawson B, Fouts D and Manning J. 1994. Identification of immunodominant epitopes in *Trypanosoma cruzi* trypomastigote surface antigen-1 protein that mask protective epitopes. J. Immunol., 153: 3148-3154.

Wrightsmann R and Manning J. 2000. Paraflagellar rod proteins administered with alum and IL-12 or recombinant adenovirus expressing IL-12 generates antigen-specific responses and protective immunity in mice against *Trypanosoma cruzi*. Vaccine, 18: 1419-1427.

Zhang L and Tarleton R. 1996. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by *in situ* immunocytochemistry: lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. Eur. J. Immunol., 26 (1) 102-109.

Zeledón R. 1983. Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas. Interciencia., 8: 384-389.

Zingales B, Rondinelli E, Degraive W, da Silveira JF, Levin M, Le Paslier D, Modabber F, Dobrohotov B, Swindl J, Kelly JM, Aslund L, Hoheisel J, Ruiz AM, Cazzulo JJ, Peterson U and Frasch ACC. 1997. The *Trypanosoma cruzi* genome initiative. Parasitol. Today, 13: 16-22.

Zuniga C, Palau T, Penin P, Gamallo C and Diego JD. 1997. Protective effect of *Trypanosoma rangeli* against infections with a highly virulent strain of *Trypanosoma cruzi*. Trop. Med. Int. Health., 2: 482-487.

AMEBAS PARASITAS Y OTRAS AMEBAS INTESTINALES

Sixto Raul Costamagna

Sub-reino: Protozoa: organismos unicelulares que realizan todas las funciones esenciales para su metabolismo y reproducción.

Phylum: Sarcomastigophora: tienen como organelas de locomoción flagelos, pseudópodos o ambos.

Sub-phylum: Sarcodina: se mueven e incorporan alimentos por medio de pseudópodos (procesos citoplasmáticos transitorios, emitidos por la acción periférica del cuerpo celular, variables en forma, tamaño y número). Carecen de membrana celular gruesa, nutrición holozoica (se alimenta de partículas orgánicas). Reproducción, generalmente por fisión binaria.

Super-clase: Rhizopoda: emisión de pseudópodos. Reproducción asexual. Enquistamiento común.

Orden: Amoebida: formas parásitas y de vida libre.

Sub-orden: Tubulina

Familia: Entamoebidae: amebas parásitas.

Géneros: *Entamoeba*
Endolimax
Iodamoeba

Especies: *Entamoeba histolytica* (Schaudin, 1903)
E. dispar
E. coli (Grassi, 1879; Hickson, 1909)
E. hartmanii (Von Provaszek, 1912)

E. gingivalis (Gross, 1849)

E. polecki

Endolimax nana

Iodamoeba bütschlii

Con excepción de *E. gingivalis*, parásito de la boca, sarro dental, tejido gingival, prótesis dental y criptas amigdalinas, especialmente asociado en pacientes con piórra o alteraciones tipo inflamatorio de las encías, el resto de las especies citadas corresponden a protozoos del intestino, donde en mayor o menor grado producirán, desde leves molestias hasta invasión tisular.

Desarrollaremos especialmente *E. histolytica* por ser la más patógena para el hombre y productora de **amebosis**.

Entamoeba histolytica

CICLO BIOLÓGICO

Ciclo directo, monoxeno, con tres estadios evolutivos: trofozoíto o forma vegetativa, y pre-quiste y quiste como formas de resistencia. Multiplicación por fisión binaria.

El trofozoíto de *E. histolytica* mide entre 20 y 60 μm , aunque generalmente miden entre 15 y 30 μm . El menor tamaño correspondería a un trofozoíto que no está invadiendo tejidos, es decir de baja patogenicidad, mientras que la forma de mayor tamaño correspondería a la cepa invasiva. La forma varía ya que es muy móvil, pudiéndose visualizar esférica en estado de reposo y con pseudópodos cuando se encuentra en movimiento. Presenta un citoplasma con una parte externa hialina y una interna o endoplasma granulosa, que puede contener hematíes, lo que es importante al momento de decidir si se trata de una *E. histolytica* o de otra especie.

El núcleo, si bien es visible en fresco, para estudiar la disposición de su cromatina y ubicación del nucléolo es necesario efectuar coloraciones como Tricrómica o Hematoxilina-Eosina. La cromatina nuclear está finamente distribuida en la perifería del núcleo, formando un collar interno al mismo, con grumos cromáticos de igual tamaño

y distribución uniforme. En el centro se encuentra el nucléolo y uniendo a éste con la cromatina periférica, se pueden visualizar finas hebras de cromatina, dándole el aspecto de una rueda de carro. Esta estructura nuclear es importante observarla, ya que es lo que nos permitirá diferenciar a *E. histolytica* de otros géneros y especies de la familia Endamoebidae, que también se hospedan en el intestino. En el citoplasma se encuentran gránulos de glucógeno, no posee mitocondrias y el aparato de Golgi está escasamente desarrollado.

La forma evolutiva siguiente es la de pre-quiste, que aparece bajo determinadas condiciones del medio, cuando el trofozoíto se redondea, retrae los pseudópodos, vacuoliza su citoplasma con reservas nutritivas que se tiñen con yodo y aparecen los cuerpos cromatoidales, que son pequeños bastones de ácido ribonucleico y desoxirribonucleico. Este pre-quiste es de menor tamaño que el trofozoíto y la membrana externa es de mayor grosor. Posee un solo núcleo.

El estadio evolutivo siguiente es el quiste, de 10 a 20 μm de diámetro, esférico, con membrana quística más gruesa, desaparición de la vacuola yodófila y adelgazamiento de las barras cromatoidales que adquieren forma de barra con los extremos romos, para desaparecer en el quiste maduro. El núcleo se divide dos veces, llegando al número de cuatro, conservando la distribución de la cromatina y ubicación del nucléolo que poseía el trofozoíto. Los quistes de *E. histolytica* pueden tener dos o cuatro núcleos.

El hábitat del trofozoíto de *E. histolytica* es el lumen del intestino grueso, especialmente el apéndice y el íleon terminal. Allí se multiplica por división binaria. Al avanzar en el intestino se enquista. En una persona infectada se eliminan quistes, pre-quistes y trofozoítos por las heces. Los trofozoítos son muy lábiles, por lo que son rápidamente destruidos en el medio externo. Los quistes son más resistentes, por lo cual es el elemento infectante para el hombre, mientras que el trofozoíto produciría infecciones perianales y/o de los genitales en los infectados, por contigüidad.

Luego de la ingestión de un quiste maduro, se produce el proceso de desenquistamiento en el íleon terminal, emergiendo una ameba tetranucleada, la que inmediatamente divide sus núcleos y origina un trofozoíto octonucleado, llamado trofozoíto metaquístico. Cada núcleo se rodea de una porción de citoplasma y se forman, de esta manera, ocho amebas pequeñas, las que aumentarán de tamaño y producirán amebas normales, las que estarán en condiciones de continuar el ciclo mediante divisiones binarias sucesivas, en el intestino grueso. Al avanzar con las heces se

enquistará y con la eliminación de quistes infectantes al medio ambiente, se cierra el ciclo entérico directo.

Bajo ciertas condiciones, algunas amebas del lumen intestinal, se adhieren a células de la mucosa intestinal, proceso facilitado por una lectina de adherencia con afinidad por carbohidratos de la superficie de las células diana; invadirán la mucosa y comenzarán a producir lesiones. Allí comienza la formación de úlceras, que tienen como característica su forma en botón de camisa o botellón, con un pequeño cuello que comunica con la luz intestinal, abriéndose hacia la parte de la mucosa del intestino, hacia donde se expanden. Desde aquí el trofozoíto llegará a los vasos sanguíneos de la pared intestinal por erosión de sus paredes, con destrucción de la mucosa y submucosa para llegar finalmente a la muscularis y desde allí alcanzar la circulación enterohepática, pudiendo luego salir del hígado por la gran circulación diseminándose, de esta manera, por la vía hematógena a cualquier otro órgano de la economía para originar amebosis, con formación de abscesos en hígado, riñón, cerebro, pulmón, etc. Estos abscesos se encuentran repletos de trofozoítos (no hay quistes) ubicados en la periferia de los mismos y en algunos casos puede producirse una inflamación ulcerada, de aspecto tumoral que se conoce con el nombre de ameboma. A veces, por formación de fístulas, suelen diseminarse a otros órganos, o si la lesión está en la mucosa intestinal, producirse una perforación o una infección bacteriana secundaria. La amebosis invasiva, al no producir quistes, si bien carece de importancia epidemiológica, ya que no hay elementos infectantes de diseminación, es una patología grave.

En tan solo un 10% de los pacientes que albergan trofozoítos de *Entamoeba* sp. se produce la invasión a mucosa y tejidos. En el 90% restante se comporta como parásito del intestino, produciendo escasa sintomatología, y muchas veces pasa inadvertida. Este hecho, sumado a que existe una especie de *Entamoeba* que morfológicamente y tintorialmente es idéntica a *E. histolytica*, hace pensar que muchos de los diagnósticos de esta especie corresponderían a su "melliza", la *Entamoeba dispar*, especie no patógena, descrita por Brumpt ya desde 1925, como una especie de *Entamoeba* exclusivamente luminal. Durante mucho tiempo fue olvidada y actualmente se está reforzando la idea anteriormente señalada de que habría que revisar los diagnósticos. El problema es que para diferenciarlas hace falta efectuar zimodemas, cultivos y otros estudios bioquímicos de difícil acceso para todos los laboratorios.

PATOLOGIA y SINTOMATOLOGIA

El daño que produce *E. histolytica* se debe a:

1. Enzimas, en número mayor a 20, tales como mucinasa, hialuronidasa, ribonucleasa, desoxirribonucleasa, producen lisis de los tejidos para favorecer o permitir la invasión de órganos.
2. Eritrofagia
3. Traumatismo tisular directo, producido por el constante golpeteo del parásito sobre los tejidos, que favorece la separación de los mismos.
4. Ameboporo: *E. histolytica* destruye los leucocitos polimorfonucleares a través de una proteína de 77 aminoácidos, formadora de canales iónicos, que permite la salida de Na^+ y K^+ y entrada de Ca^{++} extracelular, lo que provoca la lisis celular, y una fosfolipasa A, con los cuales provoca la apertura de un llamado ameboporo en los mencionados leucocitos. La enzima actúa sobre los fosfolípidos de la membrana.
5. Disminución de la capacidad fagocítica de las células de Kupffer y aumento de las enzimas lisosomales.

Según algunos autores habría dos cepas de *E. histolytica*, demostradas, con diferentes zimodemos: una es invasiva y la otra no. La cepa patógena sería más grande (variedad "magna"), con mayor capacidad fagocítica y mayor contenido enzimático (colagenasa, elastasa, proteasa, proteínas formadoras de canales iónicos, β -N-glucuronidasa y enzimas lisosomales) y aumento en la producción de glucoproteínas y mucina, lo que produce una modificación del moco protector y favorece la adhesividad amebiana a las células del hospedador. La no invasiva, más pequeña, corresponde a la, llamada por algunos autores: variedad "minuta".

El daño intestinal más frecuente es a nivel del ciego y recto-sigmoides. Los trofozoítos lumbales invaden paredes. Se supone que esta invasión estaría inducida por el tipo de dieta (rica en hidratos de carbono), factores hormonales, concentración de colesterol y presencia de diferentes cepas de bacterias en el lumen intestinal que disminuyen el potencial redox que favorecen así, indirectamente, la adherencia de las amebas a las células que invadirá. Además, hay factores locales como temperatura, pH, nutrientes, tipo de bacterias y susceptibilidad del hospedador. Una dieta hipoproteica produce una mayor susceptibilidad a la infección amebiana. Las bacterias favorecen la colonización y reproducción del protozoo, ya que bajaría el potencial óxido-redox y proporcionaría metabolitos que el parásito es incapaz de sintetizar.

Las manifestaciones clínicas, en general son: rectocolitis aguda, colitis fulminante, apendicitis amebiana, amebomas en colon y localizaciones en piel, ano, pene, etc. que producen sintomatología local y los abscesos en diferentes órganos que producirán sintomatología variable, de acuerdo con el órgano afectado y el tamaño de la lesión. Las manifestaciones digestivas pueden ser: meteorismo, dolor, alteración en la emisión de deposiciones y diarrea mucosanguinolenta.

Las localizaciones más frecuentes son: en colon 27%, hígado 28% (especialmente en el lóbulo derecho), colon e hígado 38%, pulmón 0,5%, cerebro 1,5%. La relación entre hombres y mujeres enfermos es de 8 hombres por cada mujer. El tamaño de las lesiones varía entre los 6 y 15 cm de diámetro, con contenidos de 250 a 1000 ml de material necrótico. El aspecto de este material es pastoso, achocolatado. Los protozoos deben buscarse en la perifería de estos abscesos, ya que en el centro solamente hay células muertas y destruidas.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de amebosis intestinal se puede efectuar mediante un examen parasitológico de heces, en forma directa, observando al trofozoíto y/o quiste en las heces. Para aumentar la sensibilidad deberá efectuarse un método de concentración como el de Ritchie. Si el examen en fresco de las heces sin formol se efectúa dentro de la hora de emitida la materia fecal, tiene una sensibilidad del 85%. Las heces se pueden guardar en heladera (4°C) durante cuatro horas y luego calentarlas ligeramente para lograr activar la movilidad y poder visualizar los trofozoítos móviles. El diagnóstico directo de esta parasitosis tiene el inconveniente de que solamente el hallazgo de trofozoítos con hematíes en su citoplasma, permitirían asegurar que se trata de *E. histolytica*, ya que existe otra "ameba", la *E. dispar* que presenta las mismas características morfológicas, tintoriales y morfométricas que *E. histolytica*, indistinguible por métodos parasitológicos, excepto por lo ya señalado, de *E. histolytica*. *E. dispar* no es invasiva y sería un "comensal" o bien una especie de muy escasa patogenicidad. De este modo, salvo que al encontrar trofozoítos de *Entamoeba* visualicemos hematíes en su citoplasma, el diagnóstico será: "trofozoítos y/o quistes de *Entamoeba histolytica* / *E. dispar*", ya que los quistes también son idénticos. Salvo con estudios bioquímicos o inmunológicos muy específicos y complicados o PCR, la diferenciación no es factible, máxime para un laboratorio no especializado en amebosis. El hallazgo de hematíes en heces puede ser "orientativo" para *E. histolytica*, aunque no específico. Para poder observar detalladamente la morfología nuclear hay que efectuar coloraciones Tricrómica, Hematoxilina-Eosina o Hematoxilina férrica, de material recolectado en PVA.

Los cultivos para este protozoo solo tienen importancia para la investigación, ya que en la práctica diaria no se utilizan por lo complicado de su preparación, además se trata de cultivos axénicos, libres de bacterias, lo que no es posible en un primer aislamiento; el medio más utilizado para los fines citados es el de Diamond. Gracias a estos medios se han podido cultivar y se han favorecido todo tipo de estudios bioquímicos, inmunológicos, morfológicos, etc. y la obtención de antígenos altamente purificados para la producción de tests con fines diagnósticos.

Para el diagnóstico de amebosis invasiva deberán efectuarse estudios inmunológicos, ya que una biopsia es poco recomendable y muy agresiva.

En general, la inmunidad humoral, para lesiones a nivel del colon, tiene una sensibilidad del 70%, mientras que para lesiones hepáticas es del 100%. Existe inmunidad local que permite investigar anticuerpos de secreción. Se pueden buscar coproantígenos.

Entre los tests inmunológicos para el diagnóstico indirecto podemos citar: reacción de hemoaglutinación indirecta, contrainmunolectroforesis, ELISA, test de inmunofluorescencia indirecta, PCR y Western Blot. La detección de anticuerpos en saliva es muy sensible y específica.

Con fines de experimentación se han utilizado animales para inoculación, tales como perros, gatos, monos, hámsters, conejos, ratas y ratones.

Las lesiones intestinales se pueden poner en evidencia por rectoscopia, colonoscopia, radiografía simple de abdomen o con enema baritada o arteriografía de colon. Además, la lesión se puede estudiar realizando una biopsia de la misma.

EPIDEMIOLOGIA

La amebosis es una enfermedad cosmopolita, con una mayor prevalencia en zonas tropicales y templadas. Los hábitos sanitarios observados en la manipulación de alimentos, bebidas, lavado de manos antes de comer, higiene perianal, moscas y cucarachas, etc., son los que coadyuvan a la presencia y diseminación de la enfermedad. En heces se pueden eliminar hasta 15 millones de quistes diariamente. A mediados de 1980 había 500 millones de infectados y 40 millones de enfermos en todo el mundo, considerándose que actualmente mueren, por amebosis, en el mundo entre 50.000 y 100.000 personas por año. En México, donde la población es de unos

80 millones de habitantes, 16 millones son portadores y 1.200.000 son enfermos. Los quistes sobreviven hasta 5 minutos a 50°C, toleran temperaturas de 0°C durante 90 días. A 4°C, en medio líquido, mantienen su vitalidad durante 10 a 15 días. En las heces resisten 9 días a temperaturas de 22°C y 25 días si la temperatura es de 5°C. En freezer resiste pocas horas. La cloración del agua no les afecta.

Los grupos de alto riesgo de contraer esta parasitosis son los habitantes de zonas insalubres y subdesarrolladas, enfermos de hospitales psiquiátricos, homosexuales y pacientes bajo tratamiento con corticoides. El riesgo de enfermedad invasiva aumenta en inmunosuprimidos, alcohólicos y embarazadas.

OTRAS AMEBAS INTESTINALES

Además de *E. histolytica*, existen otras "amebas" que, si bien no son invasivas y producen escasa sintomatología y muchas veces se comportan como comensales, se deben conocer para efectuar un diagnóstico microscópico correcto. Los ciclos biológicos son similares, aunque difieren, fundamentalmente, en detalles morfológicos como tamaño y estructura nuclear de trofozoítos y quistes.

Entamoeba coli

Esta especie de *Entamoeba* es perecida a *E. histolytica*. El ciclo biológico es igual. Los trofozoítos miden entre 15 y 50 µm, muy similares a los de *E. histolytica*, excepto en que, como inclusiones citoplasmáticas, tienen bacterias, nunca hematíes (no es hematófaga), la disposición de la cromatina nuclear es más irregular en la perifería, tanto en tamaño como en su distribución, y el cariosoma es exéntrico. La emisión de pseudópodos es lenta.

Los quistes miden entre 15 y 30 µm, tienen entre 1 y 8 núcleos y las barras cromidiales terminan en puntas astilladas.

Es un protozoo altamente prevalente en todo el mundo, oscilando entre el 25 y el 40% según las regiones.

Entamoeba hartmani

Esta especie es la más parecida a *E. histolytica*. Se diferencia fundamentalmente por su menor tamaño. Sus trofozoítos miden entre 4 y 12 μm y los quistes entre 5 y 10 μm . Los pequeños núcleos tienen cromatina dispuesta igual que *E. histolytica*.

Entamoeba polecki

Protozoo del intestino del cerdo, aunque en algunas ocasiones fue descrito en el hombre, por lo que se trataría de una zoonosis. Es prácticamente igual a *E. histolytica*, siendo las diferencias un cariosoma más excéntrico, un tamaño de los trofozoítos menor, entre 10 y 25 μm , y numerosas vacuolas digestivas en su citoplasma, aunque nunca hematías. Los núcleos son uninucleados y en escaso porcentaje (1%) binucleados.

Endolimax nana

Los trofozoítos, que miden entre 6 y 15 μm , son poco móviles, se caracterizan por poseer las características nucleares de este género: un grueso cariosoma central, muy bien visible y coloreado, el que puede estar excéntrico o adosado a la membrana nuclear, permitiendo la visualización de un halo claro entre él y la membrana del núcleo.

Los quistes, de 8 a 10 μm , tienen forma ovalada y contienen entre uno y cuatro núcleos con las mismas características de los trofozoítos.

Iodamoeba buetschlii

Este género debe su nombre a una característica vacuola yodófila que ocupa más de la mitad del quiste.

Los trofozoítos miden entre 6 y 25 μm , con citoplasma vacuolado y bacterias en su interior. El núcleo se presenta con las características correspondientes al género *Iodamoeba*: cariosoma central o excéntrico, con cromatina dispuesta alrededor del mismo, como rulos, dándole aspecto de una diminuta flor que permite visualizar un espacio claro entre esta estructura y la membrana nuclear.

Los quistes, de 6 a 18 μm , piriformes, con la típica vacuola que se tiñe perfectamente con lugol y que ocupa más de la mitad del mismo, en la parte más ancha. El núcleo se encuentra en la región más estrecha del quiste, con las características nucleares ya descritas.

Dientamoeba fragilis

Claudia Menghi
Claudia Gatta

INTRODUCCIÓN

A pesar de haber sido descrito hace 87 años, el protozooario *Dientamoeba fragilis* presenta algunas incógnitas que aún no han sido completamente dilucidadas, tales como su patogenicidad, modo de transmisión y ciclo de vida. La presencia de diversos síntomas clínicos en muchos pacientes condujo a asignarle a este parásito un probable rol patógeno. Con el transcurso del tiempo, el criterio acerca de su patogenicidad se ha fortalecido, pues el 50% de los infectados presentan algunas alteraciones gastrointestinales.

D. fragilis fue inicialmente descubierta por Wenyon y posteriormente descrita por primera vez por Jepps y Dobell en 1918 (Jepps y Dobell, 1918). Desde entonces, su clasificación taxonómica ha presentado numerosos cambios. En 1980 *D. fragilis* fue reclasificada en el orden Trichomonadida, junto con *Histomonas*, *Monocercomonas*, y *Trichomonas*. Hasta la actualidad no se conocen las formas quísticas de *D. fragilis*. Su ubicación taxonómica se basa en las afinidades ultraestructurales, inmunológicas y moleculares con *Histomonas meleagridis* (Figura 1) (Stark *et al.*, 2006a).

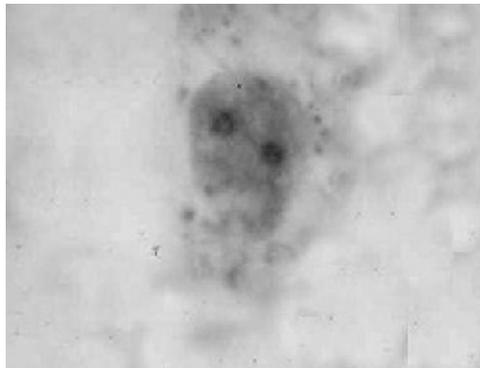


Figura 1. *Dientamoeba fragilis*

Reino: Protista
Subreino: Protozoa
Phylum: Sarcomastigophora
Subphylum: Mastigophora
Clase: Zoomastigophora
Orden: Trichomonadida
Familia: Monocercomonadidae
Género: *Dientamoeba*
Especie: *fragilis*

Características morfológicas y manifestaciones clínicas

Las formas vegetativas presentan 2 núcleos conectados entre sí por un filamento (centrodesmo), que corresponde a un estadio de telofase detenida, y se observa en un 20 a 80 % de los trofozoitos. Estos miden entre 5 y 15 μm de diámetro y contienen en su citoplasma vacuolas alimenticias con bacterias, gránulos de almidón y elementos celulares. Los núcleos están formados por 4, 6 o más gránulos de cromatina dispuestos en forma de roseta. *D. fragilis* habita principalmente en el ciego, aunque a veces puede localizarse en todo el intestino grueso.

Muchos investigadores consideran a este parásito como un comensal, pero se han registrado algunos síntomas tales como episodios de diarrea, vómitos, náuseas, flatulencia y otros trastornos gastrointestinales. En algunas ocasiones estos síntomas remitieron luego del tratamiento. (Hakansson, E.G, 1936; Burrows y Swerdlow, 1954; Burrows y Swerdlow, 1956; Yang y Scholten, 1977; Ayadi y Bahri, 1999; Crotti y D'Annibale, 2001; Stark *et al*, 2005a).

Borody *et al* asociaron la presencia de *Dientamoeba fragilis* con el síndrome de colon irritable. Este sería el único informe, hasta el momento, que relaciona la presencia de este parásito con esta patología (Borody *et al*, 2002).

DIAGNÓSTICO

Las coloraciones húmedas no aportan información para realizar un diagnóstico de certeza; pero un microscopista experto puede sospechar su presencia. En el examen en fresco los trofozoitos presentan un aspecto granulado sin que se observen los núcleos, aunque en ocasiones pueden ser reconocidos. El material que se fija en SAF es el más adecuado para detectar los núcleos.

Las coloraciones permanentes, ya sea tricrómica o hematoxilina férrica, permiten la observación de los núcleos característicos que contribuiría a la confirmación del diagnóstico (Méndez, O. C., 1998). Figura 1.

Algunos autores han utilizado con éxito las técnicas de cultivo para el diagnóstico de *D. fragilis*. (Sawangjaroen *et al*, 1993; Clark y Diamond, 2002; Windsor *et al*, 2003). Sin embargo, el cultivo de protozoarios intestinales es desde el punto de vista técnico dificultoso, consume tiempo y no es aplicable al laboratorio parasitológico de rutina. Uno de los inconvenientes del cultivo consiste en que las muestras deben ser inoculadas en forma inmediata debido a que los trofozoitos se deterioran rápidamente en el medio externo y a temperatura ambiente. Los intentos para cultivar *D. fragilis* en medios axénicos han fracasado (Clark y Diamond, 2002).

No existen actualmente pruebas serológicas para el diagnóstico de *D. fragilis* disponibles en el comercio.

En la actualidad, se han desarrollado algunos protocolos de biología molecular para la detección de *D. fragilis* (Peek *et al*, 2004; Stark *et al*, 2005b). Recientemente se desarrolló una PCR en tiempo real ("Real Time PCR") utilizando materia fecal humana (Stark *et al*, 2006a).

Las técnicas moleculares, si bien no son de uso rutinario en un laboratorio de parasitología, permiten un diagnóstico rápido, sensible y específico de este parásito.

Mediante el uso de PCR-RFLP, algunos investigadores analizaron los genes ribosomales de 12 aislamientos de *D. fragilis* que crecieron en cultivos xénicos. (Johnson y Clark, 2000). Según estos autores, organismos corrientemente descriptos como *D. fragilis* representan como mínimo dos entidades genéticas significativamente distintas correspondientes a los genotipos 1 y 2. Tanto en estudios realizados en Holanda como en Australia coincidieron en que el genotipo 2 es poco frecuente en comparación con el genotipo 1 (Peek *et al*, 2004; Stark *et al*, 2005a). Hasta el momento no se halló correlación alguna entre esos genotipos y la patogenicidad.

EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de infección por *D. fragilis* varía entre 1.5 y 20%, pero puede ser aún mayor en algunos grupos institucionales (asilos mentales, grupos de indígenas). La frecuencia de aparición de este parásito se eleva cuando se utilizan las coloraciones permanentes a partir de muestras adecuadamente fijadas con alcohol polivinílico (PVA).

En nuestro país hay pocos datos de prevalencia del parásito. En una población hospitalaria mixta (adultos y niños) se halló 9.27% y en otra con mayor proporción de población pediátrica fue de 16.10%. (Menghi *et al*, 2000a y Menghi *et al*, 2000b).

El mecanismo de su transmisión no ha sido completamente dilucidado. El parásito no forma quistes, y se postula que no puede sobrevivir en la parte alta del tubo digestivo. Las tentativas para transmitir la infección por vía oral han fracasado (Dobell, 1940). Es posible que este organismo sobreviva durante la transmisión en los huevos de *Enterobius vermicularis*, de la misma forma que *Histomonas meleagridis*-relacionado filogenéticamente con *D. fragilis*- se transmitiría por medio de los huevos de *Heterakis gallinarum* (Dobell, 1940; Burrows y Swerdlow, 1956). En una publicación reciente mediante la utilización de técnicas moleculares, se detectó la presencia del DNA de *D. fragilis* sobre la superficie externa del huevo de *Enterobius vermicularis* (Menghi et al, 2005). Este hallazgo representa un avance en el conocimiento acerca de la transmisión de este protozoario.

REFERENCIAS:

- Ayadi, A. y Bahri, I.,1999. *Dientamoeba fragilis*: flagelle pathogene? Bull. Soc. Path. Exot. 92: 299-301.
- Borody et al. 2002. Eradication of *Dientamoeba fragilis* can resolve IBS-like symptoms. J. Gastroenterol. Hepatol. 17, A103.
- Burrows, R.B, Swerdlow, M.A, Frost, J.K y Leeper, C.K, 1954. Pathology of *Dientamoeba fragilis* infections of the appendix. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 3: 1033-1039.
- Burrows, R.B, Swerdlow, M.A. 1956. *E. vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. Am. J. Trop. Med. 5. 258.
- Clark, C. G. y Diamond L. 2002. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin. Microbiol. Rev. 15: 329-341.
- Crotti, D. y D'Annibale, M.L, 2001. *Dientamoeba fragilis* e dientamoebosi: Aspetti di parassitologia clinica e diagnostica di laboratorio. Parassitologia 43: 135-138.
- Dobell, C., 1940. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life-history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. Parasitol. 32: 417-461.

- Hakansson, E.G, 1936. *Dientamoeba fragilis*, a cause of illness. Report of a case. Am. J. Trop. Med. 16: 175
- Jepps, M.W. y Dobell, C. 1918. *Dientamoeba fragilis n.g.,n.sp.*, a new intestinal amoeba of man. Parasitol.,10:352.
- Johnson, J. A. y Clark C. G. 2000. Cryptic genetic diversity in *Dientamoeba fragilis*. J. Clin. Microbiol. 38: 4653-4354.
- Menghi, C, Clementel V, Gatta, C., Szmulewicz G. y Méndez O. C. Infecciones por *Dientamoeba fragilis*. Hospital de Clínicas. UBA. III Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1 añ 4 de noviembre de 2000a.
- Menghi, C., Gatta, C., Clementel V., Zadcovich S., Szmulewicz G. y Méndez O. C. Infecciones simultáneas entre *Dientamoeba fragilis* y *Enterobius vermicularis*. III Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1 añ 4 de noviembre de 2000b.
- Menghi, C., Makiya R., Gatta C., y Méndez O.C. 2005. *Dientamoeba fragilis*: técnicas moleculares para dilucidar su modo de transmisión. Parasitol. Latinoam. 60: 25-31.
- Méndez, O.C., 1998. Lecciones prácticas sobre enteroparasitosis humanas. Ed. Fed. Bioq. de Buenos Aires.
- Peek, R. et al. 2004. Direct amplification and genotyping of *Dientamoeba fragilis* from human stool specimens. J. Clin. Microbiol. 42: 631-635.
- Sawangjaroen, N. et al. 1993. Diagnosis by faecal culture of *Dientamoeba fragilis* infections in Australian patients with diarrhoeae. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 87: 163-165.
- Silberman, J.D, Clark, C.G.; Sogin, M.L.1996. *Dientamoeba fragilis* shares a recent common evolutionary history with the trichomonads. Mol. Biochem. Parasitol. 76: 311-314.
- Stark, D. J., Beebe, N., Marriot D., Ellis J. T., y Harkness J. 2005a. Prospective study of the prevalence, genotyping, and clinical relevance of *Dientamoeba fragilis* infections in an Australian population. J. Clin. Microbiol. 43: 2718-2723.

- Stark, D. J., Beebe, N., Marriot D., Ellis J. T., y Harkness J. 2005b. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. Int. J. Parasitol. 35: 57-62..
- Stark, D. J., Beebe, N., Marriot D., Ellis J. T., y Harkness J. 2006a. Dientamoebiasis: clinical importance and recent advances. Trends in Parasitology. 22: 92-96.
- Stark, D. J., Beebe, N., Marriot D., Ellis J. T., y Harkness J. 2006b. Evaluation of three diagnostic methods, including Real-Time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. J. Clin. Microbiol. 44: 232-235.
- Windsor, J. J. et al. 2003. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. Br. J. Biomed. Sci. 60: 79-83.
- Yang, J. y Scholten, TH.,1977. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 26, 1, 16-22.

Blastocystis Hominis

María Cristina Salomón
Rosa Lydia Tonelli

INTRODUCCIÓN

Blastocystis hominis fue descrito en 1911 por Alexieff como un quiste de protozoo y ubicado en el género *Blastocystis*. En 1912 Brumpt lo clasificó como una levadura. Aunque hoy se sabe que es un protozoo, se deben a Brumpt los primeros dibujos del microorganismo como se muestra en la Fig.1.

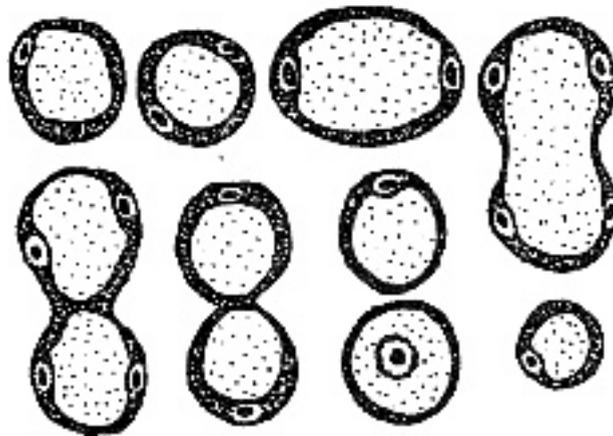


Fig. 1. Formas evacuadas después del purgante, con numerosas formas en división de *Blastocystis hominis*. X 1.800 (Brumpt).

Los investigadores argentinos Mazza, Greenway y Castex citados por el mismo Brumpt, fueron los primeros en considerarlo un protozooario intestinal patógeno. Sin embargo, su taxonomía ha sido ampliamente debatida y durante años se lo ha considerado como un hongo de la clase Adelomicetos. Es recién en 1967 en que los trabajos de Zierdt y colaboradores permitieron clasificarlo como un protozooario sobre la base de sus características morfo-fisiológicas. Sin embargo, recientes estudios ultraestructurales y moleculares (DNAr 16s), hacen pensar que su situación taxonómica no es estable y puede ser modificada en años futuros.

La relevancia clínica y papel patógeno de *Blastocystis hominis* a nivel del tracto digestivo son ítems no menos controvertidos; por años considerado un inofensivo comensal del intestino humano y otros primates, cada vez es mayor el número de autores que lo reconocen como agente etiológico de enteritis y otras manifestaciones intestinales en sujetos inumocompetentes e inmunosuprimidos y ha sido propuesto como agente causal de diarrea del viajero.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La última revisión taxonómica en 1993 lo ubica como:

Reino:	Protista
Subreino:	Protozoa
Phylum:	Sarcomastigophora
Subphylum:	Blastocysta
Orden:	Blastocystida
Género:	<i>Blastocystis</i>
Especie:	<i>hominis</i>

BIOLOGÍA

Es un anaerobio estricto y requiere la presencia de bacterias para crecer en medios de cultivo, salvo que sea sometido a axenización bajo condiciones cuidadosamente controladas. No desarrolla en medios sólidos. Su temperatura óptima de crecimiento es 37°C. Muy sensible a la desecación y a drogas antiprotozoarios, es resistente a altas concentraciones de Anfotericina B. Su reproducción es principalmente por fisión binaria pero también esquizogonia, endodiogenia. Tiene capacidad para digerir bacterias, presenta endosimbiontes bacterianos y se desplaza por la emisión deseudópodos.

MORFOLOGÍA

Posee todas las estructuras básicas de un protozoo, aparato de Golgi, mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y liso; no posee pared celular. Presenta una membrana bilaminar que está rodeada por una envoltura mucilaginosa la cual podría funcionar como un mecanismo inespecífico de reconocimiento implicado en la adhesión y fagocitosis de bacterias (Fig. 2)

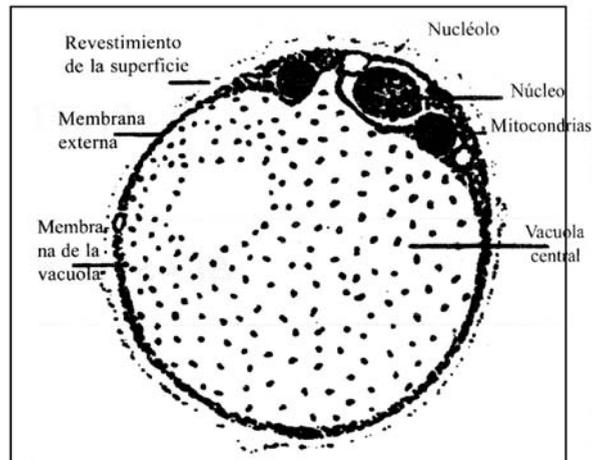


Fig. 2. Forma típica vacuolar y madura de *Blastocystis*

Existe bajo tres formas diferentes: vacuolar, ameboide y granular.

La forma vacuolar es redondeada con un diámetro de 8 – 10 μm . La gran vacuola central ocupa entre el 50 al 95% de la superficie total del microorganismo quedando el citoplasma restringido a una delgada banda perivacuolar que contiene los núcleos en número de hasta 4. Es la forma que habitualmente aparece en las heces y está relacionada a la multiplicación esquizogónica.

La forma ameboide es irregular, lobulada de 10 - 15 μm , no posee vacuola, contiene lisosomas y ocasionalmente inclusiones lipídicas. Emite pseudópodos. Es común encontrarla en cultivos viejos aunque suele verse en heces como única forma presente. Puede ser confundida con leucocitos en degeneración de los que se la debe diferenciar por coloraciones.

La forma granular es esférica de mayor tamaño, 15-25 μm . Se desarrolla en cultivos que contiene suero y raramente se encuentra en heces. El aspecto granular de su citoplasma es debido a que posee gran cantidad de mitocondrias y a la presencia de subproductos metabólicos.

Las formas ameboides y granular derivan de la vacuolar. En humanos, la forma encontrada más frecuentemente es la vacuolar, observándose formas ameboides sólo en heces diarreicas.

En heces humanas examinadas en forma directa no se han observado quistes de este microorganismo, sin embargo desde que en 1997 se publicara la primera descripción de quistes de *Blastocystis* obtenidos en cultivos in vitro de materia fecal de ratas, muchos son los autores que se han abocado a la investigación de los procesos de enquistamiento de este microorganismo. Así se ha comprobado la formación de dos tipos de quistes, uno con una cubierta fibrosa y otros sin ella siendo la estructura interna de ambos muy similar. El estudio de los quistes por microscopía electrónica de barrido reveló que, si esta cubierta fibrosa está intacta, la pared externa envuelve al quiste a manera de abanico presentando una superficie granular; si está fragmentada se adhiere a otros quistes o bacterias formando grupos irregulares.

Durante la enquistación ocurren cambios ultraestructurales que se han observado en cultivos de *Blastocystis* spp. aislados de cerdos. Estos incluyen modificaciones en las mitocondrias, espacio intermembranoso y superficie del parásito sin que esté dilucidado el rol de estos cambios en la fisiología del microorganismo.

Se ha seguido también la cinética de enquistación. La diferenciación entre formas trofozoíticas y quísticas fue determinada por recuento diferencial antes y después del agregado de agua destilada y se ha visto que las curvas de formas trofozoíticas y quísticas estaban relacionadas (el aumento de una se correlaciona con la disminución de la otra). El máximo de formas quísticas fue encontrado entre el 6to y 7mo día. Por otra parte con coloración diferencial de naranja de acridina se detectaron dos poblaciones de quistes, prequistes con fluorescencia amarillo anaranjada y quistes con fluorescencia verde, con curvas también relacionadas.

El proceso de desenquistamiento se ha observado en medio de Jone con 10% de suero bovino. Los quistes desarrollaron en la forma vacuolar dentro de las 24 hs. y el único modo de reproducción observado fue la fisión binaria. Previo al desenquistamiento, las células hijas se rodean de la cubierta externa fibrosa y luego emergen a través de una apertura en la cubierta fibrilar externa. Durante el proceso, los quistes disueltos dejan delgados remanentes membranosos.

En infecciones experimentales en ratones se ha encontrado la forma quística en colon, mientras que las formas vacuolar y granular han sido observadas en el ciego.

EPIDEMIOLOGÍA

Parásitos del género *Blastocystis* han sido aislados de una gran variedad de hospedadores, mamíferos, aves, reptiles y peces, siendo las especies reconocidas hasta el presente *B. cycluri*, *B. hominis*, *B. lapemi*, *B. pythoni* y *B. ratti*. Ellas presentan diferencias cariotípicas y/o un perfil proteico diferencial obtenido por electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecil sulfato (SDS-PAGE) y Western-blot con anticuerpo policlonal.

En casos de aislamientos obtenidos de perros y gatos, permanece oscuro si se trata de subgrupos de la misma especie o de especies distintas del mismo género. En estos hospedadores, las formas parasitarias son de menor tamaño que el aislado de humanos y generalmente univacuolados en vez de multivacuolados, mientras que el resto de las características morfológicas no presentan diferencias. En estos hospedadores, las tasas de prevalencia publicadas en Brisbane, Australia, son de 70,8% para los perros y 67,3% para los gatos, lo que demuestra la necesidad de establecer con certeza si ellos constituyen una fuente de infección humana ya que, en muchos países del mundo, conviven con el hombre.

Si bien la morfología de *Blastocystis* varía muy poco de un hospedador a otro, es un parásito que presenta gran heterogeneidad genética y bioquímica. *Blastocystis* aislados de monos mostraron un patrón de productos de amplificación para la técnica de RAPD muy similar al presentado por los aislamientos provenientes de humanos por lo cual se piensa que es la misma cepa.

El criterio actual indica que los organismos aislados de humanos deben ser designados como *B. hominis*, pero aún dentro de una especie, se han descrito diferencias genómicas entre aislamientos de distinta procedencia. Los productos de amplificación al mismo set de cebadores son diferentes según el aislamiento.

Las diferencias bioquímicas no son menos notorias; a nivel isoenzimático, se han descrito 5 patrones para hexoquinasa, 11 para fosfoglucomutasa y 35 para glucosa fosfato isomerasa mostrando que *Blastocystis hominis* es altamente polimórfico.

Se piensa que el diferencial rol patógeno del microorganismo podría estar relacionado a la gran heterogeneidad genética y bioquímica que presenta, pero aún no se han obtenido datos concluyentes.

El ciclo biológico comprobado experimentalmente en ratones es directo con una vía de ingreso digestiva por lo que se piensa que en humanos la transmisión ocurre persona a persona, por contaminación fecal-oral, aunque la vía de infección a través de aguas o verduras contaminadas no puede ser desconocida.

Si bien son muy escasas las publicaciones sobre infecciones causadas por agua o alimentos que reconocen a *B. hominis* como agente causal, es un potencial patógeno y no hay razones para pensar que no pueda transmitirse por alimentos contaminados.

Dado que los métodos actualmente en uso para detectar parásitos en aguas y alimentos, útiles para *Giardia* y *Cryptosporidium* no parecen óptimos para *Blastocystis*, se busca en este momento otras alternativas. Es de esperar, que las técnicas de citometría de flujo, biología molecular y microscopía laser confocal contribuyan a mejorar el diagnóstico de *Blastocystis*, considerado un potencial problema en las enfermedades transmisibles por aguas y alimentos.

Por otra parte se ha pensado que las prácticas homosexuales constituirían un factor agravante en la diseminación, sin embargo, en un grupo de homosexuales estudiados, pese a presentar una prevalencia de protozoosis del 57%, con un 16% para *B. hominis*, no se ha podido encontrar relación entre prácticas homosexuales y presencia del parásitos en heces.

Su distribución geográfica es de tipo cosmopolita, sin embargo se ha visto que aislamientos de diferentes regiones geográficas presentan distintos genotipos. No están descriptas variaciones estacionales.

El Cuadro 1 presenta datos de prevalencia en distintas partes del mundo:

En Argentina, en la ciudad de la Plata se publican, en niños de hasta 14 años en tres diferentes poblaciones, prevalencias de 25, 32 y 48%, datos que concuerdan con nuestra experiencia en el Área de Parasitología de la Facultad de Ciencias Médicas, U.N. de Cuyo, en los que se ha encontrado para la ciudad de Mendoza en niños de la misma edad, 37,7% de frecuencia para *Blastocystis hominis*. En población adulta la cifra es superior con 52,6% siendo en este caso el parásito más frecuente seguido por *Giardia* con 42%.

LUGAR	FRECUENCIA %
Japón	0,5
Arabia	13,99
Rep. Arabe Saharaui Dem. (NO de Africa)	22
Indonesia	60
España (Valencia)	16,5
USA (Phoenix)	8,4
Venezuela (Bolívar)	16,8
Paraguay	71,3
San Pablo Brasil	2,94
Chile	27,6 a 36 *
Argentina	25 a 48*

* según poblaciones

Cuadro 1: Frecuencia de aparición de *B. hominis* en diferentes regiones del mundo.

El hecho de que la frecuencia de *Blastocystis* aumente con la edad, permite inferir que este microorganismo no produce una respuesta inmune progresiva.

En Corrientes, en población adulta se informa 49% para *Blastocystis* seguido por 35% para *Giardia*, siendo también en esta ciudad el parásito más frecuente.

Merece destacarse el hecho de que, los datos de prevalencia en el ámbito mundial muestran una gran dispersión. Esto podría obedecer a múltiples factores, entre ellos a distintas poblaciones y cohortes estudiadas, desconocimiento del parásito y/o de su rol patógeno (lo que llevaría a un subregistro), diferente sensibilidad de los métodos empleados para la detección y a factores dependientes del parásito que aún desconocemos.

Como para otras parasitosis, se ha comprobado que la incidencia de *B. hominis* en personas que trabajan con animales es significativamente mayor que en el resto de la población lo que hace necesario profundizar los estudios sobre otros hospedadores potencialmente capaces de transmitirlo al hombre.

ACCIÓN PATÓGENA Y SINTOMATOLOGÍA

Tan controvertida como fuera en otros tiempos su taxonomía, es hoy la patogenicidad de *Blastocystis hominis*.

Experimentalmente se ha visto en ratas que si bien no es invasivo, es capaz de producir una reacción inflamatoria importante y edema de la lámina propia a nivel intestinal. La inyección intramuscular de cultivo axénico de *B. hominis* en músculo provocó una importante reacción inflamatoria y mionecrosis, con infiltrado de polimorfonucleares en el sitio de inyección indicando que el parásito tiene una fuerte actividad quimiotáctica para polimorfonucleares.

Cuando *B. hominis* aislados de portadores asintomáticos y pacientes sintomáticos fueron cultivados in vitro para testear su efecto citopático sobre células CHO (Chinese Hamster Ovary) y HT29 (Adenocarcinoma) se vio que en ambos tipos celulares los parásitos vivos fueron capaces de producir efecto citopático dependiendo su magnitud de la concentración de parásitos usados, sin embargo este efecto se obtuvo por igual con los aislamientos de portadores asintomáticos como de pacientes sintomáticos.

Resultados no más concluyentes se han obtenido cuando se ha tratado de relacionar la presencia de sintomatología con la existencia de *B. hominis* como único parásito intestinal. Ha sido encontrado en un número significativamente mayor de muestras de heces diarreicas que de controles no diarreicos en los que sólo un 10% de ellas lo presentaban como único parásito.

Algunos trabajos publican que se encuentra en el 25% de personas asintomáticas, mientras que en otros se lo reconoce como agente causal del 5% de las diarreas.

En numerosos trabajos se ha asociado su poder patógeno a la cantidad de microorganismos eliminados por las heces y consideran blastocystosis a toda infección en que el número de formas parásitas observadas por campo microscópico de 40x sea igual o mayor a 5. Actualmente se ha visto que *B. hominis*, al igual que otros protozoarios intestinales, es eliminado en forma irregular por las heces, (se han observado variaciones diarias desde diecisiete a cero parásitos por campo microscópico de 40X observados en distintos días) por tanto, creemos irrelevante tratar de justificar el poder patógeno con el número de parásitos encontrados en las muestras.

Sin embargo cada vez son más las publicaciones que catalogan a este microorganismo como patógeno capaz de producir dolor abdominal, diarrea de variada intensidad

y periodicidad además de náuseas y vómitos. También se han descrito como sintomatología asociada a blastocystosis, flatulencia, distensión abdominal y cólicos. En menor proporción se lo ha señalado como agente de urticarias crónicas, sinovitis y se estudia su asociación a síndromes de irritación intestinal. La presencia de *Blastocystis* ha sido asociada también a obstrucciones intestinales por cáncer.

En otros casos se ha visto al parásito produciendo una diarrea aguda con infiltración focal de neutrófilos en la mucosa rectal.

En cuanto a la duración de la sintomatología, experimentalmente, la parasitosis resultó autolimitada en ratones presentando pérdida de peso y letargia, mientras que trabajos realizados en humanos refieren una parasitosis generalmente asintomática y autolimitada.

El rol de una inmunosupresión como factor predisponente a presentar mayor grado de infección y/o sintomatología no está dilucidado y no hay acuerdo entre los investigadores respecto de la real importancia de *Blastocystis* como causante de los síntomas gastrointestinales en pacientes inmunosuprimidos. En un grupo de paciente con neoplasias hematopoyéticas no se ha encontrado relación entre la sintomatología y la presencia de *Blastocystis* en heces con respecto al grupo control. En cambio, en estudios sobre receptores de trasplantes renales su presencia estuvo significativamente asociada a la presentación de sintomatología. Por otra parte, fue *Blastocystis* junto a *Cryptosporidium* los parásitos más frecuentes en ese grupo.

Una mención aparte merece la parasitación por *B. hominis* en inmunosuprimidos por VIH, caso en que la mayoría de los autores lo reconocen como patógeno oportunista capaz de producir diarreas no autolimitadas y recomiendan su erradicación.

Se busca la razón de estos controvertidos resultados en la gran heterogeneidad genética y el marcado polimorfismo de *B. hominis* que han permitido describir al menos 7 tipos morfológicamente idénticos pero genéticamente muy distintos basándose en los resultados de riboprinting por el cual se estudiaron variaciones en las secuencias del RNA de la unidad ribosomal 16s. A nivel bioquímico, se ha comprobado por SDS-PAGE la existencia de cepas con diferente capacidad patogénica. Mientras que los patrones proteicos llamados I y II fueron aislados de pacientes con diarrea crónica, el patrón proteico III se observó en aislados de pacientes con diarrea aguda.

Se ha postulado una respuesta de tipo IgG2 a antígenos carbohidratos de *B. hominis* en pacientes con sintomatología.

DIAGNÓSTICO

En general el diagnóstico es directo y debe ser realizado en forma seriada como para otras parasitosis intestinales. Se ha publicado que la obtención de muestras por escobillado rectal mejora la sensibilidad de los métodos. Las heces diarreicas deben ser examinadas por microscopía de preparaciones en fresco o con el agregado de una gota de tinta china para visualizar la cápsula mucosa que rodea al parásito. Pueden también realizarse la tradicional coloración de Giemsa a un frotis fecal, lo que permite, además de colorear el parásito, identificar los leucocitos ya que la presencia de eosinófilos en las heces es un dato auxiliar de importancia en la determinación de la etiología parasitaria de la diarrea.

En muestras no diarreicas es necesaria la realización de método de concentración por centrifugación. Se han utilizado con éxito la técnica de Telemann modificada aunque las formas vacuolares se observan también en concentraciones por flotación como Sheather y Willis.

Puede ser cultivado en medio de Boeck-Drbohlav NHI modificado y suplementado con antibióticos (0.4% ampicilina, 0.1% estreptomycin, 0.0006% anfotericina B), sin embargo, como en otras parasitosis intestinales, los cultivos no mejoran la sensibilidad de los exámenes en fresco.

El diagnóstico indirecto de la infección con *B. hominis* no es posible debido a la falta de respuesta de los hospedadores a las proteínas del parásito.

TRATAMIENTO

La droga de elección tradicional es el metronidazol a dosis de 750 mg c/8 h durante cinco días. Recientemente se ha probado trimetoprima sulfametoxazol con éxito tanto en niños como en adultos. La dosis aconsejada en niños es 6 mg/kg trimetoprima, 30 mg/kg sulfametoxazol. En adultos 320 mg/kg trimetoprima, 1600 mg sulfametoxazol por día durante 7 días. Con este esquema terapéutico se logró la negativización en el 94,7 y 93,3 % de los casos, la desaparición de los síntomas en 73,6% y su disminución en el 18,9% mientras que en 1,9% no se observó desaparición de síntomas ni de parásitos.

Ha sido probada también rifaximina 600 mg en un grupo de pacientes infectados

con VIH; 3 veces al día por 14 días erradicaron a *Blastocystis* y *Cryptosporidium* y se observó la desaparición de los síntomas.

Sin embargo por recientes estudios de viabilidad in vitro con aislamientos humanos de distintos lugares como Bagladesh, Indonesia, Singapur y Malasia ha demostrado una sensibilidad diferencial a distintas dosis de la droga.

PROFILAXIS

Como para otros parásitos intestinales con igual vía de infección los principales pilares de la profilaxis son:

- a- adecuado destino de las excretas.
- b- vigilancia epidemiológica de manipuladores de alimentos.
- c- educación sanitaria de la población.
- d- control de aguas de consumo.

En el caso de *Blastocystis hominis* en particular es indispensable para lograr algún éxito en la profilaxis, llamar la atención de los profesionales de la salud sobre la necesidad de evitar la contaminación ambiental con un microorganismo cuya capacidad patógena esté, posiblemente subestimada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Al FD and Hokelek M. Is *Blastocystis hominis* an opportunist agent? *Turkiye Parazitoloj Derg.* 2007;31(1):28-36
2. Amenta M, Dalle Nogare ER, Colomba C, Prestileo TS, Di Lorenzo F, Fundaro S, Colomba A, Ferrieri A. Intestinal protozoa in HIV-infected patients: effect of rifaximin in *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* infections. *J. Chemoter Oct*, 11(5): 391-5, 1999.
3. Amin, AM, *Blastocystis hominis* among apparently healthy food handlers in Jeddah, Saudi Arabia. *J-Egypt-Soc-Parasitol. Dec*; 27(3): 817- 23, 1997.
4. Minvielle MC, Pezzani BC, De Luca MM, Cordoba MA, Apezteguia M, Basualdo J. Epidemiological survey of *Giardia* spp and *Blastocystis hominis* in an Argentinian rural community. *Korean Journal of Parasitology.* 42: 61- 66, 2004.

5. Brumpt, E, Précis de parasitologie, Mason & Cie., Paris, Cap. 5, 2.006, 2.008,1949.
6. Bonti S. Enteroparasitosis en el dto de Lavalle Mendoza, Medicina, Vol. 59 SUP. III 41, 1999.
7. Carbajal JA, Villar J, Lanuza MD, Esteban JG, Muñoz C y Borrás R. Significación clínica de la infección por *Blastocystis hominis*: estudio epidemiológico. Med.Clin (Barc), 108:16 608-612, 1997.
8. Devera RA, Punos GN, Velasquez VJ, Catanese JA, Meneses RG. Prevalence of *Blastocystis hominis* infection in schoolchildren from Bolivar City, Venezuela, Bol Chil Parasitol. Jul-Dec; 52(3-4): 77-81, 1997.
9. Devera R, *Blastocystis hominis*: o enigma continua. Revista de la Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 31(5):491- 492,1998.
10. Gamboa MI, Basualdo JA, Kozubsky L, Costas E, Cueto Rua E. Prevalence of intestinal parasitosis within three population groups in La Plata, Argentina. European Journal of Epidemiology 14:55-611, 1998
11. García LS, Bruckner DA, Clancy MN. Clinical relevance of *Blastocystis hominis*. Lancet. 1:1.233-1.234, 1984
12. García Pascual L, Bartolomé R, Cuenca R, San José A. Enteritis por *Blastocystis hominis*. Med. Clin (Barc). 91:797, 1988.
13. Horiki N, Maruyama M, Fujita Jyonekura T, Minato S, Kaneda Y. Epidemiologic survey of *Blastocystis hominis* infection in Japan, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 56:370-374, 1997.
14. Jelinek T, Peyerl G, Loscher T, von Sonnenburg F, Nothdurft HD. The rol of *Blastocystis hominis* as a possible intestinal pathogen in travellers. J Infect Jul;35(1):63-66, 1997.
15. Karanis P, Kourenti C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a Worldwidw review of outbreaks and lessons learnt. J. Water Health 5(1): 1-38, 2007

16. Mercado R, Otto JP, Musleh M, Perez M, Human Infeccion humana por protozoos y helmintos intestinales en la Comuna de Calbuco, X Region de Chile, Bol Chil Parasitol. Jan-Jun; 52(1-2): 36-8 1997.
17. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Chen XQ, Yap EH. Development of Blastocystis hominis cysts into vacuolar forms in vitro, Parasitology Reserch, 85, 2: 103-108, 1999.
18. Pakandl M, Blastocystis sp from pigs: ultraestructural changes occuring during polyxenic cultivation in Iscove's modified Dulbecco's medium. Parasitology reserch 85 , 8/9: 743-748, 1999.
19. Paricio Talayerol JM, Santos Serrano L, Fernandez Feijoo A, Ferriol Camacho M, Rodriguez Serrano F, Brañas Fernandez P. Examen de salud de niños de vacaciones en España. An Esp Pediatr 49:33-38, 1998.
20. Pires de Mto C, Amato Neto V, Braz LMA, Carignani FL, Villela MSH, Pinto T H L, Di Prieto Fernandes AO, De Marchi Casadei RM, Blastocystis hominis. Diagnóstico por exame direto e por coloração com tionina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 31 (sup1):188, 1998.
21. Salomón C, Carrizo A, Tonelli R, Borremans G, Bertello, D. Frecuencia de parásitos intestinales en una población infantil en Mendoza. Argentina. Medicina. Vol.57, SUPL. III:64 1997.
22. Salomón C, Tonelli R, Borremans G, Bertello D, Mana C. Estudio retrospectivo: frecuencia y asociaciones parasitarias encontradas en heces de pacientes atendidos en los últimos 40 años. Medicina, Vol. 59 SUP. III p 55. 1999.
23. Vannata JB, Adamson D, Mullican K. Blastocystis hominis infection presenting as recurrent diarrhea. An Inter. Med. 102:495-496. 1985.
24. Vennila GD, Suresh Kumar G, Khairul Anuar A, Rajah S, Saminathan S Ramakrishnan K. Short comunicacion: Irregular shedding of Blastocystis hominis Parasitology Reserch 85(2):162-164. 1999.

25. Zaman V, Zaki M, Manzoor M, Howe J, Ng M. Postcystic development of *Blastocystis hominis*. *Parasitology reserch*, 85 , 6 :437-440, 1999.
26. Zdero M, Cabrera G, Ponce de Leon P, Nocito I, Echenique C. Parasitosis en una población adulta con trastornos gastrointestinales crónicos. *Acta Gastroenterol Latinoam* 27(2):92-7, 1997.
27. Zierdt CH, Rude WS, Bull BS, Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *A, J Clin pathol*; 48: 495-501, 1967.

GIARDIOSIS

Sixto Raul Costamagna

Con el nombre de GIARDIOSIS se conoce a la parasitosis, cosmopolita, producida por el protozoo flagelado *Giardia lamblia* (o *G. intestinalis*) visualizada por primera vez por el inventor del microscopio, Leeuwenhoek en 1681, quien lo observó en sus propias materias fecales.

Se presenta predominantemente en niños (se la conoce como parasitosis de las "guarderías infantiles"). En la actualidad se observa un aumento en la incidencia, no solo en los países tropicales sino también en los no tropicales. Se estima que el número de infecciones anuales en humanos es de 280 millones.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA:

Sub-Reino: Protozoa

Clase: Zoomastigophorea

Orden: Diplomonadida

Familia: Hexamitidae

Género: *Giardia*

Especie: *G. intestinalis* o *lamblia* (Lambl, 1859; Blanchard, 1888) o *G. duodenalis*.

MORFOLOGIA

Presenta dos estadios evolutivos: una forma vegetativa, activa, unicelular, móvil llamada trofozoíto y una forma de resistencia llamada quiste.

El trofozoíto es un flagelado amitocondriado, y si bien es anaerobio es aerotolerante. Tiene forma piriforme, simetría bilateral, con dos núcleos grandes en la región anterior que le dan el aspecto de un búho o lechuza. Pareciera que el parásito tuviese anteojos, ya que en su parte central los núcleos vesiculosos y ovalados, se visualizan unidos. Cada núcleo posee su correspondiente nucléolo, bien visibles en preparacio-

nes coloreadas, los que están unidos entre sí por los rizoplastos que finalizan en la porción anterior del axostilo, en dos estructuras bien marcadas, puntiformes, llamados blefaroplastos. No posee mitocondrias ni se han descrito estructuras relacionadas con el metabolismo energético. Cuando se lo observa dorsalmente tiene aspecto de coma, con una cara cóncava y la otra convexa.

Mide aproximadamente 10 a 20 μm de largo por 7 a 10 μm de ancho. La mitad anterior de la cara ventral es cóncava y está ocupada por una cavidad en forma de ventosa, llamado disco succionario, el cual es utilizado para fijarse a la mucosa del intestino delgado, que es su hábitat preferido. La integridad de este disco, que posee numerosos microtúbulos cortos perpendiculares a su superficie, se debe a tubulinas y giardinas y está cubierta por moléculas ricas en cisteína. La parte central, y desde la región ubicada entre los núcleos, es recorrida por una barra microtubular, que a modo de columna vertebral avanza hasta la parte posterior. De este axostilo emergen los cuatro pares de flagelos que posee el parásito: un par anterior, dos centrales y uno posterior. El centro del axostilo es cruzado por dos estructuras, como si fueran dos comas: los cuerpos parabasales.

El trofozoíto es móvil, con capacidad de traslación y rotación, lo que permite visualizar correctamente las estructuras decriptas.

El quiste, elemento infectante del parásito, es de forma ovalada con un diámetro mayor de aproximadamente 8 a 12 μm . Presenta 2 a 4 núcleos bien visibles y algunas de las estructuras que posee el trofozoíto, siendo visibles los restos flagelares y el axostilo. Presenta membrana quística y puede observarse al protozoo (cistozoíto) estrechamente adosado a la pared quística ó separado de la misma, lo que da el aspecto de doble membrana.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo es monoxeno. Las formas vegetativas o trofozoítos de *G. lamblia* viven en las primeras porciones del intestino delgado, duodeno y yeyuno, donde están fijadas a las células intestinales, gracias a la poderosa ventosa que presenta. Este hecho, hace que en parasitosis intensas, gran parte de la mucosa intestinal esté tapizada de trofozoítos. Estos se multiplican activamente por división binaria simetrogénica. Algunos trofozoítos son arrastrados hasta la última porción del intestino delgado, donde comienza su proceso de enquistamiento, debido a que la composición bioquímica

de esta porción intestinal así lo inducen. Los trofozoítos son incapaces de sintetizar colesterol, adquiriéndolos del medio, razón por la cual, al encontrarse en la primera porción del intestino delgado la provisión de moléculas de colesterol está asegurada, pero ya en la última porción del intestino delgado, al no existir colesterol, como un mecanismo de adaptación celular para la supervivencia, el trofozoíto enquistado. En primer lugar aparecen vesículas de preenquistamiento en la perifería del trofozoíto, las que serían las encargadas de secretar los mucopolisacáridos constituyentes de la pared quística. In vitro, este proceso de enquistamiento, muy bien estudiado por Luján y colaboradores de la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina), es inducido por la bilis, pH elevado y disminución en la concentración de colesterol. A continuación el estadio vegetativo adopta forma ovalada y al generarse la pared queda constituido el elemento infectante que es eliminado con las heces. En pacientes con tránsito intestinal acelerado o con diarrea, algunos trofozoítos podrán aparecer con las heces; lo habitual es que quienes aparezcan en la materia fecal sean los quistes, mientras que si analizáramos material duodenal allí sí hallaríamos trofozoítos en lugar de quistes. El elemento de resistencia, para continuar el ciclo son los quistes, ya que los trofozoítos que pudieran llegar al exterior por los motivos arriba señalados, son rápidamente destruidos en el medio exterior, fundamentalmente por desecación. Por contacto fecal directo o a través del agua de consumo o los alimentos, estos quistes son capaces de introducirse nuevamente en el mismo u otro hospedador para infectarlo. En el interior del intestino, gracias a la acción de los jugos digestivos, comienza el proceso de desenquistamiento, en respuesta a estímulos y señales del hospedador, saliendo de cada quiste tetranucleado dos trofozoítos binucleados, para de esta manera y por activa multiplicación en duodeno, comenzar un nuevo ciclo. En el duodeno se encuentran adheridos a las células epiteliales a través de su disco succionario o ventosa ventral.

El período prepatente se ha establecido entre los 6 y los 15 días de producida la infección.

Debido a que los quistes son muy resistentes, inclusive a los procesos de potabilización del agua para consumo, es muy importante tener en cuenta medidas higiénico sanitarias de prevención, especialmente cuando se efectúan campamentos o en los lugares de fácil contagio como en comedores escolares, colegios, casas de cuidado de niños o guarderías ("daycare centers"), internados, instituciones mentales de gran tamaño y con internación, etc. Cuando se efectúan campamentos, con muchas personas y durante mucho tiempo, esta parasitosis adquiere categoría de agente productor de diarrea del viajero. Cada quiste puede resistir durante varios meses en

el medio exterior, especialmente en suelo húmedo o agua.

Si bien existen especies de *Giardia* parásitas del perro, del gato, del ganado bovino o caprino, isomorfas con *G. lamblia*, no existe criterio definido y aceptado universalmente respecto de si se trata de una zoonosis o si cada especie es propia de cada grupo zoológico.

CLINICA Y PATOLOGIA

El mecanismo más importante para provocar patología en esta parasitosis, se debe a la acción mecánica de los flagelados, al adherirse a través de sus ventosas a la mucosa intestinal, principalmente duodeno y yeyuno, lo que origina una inflamación catarral. No es un parásito invasivo y en infecciones severas no se lo ha encontrado más allá del corion de la mucosa intestinal. En infecciones masivas se produciría un síndrome de mala absorción intestinal, debido a la barrera mecánica creada por la presencia en gran cantidad de estos flagelados, los que producen la atrofia de las vellosidades intestinales, con inflamación de la lámina propia y alteraciones en las células del epitelio intestinal, lo que a su vez provocaría que las pruebas de absorción de Vit A, Vit B₁₂ y de la D-xilosa estén alteradas.

Esta parasitosis está asociada con hipogamaglobulinemia y déficit de IgA secretoria, y en casos graves con hiperplasia nodular linfoide en intestinos delgado y grueso. Además de la patología derivada de acciones mecánicas del trofozoíto sobre la mucosa intestinal, se han descripto otros como: la secreción de sustancias citopáticas, la inhibición de la actividad enzimática de disacaridasas (tales como sucrasa, maltasa y lactasa) y de tripsina y lipasa, la desconjugación de sales biliares o el incremento de la flora bacteriana y alteraciones de transporte de sodio y cloro.

En las formas leves hay dolor epigástrico no muy marcado y se altera el ritmo de la defecación.

En formas moderadas puede existir duodenitis, náuseas y frecuente dolor en zona epigástrica, flatulencia y diarrea.

En la enfermedad severa, además de la duodenitis existe esteatorrea, con heces pastosas o líquidas y abundantes y de muy mal olor, asociadas con flatulencia. En la cronicidad con mala absorción, hay retardo en el crecimiento y bajo peso, ya que la diarrea crónica lleva a una deficiencia proteica, los que a su vez estarán asociados

con astenia, anorexia, cefaleas, náuseas y vómitos. Es más frecuente en los niños y en adultos se la encontraría como un parásito productor de escasa sintomatología intestinal. Actualmente se sostiene que este flagelado no produciría trastornos ni daños biliares.

No se han descrito casos fatales.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico es fundamentalmente directo, detectando la presencia de quistes y/o trofozoítos en heces. Normalmente se detectarán quistes, ya que las formas vegetativas, presentes en regiones altas del digestivo, solamente aparecerán en casos de diarreas. Se deben efectuar exámenes seriados (siete días), con la administración de bilis de buey al paciente y efectuar métodos de concentración para mejorar la sensibilidad del diagnóstico. Si bien el examen de líquido duodenal puede permitir el hallazgo de trofozoítos, este método no deberá ser utilizado rutinariamente, ya que cuando existe infección, un buen estudio seriado de materia fecal resuelve el diagnóstico. En caso de que sea recolectado líquido duodenal para otros fines, sí está indicado efectuar el estudio parasitológico del mismo, previa centrifugación, entre porta y cubreobjetos.

Existen otros procedimientos tales como la cápsula de Beal o el hilo de nylon (Enterotest) de poco uso en estudios rutinarios en nuestro país.

La biopsia intestinal rara vez es utilizada, si bien puede mostrar alteraciones a nivel de intestino delgado.

Los cultivos para *Giardia* no son utilizados con fines diagnósticos.

La búsqueda de coproantígenos, la inmunofluorescencia directa y un test de ELISA también pueden aportar resultados positivos, aunque no se los utiliza rutinariamente ya que el costo es elevado, al igual que PCR. Un buen examen coproparasitológico seriado, con bilis de buey, durante siete días, efectuado por un profesional competente, es suficiente.

PREVENCION

Al ser los quistes infectantes al momento de su eliminación, puede haber autoinfección por el camino ano-mano-boca. La mala higiene favorece la diseminación de la enfermedad, al igual que las moscas, cucarachas y mala eliminación de las excretas. La

diseminación se hace por manos sucias, agua y alimentos que se consumen crudos. Si se produce la contaminación de los acueductos, esta parasitosis puede transformarse en endémica, razón por la cual debe ser considerado de importancia fundamental el estudio parasitológico del agua de consumo, además del bacteriológico y del químico. Los quistes son muy resistentes a la cloración del agua, pudiendo permanecer viables por varios meses. Al ser una enfermedad de transmisión oro-fecal, adquiere importancia entre las comunidades de homosexuales. Es fundamental mantener un alto grado de saneamiento ambiental. Esta parasitosis es considerada como transmitida, fundamentalmente, por el agua y los alimentos. Es una zoonosis con dosis infectante baja, ya que muy pocos quistes pueden originar una importante infección.

Chilomastix mesnillii

Sixto Raul Costamagna

Subreino: Protozoa
Phylum: Sarcomastigophora
Clase: Zoomastigophorea
Orden: Retortamonadida
Familia: Retortamonadidae
Género: *Chilomastix*
Especie: *Ch. mesnillii*

Protozoo flagelado, de evolución directa o monoxénica, con ciclo idéntico al de *Giardia lamblia*; también presenta dos formas evolutivas: trofozoíto y quiste.

Los trofozoítos, miden entre 8 y 20 μm . Poseen un gran citostoma que ocupa casi la mitad lateral de su cuerpo, rodeado por dos fibrillas pericitostómicas. La parte anterior es ensanchada, mientras que la posterior es fina, prolongándose en una fina punta. En el interior presenta un flagelo recurrente que no emerge, y tres flagelos libres que emergen desde la porción anterior, cerca del núcleo. Presenta activo movimiento de traslación y rotación característico.

Los quistes miden entre 7 y 10 μm , con una pequeña prominencia en un extremo que le dan un característico aspecto piriforme, poseen un solo núcleo. Conservan en su interior las fibrillas pericitostómicas bien visibles. Poseen doble membrana. Es la forma infectante de este flagelado.

Según algunos autores sería un comensal, mientras que para otros sería un parásito que produce escasa sintomatología, no invasivo, pero que cuando la carga parasitaria es grande provocaría disturbios intestinales que hacen necesaria su erradicación.

Los trofozoítos y quistes salen al exterior con las heces, por lo que el diagnóstico se realiza mediante exámenes en fresco, en heces frescas, generalmente líquidas, para no perder la posibilidad de identificar a los trofozoítos en movimiento. Hay que tener

cuidado de no confundirlo con otros flagelados intestinales. Si se efectúa el estudio en heces formoladas se podrán visualizar los quistes.

Isospora belli* y *Cyclospora cayetanensis

Leandro D. Lucchi

Las enfermedades asociadas a la subclase coccidia han alcanzado importancia en las últimas décadas como consecuencia del aumento de pacientes inmunodeprimidos y del virus HIV.

En el grupo de coccidios de interés encontramos, entre otros, los géneros *Isospora*, *Cyclospora* y *Eimeria*, aunque si bien este último no incluye especies parasitarias de humanos, haremos una breve mención para evitar confusiones diagnósticas.

SISTEMÁTICA

Reino:	Protista		
Subreino:	Protozoa		
Filum:	Apicomplexa		
Clase:	Sporozoea		
Subclase:	Coccidia		
Orden:	Eucoccidiida		
Familia:	Eimeriidae		
Géneros:	<i>Isospora</i>	<i>Cyclospora</i>	<i>Eimeria</i>
Especies:	<i>I. belli</i>	<i>C. cayetanensis</i>	<i>Eimeria</i> sp.

***Isospora belli* (Wenyon, 1923)**

Es un parásito protozoo, esporulado. Entre sus formas evolutivas encontramos los ooquistes de forma oval, transparentes, con una membrana delgada que miden 20-33 x 10-19 µm, poseen en su interior dos esporoquistes, cada uno de los cuales contiene cuatro esporozoitos. Otra de sus formas son los zoitos (trofozoitos, merozoitos y esporozoitos) estructuras muy pequeñas, de 1.2 x 9.0 µm, de forma oval y alargadas

que intervienen en los ciclos de reproducción sexual y asexual. Es el ooquiste maduro la forma infectante para el hombre.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de *Isospora belli* es monoxénico, desarrollándose en el hombre, la reproducción sexuada y la asexuada.

La infección se adquiere con la ingestión del ooquiste maduro, esporulado. En el intestino delgado se desenquista liberando los esporozoítos, los cuales invaden las células epiteliales del duodeno distal y el yeyuno proximal donde luego evolucionan a trofozoítos. Existen dos tipos de reproducción a nivel intracelular, la asexual y la sexual. En la primera los trofozoítos, por división nuclear (endodiogenia), dan lugar a ezquizontes, de los cuales se liberarán cientos de merozoítos que invadirán nuevamente otras células para repetir el ciclo asexuado. Este es el ciclo donde se produce el mayor daño celular y es el responsable, en mayor parte, de la sintomatología y patología que presenta el paciente. Paralelamente a este ciclo, algunos de los merozoítos inician el ciclo sexuado, diferenciándose a micro y macrogametos, que producirán microgametocitos flagelados y macrogametocitos respectivamente, que por fecundación de uno con otro darán lugar al ooquiste.

El ooquiste formado, inmaduro, será eliminado por las heces, madurando en el medio exterior en 2 a 3 días, constituyéndose en el elemento infectante para el hombre.

PATOLOGÍA Y SINTOMATOLOGIA

Dada la ubicación intracelular del parásito y la consecuente destrucción celular que producen sus ciclos de reproducción, genera reacciones inflamatorias con abundantes eosinófilos, presentando diferentes grados de necrosis en la mucosa y submucosa, como así también el aplanamiento de las vellosidades en la mucosa. En pacientes con HIV puede ocurrir invasión de la lámina propia.

En individuos normales, la parasitosis es autolimitada, pudiendo ser asintomática, o presentarse con diarreas pasajeras y anorexia.

En personas inmunodeprimidas, la sintomatología es más grave y duradera. Provoca diarreas acuosas con 5 a 10 deposiciones diarias, de duración prolongada, sin sangre

ni moco, con posible aparición de diarreas recurrentes, dolor abdominal severo, fiebre, deshidratación, náuseas, vómitos, debilidad y anorexia, síndrome de mala absorción, esteatorrea, que pueden conducir a la muerte del paciente.

DIAGNÓSTICO

Se confirma el diagnóstico con el hallazgo de ooquistes en materia fecal o contenido duodenal. Recién al quinto día de la enfermedad es posible el hallazgo de los ooquistes.

Es común la observación de cristales de Charcot-Leyden, de forma romboidal, de 10 a 30 μm , alargados, con extremos puntiagudos, que se originan de productos de degradación de eosinófilos.

La característica ácido-alcohol resistente de los ooquiste permite su visualización con la coloración de Ziehl – Neelsen modificada, que los tiñe de color rosa – rojo, frente a un colorante de contraste como puede ser el verde de malaquita o azul de metileno.

También son prácticos los métodos de concentración, especialmente los de flotación con Sulfato de Zinc (Faust) o con azúcar (Sheather). No se aconseja la conservación de las muestras con alcohol polivinílico (PVA) ya que se podría deformar la pared del ooquiste y dificultar su observación microscópica.

Podemos realizar la maduración de los ooquistes durante 2 a 3 días a temperatura ambiente, con el agregado de dicromato de potasio al 2,5% para evitar desarrollo bacteriano.

En pacientes con HIV se puede emplear la biopsia duodenal y también con éxito algunos métodos de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales.

La hipereosinofilia en sangre, es característica de esta enfermedad, alcanzando valores entre 20 y 50%. Es frecuente encontrar en el hemograma una leucocitosis con desviación a la izquierda.

EPIDEMIOLOGÍA

Parásito de distribución cosmopolita, diagnosticado mas frecuentemente en áreas tropicales y sub tropicales. En EEUU la prevalencia de *I. belli* hallada varía entre el 0,2 y el 3 % en pacientes con SIDA, y en el continente africano alcanza hasta un

20 %. En Sudamérica, países como Chile lo han hallado con frecuencias de hasta 3,2 % y en Brasil, en pacientes con SIDA se encontraron ooquistes en materia fecal en un 13,3%. Hasta ahora se señala al hombre como único hospedador, pero no se descarta que otros animales podrían actuar de hospedadores, lo que implicaría un mecanismo diferente al de la contaminación fecal de aguas y alimentos, en regiones donde las condiciones de saneamiento son adecuadas. Al igual que *Cryptosporidium*, se lo señala como uno de los agentes etiológicos de la diarrea en viajeros. Si bien su distribución es mundial, se debe destacar que la mayor frecuencia de aparición coincide con la existencia de profesionales capacitados y entrenados para realizar su diagnóstico.

Cyclospora cayetanensis

Es un parásito de reciente descubrimiento, estudiado con mayor interés en la Universidad de Cayetano Heredia en Lima, Perú. Fue descrito inicialmente por Ashford, quien lo observó en materia fecal de tres pacientes en Nueva Guinea, creyendo que había encontrado una nueva especie de *Isospora*.

El ooquiste de *C. cayetanensis* es transparente, esférico de 8 a 10 μm , con dos esporoquistes en su interior y en cada uno de ellos dos esporozoitos. Dadas estas características resulta necesario no confundirlo con *Cryptosporidium*, que posee un ooquiste similar, de menor tamaño, con cuatro trofozoitos libres en su interior, siendo ambos ooquistes de características ácido-alcohol resistentes.

CICLO BIOLÓGICO

Se desconoce su ciclo completo de vida. El inicio del ciclo comienza con la ingestión de ooquistes maduros, tiene su hábitat en el intestino delgado, posee ciclos de reproducción asexual y sexual en el mismo hospedador, similar al de *I. belli* y se eliminan en forma de ooquistes inmaduros, por lo que no presentan transmisión inmediata o directa de persona a persona.

PATOLOGÍA Y SINTOMATOLOGÍA

Es también similar a la descrita para *I. belli*, se puede observar atrofia y aplastamiento de las vellosidades intestinales, lo que produce deficiencias en la absorción

como consecuencia de la necrosis de mucosa y submucosa. Se ha observado reacción inflamatoria difusa con infiltrado de leucocitos. En la lámina propia se observa atrofia parcial o pérdida de las vellosidades.

Inicia con malestar generalizado, fiebre y mialgias. Diarreas con intensidad y curso variable, de aparición abrupta y explosiva, con deposiciones que van de 1 semana a 3 meses, con peligro de deshidratación importante. Los pacientes pueden presentar dolor abdominal, náuseas y ocasionalmente vómitos, debilidad y anorexia, esteatorrea y mala absorción a la D-Xilosa.

DIAGNÓSTICO

La identificación de los ooquistes en materia fecal confirma el diagnóstico. Exámenes en fresco muestran organismos esféricos con gránulos refringentes en su interior. No se tiñen con lugol, sí con Ziehl-Neelsen modificado donde se colorean de rojo rosado, tomando esta coloración, de manera selectiva. Es importante no confundir el diagnóstico con las especies de *Cryptosporidium*, las cuales poseen ooquistes de menor tamaño (4,5 μm para *C. parvum* el más pequeño, hasta de 7,9 μm en *C. Muris*) que, como ya mencionamos, también se tiñen con Ziehl-Neelsen, por lo que debemos recurrir al ocular micrométrico y medir su tamaño. Otra diferencia entre especies es la autofluorescencia periférica que presentan los ooquistes de *Cyclospora* cuando son excitados con luz ultravioleta.

Como métodos de concentración son útiles los de flotación, asimismo es práctico usar el de formol-eter (Ritchie). También es bueno lograr la esporulación con dicromato de potasio al 2,5%, que ocurre entre los cinco y los trece días de incubación a temperatura ambiente.

De las 13 especies descritas hasta el momento, solo una, *Cyclospora cayetanensis*, afecta a la especie humana, las restantes parasitan a otros animales vertebrados e invertebrados como monos, aves de corral y algunas especies de miriápodos, respectivamente. Su transmisión ocurre por contaminación habiéndose encontrado en aguas de red cloradas, en excrementos de pollos para consumo y en ciertos vegetales. En EEUU y Canadá, es considerada una de las mayores enfermedades que afectan a niños y a individuos inmunodeprimidos. Las oficinas públicas de salud de esos países han reportado 2944 casos entre 1996 y 1997.

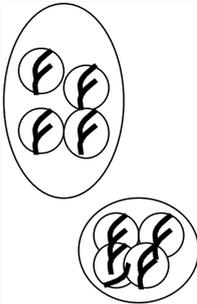
Uno de los primeros brotes se describió en los EEUU en el año 1990 y se lo atribuyó a la contaminación del agua potable. En estudios epidemiológicos se observó que

el 97.8% de los casos, son reportados en los meses de primavera y verano, esto concuerda a que en esos meses aumenta el consumo de agua, y el uso de ella para actividades de recreación.

En áreas tropicales la proporción de portadores de este coccidio oscila entre el 1 y 10% de la población, y ha sido reportado tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo de todo el mundo, lo que demuestra su distribución cosmopolita.

***Eimeria* sp.**

Si bien este género no presenta riesgo de parasitosis a la especie humana, y parasita solo otros mamíferos y aves, haremos un breve comentario de su forma evolutiva a fin de evitar confusión diagnóstica con coccidios del género *Isospora* y *Cyclospora*. Para diferenciar *Eimeria* de otros géneros de coccidios debemos lograr la maduración de los oquistes, cultivando, a temperatura ambiente, una porción de materia fecal en caja de Petri con dicromato de potasio al 2,5%, para evitar el desarrollo bacteriano y poder observar luego un ooquiste maduro con 4 esporoquistes en su interior, cada uno de los cuales con 2 esporozoitos. La forma del ooquiste puede ser oval u esférica, alcanzando tamaños de 30 x 50 o 40 μ m respectivamente. En caso de hallar ooquistes pertenecientes a *Eimeria* en materia fecal, debemos recordar que es un parásito no humano que se halla en tránsito, originado de una posible contaminación alimentaria u ambiental.

GENEROS	<i>Eimeria</i> spp.	<i>Isospora belli</i>	<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium</i> sp.
FORMA				<p><i>C. parvum</i> </p> <p><i>C. muris</i> </p>
TAMAÑOS	Oval: 35x 50 μ m Esférico: 40 μ m	13 x 30 μ m	8 a 10 μ m	<i>C. parvum</i> : 4,5 –5,4 μ m <i>C. muris</i> : 6,6 - 7,9 μ m

CRYPTOSPORIDIOSIS

Sixto Raul Costamagna

Es una zoonosis parasitaria producida por el protozoo parásito *Cryptosporidium sp.* En el hombre adquiere importancia a partir de su comportamiento como oportunista en pacientes inmunocomprometidos y SIDA. En 1976, casi setenta años después de su descubrimiento, fue reportado el primer caso humano en una niña inmunocomprometida de tres años de edad.

Subreino: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Clase: Esporozoa: Complejo apical usualmente bien desarrollado.

Subclase: Coccidia

Orden: Eucoccidiida: Ciclos esquizogónico gametogónico intracelulares. Esporogonia en el interior de ooquistes que pueden madurar dentro del hospedador o en el medio externo.

Suborden: Eimeriina: parásitos de células epiteliales, nunca en sangre. Microgamontes que producen varios microgametocitos.

Familia: Cryptosporidiidae: ciclo monoxeno. Ooquistes con esporozoítos englobados por la cubierta del ooquiste. Son eliminados maduros por heces.

Género: *Cryptosporidium*

Especie: *C. parvum* (Tyzzer, 1912)

C. muris (Tyzzer, 1907)

C. meleagridis (Slavin, 1955)

C. baileyi (Current, Upton and Haynes, 1986)

C. serpentis (Levine, 1980)

C. nesorum (Hoover, Hoerr, Carlton, Hinsman and Ferguson, 1981)

C. hominis (Morgan-Ryan, 2002)

C. parvum y *C. muris* son parásitos del intestino y estómago respectivamente, de mamíferos. *C. meleagridis* y *C. baileyi* parasitan a las aves. *C. serpentis* se encuentra en estómago de reptiles y *C. nesorum* en intestino y estómago de peces. Si bien se han descrito más de 20 especies diferentes, se estima que solamente las seis

mencionadas serían las válidas. *C. parvum* sería la principal especie responsable de infecciones humanas y de algunos animales domésticos, razón por la cual, a continuación nos referiremos exclusivamente a él. Recientemente se ha descrito, como una nueva especie capaz de infectar al hombre, *C. hominis*, indistinguible morfológicamente de *C. parvum*.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida es monoxénico, y similar al de otros coccidios. *C. parvum* es un protozoo de las células enteroepiteliales, aunque ataca a otros epitelios tales como el pulmonar. Por ello se lo puede hallar en heces, en secreción nasal y esputo. Es un parásito intracelular y extracitoplasmático, inmediatamente por debajo de las microvellosidades, sobresaliendo como pequeñas esferas sobre la superficie epitelial. Se sitúa dentro de una vacuola parasitófora, por debajo del glucocálix, separado del citoplasma y núcleo celular por tres estructuras observables al microscopio electrónico de transmisión: una laminilla metabólica, una zona de fusión y una zona de fijación. Lo expresado también es válido para *C. hominis*.

Los ooquistes son pequeños, esféricos, de 4,5 a 5,4 μm de diámetro, provistos de una gruesa pared que encierra a 4 esporozoítos; éstos son acompañados por un "cuerpo residual", voluminoso. Los ooquistes de *C. muris* son de mayor diámetro: 6,6 a 7,9 μm . Los esporozoítos, incurvados y ubicados hacia un costado del ooquiste, presentan un extremo anterior más fino, donde se encuentra el complejo apical (Apicomplexa), donde están las estructuras que les permitirán el ingreso a las células.

El ciclo biológico, que dura aproximadamente 2 a 3 días, comienza con la ingestión de ooquistes. Una vez en el intestino quedan en libertad los cuatro esporozoítos con forma de media luna, los cuales penetran en las células epiteliales intestinales y forman la vacuola parasitófora y el parásito se aísla mediante las estructuras ya mencionadas. Allí comienza el primer ciclo merogónico, asexual o esquizogónico, que origina 8 merozoítos (merontes tipo I). A continuación estos merontes se rompen (y obviamente la célula enteroepitelial) y cada uno de los 8 merozoítos, libres en la luz intestinal, penetran nuevas células del epitelio intestinal para iniciar un segundo ciclo merogónico, pero que ahora origina merontes tipo II, con solamente 4 merozoítos cada uno. A continuación, estos merontes tipo II se rompen hacia la luz intestinal, liberando los cuatro merozoítos, los cuales invadirán nuevas células epiteliales, iniciando ahora el ciclo gametogónico de diferenciación sexual, transformándose algunos en microgametos flagelados que quedarán en libertad, mientras que otras serán los macrogametos que no son liberados aún de los enterocitos. Los microgametos se dirigen al lugar donde están los macrogametos y se produce la fecundación. A partir

de allí se inicia la fase esporogónica de esporulación, se formará la cubierta ooquistica, originándose los ooquistes inmaduros. Al madurar, cada ooquiste contendrá cuatro esporozoítos.

Se generan dos tipos de ooquistes: de paredes gruesas y de paredes finas. Los primeros, al ser más resistentes, serán los encargados de continuar el ciclo mediante infecciones exógenas, contaminando el medio externo. Los ooquistes de paredes finas son los responsables de las autoinfecciones endógenas, ya que eclosionan en la luz del intestino y producen un aumento en la carga parasitaria sin que se produzca una nueva ingesta de elementos infectantes desde el exterior. Se invaden nuevas células enteroepiteliales y recomienza nuevamente el ciclo, provocando una persistente parasitosis. Esta vía de infección es importante en pacientes inmunosuprimidos y SIDA.

PATOGENIA Y SINTOMATOLOGIA

Si bien la cryptosporidiosis es una zoonosis de amplia distribución mundial, con probabilidad de infecciones cruzadas, la mayoría de los reportes de enfermedad humana son por *C. parvum*.

En terneros, cabritos, corderos y lechones de corta edad, esta parasitosis se presenta como una gastroenteritis grave, acompañada de diarreas acuosas, con grandes pérdidas pues se transmite rápidamente de un animal a otro por contagio fecal-oral.

En el hombre inmunocompetente la cryptosporidiosis rara vez es grave, ya que es autolimitada y se presenta como cuadros diarreicos con una duración de unos días a semanas. Es frecuente en todos los grupos etarios, aunque es más frecuente en niños que asisten a guarderías infantiles o que viven en orfanatos, por su fácil transmisión de persona a persona por malos hábitos higiénicos. Suele considerársela una enfermedad profesional en ganaderos, matarifes, veterinarios, por el contacto con animales infectados, con o sin sintomatología. La dosis media infectante oscila entre 30 y 100 ooquistes. El período de incubación es de 4 a 21 días en pacientes inmunocompetentes, mientras que en inmunosuprimidos es de 4 a 12 días.

La forma de infección más habitual es por la materia fecal, aunque en caso de afectaciones del árbol respiratorio, las secreciones nasales o el esputo también pueden presentar parásitos.

Los factores que determinan la patogenia de este protozoo son: la edad del paciente, el estado nutricional e inmunocompetencia, la especie de la cepa y la vía de infección, dosis infectante y si se trata de una primo o una reinfección.

La acción patógena está determinada por la acción mecánica de destrucción de células epiteliales, la acción expoliatrix derivada de la acción anterior que impide una

normal nutrición del paciente ya que sus células enteroepiteliales están dañadas, disminuyendo así la superficie de absorción intestinal, con hiperpermeabilidad por ósmosis y síndrome de mala absorción, acción inoculadora ya que estas micro lesiones a nivel celular son vías de entrada de patógenos, acción estresante ya que predispone a otros padecimientos y una acción tóxica debida probablemente a una toxina que actuaría a nivel del SNC.

Entre los síntomas generales, que pueden aparecer entre el segundo y décimo día post infección, hay diarrea (93%), dolor abdominal (84%), apatía, anorexia (60%), fiebre de hasta 40°C (57%), vómitos (48%), deshidratación que puede llegar a ser grave, retraso en el crecimiento en caso de enfermedad crónica, pérdida de peso y caquexia.

La diarrea secretoria que se presenta en esta patología, puede llegar a ser lo más importante a tener en cuenta al momento de la medicación, ya que si es demasiada generará un importante cuadro de deshidratación. Pueden llegar a evacuarse entre 3 y 10 litros de heces acuosas, tipo cólera, con hasta 12 evacuaciones/día. En pacientes con SIDA los casos fatales pueden llegar al 50%.

Entre los síntomas respiratorios se destacan la disnea, tos, sinusitis y exudado nasal con abundante expectoración.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de cryptosporidiosis se efectúa en forma directa, mediante la observación, en fresco o previa coloración, de los ooquistes en heces, si la infección es intestinal, o en esputo y secreción nasal si es el árbol respiratorio el afectado. En el material, generalmente no hay ni leucocitos ni hematíes.

A la muestra de materia fecal es recomendable que se le efectúe una concentración, recomendándose el método de flotación de Sheather o el de Ritchie.

Como coloración se utiliza la coloración ácido-alcohol-resistente de Ziehl Neelsen en frío y fijando la muestra con metanol; también se puede utilizar la coloración de Kinyoun. Los ooquistes, que deben ser observados con 1000X, se visualizarán como cuerpos redondos, rodeados de un halo claro, con igual coloración que el *Micobacterium tuberculosis*, con el diámetro ya especificado. En algunos se podrá observar un centro claro que corresponde al espacio del corpúsculo residual y los esporozoítos, de color

rojo intenso, en su interior. No todos los ooquistes toman la coloración con la misma intensidad. Se pueden visualizar las llamadas esferas fantasmas, que corresponden a ooquistes que no tomaron el colorante o bien algunos que fueron desprendidos del portaobjetos. Si no se tienen anticuerpos monoclonales específicos de especie, en caso de resultados positivos por la coloración ácido-alcohol-resistente, deberá informarse *Cryptosporidium* sp. Debe prestarse especial atención al diámetro del ooquiste encontrado, a fin de no confundirlo con otros de mayor tamaño como son los ooquistes de *Cyclospora*, los que son más grandes (10 µm aproximadamente).

También se puede efectuar inmunofluorescencia directa, con anticuerpos monoclonales o búsqueda de coproantígenos por ELISA, en heces y/o PCR.

Como métodos indirectos, poco útiles, se pueden utilizar un ELISA o un test de inmunofluorescencia indirecta.

También, el anatómopatólogo, puede efectuar el diagnóstico en biopsias de mucosa gastrointestinal, mediante simple coloración de hematoxilina-eosina.

EPIDEMIOLOGIA

El medio ambiente se encuentra frecuentemente contaminado con ooquistes de paredes gruesas del parásito, por lo que las manos contaminadas con tierra infectada, agua, alimentos, etc. pueden ser peligrosos, como así también heces de animales, domésticos o no.

Los ooquistes son muy resistentes no solo a los agentes físicos, sino también a los desinfectantes químicos. A modo de ejemplo diremos que es efectivo el hidróxido de amonio en concentraciones iguales o superiores al 5% con formol al 10% durante 24 horas; el hipoclorito solo es efectivo al 50% o más. Sobrevive en heladera, a 4°C durante 2 a 8 meses y en solución de dicromato de potasio, a temperatura ambiente, hasta 120 días. El calor los destruye en 30 minutos a 65°C y en freezer a menos 20°C en 24 horas. No resisten la criopreservación.

Estos datos nos están indicando la alta probabilidad de encontrar *Cryptosporidium* spp. en el agua "potable" ya que la cloración habitual no los afecta. La única forma de eliminar los ooquistes del agua potable, en el caso de que estuviesen presentes, es hirviéndola durante un minuto el agua. En 1987, 13000 personas enfermaron de

cryptosporidiosis en Carrollton, Georgia, EEUU como consecuencia del agua contaminada con ooquistes, constituyendo el primer brote reportado de contaminación por el agua potable; en 1993, en Milwaukee, Wisconsin, EEUU, 400.000 personas enfermaron, también en un brote por agua potable contaminada con ooquistes de *Cryptosporidium* sp, habiéndose producido, como consecuencia, la muerte de algunos pacientes con SIDA. Lamentablemente no se efectúan estudios parasitológicos del agua de bebida, hecho usual en casi todo el mundo, lo que favorece la diseminación de esta patología. Además, al ser los animales reservorios del parásito, permanentemente hay eliminación de heces de los mismos con ooquistes de este protozoo, que son vertidas a las fuentes de almacenamiento de agua para potabilización.

La prevalencia de cryptosporidiosis, en un estudio que involucró a 133.175 pacientes con diarrea y casi 7000 controles, a modo de ejemplo, es del 2,1% en pacientes con diarrea y del 0,2% en los controles para áreas desarrolladas, mientras que para áreas no desarrolladas, los porcentajes son 6,1 y 1,5% respectivamente. Para pacientes con SIDA los resultados son del 14% en pacientes de áreas desarrolladas y del 24% para el subdesarrollo. (*Parasitology Today*, II(2):435, 1995).

Resumiendo, las fuentes de infección son: heces de enfermos o portadores sanos, heces de animales, medio ambiente (ríos, verduras, agua, etc), retroinfección, esputo o secreción nasal. Luego de su recuperación, un paciente sigue eliminando ooquistes por varios meses.

TOXOPLASMOSIS

Sixto Raul Costamagna

La toxoplasmosis es una enfermedad producida por el *Toxoplasma gondii* (Nicolle y Marceaux, 1908), parásito intracelular obligado de células nucleadas (generalmente del SRE, nerviosas y musculares) de animales de sangre caliente, incluido el hombre. Fue descubierto en un pequeño roedor africano, el *Ctenodactylus gondii* por Nicoll y Marceaux quienes comunicaron el 26 de Octubre de 1908 el descubrimiento a la Academia de Ciencias de París. Tiene forma de arco, lo que originó su nombre TOXO: arco.

Sub-Reino: Protozoa
Phylum: Apicomplexa
Clase: Sporozoea
Sub-clase: Coccidia
Orden: Eucoccidiida
Sub-orden: Eiimeriina
Familia: Sarcocystidae
Género: *Toxoplasma*
Especie: *T. gondii*

Si bien el parásito fue descubierto a principios de siglo, recién en 1939 se lo aisla del hombre.

HOSPEDADOR DEFINITIVO: Felinos (Ejemplo gato doméstico). Hospedadores completos, pues en ellos se cumplen los ciclos de reproducción sexuada y asexuada.

HOSPEDADOR INTERMEDIARIO: Todos los animales de sangre caliente (homeotermos). En estos hospedadores se cumple solamente la reproducción asexuada.

CICLO BIOLÓGICO

A la luz de los actuales conocimientos, podemos decir que la evolución del *Toxoplasma gondii* es compleja y consta de:

1. UNA REPRODUCCIÓN ASEJUAL (Tisular): Se cumple en las células nucleadas de cualquier animal homeotermo, incluidos el hombre y los felinos, con formación de quistes y pseudoquistes hísticos, elementos éstos infectantes.
2. UNA REPRODUCCIÓN SEXUADA: (tipo coccidiano, entérica) que se realiza en las células nucleadas del epitelio intestinal de los felinos domésticos y salvajes, con liberación al exterior de esporoquistes, elementos infectantes tanto para los felinos como para cualquier otro animal homeotermo.

REPRODUCCIÓN ASEJUAL:

Si tomamos como punto de partida una célula nucleada, recientemente parasitada por un trofozoíto libre de *T. gondii*, veremos cómo éste se comienza a aislar dentro de una vacuola parasitófora. A continuación comienza el proceso de **ENDODIOGENIA** o **ENDODIOGONIA**, el cual consiste en la formación de dos células hijas dentro de la célula madre parasitaria, la que es aislada (lo que queda de ella) una vez finalizado el proceso, que algunos han descrito como de "gemación interna".

Si describimos más detalladamente este proceso de ENDODIOGENIA diremos que en un primer momento el parásito se hace globuloso, piriforme, el núcleo va tomando forma de herradura, el aparato de Golgi se reparte y aparecen los órganos apicales de los futuros parásitos, o sea el conoide y los toxonemas. Las membranas internas de la célula madre se invaginan y se separan, previa transferencia de ARN. Los citoplasmas de las células hijas, más pequeñas que la célula madre, todavía unidas crecen hasta que alargándose hacen prominencia sobre la superficie y la membrana externa materna pasa a ser propiedad de los hijos; el resto del material residual de la célula original se lisa rápidamente, quedando los dos nuevos parásitos inmersos en la vacuola parasitófora original, los que podrán reiniciar el ciclo en la misma célula hospedadora.

Si por el mecanismo descrito se originan más de dos células hijas, por divisiones múltiples, el proceso se denominaría ENDOPOLIGENIA.

De esta manera, y por este proceso de ENDODIOGENIA (o endopoligenia) se formarían dentro de la célula hospedadora verdaderos nidos de toxoplasmas y la harían

estallar, liberando trofozoítos (zoítos) infectantes, los que invadirían nuevas células del hospedador (ver luego toxonemas) para reiniciar el ciclo asexual. En algunas células, especialmente del pulmón, cerebro, músculo, retina, etc., los parásitos hijos no hacen estallar la célula, sino que por el contrario, se rodean de una capa quística, que los va a proteger de los procesos inmunológicos del hospedador, y aún de la acción medicamentosa y de agentes físicos. El quiste así formado, de gran longevidad, se puede romper y dejar en libertad a los parásitos que contiene (bradizoítos), los que invadirían nuevas células del hospedador o ajenas (carnivorismo por ejemplo).

En general se describen dos formas o velocidades de división para formar quistes:

- a. Una forma lenta, que originaría quistes verdaderos, y a los parásitos que alberga se los llamaría BRADIZOÍTOS (Bradys: lento) de esta manera se aísla y conserva la especie.
- b. Una forma rápida de reproducción originando pseudoquistes de corta duración albergando TAQUIZOÍTOS (Tachys: rápido), los que serían los responsables de la diseminación de la infección dentro de un mismo hospedador.

La formación de estos quistes hísticos podría ser consecuencia de la escasa virulencia de la cepa (se aísla enquistándose) o de la aparición de los primeros anticuerpos circulantes. Aún no hay definición clara al respecto, existiendo quienes sostienen que los quistes son parte fundamental en el ciclo del parásito.

REPRODUCCIÓN SEXUADA: (CICLO ENTEROEPITELIAL EN LOS FELINOS)

En los felinos se desarrollan los ciclos de reproducción sexual (esporogónica) y asexual (esquizogónica), lo que caracteriza a los felinos como hospedadores completos, definitivos.

Algunos trofozoítos (zoítos), al penetrar en algunas células del epitelio intestinal de los felinos, en lugar de realizar el ciclo de reproducción asexual, morfológicamente se diferencian y adquieren comportamiento de células sexuales: MACRO y MICRO-GAMETOCITOS.

El macrogametocito se transforma en macrogameto al hacerse su núcleo más globuloso, y se sitúa en la periferia de la célula hospedadora, próximo al borde que da a la luz intestinal.

El microgametocito es esférico. Su núcleo se divide varias veces para dar 12 ó 24 núcleos hijos, los que se sitúan en el borde de la célula parasitaria quien evagina su

Inoculación en animales de laboratorio.
Cultivo en embrión de pollo o tejidos.
PCR.
Co- A Toxo.

METODOS INDIRECTOS: Reacción de Sabin-Feldman. ***
Inmunofluorescencia indirecta. ***
Reacción de Hemoaglutinación indirecta.
Reacción de Fijación de Complemento.
Reacción de Aglutinación Directa. ***
Intradermorreacción con Toxoplasmina.
ELISA para toxoplasmosis.
Test de Inmunoperoxidasa. ***
ISAGA ***
Aglutinación con partículas de látex.

*** Estas reacciones utilizan antígenos intactos. Detectan anticuerpos coprecipitantes.

MÉTODOS DIRECTOS: Si bien serían los métodos más específicos, es difícil encontrar al paciente en el momento adecuado (con parasitemia). Wright, solamente entre el noveno y el decimotercero día pudo aislar al parásito de la sangre y de un ganglio infectado. No se utiliza como método de rutina. A mayor tiempo transcurrido entre la infección y la toma de muestra, menor posibilidad de éxito en el diagnóstico directo, por lo que no lo recomendamos como método para el diagnóstico clínico de la enfermedad toxoplasmática en el humano, excepto determinaciones como PCR o Co-A Toxo.

1. **Examen microscópico:** El *T. gondii*, se puede observar por microscopía óptica de sangre, exudados, etc., mediante preparaciones en fresco entre porta y cubreobjetos, o teñidos con Giemsa o May-Grunwald Giemsa (citoplasma azul fuertemente basófilo, con núcleo rojo, con gránulos de cromatina, esponjoso), o con Gram (gram negativo), o bien en biopsia de tejidos. Microscópicamente se lo observará con su morfología característica de media luna piriforme, de arco (arco: toxo), con un tamaño muy variable desde 2 a 3 micras de ancho, por 4 a 7 de largo. No se han observado órganos de locomoción. No posee cinetoplasto. El tamaño del *T. gondii* varía de acuerdo con los colorantes y fijadores usados: así el formol reduce su tamaño en un 30 % aproximadamente. Los fijadores más usados para tejidos son el formol al 10 % o la solución de Zenker, Carnoi y

Bouin, coloreándolos luego con hematoxilina- eosina. La coloración de Gram no es recomendable por la imposibilidad de visualizar las estructuras internas. La observación directa al microscopio óptico no resulta de utilidad práctica debido a que es difícil encontrar al parásito, aún en casos agudos y por otro lado se lo puede confundir con otros microorganismos como *Besnotia jellisonii*, *Histoplasma capsulatum*, *Leishmania* sp., *Trypanosoma* sp., etc.

2. La microscopía electrónica de transmisión revela las siguientes estructuras: Una membrana externa, de contorno irregular y una membrana citoplasmática interna, las cuales son perforadas por un micropilo.
 - a. Una formación conoide situada en la parte anterior del parásito (con un diámetro aproximado entre 0,1 y 0,2 μm , con un largo entre 0,2 y 0,3 μm), del cual parten:
 1. Fibrillas subpeliculares o superficiales que tendrían activa participación en la movilidad del *T. gondii* para penetrar en la célula hospedadora.
 2. Toxonemas, que son formaciones gordas, alargadas que se dirigen hacia atrás, y parecen penetrar en el conoide, en número variable entre 14 y 18, con función aparentemente secretora.Aparentemente el conoide sería una formación que permitiría al parásito perforar la membrana de la célula hospedadora para ingresar activamente, con movimientos ameboides a la misma, y a través de los toxonemas se segregarían las enzimas proteolíticas necesarias para tal fin.
 - b. Un núcleo, de una micra de diámetro, con uno a dos nucleolos.
 - c. Retículo endoplásmico en forma laminar.
 - d. Aparato de Golgi, cercano al núcleo.
 - e. Vacuolas.
 - f. Mitocondrias.
 - g. Ribosomas.
2. **Inmunofluorescencia Directa:** con antisueros monoclonales, presenta las mismas limitaciones que la microscopía convencional, aunque un poco más específica y sensible.
3. **Inoculación:** la inoculación en animales de laboratorio (ratón blanco, hámster dorado), sería el método directo más sensible y se puede considerar como método patrón. No obstante, es engorroso y lento y su rendimiento no es del todo satisfactorio, y además requiere de mucho cuidado, pues el operador se

puede infectar con relativa facilidad. El *Octomitus muris*, huésped normal del intestino del ratón al pasar accidentalmente a la cavidad peritoneal del mismo, puede darnos un falso positivo. Además debe tenerse presente que el animal inoculado puede ser portador del *T. gondii*. El tiempo de incubación es de 1 a 5 semanas.

4. **Cultivos:** en embriones de pollo o tejidos. Si bien es posible, es menos eficaz que la inoculación. Las células Hela son las más utilizadas.
5. **P.C.R.:** (polimerase chain reaction) reacción en cadena de la polimerasa con DNA (hibridizado). Esta reacción es útil para detectar antígenos en procesos agudos donde el diagnóstico no puede esperar a que aparezcan los anticuerpos (SIDA, Transplantes, etc.). Es muy sensible y específica detectando la presencia de tan solo 10 microorganismos. El mayor inconveniente es la falta de estandarización de la metodología, lo que hace que su sensibilidad varíe de acuerdo con el "primer" que se utilice.
6. **Co- A Toxo:** inmuno ensayo para detectar semicuantitativamente antígenos *T. gondii* en orina, especialmente usado de pacientes con SIDA. Coaglutinación que consiste en una suspensión de *Staphylococcus aureus*, cepa cowan I, coloreados y sensibilizados con un antisuero de conejo específico contra *T.gondii* que cuando es puesto en contacto con una muestra conteniendo el parásito, producen una aglutinación visible.

METODOS INDIRECTOS

La serología para Toxoplasmosis, como ocurre también en otras patologías debe ser seguida por lo menos con dos reacciones distintas y efectuadas en el mismo laboratorio en lo posible, para que los resultados sean comparables, siendo necesario hacer varias determinaciones y confeccionar la "Curva serológica". Resultados discordantes podrían deberse al tipo de antígeno que utiliza cada técnica y no a sensibilidades diferentes. En Toxoplasmosis no se puede tomar la serología como criterio de curación, ya que una reacción positiva no se puede pretender negativizarla luego del tratamiento específico en forma inmediata, sin tener en cuenta los tiempos que se señalarán a continuación, de negativización de las reacciones. Para seguir la evolución se deben efectuar determinaciones con aproximadamente 10 días de intervalo entre cada una, considerándose como significativo un aumento o

disminución del título de más del cuádruple del anterior. Los títulos serológicos que se obtengan, generalmente no tienen una relación directa con la gravedad de la enfermedad, ya que una serología positiva solamente indica infección previa y nada más. Si, ante sospecha de toxoplasmosis aguda, se obtienen resultados negativos, se deberán repetir los ensayos a los diez o quince días, recordando siempre que los resultados también dependen del tipo de antígeno que utiliza la técnica empleada. Siempre hay que standarizar los resultados frente a sueros patrones positivos y negativos provisto por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

1. **Reacción de Sabin- Feldman:** todo suero que contiene anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* específicos al ponerse en contacto con toxoplasmas vivos extracelulares (antígeno intacto), impide que los parásitos se colorean con azul de metileno alcalino. Esta reacción requiere de la presencia de un factor termolábil llamado "Factor accesorio" o "Factor activador", el que sería una properdina de la fracción C2 del Complemento, la que frente a una ribonucleasa y a los anticuerpos específicos producirían una perforación en la membrana plasmática del parásito, dando como resultado un "Vaciamiento citoplasmático" y pérdida de la capacidad para fijar o retener el azul de metileno.

Si bien el factor activador se encuentra en todos los seres humanos y algunos animales, es necesario que antes de su utilización se determinen su adecuada concentración y la ausencia de anticuerpos específicos contra el *T. gondii*. Además, el ión Mg^{++} tendría alguna importancia en la mecánica de la reacción.

Se debe efectuar una dilución seriada del suero a fin de obtener una cuantificación de la reacción, siendo el título la mayor dilución del suero que permite que más del 50 % de los toxoplasmas queden sin colorear con el azul de metileno.

Si bien la reacción de Sabin-Feldman es sensible y muy específica, lo dificultoso y peligroso de la técnica limita su empleo a laboratorios especializados, descartándola como prueba de rutina.

Esta reacción se conoce también como "Citoplasma lyse test" o "Dye test" (RSF). Es el método de referencia para el diagnóstico serológico de Toxoplasmosis.

Se torna positiva de los 10 a 14 días del comienzo de la infección, pudiendo alcanzar títulos de 1:64000 o más, manteniéndose positiva, aunque con bajos títulos, por mucho tiempo, quizás por toda la vida del paciente.

Hirt y col. consideran títulos bajos hasta 1:256, medianos hasta 1:1000 a 1:4000 y altos los que superan 1:4000. Debe recordarse que con suero inactivado, un título de 1:4 ya puede considerarse como significativo. El pico máximo se produce a los dos meses.

- 2. Inmunofluorescencia indirecta:** llamada también Test de Remington, es simple y rápida, dando resultados comparables con la reacción anterior en todos los estadios de la infección. Al igual que la reacción de Sabin- Feldman detecta anticuerpos de membrana. Es de uso rutinario. Según la antigamaglobulina marcada que se utilice, se pueden detectar las inmunoglobulinas en forma total o selectiva siendo de mayor interés práctico los anticuerpos de tipo IgM, ya que nos señalarían un proceso agudo. Por otro lado, en el recién nacido, una inmunofluorescencia positiva a IgM, nos indicaría que los anticuerpos detectados son propios, ya que estas macroglobulinas no atraviesan placenta. Si por el contrario los anticuerpos en el recién nacido son IgG, serían de la madre y el niño no padecería la infección congénita. Esto en la práctica no es tan fácil de determinar, ya que muchas veces se obtienen falsos negativos a IgM, pues las IgG al ser moléculas más pequeñas y difusibles que las IgM compiten con éstas por los receptores de la membrana del parásito y bloquean la posibilidad de unión a los mismos de las moléculas de IgM. Además, si hay poca IgM este mecanismo enmascara totalmente la posibilidad de detectar IgM.

El factor reumatoideo y el factor antinúcleo pueden darnos falsos positivos, siendo necesario en estos casos recurrir a otras técnicas diagnósticas para confirmar o descartar la enfermedad.

El test de inmunofluorescencia indirecta, para IgM muestra una sensibilidad del 70% al 90% en la primoinfección, con títulos mayores a 1:160, característicos del primer trimestre.

- 3. Reacción de hemoaglutinación indirecta:** (RHAI) Es específica (con 2-mercaptoetanol) y sus resultados serían equivalentes a la reacción de Sabin-Feldman, salvo en infecciones de corta data, ya que los anticuerpos detectados por esta reacción (RHAI) aparecen más tarde y en menor cantidad que los anticuerpos contra antígenos de membrana. Esta reacción detecta anticuerpos contra antígenos citoplasmáticos (provenientes de la ruptura del parásito). La presencia de anticuerpos heterófilos en el suero problema produce falsos positivos, por lo que es necesario repetir la reacción con el suero tratado con 2-mercaptoetanol. Útil para período crónico. No útil para procesos agudos ni infección congénita. Útil para catastros seroepidemiológicos.
- 4. Reacción de Fijación de Complemento:** (FC) Esta reacción arroja resultados que dependen de la calidad del antígeno usado recomendándose uno poco sensible, lo que daría positiva la reacción solamente en las llamadas "etapas activas de la infección". Esta reacción que detecta anticuerpos fijadores de complemento,

utiliza antígenos provenientes de la ruptura del parásito. Complementa a las otras, pero de ninguna manera sustituye a ninguna. Puede dar reacciones cruzadas. Esta reacción se positiviza a los 20 días aproximadamente del comienzo de la infección, alcanzando títulos de hasta 1:100. La negativización ocurre entre los seis y los dieciocho meses. Con antígeno liviano arroja resultados positivos en el 100% de los casos agudos, siendo los títulos a los primeros seis meses de la primoinfección de 1:160.

5. **Reacción de aglutinación directa (AD):** Es específica, siempre que se utilicen antígenos de alta sensibilidad y estandarizados respecto del patrón de la OMS, que permita la detección de pequeñas concentraciones de IgG o IgM. Con 2-mercaptoetanol permite diferenciar procesos agudos de crónicos. Útil para el seguimiento de mujeres seronegativas embarazadas. Utiliza antígeno intacto.
6. **Intradermorreacción con Toxoplasmina:** Es una prueba cualitativa que solamente nos permite "detectar infección", siendo de utilidad para estudios epidemiológicos, variando los resultados con la calidad del antígeno utilizado y la sensibilidad del sujeto estudiado. Pone de manifiesto la inmunidad celular frente al parásito.
Recién se positiviza a partir de los cuarenta días del inicio de la infección y se mantendría positiva casi por toda la vida, en condiciones inmunológicas normales. Esta reacción no es válida en el niño menor de un año ni en el anciano. La reacción de inoculación intradérmica de Toxoplasmina se observa como una reacción tardía (de tipo tuberculínico), alcanzando su máximo a las 24 o 72 horas. Se observa eritema y edema, a veces induración, pero nunca necrosis. Según Hirt: "se considera positiva cuando la infiltración o la rubicundez tienen un diámetro mínimo de 10 mm".
7. **Test de ELISA para Toxoplasmosis:** Si bien esta técnica es de uso rutinario en muchos laboratorios, en el caso de la toxoplasmosis no se la utiliza con frecuencia, pues no difiere mayormente de la inmunofluorescencia indirecta en cuanto a sus resultados. Utiliza antígenos proteicos provenientes del lisado de parásitos. Tiene la ventaja de que permite la automatización. Al igual que en inmunofluorescencia indirecta, interfieren el factor reumatoideo y antinuclear y la IgG.
8. **ISAGA:** (Inmuno Sorbent Agglutination Assay), es un ensayo de captura (inmunocaptación) de IgM específica por pegado de anti-IgM a una placa de poliestireno para los anticuerpos contenidos en el fluido corporal en estudio, con

el agregado posterior del antígeno (toxoplasmas) de aglutinación. Los anticuerpos monoclonales (anti-IgM humana) fijados sobre una base sólida capturan las IgM del suero. Solamente las IgM anti-toxoplasmas se unen a los toxoplasmas que revelan la reacción.

Señalamos anteriormente, al referirnos a las limitaciones del TIFI para Toxoplasmosis, que la detección de los anticuerpos tipo IgM se veía dificultada por la competencia estérica y mayor difusibilidad de las IgG, observándose con frecuencia falsos negativos para procesos agudos, que son los que mayor importancia diagnóstica tienen. Con la finalidad de evitar estos problemas es que actualmente se utiliza el ISAGA con resultados muy satisfactorios. Esta técnica de inmunocaptura se utiliza para IgM, IgA e IgE. Una ISAGA para IgM negativa, prácticamente descartaría una infección aguda.

9. Test de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas: (AL-Toxo).

Tiene una sensibilidad similar a la RHAI. El test del látex para Toxoplasmosis da un 1 a 2% de falsos positivos por la presencia de IgM inespecífica.

Comparando Dye Test con AL-Toxo, éste tiene una sensibilidad del 99% y una especificidad del 81%.

En un recién nacido se deberá tratar de detectar al parásito, ya sea de placenta o por PCR. Deben efectuarse ISAGA para IgM, IgA e IgE. En caso de negatividad de estas inmunoglobulinas se debe seguir serológicamente al niño hasta que se produzca la negativización de la IgG, a fin de descartar la infección.

En el caso de una embarazada, teniendo en cuenta que solamente corren riesgos de transmitir la infección al feto aquellas que se primoinfecten durante el embarazo, es conveniente que durante el primer trimestre se realicen Sabin Feldman, ISAGA para IgM y la intradermorreacción a la toxoplasmina.

La seroconversión en una embarazada debe ser considerada como una primoinfección. Si se encuentran títulos en ascenso entre dos determinaciones con valores elevados de IgG, IgM, IgA e IgE, en el segundo trimestre del embarazo, debe tomarse como muy probable la infección al feto. La infección al mismo se debe confirmar por amniocentesis y ecografía periódica, a fin de administrar la óptima medicación a la madre y el correcto tratamiento del recién nacido durante el primer año de vida.

Debe tenerse en cuenta que la incidencia de toxoplasmosis congénita varía, de acuerdo con las áreas estudiadas, entre 1 a 3 casos cada 1000 nacimientos.

FORMAS CLÍNICAS

En forma muy resumida y a modo de información general, señalaremos que en la Toxoplasmosis se pueden presentar dos formas clínicas bien diferenciables:

1. **TOXOPLASMOSIS PRENATAL:** Con lesiones viscerales, neurológicas, coriorretinitis, estrabismo, encefalitis, hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, etc. Estas lesiones dependen del momento del embarazo en que el parásito alcanza la circulación fetal, siendo en general mas grave cuanto más próximo al inicio del mismo estemos y cuanto más virulenta sea la cepa infectante. Si la infección de la madre se produce entre el octavo y noveno mes del embarazo, generalmente tendremos un parto a término, con hijos sin clínica de la enfermedad, probablemente con una parasitemia, pero que pueden presentar alguna manifestación clínica tardía. Aquí hay que efectuar el seguimiento antigénico o serológico del recién nacido. Según Hirt, la tasa de infección toxoplasmótica prenatal, en Argentina, sería del 6.6 %.

La mayor probabilidad del pasaje del parásito de la madre al fruto se presenta cuando un aumento de la permeabilidad de la placenta coincide con un aumento de la parasitemia materna. Según Hirt, a partir de las semanas 22 a 26 de un embarazo disminuye la probabilidad de lesiones graves para el feto.

Cour Boveda y col, 1986, en España, demostraron por TIFI que, sobre 3251 mujeres gestantes, un 42,6 % tenía serología positiva para Toxoplasmosis, con un 0.15% de pacientes con IgM anti-Toxoplasmas elevadas y que presentaron aborto en el primer trimestre del embarazo. Las gestantes que tenían IgG positiva e IgM negativa finalizaron sus embarazos dando a luz niños normales.

Recordemos que está en mejores condiciones una embarazada con serología anti-Toxoplasma positiva, que una seronegativa, ya que la primera presenta defensas para enfrentarse a una infección toxoplasmótica durante el embarazo y la segunda no.

2. **TOXOPLASMOSIS POST-NATAL:** Con localización linfática, ganglionar, visceral, ocular y/o diseminación generalizada (rara pero grave). Por lo general no es grave y pasa inadvertida, evolucionándose hacia la cronicidad, con formación de quistes hísticos. Un comentario adicional merecen los inmunosuprimidos y los pacientes con SIDA, ya que en ellos una reactivación de su toxoplasmosis crónica o la infección aguda reciente, pueden ser fatales y con compromiso cerebral, razón

por la cual esta enfermedad está nuevamente siendo investigada, especialmente en su diagnóstico precoz y su tratamiento efectivo.

La aparente afinidad del *T.gondii* por el sistema nervioso central y la coriorretina, se debería a la baja concentración de anticuerpos que se encuentra en estos lugares respecto de la sangre, con una relación, según FRENKEL y col. de 300 para la sangre, 3 para el ojo y 1 para el LCR.

Tasa de prevalencia en Buenos Aires (Hirt, 1979): 35% en niños de hasta 5 años. Se estima que la mitad de la población adulta habría sufrido primoinfección. La toxoplasmosis es la causa más común de uveítis posterior (retinocoroiditis). Sobre un total de 311 uveítis estudiadas en el Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires, el 20% fueron debidas a toxoplasmosis.

EPIDEMIOLOGÍA

La infección toxoplasmótica puede ser transmitida de un hospedador a otro por:

1. Forma activa libre: Trofozoíto
2. Forma latente dentro del hospedador: quiste hístico o pseudoquiste.
3. Forma latente fuera del hospedador: ooquiste maduro.

Las formas enunciadas pueden infectar por: carnivorismo, transfusiones de sangre, trasplante de órganos, vía transplacentaria, verduras, manos sucias (vía oral), ruptura interna de formas hísticas, etc. Al gato doméstico no se le debe dar de comer carne cruda por la probabilidad de contaminarlo con quistes hísticos.

Recomendaciones a las embarazadas: Evitar contacto con heces de gato o tierra potencialmente contaminada con las mismas por la probabilidad de la contaminación con ooquistes maduros. Evitar tareas de jardinería por las mismas razones. Utilizar guantes durante el procesamiento de carnes de animales homeotermos, por la probabilidad de contaminación con quistes presentes en las mismas. La vitalidad del quiste hístico, a -20°C, es de 24 horas.

TRATAMIENTO

Respecto del tratamiento solamente señalaremos que el mismo no es efectivo sobre las formas quísticas. Las formas trofozoíticas son privativas fundamentalmente de

la primoinfección, razón por la cual para que sea efectivo un tratamiento deberá hacerse durante este período (de allí la importancia de un diagnóstico precoz de la infección). Sólo cuando se suman parasitemia con aumento en la permeabilidad de la placenta habrá pasaje del parásito al feto, por ello el tratamiento deberá ser instaurado antes de que ello ocurra. La parasitemia dura aproximadamente entre 7 y 14 días luego de producida la infección.

Los antibióticos de elección son los siguientes:

- Pirimetamina + Sulfadiazina o Sulfadoxina.
- Trisulfapirimidina
- Espiramicina.
- Clindamicina

En todos los casos es conveniente seguir el tratamiento con Hemograma y recuento de plaquetas en sangre.

Trichomonas vaginalis

Sixto Raul Costamagna

La *Trichomonas vaginalis* es un Protozooario, que de acuerdo con la revisión efectuada en 1980 por el "Comité de Sistemática y Evolución de la Sociedad Americana de Protozoólogos" (Levine, 1980), pertenece al:

Reino: **PROTISTA**

Phylum **SARCOMASTIGOPHORA** (Honigberg & Balamuth, 1963), posee un núcleo, y varios flagelos como órganos locomotores.

Subphylum **MASTIGOPHORA** (Diesing, 1866) presenta reproducción asexual, por fisión binaria.

Clase **ZOOMASTIGOPHOREA** (Calkins, 1909)

Super-orden **PARABASALIDEA** (Honigberg, 1973): no presenta mitocondrias, y posee cinco cuerpos parabasales.

Orden **TRICHOMONADIDA** (Kirby, 1947; Honigberg, 1974): cuatro flagelos libres, y un flagelo recurrente; membrana ondulante; pelta y axostilo; hidrogenosomas presentes; sin quistes demostrados.

Familia: **Trichomonadidae.**

Género: ***Trichomonas.***

Especie: ***T. vaginalis.***

T. vaginalis fue observada por primera vez por Alfred Donné en 1836 en preparaciones microscópicas de exudados uretrales y vaginales humanas.

El nombre de *Trichomonas* se lo debe a su similitud con los "*Tricodes*" y las "*Monas*". La comunidad médica internacional no le creyó al Dr. Donné que este flagelado estuviese involucrado en la producción de patología, hasta que posteriormente Ehrenberg, en 1838, demuestra que el habitat "normal" en el humano es la vagina y por esta razón le da el nombre actual a esta especie parasitaria.

En 1896, Dock, nuevamente cuestiona el rol de patógeno de este protozoo, asegurando que se trataba de un microorganismo comensal, asintomático. Recién en 1916,

Hoehne demuestra que al erradicar el parásito desaparecían los signos y síntomas de las vaginitis. No obstante, el parásito fue virtualmente ignorado hasta que Johnson y col. en 1943 comienza con sus experiencias para aislarlo en medios de cultivo con cisteína, peptona, extracto de hígado, tripticasa y suero, sentando las bases de un diagnóstico etiológico adecuado, lo que permitiría más adelante la prueba "in vitro" de los anti-trichomonósicos.

En 1959, Cosar y Julou descubren que estos flagelados eran sensibles a la acción del 1'(hidroxi-2-etil)-1 metil-2 nitro-5 imidazol. Sobre la base de estos descubrimientos, posteriores ensayos farmacológicos hicieron posible que actualmente el tratamiento sea efectivo casi para el 100% de los casos, siempre que sea tratada la pareja sexualmente involucrada, ya que se trata de una enfermedad transmitida sexualmente (ETS) y con alta prevalencia en el mundo. Resistencias posteriores a este antiparasitario señalan que el flagelado ha logrado adaptarse a medios adversos para su subsistencia.

CICLO BIOLÓGICO

El ser humano es el único hospedador natural conocido. Es parásito de vagina y/o uretra.

No existen formas quísticas demostradas, siendo la forma vegetativa la infectante, presentando, este flagelado, un ciclo de transmisión directo, monoxénico, sin intermediarios, necesiéndose un contacto íntimo entre las personas parasitadas para que la transmisión sea efectiva, aunque en algún caso de máxima promiscuidad, se pueda transmitir por contactos íntimos con ropa interior o de baño con flujo vaginal o exudado uretral altamente parasitado.

Lo más común es que se transmita por contacto sexual, especialmente durante el período de máxima actividad. A mayor cantidad de parejas sexuales, mayor riesgo de contraer la enfermedad.

Pese al tratamiento efectivo existente, la enfermedad producida por este flagelado sigue siendo uno de los mayores problemas en salud pública en el mundo, especialmente en mujeres.

T. vaginalis es la única especie de *Trichomonas*, descrita hasta este momento, que parasita el tracto genitourinario y la vagina humana.

Es la causa más común de vaginitis con leucorrea en la mujer, y en el caso del

hombre, la presencia de exudado uretral, siempre debe hacer pensar que pudiese tratarse de una Trichomonosis uretral y como tal debe ser estudiada y tratada, aunque muchas veces, en éste suele ser asintomática, ya que al encontrarse en uretra, es arrastrada permanentemente por el pasaje de la orina en cada micción, haciendo difícil el diagnóstico etiológico ya que el número de parásitos que se pueden detectar es mínimo y muchas veces por debajo de la sensibilidad de los métodos de detección. Desde el punto de vista epidemiológico esto es importante, ya que es un eslabón asintomático en la cadena de transmisión de la enfermedad y por lo tanto de difícil detección y tratamiento. Por ello se reitera la importancia del tratamiento de la o las parejas sexuales involucradas en casos de Trichomonosis.

No existen vacunas y la única forma de erradicarla es mediante el tratamiento.

MORFOLOGIA DE *T. vaginalis*

T. vaginalis es un flagelado unicelular, que mide entre 10 y 30 micras de largo por 5 a 15 de ancho, que generalmente se presenta con aspecto piriforme, aunque los movimientos ameboides son característicos y normalmente se lo puede observar de aspecto ovoide, alargado o piriforme. No se han descrito formas quísticas. Es un parásito extracelular.

Presenta cuatro flagelos anteriores libres que parten de una depresión del polo anterior, denominado canal periflagelar. Estos flagelos se dirigen hacia adelante. El canal periflagelar está rodeado por una red de microtúbulos denominados pelta.

Un quinto flagelo, llamado recurrente, sale fuera de ese canal y se dirige hacia atrás, extendiéndose a lo largo de casi todo el parásito, acompañando a la membrana ondulante, que no es nada más que una prolongación citoplasmática adherida al flagelo recurrente y que "ondula", permitiendo que el protozoo se desplace. La membrana ondulante ocupa las dos terceras partes del cuerpo del protozoo.

A modo de columna vertebral, recorre la casi totalidad del flagelado, desde la parte anterior a la posterior por donde emerge ligeramente, un haz de microtúbulos que le confieren cierta rigidez al mismo: el axostilo.

Debajo de la membrana ondulante, existe una zona "reforzada" por microtúbulos: la costa.

Presenta una movilidad apreciable, girando sobre sí misma y sin una dirección

definida.

Puede emitir pseudópodos del tipo de lobopodios (tipo dedo), y algunos ejemplares adoptan forma ameboide.

En el citoplasma presenta un núcleo ovoide, aparato de Golgi, retículo endoplásmico, vacuolas y gránulos de glucógeno.

No posee mitocondrias, presentando en su reemplazo organelas vesiculares, llamadas hidrogenosomas dispuestas a lo largo de la costa.

Si se lo colorea con May Grunwald-Giemsa, se lo puede observar con objetivo de inmersión, con un citoplasma celeste, generalmente vacuolado, espumoso, y un núcleo grande y con cromatina bien coloreada y aparentemente uniforme. Los flagelos, difíciles de colorear, se los puede visualizar bien. Recomendamos la utilización de buffer fosfato 0,05 M pH 7, para la preparación del colorante, ya que de no hacerlo no se visualizarán los flagelos.

El axostilo, recorriendo a lo largo el protozoo, se lo puede observar con nitidez, al igual que los cuerpos parabasales en conjunto, en la parte anterior.

En algunos casos se pueden observar formas pequeñas y no vacuoladas, bien coloreadas, citoplasma azul en lugar de celeste y un núcleo alargado y fino.

RESPIRACION

T. vaginalis presenta un metabolismo anaeróbico o microaerófilico, no requiriendo oxígeno para sobrevivir o para multiplicarse, ya que no utiliza al mismo como el mayor aceptor de electrones en su metabolismo y si bien puede tolerar pequeñas concentraciones de él, es dañada cuando la cantidad de oxígeno es alta.

No se ha demostrado la presencia de mitocondrias y realiza sus procesos fermentativos a través de una extensión de la glicólisis para generar ATP. La reoxidación de ferredoxina reducida ocurre por la generación de hidrógeno (H₂).

El metabolismo energético en estos protozoos está compartimentado, ya que la oxidación de piruvato que dará lugar a la formación posterior de H₂ ocurre en organelas separadas, bien diferenciadas: los hidrogenosomas (Lindmark, 1973).

Estos flagelados son aerobios facultativos.

PATOLOGIA

T. vaginalis es el protozoo productor de Trichomonosis, la más común de las ETS (Enfermedades de Transmisión Sexual) no virales.

El hábitat natural de este flagelado, como ya hemos señalado precedentemente, es la vagina o la uretra humanas.

La invasión de la vagina por *T. vaginalis* produce una severa y aguda reacción inflamatoria.

Los estudios relacionados con la patogénesis son complejos pues involucran fenómenos de adhesión, hemólisis y factores solubles como cisteína, proteinasas y otros que interactúan con la flora vaginal.

Anticuerpos anti-proteinasas fueron detectados en lavados vaginales de mujeres con Trichomonosis, lo que demostraría la antigenicidad de estas proteínas que podrían ser importantes tanto en su interacción con el hospedador como desde el punto del inmunodiagnóstico.

Investigaciones sobre la actividad hemolítica de este flagelado demostraron que la máxima actividad se evidenciaba en rangos de pH que presenta la vagina durante la Trichomonosis, entre 5 y 6, a una temperatura de 37 °C y que se trata de un mecanismo contacto-dependiente. El tratamiento con Metronidazol disminuye esta hemólisis en un 50%.

El período de incubación de la enfermedad es generalmente difícil de precisar, relatóndose casos que oscilan entre los cuatro y los veintiocho días. No obstante, en infecciones experimentales se pudo hallar al microorganismo (período prepatente) entre los cuatro y los veinte días posteriores a la implantación artificial.

Las mujeres se presentan con frecuencia asintomáticas o a lo sumo presentan leucorrea mínima, y para muchas, los síntomas leves suelen pasar inadvertidos. Sin embargo, en otras, los signos y síntomas de esta parasitosis vaginal son: leucorrea profusa, molesto prurito y dolor vulvar, con un comienzo súbito y agudo, agregándose al flujo abundante un intenso dolor en la vulva y grave irritación. El flujo es generalmente espumoso, como saliva, fino y de color blanquecino, o amarillento, y con signos de colpitis muscularis, eritema vulvar y vaginal. En muchos casos, de larga data o por una particular predisposición de la paciente, el flujo suele ser verdoso y muy maloliente.

En la fase aguda, la vagina aparece extremadamente enrojecida y a veces la vulva también es atacada. El cervix muestra diferentes grados de cervicitis. Ya en la fase crónica, vulva y vagina pueden presentarse como normales; no obstante, las paredes vaginales pueden tener apariencia de "mordidas de pulgas" debido a diminutas hemorragias, lo que originó el nombre de "vagina de fresa". Existe hiperemia difusa con irritación y sensación de quemazón en vagina y cervix. También puede presentarse picazón e irritación en vulva y periné, con abrasión en muslos en los casos muy floridos. La descamación de la vagina estaría producida por un llamado factor de descamación celular (CDF) aislado de sobrenadantes de cultivos celulares y otros de actividad lítica que producirían una progresiva y total desintegración de las células mononucleares vaginales. En presencia de infección uretral o vesical, puede ocurrir disuria y poliariquiria. En muchas pacientes los síntomas recuerdan ataques recidivantes de cistitis.

El flujo, especialmente en fase aguda, puede estar acompañado de prurito vulvar y sensación de quemadura o ardor en genitales externos y vagina, pudiendo observarse enrojecimiento y/o edema en vulva, periné y piel adyacente de muslos, lo que puede llevar a la paciente a producirse escoriaciones y dermatitis.

También se ha reportado un caso de una mujer de 32 años que presentaba prurito y lesiones en piel, con episodios de artralgia, los que solamente cedieron (luego del diagnóstico etiológico, confirmado por laboratorio) con tratamiento específico para *T. vaginalis*; la paciente solamente había referido leucorrea.

En el varón se puede encontrar en secreciones uretrales y prostáticas, en la orina (primer chorro) y ocasionalmente en líquido seminal. Si el varón está circunciso se suele alojar en el fondo de saco subprepuical, pudiendo producir allí balanopostitis. Las secuelas en el varón son poco frecuentes, pero puede producir vesiculoprostatitis o estrechamiento uretral en aproximadamente el 10% de los que presentan recidivas o infección persistente.

Siempre que se esté en presencia de una secreción uretral, en el hombre, se deberá descartar una Trichomonosis, especialmente en presencia de otros microorganismos patógenos, tales como *Neisseria gonorrhoeae* o *Staphylococcus aureus* o algún otro patógeno uretral, pudiendo ser *T. vaginalis* vector para la transmisión de estas bacterias, como así también de enfermedades virales. Sobre un total de 1370 varones heterosexuales de 35 años de edad, examinados en Madrid entre 1984 y 1985, la uretritis trichomonósica representó solamente el 2,2% del total de las uretritis diagnosticadas.

La transmisión neonatal de *T. vaginalis* puede ocurrir durante el parto. Aproximadamente el 5% de los niños pueden infectarse con este protozoo durante su pasaje a través del canal del parto. Sin embargo, y en virtud de que no es invasivo, usualmente no requiere tratamiento en el neonato. Los niños nacidos de madres con Trichomonosis, no presentan anomalías atribuibles a esta parasitosis.

EPIDEMIOLOGIA

El conocimiento de la verdadera y real prevalencia de Trichomonosis en la población mundial es difícil de precisar, ya que no existen estudios epidemiológicos transversales que hayan permitido obtener la información necesaria, y además éstos difieren de acuerdo con la sensibilidad del o de los métodos utilizados para el diagnóstico de laboratorio. Algunas estimaciones señalan que el 3,5% de la población sería portadora del flagelado.

Solamente existen datos referidos a incidencias o prevalencias en ámbitos hospitalarios, en la consulta ginecológica, a través de los resultados de los exámenes para PAP o extrapolaciones que se hacen como consecuencia de los resultados de estos datos hacia la población en general. Las prevalencias que se manejan en la literatura médica son la parte visible, o detectable del iceberg trichomonósico mundial.

Además, al ser una enfermedad que se transmite sexualmente en prácticamente todos los casos, las prevalencias son variables de acuerdo con el tipo de población que se estudie, es decir, si está o no expuesta al factor que puede favorecer el contagio: edad, hábitos sexuales (prostitución, promiscuidad sexual), sexo, área geográfica (rural o urbana), costumbres, higiene personal, etc.

En Estados Unidos de Norteamérica se ha calculado que existirían dos y medio millones de mujeres infectadas por este parásito y en Inglaterra un millón y medio aproximadamente.

Se estima que se encuentra en el 10 y el 20% de las mujeres en edad productiva y que podría estar en el 15% de los varones que presentan uretritis. Estos datos, en la actualidad, han descendido, al menos en nuestro medio, debido quizás al uso de preservativos o a un mayor cuidado de las parejas sexualmente activas, como consecuencia de la gran pandemia de final de siglo: el SIDA.

En Ankara (Turquía), mediante el examen en fresco y la coloración de Giemsa, los valores obtenidos son del 36,46%.

En población de alto riesgo masculina, en Washington y mediante el examen en fresco la prevalencia encontrada fue del 58%, mientras que Wolner Hanssen en el Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Washington, en 1989, había encontrado una prevalencia del 15% (por examen en fresco) en un grupo de mujeres atendidas en el mencionado consultorio por ETS, mientras que en el King Country de esa ciudad se encuentra que un 48% de las mujeres estudiadas era portadora de *T. vaginalis*.

En un grupo de prostitutas en Alemania, utilizando medios de cultivos, se detecta un 36,6% de portadoras.

En Riga, la prevalencia hallada fue del 35,5 %.

En Los Angeles, California, fue hallada en el 14,4% de mujeres infectadas con el HIV, en 1992.

En Turquía fue hallada en el 25% de una población de prostitutas, mientras que en New York la prevalencia hallada sobre una muestra de 300 mujeres prostitutas fue del 16,6%.

En el Laboratorio de Salud Pública de la Consejería de Sanidad de Oviedo (España) se encuentra que un 30,3% de mujeres prostitutas con edad promedio de 22 años, eran portadoras de este Protozoo.

En Latinoamérica, datos referidos a Chile señalan que de 149 mujeres embarazadas con edades entre 12 y 43 años, un 27,5% de ellas era portadora del parásito, no habiéndose reportado ningún caso de infección en el recién nacido.

En Bahía Blanca, Argentina, la prevalencia hallada en medios hospitalarios, en mujeres que presentando alguna sintomatología probablemente infecciosa eran derivadas a los laboratorios de Microbiología, al ser estudiados los flujos vaginales mediante exámenes en fresco, coloraciones de May Grunwald-Giemsa y coloración fluorescente del naranja de acridina, fue del 23,3 % promedio, valor similar al hallado en la ciudad de Mendoza (Argentina) donde la frecuencia fue del 25%, con una prevalencia mayor en mujeres de entre los 21 y 40 años.

En virtud de que no es posible obtener muestras estadísticamente significativas, no se disponen de datos sobre la verdadera prevalencia de esta parasitosis en la población en general, salvo en regiones muy particulares como algunas aldeas africanas.

TRATAMIENTO

La droga de elección para el tratamiento, en la actualidad es el Metronidazol, considerada como "gold standard" aún. No parece tener riesgos teratogénicos importantes (en dosis terapéuticas únicas) ni producir anomalías congénitas, no obstante no debe administrarse durante el embarazo; aquí las duchas vaginales con vinagre suelen ser efectivas en mujeres muy sintomáticas, por reducción del pH vaginal.

Siempre que se pueda se debe tratar la o las parejas involucradas en un contacto con Trichomonosis, a fin de evitar lo que en ETS se conoce como "recaídas en ping-pong".

En caso de resistencia, que puede presentarse en algunas cepas de este flagelado, se recomienda reemplazar el Metronidazol por Paramomicina.

Los medicamentos existentes en el mercado, en Argentina, para el tratamiento de la Trichomonosis, son los siguientes:

1. Timidazol 500 mgs. Dosis única (Fasigyn de Pfizer)
2. Secnidazol (Flagentyl de Elvetium-Rhodia)
3. Metronidazol (Facyl de Elvetium-Rhodia)
4. Azanidazol (Ginedazol de Roux-Ocefa)
5. Ketoconazol-secnidazol (Gynerium de Syncro)
6. Nitrato de Miconazol + Timidazol (Gynormal de Andrómaco)

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de *T. vaginalis* se puede realizar por métodos directos o indirectos.

Los métodos directos son los que posibilitan la visualización del parásito o de alguna de sus estructuras (desde lo molecular a lo celular) por algún mecanismo, mientras que las indirectas son las que detectan la respuesta inmunológica con que el paciente reacciona frente a la infección por este flagelado.

Para la investigación por métodos directos, en mujeres, se utiliza flujo vaginal extraído, utilizando espéculo, de fondo de saco, con hisopo estéril, en los períodos alejados de la menstruación y por lo menos 48 horas posteriores a relaciones sexuales (en caso de que existan), no se deberán colocar óvulos ni cremas vaginales ya que ello dificultaría la observación microscópica. (En niñas vírgenes no se debe colocar espéculo). En el lugar donde se realiza la extracción se efectúan los extendidos necesarios para efectuar coloraciones (ver más adelante) y se coloca luego el hisopo en un tubo conteniendo un mililitro de solución fisiológica estéril, para la posterior búsqueda del flagelado, con movimiento característico, al microscopio óptico, entre porta y cubreobjetos. Esta búsqueda deberá efectuarse rápidamente, en lo posible a los pies de la paciente y antes de retirar el espéculo, ya que a medida que transcurre el tiempo disminuye la probabilidad de encontrar al flagelado con movimiento, lo que dificulta su identificación, haciendo que la sensibilidad diagnóstica de esta simple y económica investigación disminuya, requiriéndose de otras pruebas más dificultosas y costosas para dar ciertas garantías respecto del valor predictivo del resultado negativo de la investigación.

En el caso de desearse investigar la presencia de *T. vaginalis* en orina, se deberá recolectar en frasco limpio (en lo posible estéril) el primer chorro de la primera orina matinal, ya que el flagelado puede producir uretritis, especialmente en el varón, y lo que se pretende con esta recolección es arrastrar el parásito que está en uretra hacia el exterior; pero si se recolecta toda la orina, el parásito quedará "diluido" y por lo tanto disminuye la probabilidad de hallarlo. Además, la orina no es el medio más adecuado para que el flagelado se conserve con movimiento.

Una vez en el laboratorio, la orina se deberá centrifugar durante 3 min a 1500 rpm o bien 2 min a 3000 rpm (igual que para un sedimento urinario) y luego observar entre porta y cubreobjetos con 10X y 40X, pudiéndose observar al flagelado con sus típicos movimientos de rotación y traslación.

Nuestras observaciones nos permiten sugerir colocar una pequeña gota de una solución al 1% de Verde de Malaquita en agua destilada con la gota de orina o flujo a examinar "en fresco", ya que ello facilita la observación del flagelado, especialmente cuando éste disminuye su actividad y se presenta casi inmóvil.

Se informa simplemente la presencia o ausencia del flagelado en la muestra estudiada. Cuando el examen en fresco resultare negativo, deberá efectuarse coloración con May Grunwald-Giemsa, la coloración con azul de metileno propiciada por Méndez o la col-

oración fluorescente con el naranja de acridina, según se analiza posteriormente. En el varón, donde este flagelado puede estar causando uretritis no demasiado importantes, ardor miccional, o simplemente ser asintomático, se lo investiga en el primer chorro de orina, como se señalara precedentemente, o bien en el exudado uretral tomado con ansa bacteriológica, a la mañana temprano, y sin que el paciente haya orinado. Si el exudado es abundante se podrá investigar en fresco entre porta y cubreobjetos, la presencia o ausencia del parásito, pero si es escaso se efectuarán extendidos en un portaobjetos que luego se colorearán con May Grunwald-Giemsa o con naranja de acridina.

En caso de ser necesario se podrá efectuar la recolección del material de uretra masculina, previo masaje prostático, ya que, como se señalara, este flagelado puede causar prostatitis.

Los métodos indirectos, en virtud de que no se trata de un parásito invasivo y por su deficiente inmunidad humoral, no tienen utilidad en la práctica diaria. Solamente existen reportes de interés en investigación pura, con escasa aplicabilidad, por razones de costo, sensibilidad y en algunos casos baja especificidad.

En la actualidad, para el diagnóstico de Trichomonosis, el laboratorio dispone de los siguientes métodos:

1. Examen en fresco entre porta y cubreobjetos.
2. Coloración de May Grunwald-Giemsa.
3. Coloración con azul de metileno-SAF de Méndez y col.
4. Coloración fluorescente con Naranja de Acridina.
5. Test de Inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales.
6. Serodiagnóstico por inmunofluorescencia indirecta.
7. Medios de cultivos acelulares y TYI-S-33 y PEHPS.
8. ELISA.
9. Dot-enzyme immunoassay (DIBA), para investigación de antígenos en flujo vaginal o uretral .
10. Cultivos celulares.
11. QBC para *T. vaginalis*.
12. Pruebas moleculares para identificación de ADN de *T. vaginalis*.

Si bien existen estos métodos para abordar y solucionar el problema del diagnóstico de *T. vaginalis*, pareciera que diagnosticar esta parasitosis es simple, pero, la realidad

cotidiana de los que de una u otra forma participamos en el diagnóstico etiológico de esta enfermedad sabemos que muchas veces, frente a pacientes con síntomas y signos muy evidentes que hacen sospechar una Trichomonosis, por los métodos usuales de diagnóstico no se llega a confirmar la presencia del flagelado en la muestra analizada, con lo que el analista pierde prestigio y el médico solicitante del análisis, frente a la evidencia clínica termina prescribiendo el tratamiento pertinente para *T. vaginalis*.

EL EXAMEN EN FRESCO Y LA COLORACION DE MAY GRUNWALD-GIEMSA

El examen en fresco de una gota de secreción vaginal o uretral, entre porta y cubreobjetos, constituyó, desde que Donné en 1836 descubre a la *T. vaginalis* parasitando la vagina humana, una de las más sencillas y económicas formas de investigar al flagelado en el laboratorio, siendo utilizada en la actualidad en todo el mundo por su sencillez y bajo costo, pudiéndose observar al flagelado con forma redondeada o piriforme y con su característica movilidad, a través del campo microscópico, de sus flagelos y de su membrana ondulante. No obstante, presenta el inconveniente de que su sensibilidad depende, no solamente del observador y de una muy buena toma de muestra, sino también del **tiempo que transcurre entre la obtención de la muestra y su observación al microscopio óptico**, como así también de que la temperatura de 37°C sea respetada durante todo el proceso, ya que la movilidad del Protozoo que nos ocupa disminuye "in vitro" a medida que pasa el tiempo.

No habiéndose encontrado bibliografía que hubiese abordado específicamente este tema, aunque sí respecto de la disminución de la movilidad respecto de la, o referidas al crecimiento y viabilidad del flagelado con relación a las variaciones de pH en medio de Feinberg, o apreciaciones cualitativas respecto de una inmediata observación para obtener resultados confiables y otras que hacen referencia al límite de detección del test de Donné, que daría resultados positivos solamente si se supera el número de diez a la sexta parásitos por mililitro y negativo por debajo de diez a la tercera flagelados por mililitro, es que se evaluó la verdadera importancia que tiene el tiempo transcurrido entre la toma de muestra de flujo vaginal y su posterior observación microscópica entre porta y cubreobjetos, ya que este dato podría influir sobre la sensibilidad y el valor predictivo de los valores positivos y negativos de este examen que a diario utilizan los microbiólogos para el diagnóstico de una Trichomonosis.

De los resultados se dedujo que hay una disminución de 16,36 puntos (18,94 %) en la sensibilidad diagnóstica del examen en fresco inmediato, respecto del fresco tardío.

Estos falsos negativos por el examen en fresco son diagnosticados por la observación microscópica del extendido de flujo vaginal coloreado con May Grunwald-Giemsa. Se puede afirmar que la Sensibilidad Diagnóstica del examen en fresco disminuye en relación directa con el tiempo transcurrido desde que se extrae la muestra y la observación al microscopio en un 18,94 %, para un tiempo de una hora y media post-extracción. Más importante que la observación directa hecha en forma inmediata, es la complementación con otros métodos, como la coloración de May Grunwald-Giemsa.

EL EXAMEN EN FRESCO, LA COLORACION DE MAY GRUNWALD-GIEMSA Y EL NARANJA DE ACRIDINA PARA DIAGNOSTICAR *T. vaginalis*.

En el punto anterior hicimos algunas consideraciones respecto de la importancia que tiene la observación inmediata de las muestras de flujo vaginal (extensibles también a cualquier otro tipo de material: exudados uretral, orina, etc), ya que el no respetar esta recomendación hará perder sensibilidad al diagnóstico efectuado.

También recomendábamos acompañar al examen en fresco con otras coloraciones, especialmente si no efectuábamos una observación inmediata de la muestra.

El examen en fresco, utilizado desde Donné en adelante es, sin lugar a dudas uno de los métodos más utilizados para diagnosticar *T. vaginalis* tanto en flujo vaginal como en exudados uretrales, pero tal como quedara expresado en el punto anterior tiene sus limitaciones: su bajo VPRN y sensibilidad diagnóstica.

La coloración de May Grunwald-Giemsa, si bien presenta una mejoría en los Valores Predictivos de los Resultados Negativos, no siempre se la utiliza ya que requiere de experiencia, tiempo y paciencia por parte del observador ya que no siempre estos flagelados se colorean de una manera llamativa, siendo muchas veces difícil de observar los flagelos: requiere experiencia.

En este punto presentaremos los resultados de la validación de las tres pruebas siguientes:

1. El examen en fresco.
2. La coloración con May Grunwald-Giemsa.
3. La coloración fluorescente con Naranja de Acridina.

Las muestras fueron procesadas simultáneamente por los tres métodos señalados, para lo cual se extrajo flujo vaginal de fondo de saco con un hisopo estéril, el cual fue colocado en un tubo que contenía 0,5 ml de solución fisiológica de cloruro de sodio, el cual se mantuvo en un baño de incubación a 37°C hasta el momento de

su observación. Con otro hisopo se efectuaron extendidos sobre portaobjetos para realizar las dos coloraciones señaladas.

El examen en fresco entre porta y cubreobjetos del flujo vaginal en solución fisiológica, fue realizado antes de pasada la segunda hora posterior a la extracción. Se observó con 400 aumentos por espacio de cinco minutos cada preparado, y se informó la presencia o ausencia del protozoo.

Uno de los extendidos, secado al aire, fue coloreado con solución de May Grunwald durante tres minutos y posteriormente con solución de Giemsa (diluida una gota por mililitro de buffer fosfato pH 7) durante quince minutos. Las muestras secas fueron observadas al microscopio óptico con objetivo de inmersión.

Al otro preparado se le realizó la coloración fluorescente del Naranja de Acridina, según la técnica descripta por Frip y col.

Una vez secados a aire, las preparaciones fueron hidratadas mediante pasajes sucesivos por alcoholes de 80 %, 70 % y 50 % durante 30 seg en cada uno. Luego por agua destilada 30 seg, para pasar al acidificar en ácido acético al 1 % durante 30 seg. A continuación se sumerge en la solución de trabajo de naranja de acridina durante 3 min, siendo posteriormente lavados en buffer fosfato de Sörensen's 1/15M, pH 6,0 y colocados a continuación en solución de Cl_2Ca 1M, para luego colocarse nuevamente en buffer fosfato hasta su observación al microscopio de fluorescencia, observándose con objetivos de 10X y 40X con filtros 44/53.

Solución stock de naranja de acridina utilizada: 1 gr. de naranja de acridina (Mallinckrodt Chemical Works ®. Código 1978. Lote 4045.) (C. I.: 46005) en 100 ml de buffer fosfato de Sörensen's pH 6. Esta solución es estable en heladera, a 4°C.

Solución de trabajo de naranja de acridina: 5 ml de la solución stock de naranja de acridina en 95 ml. de buffer fosfato de Sörensen pH 6. Esta solución debe renovarse diariamente, en función de su uso, siendo su duración no mayor de tres a cinco días.

Solución stock de Cl_2Ca : solución 1M de Cl_2Ca en agua destilada. Esta solución es estable en heladera a 4°C.

Solución de trabajo de Cl_2Ca : 30 ml de solución stock de Cl_2Ca en 70 ml de agua destilada. Esta solución debe renovarse diariamente, en función de su uso, siendo su duración útil, máxima, de siete días.

El naranja de acridina es un fluorocromo capaz de unirse a moléculas de estructuras celulares o subcelulares, sin alterar su estructura, para producir la llamada "Fluorescencia Secundaria" cuando se la excita con luz de longitud de onda adecuada. Posee particular afinidad por los ácidos nucleicos, las nucleoproteínas, los mucopolisacáridos, sulfomucinas, fibras elásticas, mucoproteínas, lisosomas, y usualmente tiene utilidad para el estudio de fenómenos neoplásicos, ya que las imágenes fluorescentes obtenidas están en relación al contenido y distribución de ácidos nucleicos en las células, y esto, a su vez está ligado a los mecanismos de síntesis proteica (alteraciones en las células cancerosas), ya que la fluorescencia verde o amarilla es característica de los núcleos celulares y del citoplasma de las células en necrosis. La aparición de fluorescencia roja o roja negruzca en el citoplasma puede ser índice de elevada síntesis proteica o de la presencia de inclusiones con alto contenido en ARN.

Sobre extendidos de flujo vaginal se pueden, además, evidenciar modificaciones celulares asociadas al ciclo hormonal, incluso estados precancerosos.

El complejo Naranja de Acridina-ADN, presenta fluorescencia verde y verde amarillenta (por ejemplo en los núcleos celulares) mientras que el Naranja de Acridina-ARN da fluorescencia rojo anaranjado como son las inclusiones citoplasmáticas de ARN, Virus o Clamídeas.

En *T. vaginalis*, el citoplasma aparece de color rojo ladrillo (color de la solución madre de naranja de acridina) y el núcleo color amarillo verdoso, ovalado o alargado. La coloración del flagelado es distintiva y permite una fácil diferenciación de otras estructuras, fundamentalmente células epiteliales de descamación vaginal, leucocitos o hematíes, aún con 10X.

Las muestras pueden permanecer a temperatura ambiente hasta 24 horas, sin reducción de la sensibilidad diagnóstica del método, mientras que si están fijadas, mantienen la coloración y características morfológicas por cinco días.

Estas dos coloraciones fueron realizadas antes de las 48 horas de tomadas las muestras. Paralelamente se efectuaron coloraciones con naranja de acridina sobre extendidos conservados en freezer a -20°C.

Para los tres métodos validados se determinaron las Sensibilidades Diagnósticas y los Valores Predictivos de sus resultados Positivos y Negativos.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Sensibilidad Diagnóstica:

Para el examen en fresco: 58,3 %

Para la coloración con May Grunwald-Giemsa: 75 %

Para la coloración con Naranja de Acridina: 95 %

Valor Predictivo del Resultado Negativo

Para el examen en fresco: 88,4 %

Para la coloración May Grunwald-Giemsa: 92,7 %

Para la coloración con Naranja de Acridina: 98,7 %

Como se puede observar, la no detección de *T. vaginalis* por ninguno de los métodos estudiados, no asegura la ausencia del flagelado en la muestra, ya que ninguno presentó un VPRN del 100%.

El **Valor Predictivo del Resultado Positivo** y la **Especificidad** de las pruebas fueron considerados del 100% para todos los casos: esto es válido siempre que el observador sea experimentado y no confunda al parásito con otros elementos o artefactos.

En las cien mujeres estudiadas, la prevalencia de Trichomonosis encontrada fue del 23,5%.

En ensayos paralelos, cuando los extendidos, secos, eran conservados, sin colorear, en freezer a -20°C hasta 15 días, antes de efectuar la coloración con el Naranja de Acridina, se obtuvieron idénticos resultados, hecho éste que consideramos relevante, ya que, de no mediar urgencia en la entrega de los resultados, puede ser de utilidad para procesar muestras semanalmente, especialmente cuando la demanda es escasa, en el caso de pequeños laboratorios.

Del análisis de los resultados, de la relación costo/beneficio y luego de la aplicación del test estadístico indicado, concluimos que el mejor de los tres métodos validados es que utiliza la coloración fluorescente con naranja de acridina, por su mayor sensibilidad diagnóstica y su mejor Valor Predictivo en sus Resultados Negativos, siendo esta coloración de bajo costo, rápida y muy útil para el examen de las muestras que hayan resultado negativas por los otros métodos (examen en fresco y/o coloración con May Grunwald-Giemsa).

Podría resultar de utilidad en los grandes hospitales, donde no siempre es posible examinar inmediatamente todas las muestras.

Otra ventaja adicional del Naranja de Acridina, es el reducido tiempo de observación microscópica que requiere.

De acuerdo con lo señalado, y en consecuencia, el algoritmo que proponemos para el diagnóstico de *T. vaginalis* en vulvovaginitis, es el siguiente:

A la muestra de flujo vaginal se le efectúa primeramente un examen en fresco entre porta y cubreobjetos; si arroja resultado positivo se informa, y si el resultado es negativo se debe colorear con las soluciones de May Grunwald y Giemsa; si el resultado de la observación del extendido con esta coloración es positivo, se informa y si es negativo, necesariamente, debemos efectuar la coloración fluorescente con naranja de acridina.

Se recomienda no evitar ningún paso, ya que como se pudo observar en los resultados presentados, ningún método tiene un VPRN del 100%.

Si el resultado obtenido siguiendo estas sugerencias es positivo, se informa, y si es negativo, la probabilidad de que el paciente NO tenga *T. vaginalis* es del 98,7%.

Si comparamos este valor con el VPRN del examen en fresco, se podrá deducir que un 10% de éstos arrojan resultados falsos negativos, mientras que con la coloración con May Grunwald-Giemsa esta diferencia se baja a un 6%.

Se debe recordar que estas diferencias solamente son válidas para esta triple validación de métodos mostrada.

LOS MEDIOS DE CULTIVOS DE DIAMOND Y DE KUPFERBERG, PARA *T. vaginalis*

Los medios de cultivos para *T. vaginalis*, por lo menos en nuestro medio, no han tenido el éxito que autores europeos y norteamericanos han obtenido. Uno de los mayores inconvenientes que restringen su uso es el elevado costo de los mismos y el inconveniente de que todos necesitan del agregado de suero de caballo, antibióticos y antimicóticos.

Del análisis de los resultados obtenidos en nuestra experiencia, podemos sugerir que el medios de cultivos Diamond (Menarini®), para una prevalencia de enfermedad (Trichomonosis) del 29,21%, en nuestro laboratorio de diagnóstico, presenta una sensibilidad, valor predictivo del resultado negativo y valor global de la prueba, similar al examen en fresco.

Con respecto al medio de Kupferberg, si bien el valor global de la prueba es similar, presenta una sensibilidad del 76,92%, ligeramente inferior al examen en fresco, aunque con diferencia estadística no significativa.

Con referencia a la coloración de Gram, no consideramos una coloración recomendable para diagnosticar *T. vaginalis*. Simplemente fue incluida en esta validación ya que es una coloración que rutinariamente efectúan los bacteriólogos en el estudio del flujo vaginal, y que en caso de visualizarse el flagelado en la misma, puede informarse su hallazgo y no se necesitarían efectuar los siguientes estudios.

Si bien nuestros hallazgos son coincidentes con los de Thomason, en 1988, es pertinente señalar que sobre 351 muestras estudiadas, Van der Meijden, en 1988, detectó *T. vaginalis* por examen en fresco en el 6% de los casos mientras que si utilizaba cultivos acelulares anaeróbicos la detección llegaba al 13 %.

Gelbart, en 1989, si bien otorga una "eficiencia relativa" del 100% al cultivo del flujo vaginal en medio de Diamond, incubado durante siete días a 37°C, manifiesta una sensibilidad del 76,9% al medio de Kupferberg, igual a la hallada por nosotros en esta experiencia, pese a que las muestras son diferentes.

Gelbart, en 1990, si bien reconoce el valor del medio de Diamond, señala que es solamente en condiciones de anaerobiosis y con una incubación de siete días, lo que dificulta aún más su utilización en los laboratorios comunes, ya que no todos disponen de jarras para anaerobiosis, llegándose, luego de un análisis de costo/beneficio, a ser descartado su uso por el Laboratorio de Análisis Clínicos.

Creemos, por lo tanto, que hasta tanto se disponga de mejores medios de cultivo comerciales, no recomendamos la utilización de los medios de cultivos en la práctica diaria en nuestros laboratorios de diagnóstico microbiológico.

El medio de Diamond, creemos, podría ser recomendable para estudios de cepas axenizadas, para mantenimiento de las mismas en laboratorio para investigación.

FIJADOR-COLORANTE PROPUESTO POR MENDEZ PARA EL DIAGNOSTICO DIRECTO DE *T. vaginalis*

El diagnóstico de laboratorio del Protozoo parásito *Trichomonas vaginalis*, sigue siendo

en la actualidad, objeto de nuevos estudios. Así, Mendez y col. sugieren la utilización de un fijador-colorante para el diagnóstico en fresco de este flagelado. En el presente apartado se presentan resultados de la validación de la mencionada propuesta.

Reactivos:

Solución SAF: 20 ml de ácido acético, 18 g de acetato de sodio, 40 ml de formol y cantidad suficiente de agua destilada para completar a 1000 ml.

Azul de Metileno pH 3.6: 465 ml de ácido acético 0.2M, 37 ml de acetato de sodio 0.2M, 500 ml de agua destilada y 1 g de azul de metileno.

Para su utilización se prepara la solución de trabajo mezclando en partes iguales las soluciones SAF y Azul de Metileno, en el momento de ser utilizadas. Esta solución de trabajo se prepara y se utiliza en el día. A un mililitro de esta solución se le agrega el flujo vaginal tomado como ya se señalara para el examen en fresco, se mezcla bien y se tapa hasta su procesamiento posterior.

Una vez en el laboratorio se procede a la centrifugación de este material, a 1500 / 2000 rpm durante 5 min. A continuación se elimina el sobrenadante y se observa el sedimento entre porta y cubreobjetos, con objetivos de 10X y 40X.

Los resultados de nuestras experiencias fueron, para un nivel de confianza del 95%:

	Examen en fresco	Fijador-Colorante de Méndez
Sensibilidad	66,6%	100%
Especificidad	100%	100%
VPRP	100%	100%
VPRN	93,93%	100%
Valor global de la prueba	94,59%	100%

De acuerdo con nuestros resultados, podemos señalar que el fijador-colorante que proponen Méndez y col., en base a su especificidad, sensibilidad diagnóstica, Valor Predictivo del Resultado Positivo (VPRP) y Valor Predictivo del Resultado Negativo (VPRN) es recomendable para el diagnóstico de *T. vaginalis* en flujo vaginal. Estos resultados, sugieren, de acuerdo con datos obtenidos por los autores en otros estudios, que este fijador-colorante se podría utilizar en reemplazo de la coloración de May Grunwald-Giemsa, habitualmente usada para estos fines, ya que ambas presentan sensibilidades semejantes. Además, el método propuesto por el Dr. Méndez permite

el procesamiento del material mucho tiempo después de obtenido, inclusive meses, siempre que el mismo sea mantenido en heladera a 4°C. El aumento de sensibilidad respecto del examen en fresco, se debe a que en la propuesta de Méndez se efectúa una concentración del material, antes de su observación. Esta propuesta podría también, ser utilizada para otras muestras (orina, semen, etc.) en las que se desee investigar *T. vaginalis*.

RESUMEN del DIAGNOSTICO DE LABORATORIO:

El diagnóstico de *T. vaginalis* (si bien existe gran cantidad de información al respecto) es aún un problema que los profesionales que contribuimos al diagnóstico de las enfermedades desde el laboratorio aún no tenemos resuelto, especialmente cuando los resultados son negativos.

Como conclusiones, al respecto, señalamos:

1. El examen en fresco, entre porta y cubreobjetos de una gota de flujo vaginal o de un sedimento urinario (1ra porción), es el método que primeramente debemos utilizar, ya que su bajo costo, alta especificidad, y sensibilidad así lo sugieren: sensibilidad diagnóstica, comparado con la coloración fluorescente con el naranja de acridina: 58,3%, para una prevalencia de 23,5%.
Valor Predictivo del Resultado Negativo: 88,4%.
2. Para aumentar la visualización del flagelado en fresco, es conveniente resaltar con una gota de verde de malaquita en solución al 1%.
3. Para aumentar la sensibilidad del examen en fresco se recomienda la observación inmediata, ya que si transcurre demasiado tiempo entre la obtención de la muestra y su observación disminuye la probabilidad de que el flagelado presente movilidad, disminuyendo la sensibilidad diagnóstica en un 18,94%, para un tiempo de una hora y media post-extracción.
3. En caso de que el examen en fresco arroje resultados negativos, se recomienda colorear un extendido de flujo, sedimento de orina o secreción uretral, con May Grunwald-Giemsa, para luego efectuar el examen parasitológico con objetivo de inmersión al microscopio óptico.

4. Si la coloración con May Grunwald-Giemsa es negativa se recomienda la coloración de Méndez y si ésta es "negativa", se recomienda efectuar la coloración fluorescente con naranja de acridina.
5. Los medios de cultivos acelulares, como el de Diamond y Kupferberg, para las prevalencias de Trichomonosis de los grupos de pacientes a los que se les solicitan exámenes para investigar *T. vaginalis*, y de acuerdo con nuestras experiencias, no son recomendables, ya que requieren tiempo, esfuerzo, el costo es alto comparado con lo que el profesional bioquímico puede requerir como gastos y honorarios por un examen de flujo vaginal, y los resultados no son mejores que un examen en fresco o una coloración de May Grunwald-Giemsa.
6. El PAP, si bien no lo recomendamos para investigar específicamente *T. vaginalis*, en caso de requerirse este estudio para estudiar la citología vaginal, si el médico patólogo se habitúa a informar respecto de la presencia o ausencia de este parásito, es importante, ya que la sensibilidad de este método es de 54,54%, comparado con el naranja de acridina y para una prevalencia de enfermedad trichomonósica del 18,33%. Presenta una sensibilidad diagnóstica muy similar al examen en fresco, a quien no recomendamos reemplazarlo, sino complementarlo.

ACANTHAMOEBA Y OTRAS AMEBAS PATÓGENAS DE VIDA LIBRE

María Cristina Salomón
Rosa Lydia Tonelli

INTRODUCCIÓN

Las amebas patógenas de vida libre son organismos aerobios con una distribución geográfica de tipo cosmopolita; se han identificado casos de infección humana en cada lugar en que médicos y observadores con conocimiento, han averiguado de su existencia. Su habitat es variado, se las encuentra en el agua, tanto dulce como salada y en el polvo atmosférico. Todas las infecciones son adquiridas desde el ambiente y se propone el término "econosis" para referirse a las enfermedades causadas por organismos que son de vida libre pero que, ocasionalmente, se comportan como parásitos facultativos del hombre y animales. No se ha demostrado la transmisión de humano a humano. La puerta de infección primaria puede ser la piel, conjuntivas y tracto respiratorio superior causando patología principalmente a nivel del SNC y ojos; no son patógenos intestinales, en parte, por ser sensibles al jugo gástrico y a la bilis.

Las especies patógenas principales pertenecen a los géneros *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Balamuthia*, quienes además de cumplir su rol de agentes infecciosos primarios, pueden actuar como vectores de múltiples agentes infecciosos algunos de los cuales se listan en el Cuadro 1.

Agente infecciosos	Género y especie de Ameba	Bibliografía
<i>Pseudomonas aureginosas</i>	<i>A. polyphaga</i>	Fenner L <i>et al</i> 2006
<i>Vibrión cholerae</i> ,	<i>A. polyphaga</i>	Li QX <i>et al</i> 2006
<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>A. polyphaga</i>	Adekambi T, <i>et al</i> 2006
<i>Escherichia coli</i> , O18 cepa K1	<i>A. castellani</i>	Alsam S <i>et al</i> 2006.
<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Prevotella intermedia</i> *	<i>A. castellani</i>	Wagner Y <i>et al</i> 2006

<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Acanthamoeba sp</i>	Ly T M and Muller H E 1990
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>A. polyphaga</i>	Axelsson-Olsson D <i>et al</i> 2005
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>A. castellani</i>	Winiecka-Krusnell J <i>et al</i> 2002
<i>Shigella sonnei</i>	<i>A. castellani</i>	Jeong H J <i>et al</i> 2006
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Acanthamoeba sp</i>	Winiecka-Krusnell J and Linder E. 1999
Virus Coxsackie (CVB3)	<i>A. castellanii</i>	Mattana A <i>et al</i> 2006

*bacterias Gram negativas, anaerobios estrictos agentes de periodontitis.

Cuadro 1. Agentes infecciosos que pueden ser vectorizados por *Acanthamoeba*.

Día a día se identifican nuevos agentes de diferentes taxones capaces de sobrevivir en las amebas de vida libre. Esto protozoos se constituyen en verdaderos reservorios que pueden además dispersar a los agentes que transportan permitiéndoles colonizar nuevos habitats. Esto demuestra el importante rol epidemiológico de las amebas de vida libre. En algunas ocasiones en cambio, como en el de *Legionella pneumophila* (agente etiológico de enfermedad de los Legionarios), la bacteria, al reproducirse activamente dentro de la ameba, abandona la vacuola alimentaria y causa la lisis amebiana.

RESEÑA HISTÓRICA.

En tanto que, Fedor Aleksandrovich Losch describió en 1875 a *Entamoeba histolytica*, las enfermedades producidas por amebas de vida libre sólo fueron reconocidas a partir de 1948, cuando se comunicó el caso de un soldado japonés de 22 años que, capturado como prisionero de guerra en 1943, cerca de Buna, Nueva Guinea, falleció siete semanas más tarde con una infección amebiana diseminada. El segundo caso de infección humana por amebas de vida libre, data de 1960, en Tucson, Arizona, con una niña de 6 años que falleció por una lesión cerebral descrita como granuloma, en forma inicial e inexactamente imputado a *Iodamoeba buetschlii*, comprobándose posteriormente que era debido a *Acanthamoeba sp*.

El primer caso de infección humana por *Balamuthia mandrillaris* fue comunicado en 1991 en un paciente con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

En Sudamérica se han publicado casos provenientes de Argentina, Venezuela, Brasil, y en especial de Perú.

CLASIFICACIÓN

Reino:	Protista
Subreino:	Protozoa
Phylum:	Sarcomastigophora
Subphylum:	Sarcodina
Superclase:	Rhizopoda
Clase:	Lobosea
Subclase:	Gymnamoebia
Orden:	Amoebida
Familia:	Acanthamoebidae
Género:	<i>Acanthamoeba</i>
Orden:	Schizopyremida
Familia:	Vahlkampfiidae
Género:	<i>Naegleria</i>
Orden:	Leptomyxa
Familia:	Leptomyxidae
Género:	<i>Balamuthia</i>

Los parásitos de la clase Lobosea patógenos intestinales pertenecen a la familia Entamoebidae, género *Entamoeba*, especie *histolytica* y también pueden comprometer el SNC, pero por lo general en forma secundaria y ocasionando lesiones características muy diferentes de las producidas por las amebas de vida libre.

ACANTHAMOEBA

El protozoo *Acanthamoeba sp* fue descrito por primera vez en 1930, por Sir Aldo Castellani como un microorganismo saprófito que se desarrollaba en cultivos de levaduras de *Cryptococcus parviseus* y M. Douglas denominó a la ameba como *Hartmannella*

castellani en el género *Hartmannella*, pero posteriormente fue reclasificado como *Acanthamoeba castellani*

La primera especie descrita de *Acanthamoeba* fue *A. culbertsoni*, si bien descubierta por Castellani en 1930 fueron Culbertson y colaboradores quienes comprobaron su poder patógeno en animales de laboratorio (monos y ratones) reconociendo a las amebas, por primera vez, en secreciones hísticas de los mismos luego de la inoculación del material infectado.

Otras amebas patógenas son *A. castellanii*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. polyphaga*, *A. rhyodes*, *A. astronyxis* y *A. divionensis*.

MORFOLOGÍA

El ciclo de vida de las diferentes especies de *Acanthamoebas* presenta una forma vegetativa o trofozoíto y una forma de resistencia o quiste.

El tamaño de los trofozoítos varía según la especie con promedio de 20 a 40 μm , poseen movimiento unidireccional dado por un seudópodo hialino ancho y en forma de lengua adquiriendo una longitud hasta de 60 μm , por ello su morfología es irregular y de lento movimiento. Lo característico de este género son las prolongaciones acantopódicas (acantópodos) o subseudópodos que surgen de todas las superficies del cuerpo, se forman y reabsorben continuamente y dan el nombre al género *Acanthamoeba* que significa ameba espinosa. El citoplasma es abundante con aspecto granular y vacuolar. Su núcleo es claro, central y esférico con un prominente nucleolo redondeado. La membrana nuclear no presenta cromatina periférica, rasgo diferencial con *E. histolítica* (Fig.1) En cultivos hísticos pueden tomar la forma limax (ovoide). No existe forma flagelada.

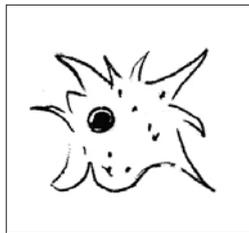


Fig. 1 Esquema de un trofozoíto de *Acanthamoeba*

Los quistes son esféricos, de contorno irregular. Miden de 15 a 25 μm , con una doble pared, la externa rugosa o ectoquiste y la interna poliédrica, estrellada o endoquiste. El núcleo es menos evidente que en las formas trofozoíticas. El citoplasma es granular con numerosas vacuolas alimentarias alrededor del núcleo. Pueden observarse también quistes inmaduros con características intermedias entre el trofozoito y el quiste (Fig. 2).

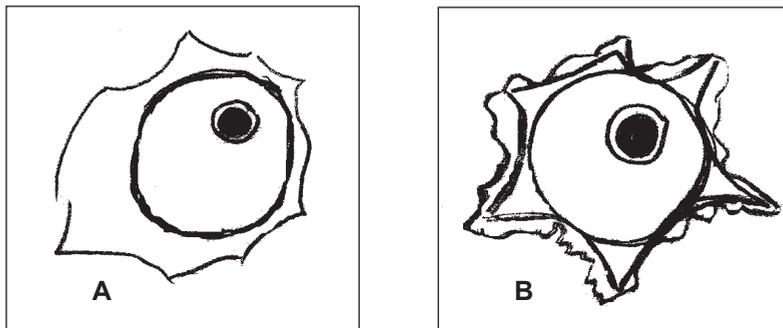


Fig. 2. Esquemas de quistes de *Acanthamoeba*. A: quiste inmaduro; B: quiste maduro

PATOLOGIA

Las personas se infectan al estar en contacto con diversos medios hídricos y polvo atmosférico contaminados con el parásito. Las puertas de entrada pueden ser muy variadas: piel rota o ulcerada, conjuntivas, oído, vía aérea superior y genitourinaria, donde las amebas están colonizando o ejerciendo acción patógena. Las especies de este género afectan SNC, córnea y piel.

En el caso del SNC la infección se produce por diseminación hematógena desde los focos primarios, produciendo la Encefalitis Granulomatosa Amebiana (EGA), de evolución crónica, al ser muy lenta la invasión a los tejidos. Los síntomas pueden aparecer a las semanas, meses y en algunos casos hasta años luego de la exposición. Se inicia con dolor de cabeza, dolores musculares, fiebre, dolor de garganta, vómitos; hay confusión, vértigos, somnolencia, aumento de la presión intracraneal, etc.. La muerte se produce luego de semanas o meses del comienzo de los síntomas.

A nivel del ojo afectan la cornea produciendo una queratitis con lesión anatómica, dolor y disminución de la agudeza visual y a veces también afecta la conjuntiva. Constituye un foco primario asociado en general a un traumatismo corneal con exposición a aguas contaminadas y/o uso de lentes de contacto sin la higiene recomendada.

Hay pacientes que desarrollan lesiones crónicas ulcerativas de piel, abscesos y nódulos eritematosos principalmente los que enfermos de SIDA.

Acanthamoeba spp. puede afectar también a personas sanas y jóvenes, pero ocurre primariamente como infección oportunista en inmunosuprimidos por el virus de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA), por fármacos inmunosupresores (pacientes trasplantados) o en enfermedades como Hodgkin y leucemias u otras enfermedades debilitantes.

ANATOMÍA PATOLÓGICA

En la autopsia de pacientes con EGA se observa edema cerebral, focos de necrosis hemorrágica en diversas localizaciones como tálamo, cerebelo, lóbulos temporal, parietal y occipital. Los hemisferios cerebrales son generalmente el tejido del SNC más afectado. En cortes histológicos de las lesiones se ven dispersos los quistes y trofozoítos, éstos más abundantes en torno de los vasos sanguíneos, áreas de inflamación y necrosis que se diferencian de las células hícticas e inflamatorias por su gran nucleolo, por un halo nuclear y un espacio libre entre la ameba y el tejido. Los quistes son numerosos en las zonas granulomatosas y se reconocen por su morfología.

EPIDEMIOLOGÍA

Acanthamoeba se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, agua de mar y charcos, aguas residuales, lagunas, ríos y aún el polvo. En ambientes artificiales se la ha aislado de enfriadores de agua y filtros de acondicionadores de aire, de un humidificador y de un aparato de diálisis. La doble capa del quiste le confiere resistencia a la desecación, salinidad y cloración del agua, por ello se la puede encontrar dispersa por el viento en el medio ambiente y en sedimentos salobres.

Se han reportado casos en Inglaterra, Alemania, Holanda, India, Zambia, Corea, Venezuela, Perú, y en varios estados de EEUU (Arizona, Nueva York, Pensilvania, Lusiana, Virginia y California). En Israel se comunicó un caso de invasión en oído y en África de piel.

Afecta al hombre y animales como gorilas, monos, ovinos, bovinos, perros y canguros. Hasta la década del 60 eran muy pocos los casos de EGA comunicados, debido a que no había una clara diferenciación entre *Acanthamoeba* y *Naegleria* (agente etiológico de Meningoencefalitis Amebiana Primaria), se adjudicaba la mayoría a esta última, pero con técnicas más modernas y cultivos en diferentes medios se demostró retrospectivamente que muchos de éstos casos eran producidos por *Acanthamoeba*.

Además, esta ameba fue clasificada en el grupo *Hartmanella-Acanthamoeba* (H-A ameba) familia Hartmannellidae y todos los casos los referían como *Hartmanella* spp, pero luego se demostró que ésta no era patógena humana, entonces se corrigió a *Acanthamoeba* y en 1975 se propuso la familia Acanthamoebidae; de este modo los casos aumentaron.

Han sido informados en el mundo 105 casos de EGA causada por *Acanthamoeba* spp, aproximadamente 73 de ellos (53 en pacientes con SIDA) han ocurrido en EEUU hasta enero de 1998.

DIAGNÓSTICO

Los materiales para investigar son: pus de otitis, granulomas de piel, secreciones pulmonares, hisopados nasofaríngeos, intestino, orina y LCR.

En la EGA el LCR es hipertenso, turbio, purulento o sanguinolento y bacteriológicamente estéril, pero con predominio de linfocitos y muy raramente se encuentran trofozoítos de *Acanthamoeba* en la observación en fresco, por ello se realizan diferentes técnicas para su aislamiento e identificación:

a) Aislamiento:

1. Cultivos en agar blando no nutritivo bañados con suspensión bacteriana.
2. Cultivos axénicos con la adición de suero o tejido del hospedador a diferentes medios nutritivos como proteosa-peptona-levadura-extracto-glucosa.
3. Cultivo sobre muchos tipos de líneas celulares de mamíferos, donde produce efectos citopáticos similares a los producidos por virus, por ello *Acanthamoeba* fue confundida y llamada erróneamente lipovirus y virus de Ryan.
4. Inoculación a ratones quienes pueden morir de enfermedad crónica después de varias semanas.

b) Identificación:

1. Tinción con inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa sobre cortes fijados con formalina.

Con respecto al diagnóstico serológico se han demostrado Ac fijadores de complemento en el suero de pacientes con distress respiratorio, neuritis óptica y enfermedad macular.

Al igual que en otras enfermedades parasitarias es de suma importancia la realización de una anamnesis: siempre hay que sospechar infección cuando el paciente estuvo en contacto con medios hídricos potencialmente contaminados y así poder hacer un diagnóstico temprano.

TRATAMIENTO

Culbertson encontró experimentalmente la sensibilidad de *Acanthamoeba* spp a sulfadiazina en ratón. También es sensible a cotrimoxazole. Resiste la acción de Anfotericina B. Son pocos los pacientes con infección del SNC por *Acanthamoeba* spp. que han sobrevivido a pesar de tratamiento con combinaciones de drogas. Los pacientes sin infección del SNC pero con úlceras cutáneas diseminadas tienen buen pronóstico.

PROFILAXIS

Para las infecciones sistémicas es difícil delinear medidas profilácticas generales dado la diversidad de medios hídricos en que se desarrolla *Acanthamoeba*. En cambio para la localización ocular, las medidas profilácticas son eficientes y consisten en la cuidadosa higiene de las lentes de contacto con líquidos adecuados. Es conveniente tener presente que aún en aguas cloradas es posible la infección por *Acanthamoeba*.

ACANTHAMOEBA POLYPHAGA

Una especie de *Acanthamoeba* patógena que invade interiormente al ojo, córnea o ambos es *A. polyphaga*

MORFOLOGÍA

En exudados de córnea se encuentran quistes y trofozoitos que no presentan rasgos diferenciales respecto a los descriptos para el género. Los trofozoitos miden 16 - 48

µm, el núcleo es vesicular con nucleolo grande. Presenta una única vacuola contráctil, un seudópodo hialino ancho y muchas prolongaciones acantopódicas delicadas. Los quistes miden 7 - 18 µm tienen pared doble, un ectoquiste arrugado y un endoquiste poliédrico.

PATOLOGIA

Las lesiones que origina son queratoconjuntivitis, uveítis, úlcera corneales refractarias a medicamentos antibacterianos oftalmológico, lo que hace sospechar la responsabilidad de esta *Acanthamoeba* en la queratitis. Característico es el severo dolor ocular. Si no se realiza un tratamiento urgente lleva a pérdida de la agudeza visual, ceguera o enucleación del ojo. La queratitis es inicialmente mal diagnosticada, confundiéndola con la queratitis vírica por virus herpes simplex, por sus irregulares lesiones epiteliales, edema y queratitis estromal infiltrativa.

EPIDEMIOLOGÍA

El primer caso reportado fue en EEUU en 1973 en un ranchero del sur de Texas. Los casos reportados a enero de 1988 son más de 750 ocurridos en EEUU y como no es una enfermedad de declaración obligatoria, se cree que el número real es mucho mayor. En Francia hasta 1990 eran ocho siendo el primero en 1986.

Se constata un aumento de la queratitis debida en parte a la gran cantidad de fuentes de infección, el probable aumento de la virulencia del parásito, el uso cotidiano y generalizado de lentes de contacto, especialmente blandos, la utilización de solución fisiológica casera para el lavado de los mismos, la desinfección con menos frecuencia de la recomendada de lentes y estuches y la que practica de deportes acuáticos (surf) con los lentes puestos.

En EEUU se confirmó con cultivos e inoculación en ratones, la presencia de esta *Acanthamoeba* en algunas fuentes lavaojos portátiles y fijas, que son usadas por los operarios afectados por quemaduras químicas en establecimientos del Departamento de Energía. Sin embargo, el factor de riesgo más importante es, por mucho, el uso de lentes de contacto, al cual se asocian el 85% de los casos registrados en el Centers for Disease Control.

Sigue sin conocerse la incidencia real de la queratitis por *Acanthamoeba* entre usuarios de lentes de contacto, aunque informes aislados la han estimado entre 1:10.000 y 1:250.000 portadores por año. Dado que la queratitis por *Acanthamoeba*

es sumamente infrecuente, se necesitan cohortes de un tamaño imposible de manejar para lograr la potencia estadística que permita estimar con precisión la incidencia.

DIAGNÓSTICO

- 1- Se realiza con la búsqueda, en un examen en fresco, de quistes y trofozoítos en exudado y raspado de córnea, en lentes de contacto y en la solución fisiológica que se usa para su lavado.
- 2- Cultivos del material e inoculación en ratones.
- 3- Recientemente se ha descrito una reacción de PCR sobre material de biopsia con prometedores resultados que confirman los hallazgos de la microscopía confocal in vivo.

TRATAMIENTO:

Pacientes con queratitis por *Acanthamoeba polyphaga* han sido tratados exitosamente con diferentes drogas combinadas, en largos períodos, por ejemplo isotionato de propamidine (gotas oftálmicas) y dibromopropamidine (ungüento) con sulfato de neomicina (tópico). También clotrimazole con isotionato de propamidine y neoporina dio buen resultado. En un estudio reciente con 111 casos de queratitis el tratamiento con 0.02% biguanida polyhexamethylene y 0.1% isotionato de propamidine cada hora por tres días y luego seis veces al día podría ser el tratamiento de elección.

PROFILAXIS

- 1- Evitar el contacto de los ojos con aguas contaminadas.
- 2- Correcta higiene de lentes de contacto utilizando soluciones comerciales (no caseras) y con la frecuencia que corresponda.

NAEGLERIA

Las amebas de este género se conocen también como ameboflagelados, mastigamebas o amebas limax (los trofozoítos activos suelen adoptar la forma limax o monopódica). Las especies de mayor patogenicidad son: *N. fawleri* descrita por primera vez por Carter en 1970 y *N. australiensis* aislada en 1981. Son especies no patógenas *N. gruberi*, *N. jadüni* y *N. lavaniensis*.

MORFOLOGÍA

El ciclo de vida de *Naegleria* incluye una forma vegetativa o trofozoíto, un estado flagelado y una forma quística. Los trofozoítos miden entre 10-20 μm y se mueven por medio de un solo pseudópodo ancho, hialino, que se forma eruptivamente denominado lobopodio. Poseen amebostomas (estructuras similares a ventosas), vacuolas contráctiles y muchos gránulos. En la ameba viva y móvil el núcleo se observa como una pequeña zona clara con un nucleolo central grande. La reproducción es por fisión binaria simple. Las formas flageladas que se encuentran en el medio ambiente o en medios acuosos en el laboratorio son algo más pequeñas, alargadas, con forma de pera, con dos o más flagelos que se encuentran en la parte más ancha; esta forma puede ser inducida experimentalmente en pocas horas, por incubación a 37° C de los trofozoítos ameboides de un cultivo o un tejido afectado, en agua destilada. La forma flagelar no se divide, pierden los flagelos y adquieren la capacidad reproductora bajo la forma ameboide.

Los quistes son esféricos, de pared lisa delgada, de 7 a 15 μm , contiene múltiples poros. Carecen de glucógeno y de cuerpos cromidiales. Tienen un sólo núcleo visible solamente cuando se tiñe y es más pequeño que en el trofozoíto. Estos quistes no se observan en tejidos infectados, sólo se aprecian en muestras ambientales. Son susceptibles a la desecación, destruyéndose rápidamente en estas condiciones.

HABITAT E INGRESO AL ORGANISMO:

Estas amebas viven en el suelo, lagos, embalses, piscinas, acequias, charcos, sistemas de conducción de agua, efluentes termales, alcantarillas, lodo, ríos, mares, donde se alimentan de bacterias y se multiplican. Se aíslan aún de aguas cloradas de natatorios climatizados. Se desarrollan bien en climas tropicales con elevadas temperaturas. Las cepas de *Naegleria* adaptadas a temperaturas sobre 46° son virulentas en animales de experimentación, mientras que las cepas no termófilas son avirulentas. Al estar la persona en contacto con alguno de estos medios ingresan al organismo por vía nasal (por termotropismo) y lámina cribosa del etmoides y por fagocitosis a través del neuroepitelio olfatorio llegan al espacio subaracnoideo y se propagan a partes distales del cerebro.

La forma flagelada de esta ameba es muy móvil favoreciendo la penetración en la cavidad nasal al realizar algún deporte acuático. Luego, pasando a la forma ameboide invade los tejidos. Se cree que puede haber transmisión aérea de quistes viables que se encuentran en el polvo ambiental, aunque no tengan gran resistencia a la desecación por lo delgado de su pared. No hay transmisión de persona a persona.

PATOLOGIA

Las especies patógenas de *Naegleria* causan Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MEAP), nombre dado por Butt y col. en 1966. Es una enfermedad aguda y fulminante, ocurre principalmente en inmunocompetentes, aparece abruptamente en niños y jóvenes que han tenido contacto con aguas dulces, 7 a 10 días antes.

La sintomatología es muy variada, hay fiebre, cefaleas, náuseas, vómitos, alteraciones del gusto y del olfato por ataque del lóbulo olfatorio causando necrosis hemorrágica aguda conduciendo a la destrucción del bulbo olfatorio y la corteza cerebral. También rigidez de nuca, diplopía, trastornos mentales, irritabilidad, coma y muerte, entre los 3 y 10 días después de la aparición de los síntomas.

ACCION PATÓGENA

Se cree que *Naegleria fowleri* directamente ingiere tejido cerebral a través de su amebostoma ejerciendo una citólisis contacto dependiente mediada posiblemente por un sistema multicompetente que consiste en una proteína hemolítica termoestable, una citolisina termolábil y/o enzimas fosfolipasas.

Afecta meninges y encéfalo y en preparados anatomopatológicos se observan nidos de amebas rodeados de reacción hemorrágica, los parásitos contienen eritrocitos ingeridos y tejido cerebral. El compromiso es mayor en la porción basilar del cerebro y cerebelo. Los quistes no se ven usualmente. Los parásitos se pueden confundir con células inflamatorias o tumorales, pero su forma es más redondeada, tamaño uniforme y se observa un halo en torno al núcleo producido por pequeñas vacuolas y un espacio alrededor de la ameba por la contracción de ésta a causa de la fijación en formol.

Las lesiones son inespecíficas, por lo que es necesario el diagnóstico diferencial con la meningitis no parasitaria y con el absceso encefálico por *Entamoeba histolytica*. Se han comunicado casos de alteraciones en pulmones, bazo y ocasionalmente corazón, secundarios a la infección cerebral.

EPIDEMIOLOGIA

El género *Naegleria* se puede encontrar en aguas termales donde las especies no patógenas soportan temperaturas de 42°C y las patógenas 45 a 46°C. En California (EEUU) se comunicaron dos casos de personas que se habían bañado en un manantial

de agua caliente 7 días antes de la aparición de los síntomas. En Nueva Zelanda dos infecciones fatales fueron contraídas en una corriente termal natural y en una piscina cubierta, también en Checoslovaquia las personas se habían bañado en una piscina cuya agua procedente de un río se había filtrado, calentado y clorado. Se han comunicado numerosos casos en EEUU (principalmente en Virginia, Florida y California, también en Georgia y Nueva York, Arizona, Carolina del Sur y Texas). Los tres primeros casos publicados en EEUU fueron por la práctica de deportes acuáticos, como esquí y buceo en un pequeño lago del centro de Florida. En Bélgica se diagnosticaron cinco casos en una localidad y se comprobó la presencia de *Naegleria* en conductores de agua y canales guardando relación con la contaminación por los vertidos de varias fábricas. La mayoría de los casos publicados proceden de Bélgica, Checoslovaquia, Australia, Nueva Zelanda, India, Nigeria y algunos en Inglaterra, Irlanda, Venezuela, Panamá y Nueva Guinea. Hay casos de personas que padecen la MEAP y no han estado en contacto con aguas, se piensa que la transmisión fue aérea, así en el Zaire en época de sequía y viento se aislaron *Naegleria* de hisopados nasales en 12 de 50 investigados. En 1965 Fowler y Carter fueron los primeros en describir una infección fatal por amebas de vida libre en el cerebro de un paciente australiano, esta infección se cree ahora debida a *Naegleria fowleri*. Más de 175 casos de MEAP se han comunicado en el mundo y algo menos de la mitad (aproximadamente 86) de estos casos han sido reportados en EEUU hasta Enero de 1998. Solo unos pocos pacientes han sobrevivido. Hasta hace poco se creía que *N. fowleri* infectaba solo humanos. En Marzo de 1997 se publicó el primer caso de MEAP en un tapir de Sud América, indicando que puede también ocurrir en animales. No se encuentra en la bibliografía consultada casos reportados en la República Argentina.

DIAGNÓSTICO

La identificación genérica está basada en las características de locomoción, morfología de trofozoitos y quistes y experimentos de enflagelación en el medio de cultivo.

No hay rasgos clínicos para diferenciar la MEAP de otras meningitis (amebianas y bacterianas).

El LCR es hipertenso, turbio, purulento o sanguinolento y bacteriológicamente estéril. La presión del líquido puede ser elevada, la glucosa es normal o ligeramente disminuida, pero hay aumento de proteínas. Se observa predominio de leucocitos polimorfos nucleares hasta más de 20.000/mm³. Microscópicamente en fresco, el LCR sin centrifugar o a baja velocidad, a temperatura ambiente y no refrigerado, se ven

trofozoítos móviles con hematíes fagocitados. Se reconoce esta ameba por sus activos movimientos direccionales. El núcleo es posible verlo con coloraciones de Giemsa o Tricrómica (no con Gram). No se observan quistes en el LCR, al ser la enfermedad de curso agudo. Como el recuento celular en LCR es elevado y no siempre se encuentra el parásito, en estos casos sospechosos conviene realizar cultivos del material.

Aislamiento:

Cultivo:

1- El medio recomendado para el aislamiento de amebas patógenas de vida libre es agar blando no nutritivo, cuya superficie se ha bañado con una suspensión de bacterias (*Escherichia coli* o *Enterobacter aerógenes*) y sobre ésta se inocula el material biológico a investigar. Se incuba la placa a 37 °C y el examen se realiza diariamente por 7 días. A las 48 horas hay amebas con forma ameboidal, al agregarle agua destilada estéril y exposición al aire se originan las formas flageladas que permiten hacer el diagnóstico. Para aumentar la movilidad del trofozoíto se le puede agregar saliva, lágrimas o moco nasal al cultivo.

2- Cultivos axénicos, en un medio que contiene suero fetal bovino o extracto de cerebro (medio de Nelson).

3- Cultivo en líneas celulares de mamíferos.

4- Inoculación a animales: Se infectan ratones de dos semanas de vida, instilando en sus fosas nasales una suspensión del material en estudio, mueren a los 5 a 7 días después de los síntomas característicos como piel erizada, divagación, extravío y parálisis. Se demuestra la ameba en el cerebro por cultivos o estudios histológicos. Los quistes instilados por vía intranasal no son infectivos en los animales de experimentación.

Serología:

Las técnicas utilizadas actualmente son la aglutinación, difusión en gel e inmunofluorescencia indirecta, pero el valor de la serología es limitado ya que lo agudo de la enfermedad impide al organismo producir niveles detectables de anticuerpos.

TRATAMIENTO

Actualmente se usa la Anfotericina B para el tratamiento precoz de MEAP y son varios los pacientes que se recuperaron luego de la inyección intratecal o intravenosa. Se la puede asociar con Miconazol o con Sulfadiazina en caso que no se haya identificado bien la ameba, ya que *Acanthamoeba* es susceptible a esta última droga.

PROFILAXIS

La profilaxis se presenta como una situación difícil en la naturaleza.

1- La opinión de distintos autores con respecto a la eficacia de la hipercloración es controvertida, efectiva para algunos autores e insuficiente para otros.

2- Una medida complementaria útil podría ser la salinización al 0.70% de piscinas de agua templada para hidroterapia.

3- Impedir que residuos cloacales contaminen las aguas por contener alta concentración bacteriana que favorecen el desenquistamiento de las amebas.

4- Construcción de piscinas con materiales no porosos para que no se acumulen los parásitos.

BALAMUTHIA

Este género tiene una especie patógena para el hombre y animales, *Balamuthia mandrillaris*, aislada del SNC de un mandril.

MORFOLOGÍA

Los trofozoítos tienen forma irregular y miden de 12 - 60 μm . Emiten anchos seudópodos aplanados llamados lamelipodios que pueden ramificarse como dedos permitiendo a la ameba un desplazamiento similar al de una araña. No tiene una forma flagelada. En algunos casos, en secciones de tejido los trofozoítos parecen tener más de un nucleolo. En el LCR no se observan trofozoítos ni quistes. Se pueden observar con coloraciones en tejido cerebral y/o biopsias de piel.

Los quistes son generalmente esféricos, de 6-30 μm . Vistos al microscopio óptico se observa una pared externa, ondulada y una interna redonda. Por microscopía electrónica se observan tres paredes: una exterior irregular o ectoquiste, una media amorfa o mesoquiste y una interna densa o endoquiste.

PATOLOGÍA:

Balamuthia mandrillaris produce Encefalitis Granulomatosa Amebiana Crónica (EGA)

La patología y acción patógena es similar a la producida por *Acanthamoeba*.

EPIDEMIOLOGÍA:

Esta infección se produce tanto en el hombre como en animales: gorilas, orangutanes, gibones, ovejas y caballos. Hasta hace poco se creía que estos casos eran producidos por *Acanthamoeba* spp, pero por test de inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa se identificaron como *Balamuthia*.

Se han descrito casos de infección también en inmunocompetentes, dos chicos en EUA y dos en Australia. En el mundo se han reportado 73 casos, a Enero de 1998, 31 de ellos en EUA (11 en pacientes con SIDA).

DIAGNÓSTICO

Los materiales a investigar pueden ser inoculados:

1- sobre muchos tipos de líneas celulares como riñón de mono o fibroblastos de pulmón; no son técnicas de rutina.

2- en ratones que mueren de enfermedad aguda 5 a 7 días o mueren de enfermedad crónica después de varias semanas.

Para diferenciarla de *Acanthamoeba*, que son antigénicamente diferentes, se realiza inmunofluorescencia indirecta u otros ensayos inmunoquímicos.

TRATAMIENTO

In vitro *Balamuthia* es susceptible a isotiocianato de pentamidine y los pacientes con EGA se benefician con este tratamiento.

PROFILAXIS

Igual que para *Acanthamoeba* spp.

HARTMANELLA

H. rysodes es la primera conocida como parásita del hombre. Existen escasos datos referidos a su morfología, discretamente similar a las anteriores. Solo fue descrito un caso, publicado en Nigeria, donde produjo meningoencefalitis amebiana primaria (MAP).

PATOGENICIDAD DE LAS AMEBAS DE VIDA LIBRE

Siendo microorganismos ubícuos en la naturaleza, llama la atención el restringido número de enfermos, este hecho podría obedecer a:

1- Existencia de cepas no patógenas. Como dato indicador de patogenicidad suele usarse el crecimiento a altas temperaturas y la capacidad de multiplicarse axénicamente. Sin embargo su virulencia debe ser confirmada por observación de efecto citopático en cultivos celulares e inoculación a animales, aunque esta última ha sido recientemente objetada por depender de dos factores: capacidad de proliferación en el hospedador y de escapar a las defensas del mismo.

Se han descrito marcadores moleculares de patogenicidad. Howe D. publica en 1997 la descripción del *ssr DNA* (small subunit ribosomal RNA gene) presente en cepas no patógenas y el *AC6* (locus no codificable) sólo presente en cepas patógenas.

2- Desarrollo de anticuerpos en etapas tempranas de la vida contra *Naegleria* y *Acanthamoeba* spp, así como la capacidad de estas amebas para activar el complemento a través de la ruta alternativa (no requiere anticuerpos), la capacidad de neutrófilos y macrófagos para matarlas.

La respuesta inmune del hospedador contra *Naegleria* y *Acanthamoeba* spp involucra tanto células fagocíticas como anticuerpos, los que desarrollan un rol en la opsonización y posterior muerte de las amebas. Para *Balamuthia* en cambio, si bien el suero promueve adherencia de la ameba a los neutrófilos, ésta no es lisada.

Estas amebas de vida libre han sido también relacionadas en los procesos inflamatorios de artritis reumatoidea ya que se han encontrado en las articulaciones usando técnicas de coloración para identificar sus cromosomas.

BIBLIOGRAFIA

1. Adekambi T, Ben Salah S, Khelif M, Raoult D, Drancourt M. Survival of Environmental *Mycobacteria* in *Acanthamoeba polyphaga*. *Appl Environ Microbiol.*72(9):5974-81. 2006
2. Alsam S, Jeong SR, Sissons J, Dudley R, Kim KS, Khan NA. *Escherichia coli* interactions with *Acanthamoeba*: a symbiosis with environmental and clinical implications. *J Med Microbiol.* 2006 Jun;55(Pt 6):689-94
3. Anzil AP, Rao C, Wrzolek M A, Visvesvara G S, Sher J H, Kozlowski P B. Amebic

meningoencephalitis in a patient with AIDS caused by a newly recognized opportunistic pathogen. Leptomyxid Ameba. Arch Pathol Lab Med 1991; 115: 21-5.

4. Atias A, Neghme A. Parasitología Clínica, Mediterráneo, 3ª ed, S. de Chile. Cap. 33, 287-290, 1991.

5. Axelsson – Olsson D, Waldenström J, Broman T, Björn O and Holmberg M. Protozoan *Acanthamoeba polyphaga* e potential reservoir for *Campylobacter jejuni*. Applied and Environmental Microbiology 72(2):987-992. 2005.

6. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Parasitología Clínica. Salvat, 2ª ed, Barcelona, España. Cap. 12, 151-161, 1986.

7. Cerva L, Kasprzak W, Mazur T. *Naegleria fowleri* y cooling waters of power plant. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol Inmunol 26:152-61. 1982

8. Fenner L, Richet H, Raoult D, Papazian L, Martin C, La Scola B Are clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* more virulent than hospital environmental isolates in amebal co-culture test? Crit Care Med. 2006 Mar;34(3):823-8

9. Gonzales MM, Gould E, Dickinson G, Martinez AJ, Visvesvara GS, Cleary TJ, Hensley GT. Acquired immunodeficiency syndrome associate with *Acanthamoeba* infection and other opportunistic organisms, Arch. Pathol. Lab. Med. 110:749-751, 1986.

10. Gordon SM, Steinberg JP, Du Puis M, Kozarsky P, Nickerson JF, Visvesvara GS. Culture isolation of *Acanthamoeba* species and leptomyxid amebas from patients with amebic meningoencephalitis, including two patients with AIDS, Cin. Infec. Dis. 15: 1024-1030, 1992.

11. Gutierrez Y. Free living Amebae En Gutierrez Y (Ed. Diagnostic Pathology of Parasitic Infections with clinical correlations, Ed Oxford University Press. New York; 114-42 2000.

12. Hae Jin Jeonga, Eun Seong Janga, Byung In Hana, Keun Hee Leea, Mee Sun Ockc, Hyun Hee Kongd, Dong Il Chungd, Sung Yong Seole, Dong Taek Choe and Hak Sun Yua, b, *Acanthamoeba*: Could it be an environmental host of *Shigella*? Experimental Parasitology

13. Howe DK, Vodkin MH, Novak RJ, Visvesvara G, McLaughlin GL. Identification of two genetic markers that distinguish pathogenic and non pathogenic strains of *Acanthamoeba* spp. *Parasitol Res*, 83 (4): 345-348, 1997.
14. Hua Huang H, Ferrante A, Carter RF. Serum Antibodies to *Balamuthia mandril-laris*, a free-living Amoeba Recently Demonstrated to cause Granulomatosis Amoebic Encephalitis, *J Infect Dis*, 179: 1305 - 8, 1999.
15. Kernoham JW, Magath TB, Schloss GT. Granuloma of brain probably due to *Endolimax williamsi* (*Iodamoeba buetschlii*) *Arch. Patol* 70:576-80. 1960
16. Li QX, Jiang QW, Chen HY, Shen J, Chen Z, Shao YQ, Tan JD, Li ZH. Study on the growth of *Vibrio cholerae* O139 within *Acanthamoeba polyphaga* and its survival in the cysts in low temperature. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2006 Apr;27(4):339-42.
17. Losch FA. Massenhafte Entwicklung Von Amoben in Dickdarn. *Virchow Arch. Patol. and Anat Klin Med* 65: 196-211. 1875
18. Ly TM and Muller HE. Ingested *Listeria monocytogenes* survive and multiply in protozoa *The Journal of Medical Microbiology*, Vol 33, Issue 1 51-54, Copyright © 1990
19. Mattana A, Serra C, Mariotti E, Delogu G, Fiori PL and Cappuccinelli P. *Acanthamoeba castellanii* promotion of in vitro survival and transmission of *Coxsackie V3* viruses. *Eukaryotic Cell* 5 (4):665-671. 2006
20. Murakaua GJ, Mc Calmont T, Altman J, Telang GH, Hoffman MD, Kantor GR, Berger TG. Disseminated Acanthamoebiasis in patients with AIDS. Report of five cases and a review of the literature. *Arch. Dermatol.* 131: 1291-1296, 1995.
21. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Pathogenic and Opportunistic free-living Amoebae, in *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Ed, American Society for Microbiology, Washington DC, Cap. 108, 1383-1389, 1999.
22. Newsome AL, Scott TM, Benson RF y Fields BS. Isolation of an *Amoeba* naturally harbouring a distinctive *Legionella* species. *Applied and Environmental Microbiology*. 64, 1688-1693. 1998

23. Niszi IA, Veale RB, Markus MB. Cytopathogenicity of Clinical and Environmental *Acanthamoeba* Isolates for two mammalian cell lines. *J Parasitol* 84 (5): 961-967, 1998.
24. Oddó D. Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anatómico-clínicos. *Revista Chilena de Infectología*. 23 (3):200-214. 2006
25. Pfister DR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ. Confocal microscopy findings of *Acanthamoeba* keratitis. *Am. J. Ophthalmol* 121:119-128, 1996.
26. Rideout BA, Gardiner CH, Stalis IH, Zuba JR, Hadfield T, Visvesvara GS. Fatal infections with *Balamuthia mandrillaris* (a free-living amoeba) in gorillas and other old world primates, *Vet. Pathol.* 34:15-22, 1997.
27. Taratuto A L, Monges J, Acefe J C, Meli F, Paredes A, Martínez A J. Leptomyxid amoeba encephalitis: report of the first case in Argentina. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 77.
28. Toney DM and Marciano-Cabral F. Resistance of *Acanthamoeba* species to complement lysis, *J. Parasitol.*, 84(2): 338-344, 1998.
29. Wagner Y, Noack B, Hoffmann T, Jacobs E, Christian Luck P. Periodontopathogenic bacteria multiply in the environmental amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Int J Hyg Environ Health*. 2006 Jul 10
30. Whiteman LY and Marciano-Cabral F. Susceptibility of pathogenic and non-pathogenic *Naegleria spp* to complement-mediated lysis, *Infection and Immunity*, 55:2442-2447, 1987.
31. Winiiecka-Krusnell J, Linder E. Free-living amoebae protecting *Legionella* in water: the tip of an iceberg? *Scand J Infect Dis*. 1999;31(4):383-5
32. Winiiecka-Krusnell J, Wreiber K, von Euler A, Engstrand L, Linder E. Free-living Amoebae Promote Growth and Survival of *Helicobacter pylori* Scandinavian Journal of Infectious Diseases, Volume 34, Issue 4 April 2002 ,

33. Wiley CA, Safrin RE, Davis CE, Lampert PW, Braude AI, Martinez AJ, Visvesvara GS. *Acanthamoeba* meningoencephalitis in a patient with AIDS, *Journal of Infectious Diseases* 155:130-133, 1987.
34. Zaman, V. Atlas color de Parasitología Clínica, 2º Ed, Panamericana, Buenos Aires, Argentina, Sección 2, 40-47, 1988.
35. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. Study on the growth of *Vibrio cholerae* O139 within *Acanthamoeba polyphaga* and its survival in the cysts in low temperature. School of Public Health, Fudan University, Shanghai 27(4):339-42. 2006

TENIOSIS

Sixto Raul Costamagna

Se denomina Teniosis a la parasitosis producida por la presencia de uno o más ejemplares de *Taenia solium*, *T. saginata* o *T. asiatica* en un hospedador humano. La *T. saginata*, algunos autores la consideran como un género diferente y la denominan *Taeniarhincus saginata*. En el caso de *T. asiatica* podría tratarse de una entidad distinta, aunque relacionada a *T. saginata*. Hasta que no sea dilucidado fehacientemente el problema, nosotros la consideraremos como una especie diferente. Habitualmente se las denomina "solitarias" ya que generalmente se encuentra un solo ejemplar en el hospedador definitivo, aunque muchas veces puede encontrarse más de un ejemplar, de la misma o diferente especie, en un mismo hospedador humano.

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Cestoda

Sub-clase: Eucestoda

Orden: Cyclophyllidea: escólex con cuatro ventosas y rostelo con o sin ganchos.

Familia: Tenidae: adultos en intestino de aves y mamíferos. Rostelo generalmente con ganchos. Desarrolla formas larvales.

Género: *Taenia*

Especies: *T. solium*

T. saginata

T. asiatica

Taenia sp

Recordemos que las llamadas "tenias grandes" son cestodes que tienen su cuerpo aplanado, como una cinta, dividido en secciones (como el papel troquelado para computadoras) presentando una parte anterior, globosa que sirve como órgano de fijación y sensorial, llamado escólex; un cuello con actividad metabólica y generatriz;

un cuerpo o estróbila que como ya señaláramos está "seccionado" originando estructuras rectangulares, que al principio son más anchas que largas, luego son cuadradas y posteriormente son más largas que anchas: las proglótidas, las que serán inmaduras, maduras o grávidas, según el grado de madurez sexual de las mismas. Las que están más cerca del escólex son las inmaduras y las posteriores repletas de huevos albergados en un útero muy ramificado, son las grávidas y éstas son las eliminadas habitualmente con las heces, junto con algunas maduras. En las proglótidas maduras se pueden, previa transparentización y coloración, (con carmín, por ejemplo) visualizar las estructuras internas: ovario, ootipo, glándulas vitelinas, oviducto, útero, glándulas de Mehlis, testículos, cirro, etc. Las funciones de la estróbila (cadena de segmentos) son: alimentación y reproducción. Las tenias carecen de aparato digestivo, por lo que el alimento se absorbe a través del tegumento de cada proglótida, mediante microvellosidades que están en su superficie. Son hermafroditas.

CICLO BIOLÓGICO

Los ciclos biológicos de las tres grandes tenias del hombre son similares, excepto en lo referente a su hospedador intermediario, nombre asignado a su estadio larvario y a la forma en que son eliminadas las proglótidas.

Especie	Hospedador intermediario	Nombre del estadio larvario	Forma en que se eliminan las proglótidas grávidas
<i>T. solium</i>	Cerdo, jabalí, camello y Hombre	<i>Cysticercus cellulosae</i>	De a uno o varios
<i>T. saginata</i>	Vacunos	<i>Cysticercus bovis</i>	Esponáneamente
<i>T. asiatica</i>	Cerdo y hombre	<i>Cysticercus</i> sp	Sin datos

El ciclo biológico se inicia cuando las proglótidas grávidas salen al exterior, con las heces, repletas de huevos. Estas proglótidas son ingeridas por el cerdo en el caso de *T. solium* o *T. asiatica*, pero en el caso de *T. saginata*, como el hospedador intermediario no es coprófago, las proglótidas, gracias a su musculatura potente logran

reptar y alejarse de la materia fecal humana lo suficiente como para que el hospedador siguiente, el ganado bovino, la ingiera con el pasto o las aguas contaminadas. Las proglótidas en el medio externo se destruyen dejando en libertad los huevos que contaminan pastos, aguas, verduras, tierra. Al ser ingeridos por el hospedador intermediario y una vez en el estómago se digiere la membrana externa y deja en libertad a un embrión hexacanto, provisto de una doble hilera de ganchos. Estos embriones, con el auxilio de sus ganchos, penetran la mucosa intestinal, caen en los vasos mesentéricos, y desde allí, por capilares sanguíneos y linfáticos, son repartidos por todo el organismo, fundamentalmente hasta los músculos estriados, siendo los maseteros y el diafragma los elegidos habitualmente. En estos músculos la oncósfera (embrión hexacanto) va a crecer hasta que en aproximadamente dos meses estará desarrollada una larva vesicular llamada cisticerco, que tomará diferentes nombres según la especie de *Taenia* de que se trate. Este cisticerco tiene el aspecto de una vesícula blanquecina, de aspecto oval con un diámetro de 8 por 5 mm, encontrándose invaginado, en un punto de la pared, el escólex, igual al del ejemplar adulto. En el caso de *T. asiatica*, el cisticerco es más pequeño (0,5 a 3 mm) y se lo encuentra en el hígado del cerdo, por lo cual, en esta especie de *Taenia*, la infestación se produce por la ingesta de hígado crudo o mal cocido de cerdo.

Cuando el hombre ingiere músculos, de cerdo o vaca, infestados con cisticercos, crudos o mal cocidos, en su intestino delgado se producirá la desinvaginación de los escólices, los cuales se fijarán en la mucosa de la pared intestinal, iniciándose inmediatamente el proceso de gemación y estrobilización para originar un ejemplar adulto por cada cisticerco viable ingerido. Posteriormente, luego de su crecimiento, se originarán proglótidas inmaduras las que madurarán, se autofecundarán y originarán las proglótidas grávidas que, repletas de huevos serán eliminadas al exterior para continuar el ciclo. El período prepatente, es decir el tiempo transcurrido desde la ingesta del cisticerco viable hasta la eliminación de proglótidas grávidas repletas de huevos, es de 2 a 3 meses, y es similar para las tres especies. Los huevos, al momento de su eliminación, ya son infestantes. Estas tenias grandes no tienen orificio de postura, razón por la cual, para que el huevo quede en libertad se tiene que romper la proglótida.

Característica	<i>T. solium</i>	<i>T. saginata</i>	<i>T. asiatica</i>
Escólex	Con rostelo armado	Sin rostelo - Inerme	Con rostelo pequeño inerme
Tamaño (metros)	3-5	3-10	4 a 8
Alternancia de posos genitales	Alternados		
Ramificaciones uterinas	Menos de 12	Más de 12	Más de 12
Repta	No	Sí	Sin datos
Cantidad de proglótidas	800-900	1000-2000	
Tamaño escólex	05-1 mm	1-2 mm	0,5-1 mm
Ganchos en escólex	Doble, inserta en rostelo	Ausente	Ausente

Los huevos de las tres tenias son iguales morfológicamente. Estos huevos, llamados embrióforos, son esféricos y miden entre 30 y 40 μm de diámetro. Presentan gruesa pared la que se encuentra radiada, color marrón claro. Exteriormente, los huevos recién emitidos, están recubiertos por una capa de vitelo. En su interior contienen un embrión hexacanto (con seis ganchitos) u oncósfera. No importa si la especie a la que pertenecen estos huevos tiene o no ganchos, la oncósfera siempre estará armada. Estos huevos son el elemento infestante para el hospedador intermediario siguiente: cerdo, ganado bovino u hombre. En el caso de *T. solium*, el potencial biótico es muy grande, ya que cada proglótida grávida alberga 80.000 huevos y la eliminación media por día es de unas nueve proglótidas grávidas, o sean unos 720.000 huevos infestantes.

La diferenciación de los huevos, entre *T. solium* y *T. saginata*, se puede hacer con la coloración de Ziehl-Neelsen, la que resulta positiva si el embrióforo es de *T. saginata* y negativa para la otra especie.

CLINICA Y PATOLOGIA

Los escólices de las diferentes tenias, conjuntamente con su estróbila, producen una inflamación con distensión y espasmos, por acción mecánica, en el intestino donde se alojan, provocando dolores abdominales y sensaciones de náuseas. La acción tóxico-alérgica también podría agregarse. No es muy frecuente la probabilidad de obstrucción. Una complicación factible es el ingreso de una proglótida en el apéndice,

provocando desde una apendicosis hasta una apendicitis aguda o subaguda catarral, flegmonosa o folicular.

No es frecuente la eosinofilia, aunque si hay reacción alérgica pueden elevarse hasta un 20 a 30%.

La sintomatología, generalmente, es de poca gravedad y aparece luego de transcurridos los dos a tres meses de la infestación. En general se observa alteración del apetito y disminución en el peso corporal, trastornos digestivos: diarreas, sensación de apetito o vacío epigástrico, náuseas matinales y fundamentalmente trastornos psíquicos, especialmente luego de que el paciente toma conocimiento de su afeción, ya que es frecuente que, especialmente en *T. saginata*, las proglótidas maduras flanqueen el esfínter anal en forma espontánea, en cualquier momento, apareciendo en la ropa interior, originando en el paciente una sensación de vergüenza. Muchas veces el paciente oculta su enfermedad, ya que no encuentra explicación lógica a esta eliminación "espontánea" de proglótidas, pensando inclusive que se trata de una infección venérea. Hay irritabilidad y cambio de carácter y sensación de que una masa sube por el esófago hacia la garganta. Una vez que el paciente es diagnosticado y tratado, lentamente estos síntomas van desapareciendo.

Son frecuentes también fenómenos alérgicos asociados a teniosis, especialmente prurito anal.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de teniosis se efectúa por el hallazgo de proglótidas y/o huevos en la materia fecal. En el caso de *T. saginata* es frecuente que el paciente relate la eliminación espontánea y no controlable, de proglótidas, las que flanquean el esfínter anal de a una o de a varias, lo que puede ocurrir debido a la gran musculatura que poseen estas proglótidas. En el caso de *T. solium* este hecho es muy poco frecuente. Muchas veces el paciente elimina con las heces, al defecar, un tramo bastante largo del ejemplar de la tenia, aunque generalmente incompleto, ya que frecuentemente le falta el escólex.

Los huevos, que generalmente se encuentran en materia fecal por ruptura de alguna proglótida, como ya se indicó, no nos permiten diferenciar especie, debiéndose informar: "se observan huevos de *Taenia* sp". Aunque se haya hecho la coloración de

Ziehl-Neelsen, que permite diferenciar entre *T. solium* y *T. saginata*, nos quedará la duda respecto de *T. asiatica*. Solamente un 25 a 30% de los infestados eliminan huevos por la materia fecal, al romperse alguna proglótida en intestino.

Mediante la transparentización y coloración de las proglótidas se pueden estudiar las ramificaciones uterinas, en número y forma, lo que permitirá una aproximación al diagnóstico. Debe advertirse al paciente que en caso de eliminar algún pedazo de este cestode, deberá remitirlo al laboratorio en un frasco con agua, nunca en alcohol, ya que éste dificulta la observación posterior de las ramificaciones uterinas.

El diagnóstico de certeza se tendrá cuando se obtenga el escólex, hecho que habitualmente ocurre cuando se instaura el tratamiento adecuado. Por ello es conveniente recolectar la materia fecal post-tratamiento para buscar el escólex mediante tamizado de la misma por un colador de poro menor a un milímetro, ya que si es de malla muy grande puede perderse el escólex. Una vez encontrado el escólex, se estudia su morfología bajo lupa y recién ahora se podrá determinar la especie de tenia hallada.

CISTICERCOSIS

Sixto Raul Costamagna

Como está expresado precedentemente, el hombre también puede comportarse como hospedador intermediario en el caso de *T. solium*, cuyo estadio larvario se conoce como *Cisticercus cellulosae* y la enfermedad con el nombre de cisticercosis. Esta patología aparece cuando el hombre ingiere huevos de *T. solium* y éstos cierran el ciclo normal produciendo el cisticerco correspondiente. Suele ser muy grave, dependiendo del lugar elegido por el embrión para enclavarse y originar el estadio larvario siguiente; si se trata del SNC las consecuencias pueden ser importantes, ya que se comporta como una masa tumoral de unos 8 por 5 mm aproximadamente. Igual pronóstico si el lugar elegido es el ojo. En ambos casos se originará: neurocisticercosis y oftalmocisticercosis, respectivamente.

La CISTICERCOSIS se puede adquirir por tres vías:

- a. Por infestación exógena: por ingestión de los huevos a través del agua, alimentos, etc. También el bioquímico o el técnico, por mala manipulación de la muestra de materia fecal, puede contaminarse. Es importante que los manipuladores de alimentos se efectúen los controles de materia fecal, ya que si alguno de ellos es portador (sintomático o no) de *T. solium* puede llegar a contagiar a muchas personas diariamente, con las consecuencias de una segura cisticercosis.
- b. Por autoinfestación exógena: cuando el propio paciente que alberga en su intestino una *T. solium*, por el transporte ano-boca puede contaminarse, ya que restos de materia fecal contaminada pueden haber quedado en la región perianal, en el caso de ruptura de la proglótida dentro del intestino o al salir.
- c. Por autoinfestación endógena: rara pero posible, cuando por peristaltismo invertido, una proglótida grávida puede llegar a intestino delgado y allí, al ser digerida, deja en libertad a los huevos que inician el ciclo para formar el estadio larvario.

En cualquiera de esos casos los huevos continúan el ciclo como si estuviesen en el hospedador intermediario normal, originando cisticercos en diversos lugares: músculo

estriado esquelético, músculo cardíaco, cerebro, médula espinal, ojo, etc. Si bien en las localizaciones musculares pasa desapercibida o asintomática, esto no es así cuando el cisticerco se ubica en alguno de los otros lugares mencionados, donde el pronóstico es grave. Hasta el momento no se ha descrito la cisticercosis en humano debido a la ingesta de huevos de *T. saginata*. En el caso de *T. asiatica* el órgano elegido para la implantación de los cisticercos es el hígado.

PATOLOGIA y SINTOMATOLOGIA

La patología y la sintomatología dependerán de la localización, vitalidad y cantidad de cisticercos presentes. Uno en un músculo puede pasar desapercibido, pero uno en el acueducto de Silvio provocaría una hidrocefalia. Las más severas, como ya se indicó, son la neuro y la oftalmocisticercosis, lugares frecuentemente elegidos por la larva para implantarse debido al bajo nivel de anticuerpos allí presentes.

DIAGNOSTICO

Puede ser directo a través de material de biopsia o LCR donde un aumento en el recuento de eosinófilos puede ser indicativo de neurocisticercosis, o bien indirecto utilizando: intradermorreacción, reacción de hemoaglutinación indirecta, test de inmunofluorescencia indirecta, ELISA o PCR.

HIMENOLEPIOSIS

Sixto Raul Costamagna

Parasitosis del hombre producida por los cestodes *Hymenolepis nana* y/o *Hymenolepis diminuta*. Para esta última especie el hombre sería un hospedador accidental, ya que sus hospedadores normales son las ratas y los ratones. En 1852, Bilharz encuentra *H. nana* en una autopsia de un niño de seis años que había fallecido por meningitis. Para el caso de *H. diminuta* le cupo el honor a Weinland, en 1858, de encontrarla en un niño.

Para *H. nana* se describe una variedad que estaría parasitando a ratas y ratones, la *H. nana* var *fraterna* (para algunos autores serían dos especies diferentes).

H. nana es el más pequeño de los cestodos del hombre. Es hermafrodita. Mide entre 3 y 4 cm de largo. El escólex, con cuatro ventosas acetabulares y rostelo retráctil armado con 20 a 30 ganchos en forma de horquilla, mide aproximadamente 300 µm de diámetro. La estróbila está formada por aproximadamente 150 a 200 proglótidas trapezoidales. Ovario bilobulado y tres masas testiculares. Los poros genitales están ubicados en la cara lateral, todos de un mismo lado. Se localiza en el tercio inferior del intestino delgado (íleon).

Los huevos son eliminados al exterior por los poros genitales laterales de cada proglótida o por la ruptura de la proglótida grávida dentro del intestino; al momento de su eliminación ya son infestantes. Son esféricos o ligeramente elípticos, con un diámetro de 30 a 45 µm. Presentan una corteza gruesa y transparente, membranosa y translúcida, de unas 7 a 8 µm de ancho. Dentro de la corteza, que encierra un embrión hexacanto que permite la visualización de sus ganchitos ubicados en abanico y de a pares, y en cada extremo se ubican dos mamelones polares de los cuales emergen finos y refringentes filamentos, que recorren parte de la gruesa y transparente corteza característica de esta especie.

H. diminuta, la más grande de las dos especies, mide entre 20 y 60 cm (hasta un metro). Presenta un escólex con cuatro ventosas, rostelo rudimentario y retráctil y

no posee ganchos. Las proglótidas son iguales que las de *H. nana*, excepto que más grandes (2 a 3 mm de ancho). La estróbila puede llegar a estar formada por 1000 proglótidas.

Los huevos son parecidos a los de *H. nana*, aunque de mayor tamaño (70 a 80 μm), presentan una corteza color marrón y no tienen mamelones polares ni filamentos.

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Cestoda

Sub-clase: Eucestoda

Orden: Cyclophyllidea: escólex con cuatro ventosas y rostelo con o sin ganchos.

Familia: Hymenolepididae: adultos en intestino de aves y mamíferos. Rostelo retráctil, habitualmente con ganchos. Desarrolla formas larvales llamadas cisticercoides, en invertebrados.

Género: *Hymenolepis*

Especies: *H. nana* (Siebold, 1852)

H. diminuta (Rudolphi, 1819)

Hymenolepis nana

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *H. nana* puede ser monoxeno o diheteroxeno.

En el ciclo directo, el huevo ingerido con los alimentos o el agua o las manos sucias, y por acción de los jugos digestivos, disuelve su gruesa membrana y deja en libertad al embrión (oncósfera), el cual penetra inmediatamente las microvellosidades intestinales y se ubica en la mucosa y submucosa donde evoluciona hasta que en un lapso de 48 a 72 horas, desarrolla una larva cisticercoide, vesiculosa. Esta larva, transcurridos 3 a 4 días activamente sale hacia el lumen intestinal, para dirigirse a la luz del íleon, allí desenvagina su escólex, se fija a la mucosa intestinal y en aproximadamente 18 días dará origen al adulto. Estos adultos, en virtud de su hermafroditismo, en muy poco tiempo tendrán las proglótidas grávidas repletas de huevos. Estos huevos podrán salir al exterior para continuar el ciclo en el medio exterior, o bien, si están en la parte superior del intestino delgado, su membrana es destruida y queda en libertad el embrión hexacanto, el que estará en condiciones de atravesar las microvellosidades intestinales y comenzar un nuevo ciclo. Este camino es el de la llamada AUTOINFESTACION ENDOGENA o autoheteroxenia. Esta autoinfestación es la

que permite incrementar la carga parasitaria y prolongar la parasitosis en el tiempo, aunque ya no se esté en área endémica o hayan desaparecido las condiciones que llevaron a la infestación primaria, y pese a la escasa vida, de unas pocas semanas, de los adultos.

El período prepatente para el ciclo directo es de 14 a 21 días, aproximadamente. También se puede desarrollar la autoinfestación exógena, donde el propio parasitado, por contaminación de sus manos con sus propias heces, por mala higiene, puede ingerir huevos que él mismo ha eliminado, produciendo de esta manera una autoinfestación exógena, cumpliéndose ahora el ciclo directo o monoxénico. Esta situación, de mala higiene, puede provocar la infestación de hombre a hombre, o en el proceso de manipulación de alimentos. Nuevamente remarcamos la importancia de exámenes parasitológicos de heces al personal que manipula alimentos.

En el caso de que los huevos logren ser eliminados con las heces, contaminarán el suelo, aguas, verduras, etc. En estos lugares podrán ser ingeridos por un artrópodo del género *Tenebrio* (gorgojo de la harina y los cereales) y en su interior se desarrollará la larva cisticercoide. Como este gorgojo, como su nombre lo indica, está en la harina, en el proceso de panificación, si bien puede ser molido, no se destruye la larva, la que quedará viable y si el pan está poco cocido, casi crudo, lograrán sobrevivir. Una vez en el intestino del hombre directamente, sin necesidad de penetrar a la mucosa intestinal, desarrollarán adultos de *H. nana*. Este es el ciclo diheteroxeno o indirecto, donde el estadio larvario se desarrolla en un *Tenebrio* y el estadio adulto en el hombre. Como vimos, en *H. nana* el hombre se comporta como hospedador intermediario y definitivo.

En himenolepiosis siempre se presenta infestación múltiple, nunca solitaria.

Hymenolepis diminuta

El ciclo biológico de *H. diminuta* es similar al ciclo diheteroxeno de *H. nana* excepto que los hospedadores intermediarios, dentro de los cuales desarrolla la larva cisticercoide, son artrópodos coprozoicos como coleópteros como el cascarudo, algunos miriápodos, pulgas, escarabajos, cucarachas, larvas de lepidópteros como gorgojos, etc. El hombre se infesta al ingerir accidentalmente estos artrópodos, de allí su escasa prevalencia en adultos y los pocos casos que ocurren son de niños. En *H. diminuta* los huevos no son infestantes para el hombre, razón por la cual el único ciclo posible para este cestode, es el diheteroxeno o indirecto.

EPIDEMIOLOGIA

La himenolepiosis es una geohelminthiasis de distribución universal, aunque más prevalente en climas cálidos o templados. Se la ha encontrado con mayor frecuencia en climas húmedos que en zonas secas, probablemente debido a la escasa vitalidad del huevo, que en condiciones óptimas, en el medio ambiente es de 4 a 5 días.

PATOLOGIA Y SINTOMATOLOGIA

El daño producido por *H. nana* está directamente relacionado con la carga parasitaria. Normalmente hay muchos ejemplares por cada paciente, debido al incremento que se produce por la autoinfestación endógena. Las larvas cisticercoides destruyen las microvellosidades intestinales, lo que provocaría, junto a la acción expoliatriz de los adultos, enteritis.

Si bien un grupo importante de pacientes es asintomático, los escasamente parasitados, cuando la carga parasitaria es grande, aparecen síntomas digestivos y nerviosos. Puede existir diarrea, dolores abdominales y anorexia y crisis epileptiformes en personas predispuestas. Es una enfermedad crónica, con deterioro del estado general del paciente, aunque benigna. No se han descrito casos mortales debido a esta parasitosis. No se han reportado daños al nivel de los tejidos. Puede producir apendicitis en el caso de que un ejemplar se introduzca en él.

En el caso de *H. diminuta* la patología es similar a la producida por *H. nana*, aunque su prevalencia es mucho más baja.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico, para las dos especies de *Hymenolepis*, se basa en el hallazgo de los típicos huevos en materia fecal. En un buen examen macroscópico y tamizado de las heces se hallarán los adultos o parte de ellos.

En el hemograma se evidencia eosinofilia que oscila entre el 6 y el 20%.

Dipylidium caninum

Sixto Raul Costamagna

Phylum: Platyelminthes

Clase: Cestoda

Familia: Dilepididae

Género: *Dipylidium*

Especie. *D. caninum* (Linnaeus, 1758)

El *D. caninum* es un cestodo de 20 a 70 cm de largo, que tiene como hospedador definitivo al perro o el gato y como hospedador intermediario a la pulga. El hombre se infesta accidentalmente por ingerir pulgas infestadas.

Presenta un escólex, un cuello y una estróbila. El escólex tiene cuatro ventosas y varias hileras de ganchos con forma de espina de rosal. Cuello largo y proglótidas que al principio son trapezoidales y angostas mientras que las últimas se asemejan a una semilla de melón o de tonel, con dos poros genitales, uno a cada lado.

Los huevos que son esféricos, se agrupan en una especie de saco o bolsa: la cápsula ovígera; cada una alberga entre 8 y 15 huevos.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico es diheteroxeno. El perro, que alberga en su intestino el ejemplar adulto de este cestodo, elimina por las heces huevos o progótidias grávidas con huevos en su interior. En el medio ambiente exterior, estos huevos que ya son infestantes al momento de la postura, son ingeridos por larvas de pulgas del perro o del gato, en cuyo interior se desarrollará el estadio larvario: larva cisticercoide de *D. caninum*. La pulga adulta contiene la larva cisticercoide que se conservó durante la metamorfosis. Cuando el perro ingiere esta pulga que contiene el estadio infestante, adquiere la parasitosis, desarrollando en su intestino, en unos 10 a 15 días, un ejemplar adulto

de *D. caninum*, cerrando de esta manera el ciclo.

El hombre se contagia al ingerir, accidentalmente pulgas que contengan el estadio larvario del parásito. El parásito se alberga en el intestino delgado.

Las lesiones provocadas por este cestodo son leves y consisten, fundamentalmente, en inflamación de la mucosa intestinal, diarrea, prurito anal e irritabilidad. Las proglótidas grávidas pueden, ocasionalmente, flanquear espontáneamente el esfínter anal.

DIAGNOSTICO

Se basa en el hallazgo de proglótidas, con su típica forma de tonel, en heces, cápsulas ovíferas repletas de huevos y/o eventualmente si éstas se rompen, huevos sueltos que son muy similares a los de otros teniados.

HIDATIDOSIS HUMANA

Sixto Raul Costamagna

La Hidatidosis es la enfermedad parasitaria producida por implantación de uno o más hidátides de *Echinococcus* spp. en un hospedador intermediario (oveja, hombre, etc.).

Se denomina hidátide al estadio larvario del género *Echinococcus*.

Ubicación sistemática del *Echinococcus*.

PHYLUM: Platyhelminthes
CLASE: Cestoidea
SUBCLASE: Cestoda
ORDEN: Cyclophyllidea
FAMILIA: Taenidae
GENERO: *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)
ESPECIES: *E. granulosus* (Batsch, 1786) Rudolphi, 1805.
E. multilocularis (Leuckart, 1863)
E. oligarthus (Diesing, 1863)
E. vogeli (Rausch y Berstein, 1972)

Estas cuatro especies pueden producir Hidatidosis (o Echinococcosis) en el hombre. El *E. granulosus* produce la Echinococcosis quística (América Central y del Sur, introducido desde España en el siglo XVI); el *E. multilocularis* produce la Echinococcosis alveolar (presente en la zona holártica de Eurasia), mientras que *E. oligarthus* y *E. vogeli* la Echinococcosis poliquística (presentes en América Central y del Sur). Los primeros casos de Hidatidosis en Argentina fueron reportados por Viñas en 1903 y 1905.

Desde el punto de vista morfológico, presentan características definidas que los identifican en el estadio adulto o estrobilar y en el estadio de metacestode o larvario. Por ser el más prevalente en nuestro país, nos referiremos fundamentalmente al *Echinococcus granulosus*.

El *E. granulosus* es un cestode de 2 a 6 mm de largo, color blanco amarillento, acinado, siendo su parte posterior más ancha, presentando escólex, cuello y estróbilo. Se han descrito ocho genotipos diferentes, los que podrían tener diferentes implicancias epidemiológicas, de diagnóstico, de control y características de la enfermedad producida en humanos según la cepa infestante, continuando en la actualidad los estudios; en nuestro país se han descrito cinco. Estas ocho poblaciones difieren en varios caracteres biológicos como rango de hospedadores y patrones de desarrollo.

El escólex está armado (con ganchos).

El cuello no está segmentado y es corto.

La estróbila está formada por tres a cinco anillos (proglótidas) rectangulares, menos la última que es mayor (ocupa casi la mitad del parásito) y está repleta de huevos en un promedio de 525 (con valores extremos entre 405 y 808) los que son similares a los de *Taenia solium* y *Taenia saginata*, encierran un embrión hexacanto y se encuentran contenidos en las ramificaciones laterales del útero, que son cortas y redondas. Los huevos tienen un diámetro que oscila entre los 30 y 50 μm . La última proglótida es la grávida, y es la única que llega a desprenderse.

La estructura de los anillos es similar a otros teniados. Son hermafroditas y poseen un poro genital cada anillo el que se encuentra en uno de los bordes laterales de cada uno de los mismos.

CICLO BIOLÓGICO

1. EVOLUCION NORMAL

El *E. granulosus* o *Taenia equinococcus* parasita el intestino del perro (hospedador definitivo), o algún otro cánido salvaje: lobo, chacal, coyote, dingo, zorro (también éstos se comportan como hospedadores definitivos). En el ciclo doméstico, de importancia para la infestación humana, el perro es el hospedador definitivo más importante.

La última proglótida, la grávida, cuando está repleta de huevos infestantes, se desprende (apólisis) y es eliminada con las heces del perro. Se ha estimado que la reposición de esta proglótida tarda entre una y dos semanas. Los huevos de *E. granulosus* quedan en la tierra contaminando el agua, verduras, pastos, manos, etc. Al ser ingeridos por alguno de los hospedadores intermediarios (ganado ovino, equino, porcino, lanar, caprino, guanaco, liebre, el hombre y otros herbívoros do-

mésticos), estos huevos, por acción de las enzimas como la pepsina y pancreatina que destruyen su membrana, dejan en libertad al embrión hexacanto en la primera porción del intestino delgado. Este embrión, utilizando sus ganchitos, se abre paso y atraviesa la pared del intestino, llegando luego a los vasos sanguíneos tributarios del sistema porta y una vez que se halla en la circulación portal es transportado hasta el hígado (primer filtro) y luego, si logra pasar esa primer barrera, puede llegar, siguiendo las venas suprahepática y la cava, hasta el corazón, y de allí por la arteria pulmonar, a los pulmones, pudiendo desde el corazón dirigirse directamente a otros órganos como el bazo, riñón, cerebro, tejido óseo, etc. Se origina, de esta manera, una HIDATIDOSIS PRIMARIA, ya que el embrión, una vez ubicado en alguna de las localizaciones mencionadas originará el estadio larvario llamado HIDATIDE o QUISTE HIDATIDICO, sin que se observe algún trastorno, por lo que la infección hidatídica cursa sin fase aguda inicial, siendo prácticamente imposible determinar el momento inicial de la infección. El órgano más afectado es el hígado (70%), siguiéndole luego el pulmón. A los pocos días de llegar al órgano, el embrión comienza a presentar en su interior una cavidad, estimulando simultáneamente la reacción tisular del hospedador, la que dará origen a la llamada **membrana adventicia** de la Hidátide, compuesta por eosinófilos y células gigantes de cuerpo extraño. Por la parte externa de esta capa se ubican fibroblastos, eosinófilos y capilares recientemente originados, apareciendo más tarde una zona que actúa como capa aislante, de tejido fibroso, que progresivamente se va mezclando con tejido sano del hospedador. Entre la membrana adventicia y la hidátide verdadera hay un espacio virtual que es de utilidad para que los cirujanos realicen la exéresis (parto) de un quiste hidatídico en un hospedador humano. Ya a partir del primer mes la hidátide se ha expandido hasta 1 cm de diámetro, mostrando sus dos membranas que la constituyen completas (ver más adelante composición de un quiste hidatídico o hidátide).

El perro, al comer carne de algún animal (oveja, cerdo, vaca o algún otro hospedador intermediario) que posea algún quiste ya desarrollado se contaminará, ya que los protoescólices que se hallan en estos quistes o hidátides pasarán a su intestino delgado, se fijarán por medio de sus ventosas y/o ganchos a la mucosa intestinal, originando, por brotación de su cuello, un adulto de *E. granulosus*, cerrando de esta manera la evolución normal o progresiva del parásito (HIDATIDOSIS PRIMITIVA). En estos Cestodos el comienzo de la producción de huevos oscila entre 35 y 58 días desde que se ingirieron los protoescólices.

2. EVOLUCION REGRESIVA

Se presenta cuando el quiste se rompe dentro del hospedador intermediario, liberando protoescólices, los que se diseminarán y fijarán en otros órganos y tejidos, se vesiculizarán y darán origen, de esta manera, a una nueva hidátide o quiste hidatídico (secundario). Esta es la razón por la cual un quiste hidatídico nunca debe punzarse sin las debidas precauciones y por especialistas ya que al hacerlo daríamos origen a una HIDATIDOSIS SECUNDARIA.

ESTUDIO MORFOLOGICO DEL QUISTE HIDATIDICO

Consideraremos dos partes:

1. Hidátide.
2. Adventicia.

1. **Hidátide**, quiste hidatídico o estadio larvario de *E.granulosus*, es una esfera o vesícula repleta de un líquido incoloro y transparente como el agua de vertiente. Presenta:

- a. CUTICULA (o capa cuticular o laminar), formada por varias láminas concéntricas de una sustancia parecida a la quitina, comportándose como una membrana semipermeable, siendo su espesor de aproximadamente 1 cm. Es acelular, friable y blanca. La capa laminar es efectiva barrera para impedir que las células inmunocompetentes del hospedador puedan atravesarla y atacar la capa germinativa. Aparentemente el hospedador no tendría enzimas capaces de degradar el mucopolisacárido que la forma.
- b. GERMINATIVA (membrana germinativa o prolígera). Es más interna, mide de 15 a 20 μm de espesor, aspecto granuloso y color amarillento. A diferencia de la capa cuticular, ésta es celular. Estructuralmente se han descrito tres regiones en esta capa:
 - a) Tegumento: exterior, de 1,5 μm de espesor aproximado, es una fina capa citoplasmática de tipo sincitial. Sería impermeable a las macromoléculas.
 - b) Núcleos y citoplasma proximal de las células tegumentarias.
 - c) Células glucogénicas, musculares, lisosomales, de conducto y flamíferas.

La salida de inmunógenos desde el interior del quiste hacia el hospedador cubriría una amplia gama que iría desde cero, en aquellos quistes hialinos, intactos, hasta

una gran cantidad en aquellos fisurados o rotos. Esta diversidad de situaciones daría un espectro muy variado de respuestas antigénicas que irían desde las negativas o en concentraciones muy bajas, hasta aquellas en que se detectan gran cantidad de anticuerpos contra elementos del quiste hidatídico. Esta diversidad de situaciones nos enfrenta a una gran gama de resultados en las pruebas inmunodiagnósticas, como veremos más adelante.

A partir de esta membrana germinativa se originan las vesículas prolíferas, de cuyas paredes "nacen los escólices" (protoescólices), con capacidad para desarrollar un parásito adulto. Existen larvas que son estériles, por lo tanto originarán quistes o hidátides sin protoescólices: acefaloquistes. En condiciones normales, en el hospedador no hay formación de vesículas hijas externas.

El "Contenido" de la hidátide está representado por:

a: LIQUIDO HIDATIDICO, transparente, de densidad 1.007 a 1.012; pH 7,4. Contiene un 98 % de agua y además ClNa, vestigios de albúmina, glucosa y grasas. Si bien no es tóxico, posee propiedades antigénicas.

b: ELEMENTOS FIGURADOS formados por componentes:

- Microscópicos (Arenilla hidatídica): Vesículas prolíferas, ganchitos y protoescólices.

- Macroscópicos: Vesículas hijas. Estas tienen la misma estructura que la hidátide (con capa cuticular y germinativa) oscilan entre 5 y 30 mm, generalmente son estériles y pueden ser endógenas o exógenas.

2. **Adventicia** (o periquística): corresponde a una estructura avascular y fibrosa debido a la reacción tisular del organismo parasitado que se defiende del parásito.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

1. METODOS DIRECTOS, a través del quiste o alguno de los elementos del contenido de la hidátide (vesículas, protoescólices, ganchos). El hallazgo microscópico de alguno de estos elementos en esputo, líquido de sondeo duodenal, material quirúrgico, etc., nos da el diagnóstico de certeza; no obstante, insisto nuevamente que un quiste hidatídico (o algo que pudiera serlo) **jamás se deberá punzar para extraer líquido para su examen**, ya que de esta manera podríamos originar una hidatidosis secundaria, o en algunos casos la muerte del paciente, por shock anafiláctico. No obstante algunos especialistas realizan esta técnica para extraer el líquido para estudiar la vitalidad

del quiste, por coloración con azul de metileno (solamente se colorean totalmente de azul los protoescólices muertos). Estas técnicas de punción/aspiración las realiza un cirujano especializado, asumiendo los riesgos de secundarismo o anafilaxia que pudieran presentarse; nunca esta punción la efectúa un Bioquímico.

2. METODOS INDIRECTOS: las reacciones inmunológicas para el diagnóstico de la Hidatidosis, aún constituyen un problema para su interpretación. Hasta hace poco se utilizaban la Intradermorreacción de CASSONI (año 1911) y la Reacción de fijación de complemento de IMAZ-LORENTZ-GUEDINI (año 1906) para el diagnóstico, pero actualmente, por su inespecificidad y escasa sensibilidad se las debe descartar.

Las reacciones de mayor sensibilidad y especificidad son las siguientes:

- a. Doble difusión arco 5 (DD5)
- b. Inmunoelectroforesis (IEF)
- c. Hemoaglutinación indirecta (HAI)
- d. Aglutinación al látex (AL)
- e. Test de Inmunofluorescencia indirecta (TIFI).
- f. Test Inmunoenzimático (ELISA).

Las pruebas de DD5, IEF5, son pruebas de doble difusión, simples (DD) o combinadas con otros procedimientos, que ponen de manifiesto, sobre un soporte de agar noble, uno o más arcos de precipitación, siendo el arco 5 el que confiere a esta prueba una especificidad del 100 %. La sensibilidad del método está estrechamente relacionado con la biología e interacción de la hidátide con el hospedador, siendo del 60-70% para la detección de quistes hepáticos. En caso de que se produzca la salida de inmunógenos parasitarios que se contacten íntimamente con las células inmunocompetentes del hospedador, habrá respuesta inmunológica detectable por las pruebas señaladas e inclusive AL, HAI y otras.

Las más usadas de todas las pruebas son: DD5, AL y HAI. Como metodologías para catastros o seguimiento en el post-operatorio se utilizan más (por su sencillez), la AL y HAI, mientras que como prueba confirmatoria la DD5.

Las pruebas de referencia son DD5 e IEF5, y están basadas en la detección de anticuerpos contra el antígeno 5, como criterio de positividad. El Ag 5 es muy antigénico y permite la aparición temprana de anticuerpos. Es una lipoproteína termolábil de PM aparente de 400 kDa. Este antígeno 5 (debido a la fracción de 38 kDa asociada a fosforilcolina) está presente en otros parásitos como *Taenia solium*, *E. multilocularis*

y *E. vogeli*. No obstante, para estas latitudes, estas reacciones, basadas en la detección de Ag 5 como criterio de positividad, son consideradas como muy específicas, ya que, pese a la reactividad cruzada expuesta, no se ha encontrado hasta el momento, ningún paciente que sin presentar hidatidosis diera estas pruebas positivas. No obstante, si bien su positividad es diagnóstico de hidatidosis, la ausencia de arco 5 no descarta la enfermedad; se ha observado que en pacientes con hidatidosis, que no presentan positivo el arco 5, muestran, no obstante, tres o más arcos de precipitación, mientras que en personas no hidatídicas, no se han observado más de dos de estos arcos "inespecíficos". De lo expuesto diremos que:

- a. Arco 5: "sinónimo de Hidatidosis". (También se encuentra arco 5 positivo en *E. multilocularis* y *E. vogeli*).
- b. Tres ó más de tres arcos "inespecíficos", distintos del arco 5 "sugieren" la enfermedad pero no la diagnostican.
- c. Dos ó menos de dos arcos "inespecíficos", si bien corresponden a personas no enfermas, tampoco descartan la enfermedad.

Vale decir que la negatividad de las pruebas de DD5, IEF5 no descartan la enfermedad y sugieren utilizar alguna de las otras reacciones (AL o HAI) para tener una idea más acabada de la respuesta inmunológica del paciente frente al antígeno hidatídico, ya que, al no poseer el hospedador enzimas capaces de destruir la membrana quística (capa cuticular), no quedarían en libertad los antígenos hidatídicos como para poder originar una respuesta inmunológica importante por parte del hospedador. El quiste estimula poco, puesto que el contenido del mismo no está en contacto directo con los tejidos del hospedador y por otra parte la cantidad de antígenos parasitarios que podrían salir del quiste parece no ser muy alto.

Por otro lado, una ruptura del quiste (traumatismo, punción exploratoria descuidada, cirugía, etc.), produciría la salida del líquido hidatídico, que es antigénico, originando una respuesta inmunológica importante. Es por ello que pacientes operados de algún quiste hidatídico, luego de la intervención quirúrgica suelen presentar un aumento en el título de anticuerpos contra el antígeno hidatídico, especialmente si se ha roto el quiste o si algún elemento antigénico quedó libre en el interior del organismo del hospedador. Estos anticuerpos no duran más de 12 a 18 meses; si después de ese tiempo las pruebas de DD5, IEF5, o las otras pruebas serológicas (HAI, AL, etc.) se mantienen positivas, es conveniente un estudio más profundo del paciente, buscando una hidatidosis secundaria o algún otro quiste en alguna otra localización, o una reinfestación, especialmente si el título permanece igual o aumentó.

Las reacciones de AL son sensibles, pero no son específicas, razón por la cual un látex para hidatidosis positivo debe confirmarse con DD5 y/o IEF5, lo mismo que la HAI. El látex y la HAI son útiles para seguir al paciente en el post-operatorio.

Todos los resultados serológicos deben ser interpretados cuidadosamente si el paciente ha recibido "tratamiento biológico" (ya casi no se usa), puesto que la respuesta inmunológica del paciente a los antígenos hidatídicos que se inocula podrían confundirnos.

Por último, y por lo expuesto, señalaremos nuevamente que si las reacciones serológicas para hidatidosis nos dan negativas no podemos descartar totalmente una hidatidosis, ya que a excepción de la visualización del Arco 5 de Capron, el resto de las reacciones serológicas o bandas inespecíficas, solamente "sugieren" la enfermedad, debiendo efectuarse siempre la prueba confirmatoria del Arco 5, única prueba para la hidatidosis humana que proporciona un 100 % de especificidad diagnóstica.

En la actualidad se está recomendando la utilización del ELISA, especialmente para pacientes asintomáticos, aunque su especificidad no es alta, dando reacciones cruzadas con proteínas del hospedador o de otros Helmintos. Debido a que aún no han sido estandarizadas, la sensibilidad varía entre el 63 y el 99% de acuerdo con el antígeno que utilizan y el valor de corte que utilizan. Para el ELISA se utiliza líquido hidatídico total ovino.

Para confirmación se puede utilizar la técnica de Western blot, la que emplea un antígeno purificado por cambios de fuerza iónica, llamado S2 B. Este antígeno S2 B es una fracción rica en componentes de los antígenos 5 y B. Se considera positiva esta reacción aunque solamente se visualicen bandas de 55-65 kDa (pertenecientes al Ag 5), ya que el Ag B puede no estar presente en todos los pacientes. El Ag B es una lipoproteína termoestable de 150 kDa. Si bien es específico de *E. granulosus*, no todos los pacientes con hidatidosis producen anticuerpos contra esta fracción, probablemente debido a que la respuesta inmune que genera es celular. La sensibilidad de esta técnica varía con el tipo de antígeno utilizado, habiéndose encontrado que es de un 90-95% si se utiliza antígeno 5 y de un 55-95% si se utiliza antígeno B, mientras que la especificidad hallada fue del 95% puesto que da reacción cruzada con *Cisticercus cellulosae*. Para evaluar un post-operatorio o una quimioterapia, o cuando la serología es negativa, se emplea ELISA de captura para detectar antígenos circulantes (AgC) y/o complejos inmunes circulantes (CIC). Otro antígeno descrito es el Ag 8, glucoproteína termoestable presente en los ganchos del *E. granulosus*.

Todos los resultados de las pruebas diagnósticas de laboratorio bioquímico, están en relación directa con la biología del parásito, con el estado o evolución de la hidátide, por lo que la interpretación de los resultados obtenidos con las diferentes técnicas deberá ser evaluada cuidadosamente. Se recomienda correlacionar los resultados de laboratorio con los radiológicos, clínicos y ecográficos, ya que estos últimos están estrechamente vinculados al estado del quiste. Resultados negativos con ELISA y/o Western blot correspondieron a casos de pacientes con quistes hepáticos calcificados y/o a quistes renales activos. Para disminuir la reactividad cruzada con componentes del líquido hidatídico en estas técnicas, Coltorti y col (1990) recomiendan efectuar las diluciones del suero con buffer TRIS pH 8,2 con fosforil colina.

Además de lo expresado, la falta de anticuerpos detectables en los pacientes con quistes hidatídicos, se debería a que estos quistes, al estar calcificados no eliminarían proteínas, o bien por que se encuentran localizados en zonas de bajo flujo sanguíneo, o bien por la presencia de elevadas concentraciones de complejos inmuncirculantes (CIC) o altos niveles de Ag que bloquearían los anticuerpos específicos, los que no podrían ser detectados por los métodos convencionales. En el Departamento de Parasitología del Instituto Malbrán, se detectan el antígeno circulante por Dot ELISA y los CIC de tipo IgG e IgM por ELISA de captura. Estas técnicas permiten un mejor seguimiento del tratamiento de los pacientes, además de confirmar casos con el resto de la serología negativa. Es conveniente, en este punto, señalar que para estudios de screening es conveniente utilizar técnicas altamente sensibles, mientras que para la confirmación y/o el diagnóstico técnicas muy específicas.

Desde el punto de vista de los resultados ecográficos, (Gharby y col, 1992) se han clasificado a los quistes en cinco tipos: Tipo I, II, III, IV y V. Actualmente algunos autores dividen al Tipo I en Ia (diámetro menor a 3 cm) y Ib (diámetro mayor a 3 cm). Esta clasificación de Gharby está siendo utilizada actualmente, ya que a partir del tipo de quiste que se visualiza se desprende la conducta a seguir por el médico, ya que los Tipo I son aquellos hialinos y biológicamente activos y en pleno desarrollo y expansión (peligrosos), mientras que los Tipo V son quistes viejos y calcificados que ya no son peligrosos.

PATOLOGIA y TRATAMIENTO

La Hidatidosis humana es una grave enfermedad que requiere, en muchos casos, tratamiento quirúrgico. En algunos casos la enfermedad se complica y puede llevar a

la muerte al portador de uno o más quistes hidatídicos, en caso de ruptura del quiste, por ejemplo. El daño que produce es mecánico y/o tóxico.

1. Mecánico: pues comprime órganos cercanos, dependiendo la patología resultante del lugar donde esté ubicado el quiste y del tamaño. Por ejemplo, no es lo mismo un quiste de cinco centímetros de diámetro localizado en el cerebro que uno igual en hígado o pulmón; si bien la peligrosidad por una probable ruptura puede ser similar, la compresión que provocan en uno u otro órgano origina patologías diferentes.
2. Tóxico: puede originar crisis urticarianas por pasaje de pequeñas cantidades de líquido hidatídico a la sangre o bien un shock anafiláctico si el paciente está previamente sensibilizado.

Las localizaciones más frecuentes de los quistes son: hígado, pulmón, bazo, corazón, riñón, mamas, páncreas, piel, músculos, huesos, SNC, etc. Nuestros hallazgos, sobre 750 pacientes arrojan un 72,5% de localización hepática y un 27,5% pulmonar. El tamaño de los quistes originados dependerá de la resistencia que el tejido circundante le ofrezca al crecimiento de la larva, siendo mayor en el hígado, lo que explicaría la presencia de múltiples quistes relativamente pequeños y muchas veces asintomáticos, en contraposición a la escasa resistencia que ofrece el tejido elástico de los pulmones que lleva a una rápida aparición de síntomas clínicos en un gran porcentaje de casos.

Con referencia a los tratamientos, simplemente señalemos que éstos dependen de la localización, tipo de quiste según la clasificación de Gharby y el criterio médico, siendo en general: tratamiento con albendazol o algún otro helminticida recomendado; PAIR (punción-aspiración) del contenido quístico efectuado por profesionales experimentados en este tipo de técnicas, que si bien disminuye la estadía hospitalaria del paciente no está exenta de riesgos por probable shock anafiláctico; cirugía convencional, con extirpación del, o de los, quistes con un post-operatorio prolongado; extirpación por videlaparoscopia, o bien mantener una conducta expectante, con un seguimiento serológico y ecográfico continuo, especialmente para aquellos quistes que respondieron bien al tratamiento farmacológico, o frente a los quistes Tipo I o V. Otros aspectos a tener en cuenta para decidir el tratamiento son la edad del paciente, el estado inmunológico y nutricional, posibilidades de acceder a los controles posteriores, etc.

EPIDEMIOLOGIA

La Hidatidosis o Echinococcosis quística, se extiende por toda América del Sur, siendo las zonas rurales las que presentan las mayores prevalencias, especialmente donde la cría de ganado (especialmente ovino) es la principal actividad económica, afectando Argentina, Uruguay, Chile, sur de Brasil y las sierras de Perú. El ciclo oveja-perro-hombre es el que más se evidencia en estas zonas, ofreciendo condiciones óptimas para cerrar el ciclo biológico del parásito. La incidencia anual en estas regiones es de aproximadamente 2000 casos. En regiones donde el ganado caprino reemplaza al ovino, el ciclo que prevalece es el de perro-cabra. Si bien en la Patagonia Argentina está creciendo la cría de ganado caprino, debido a la baja fertilidad de los quistes y a la escasa faena domiciliaria, ya no se considera importante su papel epidemiológico. La existencia de animales silvestres infestados, si bien podrían suponer un menor riesgo para el hombre por estar alejados de zonas pobladas, esto implica un obstáculo para la erradicación de la Hidatidosis debido a la imposibilidad de alcanzar el ciclo silvestre por la mayoría de las estrategias de control que se diseñan y aplican al ciclo doméstico. Debemos considerar la exposición del hombre al pelaje del zorro cuando lo mata y cuerea para obtener su piel. El tiempo de supervivencia de los huevos en el pasto es de aproximadamente dos años. En Sarmiento, Chubut, bajo condiciones de clima árido, se demostró que los huevos de *E. granulosus* permanecen viables por 41 meses.

En Argentina, si bien la enfermedad está presente en todo el territorio, los mayores índices de endemidad los encontramos en la región patagónica (Río Negro, Chubut, Neuquén, Santa Cruz, Tierra del Fuego) y en el sur de Mendoza, sur de la Provincia de Buenos Aires, Corrientes y en Salta y Jujuy.

En las provincias de Chubut, Río Negro, Neuquén y Tierra del Fuego, durante el período 1984-1988 se registraron 2096 casos nuevos. En el período 1988/1992, en todo el país se registraron 464 casos. La mortalidad alcanza a los 45 casos anuales. El hospedador definitivo presenta índices altos de parasitación. Antes de la aplicación de medidas de control, en la patagonia y provincia de Buenos Aires, las tasas de infección canina oscilaban entre el 41,5% (Ñorquinco, Río Negro) y el 28,2 (Azul, Pcia Buenos Aires). En el ganado, las mayores tasas se evidenciaron en la Patagonia, Provincia de Buenos Aires y en la Mesopotamia, con variaciones del 10% al 39% para bovinos, mientras que para ovinos las cifras estaban entre el 6% y el 63%.

En nuestro país, progresivamente se están desarrollando programas de desparasitación de perros, catastros serológicos y ecográficos, información y educación de la población.

PROFILAXIS

En términos académicos, la situación parece ser simple: evitar que los hospedadores intermediarios ingieran huevos infestantes y que los hospedadores definitivos ingieran protoescólices viables, provenientes del estadio larvario (quiste hidatídico) de *E. granulosus*. No obstante, en la práctica se hace muy difícil, ya que existen una variedad de factores socio-culturales y económicos que contribuyen a que la profilaxis se vea dificultada. Es el hombre el que adopta conductas, el que toma decisiones riesgosas, razón por la cual la Educación para la Salud es el eje de los programas de control. Las siguientes son recomendaciones que debemos tratar que sean comprendidas y cumplimentadas:

1. Educación del hombre: al respecto es pertinente recordar que no existen "recetas" de uso internacional o de validez para todo el mundo o todo el país. Cada región, de acuerdo con la idiosincracia de sus habitantes, deberá adecuar las recomendaciones generales a sus habitantes, especialmente los que habitan cada una de las áreas endémicas. No se debe generalizar ni aplicar modelos que en otras regiones dieron buenos resultados, sin un previo análisis por especialistas en comunicación social, hidatidólogos, parasitólogos, sociólogos, antropólogos, etc., ya que se corre el riesgo de fracasar, gastando inadecuadamente el dinero, perder el tiempo y a veces predisponer negativamente a los pobladores.
2. Construcción de mataderos adecuados, con control sanitario.
3. Controlar y desparasitar perros y otros hospedadores definitivos.
4. Eliminación de posibles vectores de huevos: Coleópteros (escarabajos coprófagos de la familia de los Lamelicornios, conocidos como "torito" y "bicho candado", moscas, ratas y ratones de campo, cucarachas, etc.
5. Cercar adecuadamente las huertas, evitando la entrada del hospedador definitivo y otros hospedadores accidentales.
6. Lavar adecuadamente las verduras que se comen crudas.
7. Hervir el agua de represas, arroyos, etc. antes de tomarla.
8. Lavarse las manos antes de comer y luego de jugar o acariciar los perros.
9. Evitar el faenamiento clandestino.
10. Construcción de "pozos sanitarios" para arrojar las "achuras" (vísceras) en los lugares de faenamiento.
11. No dar "achuras" contaminadas y/o sin hervir a los perros.

VACUNA

En la actualidad, una vacuna conteniendo una proteína recombinante purificada obtenida a partir de huevos de parásitos (oncósferas) y un adyuvante, está siendo probada exitosamente en ovinos. Se trata de la vacuna EG95. Es una preparación proteica purificada, no infecciosa, no tóxica, no contaminante y producida por ingeniería genética. La vacuna es administrada subcutáneamente: 2 ml que contienen 50 µg de proteína EG95 y 1mg de adyuvante Quil A.

Los resultados obtenidos por Jensen, Iriarte y Fernández en la provincia del Chubut, en nuestro país, muestran resultados altamente satisfactorios de eficacia y eficiencia de esta vacuna descrita por Lightowers en 1996 en Melbourne, Australia.

En la evaluación de esta vacuna, en el Programa de Control de la Hidatidosis del Chubut (Argentina), el Laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad de Melbourne (Australia) y el AgResearch de Nueva Zelandia, los resultados obtenidos fueron: la vacunación con EG95 logró una protección superior al 82% con una dosis, superior al 98% con dos dosis y del 100% con tres dosis.

Si bien esta vacuna aún no está lista para ser utilizada en humanos, ya se puede utilizar en bovinos, abriendo así un nuevo frente para combatir esta zoonosis que nos permitirá, en poco tiempo, lograr el control de la Hidatidosis quística.

DERMATITIS ESQUISTOSOMIÁSICA (DERMATITIS POR CERCARIAS)

Rubén Daniel Tanzola

La *dermatitis esquistosomiásica*, también conocida como *dermatitis por cercarias* o *dermatitis de los bañistas*, es una afección de la piel provocada por larvas de ciertas especies de digeneos parásitos de aves y mamíferos silvestres, que accidentalmente ingresan por penetración a la piel del individuo humano, cuando éste la expone al sumergirse en aguas infestadas por el parásito.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA

Phylum: Platyhelminthes
Superclase: Trematoda
Clase: Digenea
Orden: Strigeida
Familia: Schistosomatidae
Géneros*: *Dendritobilharzia* Skrjabin & Zakharow, 1920
Tricobilharzia
Gigantobilharzia
Heterobilharzia

(* Potencialmente implicados)

MORFOLOGÍA

En esta parasitosis, el estadio infectivo para el ser humano es el de **cercaria**. Desde el punto de vista morfológico, se trata de pequeñas formas "oftalmo-furcocercas", esto significa que el cuerpo presenta una cola bifurcada con un par de aletas nadadoras y un par de manchas pigmentarias ("ocelos"). Por este último rasgo es posible diferenciarlas de las furcocercarias del género *Schistosoma*, carentes de ocelos. Presentan una ventosa anterior en cuyo centro abre el orificio bucal, una pequeña ventosa ventral o acetábulo en el tercio posterior del cuerpo y cinco pares de glándulas de penetración cuyos poros abren alrededor de la ventosa oral. Presentan así

mismo un sistema excretor protonefridial cuyo número de bulbos flamígeros tienen importancia sistemática a nivel específico. Los rangos dimensionales más importantes de la cercaria son: longitud total del soma (cuerpo): 200 a 330 μm ; longitud del tronco de la cola: 280-650 μm ; longitud de las furcas caudales: 95-205 μm ; diámetro de la ventosa ventral o acetábulo: 18-35 μm (tomadas de Martorelli, 1989).

CICLO BIOLÓGICO

Las furcocercarias se forman a partir de esferas germinales del **esporocisto**. El esporocisto es una forma larval generatriz con forma de saco ciego, sin ramificaciones y cubierto de diminutas espinas que se encuentra en la glándula digestiva y gónadas de diferentes especies de caracoles de agua dulce. En nuestro país, Martorelli (1984, 1989) las ha registrado en los caracoles *Chilina gibbosa*, en el Lago Pellegrini, Prov. de Río Negro y *Heleobia conexa*, en la Albufera de Mar Chiquita, Prov. de Buenos Aires. Tanzola (datos inéditos) halló esporocistos y furcocercarias en *Chilina parchapii* procedentes del Río Sauce Grande, en Sierra de la Ventana y Arroyo Napostá, en Bahía Blanca. Una vez completado el desarrollo de las furcocercarias, éstas abandonan al caracol y nadan activamente en el agua durante 24-48 horas. Generalmente la emergencia larval ocurre de manera explosiva, principalmente a tempranas horas de la mañana y es estimulada por la temperatura. Martorelli (1984) registró la emergencia de 1000 larvas de un solo caracol. En su etapa larval libre deben encontrar al hospedador definitivo adecuado, aves acuáticas (en el caso de *Dendritobilharzia*) o mamíferos acuáticos como ratas, cuises, nutrias o carpinchos (en el caso de *Heterobilharzia*, *Trichobilharzia* o *Gigantobilharzia*). En contacto con la piel de estos hospedadores susceptibles, en cuestión de segundos perforan los estratos córneos a partir de enzimas hidrolíticas, pierden la cola y como esquistosómulos en la dermis, se preparan para una larga travesía hacia los órganos blanco, principalmente venas mesentéricas. Allí, como todos los integrantes de la familia Schistosomatidae, los juveniles maduran sexualmente, y luego de la cópula las hembras depositan miles de huevos subsféricos, sin filamentos, espinas ni opérculo. El desarrollo de los mismos se completa en el exterior, liberándose los miracidios en las aguas libres, donde infectarán a los caracoles, generalmente por los tentáculos o el pie. El órgano blanco es la glándula digestiva y/o la gónada.

PATOGÉNESIS, DIAGNÓSTICO Y EPIDEMIOLOGÍA

Como se adelantó en la introducción, la dermatitis esquistosomiásica es una afección dérmica **accidental** del ser humano, en el sentido que el parásito encuentra en éste

una vía muerta para su desarrollo ontogenético. El individuo humano se expone a los estadios furcocercarias cuando su piel desnuda se sumerge en aguas destinadas a fines de natación recreativa, lavado de ropa o utensilios domésticos, siembra de arroz en terrenos inundados o por la manipulación de productos pesqueros. En el caso más frecuente, la dermatitis del bañista, el individuo permite la penetración al dejar evaporar el agua en la piel sin secarla inmediatamente al emerger de la misma. Por tal razón se recomienda el secado inmediato con toalla en aquellos cuerpos de agua donde se conoce la presencia del parásito. Debería tenerse especial precaución en cuerpos de agua donde se observen aves nadando (patos, gallaretas, cisnes). La reacción contra la penetración genera un intenso prurito que se manifiesta hasta las 10-15 horas postinfección. En cada punto de penetración se desarrollan pápulas eritematosas y ronchas características de gran tamaño (aproximadamente 3-5 mm). Luego, el prurito puede desaparecer completamente o recrudescer esporádicamente. Normalmente la dermatitis desaparece luego de una semana. No se conocen registros de secuelas o agravamientos de la primoinfección. Los individuos hipersensibles, los niños e inmunodeprimidos pueden experimentar con mayor intensidad el escozor si el contacto con el agua contaminada se repite.

El diagnóstico es sintomático. La anamnesis debe constatar el contacto de la piel con aguas contaminadas en las 12 horas previas a la aparición de las ronchas y el prurito. No hay tratamientos medicamentosos sugeridos, excepto la aplicación tópica de lociones o cremas antipruriginosas.

En Argentina, Martorelli (1981) describió la especie *Dendritobilharzia rionegrensis*, en las venas mesentéricas de la gallareta de escudete rojo, *Fulica rufifrons*, procedentes del Lago Pellegrini, en Río Negro. Los primeros datos epidemiológicos de Argentina se deben a Szidat (1951) quien alertaba de la presencia de ésta afección en aguas de la Laguna de Chascomús, un importante espejo de agua bonaerense destinado a la pesca y deportes acuáticos.

BIBLIOGRAFÍA

Martorelli, S.R. (1981). *Dendritobilharzia rionegrensis* sp. nov. (Digenea: Schistosomatidae) parásita de las venas mesentéricas de *Fulica rufifrons* (Aves: Rallidae). *Neotropica* 27 (78): 171-177.

Martorelli, S.R. (1984). Sobre una cercaria de la familia Schistosomatidae (Digenea) parásita de *Chilina gibbosa* Sowerby, 1841 en el lago Pellegrini, Provincia de Río Negro, República Argentina. *Neotropica* 30 (83): 97-106.

Martorelli, S.R. (1989). Estudios parasitológicos en la Albufera de Mar Chiquita, Provincia de Buenos Aires, República Argentina. II: Cercarias (Digenea) parásitas de *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae), pertenecientes a las familias Schistosomatidae, Haploporidae y Homalometridae. *Neotropica* 35 (94): 81-90.

Szidat, L. (1951). Cercarias schistosomicas y dermatitis schistosomica humana en la República Argentina. *Comunicaciones del Museo Argentino de Ciencias Naturales B. Rivadavia, Sección Zoología*, 2(10): 129-150

TRICHINELLOSIS

Sixto Raul Costamagna

La Trichinellosis es la zoonosis parasitaria producida por la presencia de larvas de un Nematodo perteneciente al género *Trichinella*, en células del músculo estriado del hombre y otros animales. Todas las especies de *Trichinella* son patógenas para el humano, aunque se hayan observado diferencias entre especies o genotipos, en lo referente a síntomas y signos de la enfermedad que producen. La Trichinellosis (o Triquinosis, como se la conocía anteriormente) debe ser considerada una enfermedad de importancia sanitaria, existiendo aproximadamente 10 millones de personas en el mundo expuestas a riesgo.

La ubicación taxónomica del parásito es la siguiente:

Phylum: Nematoda

Clase: Adenophorea o Aphasmidia

Orden: Enoplida

Superfamilia Trichinelloidea

Familia: Trichinellidae (Ward, 1907)

Género: *Trichinella* (Raillet, 1895)

El género *Trichinella* pertenece a la Familia Trichinellidae, Superfamilia Trichinelloidea. Los miembros de esta Superfamilia se caracterizan por presentar una región glandular en el esófago conocida como esticosoma, una característica morfológica que está ausente en otros nematodos (Zarlenga *et al.*, 2006). El género *Trichinella* se divide en dos clados (conjunto de especies emparentadas con un antepasado común), uno que abarca a las especies que se encapsulan en los músculos del hospedador y otro que incluye a las especies que no se encapsulan (Pozio & Murrell, 2006). Todas las especies y genotipos conocidos pueden infestar humanos (Pozio, 2007)

El clado de especies que se encapsulan incluye:

Trichinella spiralis (Owen, 1835) y Raillet, 1895 (genotipoT1) (América, Sur de Asia, España)

Trichinella nativa (Britov y Boev, 1972) (genotipoT2) (Rusia, España)

Trichinella britovi (Pozio, 1992) (genotipoT3) (Autóctona de España)

Trichinella murrelli (genotipoT5)

Trichinella nelsoni (Britov y Boev, 1972) (genotipoT7) (África)

Trichinella (genotipoT6)

Trichinella (genotipoT8) (variedad de *T. britovi*, Sudáfrica)

Trichinella (genotipoT9)

El clado de especies que no se encapsulan incluye:

Trichinella pseudospiralis (Garkavi, 1972) (genotipoT4) (Eurasia, España)

Trichinella papuae (Pozio, 1999) (genotipoT10) (Papua, Nueva Guinea)

Trichinella zimbabwensis (genotipoT11)

En la actualidad (2007), se reconocen para el género *Trichinella* ocho especies y tres genotipos porque no se conoce a que especie pertenecen, aunque al respecto continúan existiendo algunas controversias.

Las especies y genotipos del primer clado parasitan únicamente a mamíferos, mientras que las especies del segundo clado, además de parasitar a mamíferos, *T. pseudospiralis* parasita a los pájaros y *T. papuae* y *T. zimbabwensis* a reptiles.

Excepto por la presencia o ausencia de cápsula, todas las especies y genotipos del género *Trichinella* son morfológicamente indistinguibles en todas las etapas del desarrollo, por lo tanto la identificación correcta de especies y genotipos del parásito solo es posible usando métodos moleculares y bioquímicos (Pozio & Zarlenga, 2005)

CRITERIOS PARA DEFINIR ESPECIE EN *Trichinella*

1. Morfología de los adultos, larvas y quistes
2. Patogenicidad y virulencia
3. Criterio genético: número de cromosomas, cariotipo, entrecruzamiento entre los aislados.
4. Potencial reproductivo (dosis infestante habitual o mínima)
5. Inmunogenicidad diferencial entre los aislados.

6. Longevidad de adultos y larvas.
7. Sensibilidad a las drogas.
8. Capacidad para resistir altas y bajas temperaturas.
9. Distribución intestinal de los adultos.
10. Criterios bioquímicos.

MORFOLOGIA

Debido a que la única especie que aparentemente estaría presente en Argentina es *T. spiralis*, describiremos la morfología de larvas y adultos de la misma.

ADULTOS: se presentan con sexos separados. Cuerpo filiforme, cilíndrico, blanquecino.

Macho: más pequeños que las hembras, miden entre 1,4 - 1,6 a 2 mm de largo con un diámetro de 30 a 40 μm . Testículo incurvado en su región inicial que se continúa por un conducto espermático para formar luego un dilatado conducto eyaculador en la parte más distal; desemboca luego en una cloaca terminal que está desprovista de espículas, siendo las paredes de la misma, las que al evaginarse actúan como órgano intromitente durante la cópula. La hembra es sujeta por unas prominencias que se sitúan a ambos lados del orificio de la cloaca, siendo acompañadas por cuatro papilas pequeñas.

Hembra: vivípara, más grande que el macho, mide entre 3 y 4 mm de largo, con un diámetro aproximado en 60 μm . El tercio anterior está ocupado por el esticosoma (también presente en el macho), que es una hilera de células discoideas, cada una de las cuales contienen gránulos secretorios. El aparato genital está formado por un ovario, un útero que alojará huevos en su porción inicial, larvas L1 en su porción media y en el extremo posterior larvas libres que avanzan a través de una corta vagina para ser puestas por las hembras a través de la vulva que se ubica en la zona central de este gusano.

Larvas enquistadas: se encuentran en el interior de las células o fibras musculares esqueléticas. Una vez desarrolladas alcanzan una longitud de 1 mm, hallándose enrolladas (*spiralis*) dos o tres veces, en el interior de gruesos quistes en forma de limón de 0,4-0,5 mm de largo por unos 0,25 mm de ancho, quiste que se forma a expensas del glicocáliz engrosado del sarcolema de la fibra muscular infestada, y cuyo componente fundamental es el colágeno.

HOSPEDADORES

Los principales hospedadores de *T. spiralis* son los siguientes animales homeotermos: rata, cerdo, jabalí, perro, gato, peludo, gato montés, león, leopardo, zorro plateado, zorro, chacal, foca, oso polar, morsa, caballo, liebre, hiena, puma y ballena blanca.

CICLO BIOLÓGICO DE *Trichinella* sp.

Si bien fue Owen, en 1835, quien por primera vez describe la especie en el músculo del diafragma de un albañil de 51 años que había muerto de tuberculosis, recién en 1858 Leuckart y posteriormente Virchow en 1859 describen el primer ciclo epidemiológico (rata-cerdo-hombre). El primer caso clínico lo describe Friedreich en 1862 y el primer caso fatal reportado lo hizo Zenker en 1860, comprobando de esta manera por primera vez, el ciclo en una autopsia en humanos.

El ciclo comienza cuando uno de los hospedadores mencionados ingiere carne, infestada con el estadio larval de *Trichinella* sp, cruda o mal cocida, de algún otro hospedador. Por ejemplo, cuando el hombre ingiere carne de cerdo o alguno de los derivados del cerdo (embutidos, chacinados) crudos e infestados con *Trichinella* sp. Una vez en el intestino, y por acción de los jugos digestivos, el músculo es digerido y quedan en libertad las larvas, las que se activan y continúan su desarrollo para que, una vez en el intestino delgado continúen su desarrollo hasta alcanzar el estadio adulto en el duodeno, proceso que lleva aproximadamente dos días (30 horas). Allí ya aparecen los sexos separados y luego del apareamiento los machos son eliminados por las heces y las hembras grávidas penetran activamente la mucosa intestinal y se ubican en la submucosa, donde permanecen hasta larviponer todas las larvas generadas. La penetración del intestino provoca modificaciones en las células epiteliales del mismo, especialmente en las microvellosidades, la lámina propia y el tejido muscular del yeyuno. Hay proliferación de enterocitos en las vellosidades intestinales que se deforman, hiperplasia de las cryptas de Lieberkühn y presencia de infiltrados en la submucosa. Las lesiones pueden permanecer durante varias semanas. Esto ocurre aproximadamente entre el 4to y 5to día post-infestación. Cada hembra puede permanecer en la submucosa durante un período de aproximadamente tres a cuatro semanas, larviponiendo entre 1500 y 2000 larvas cada una. Estas larvas jóvenes pasan a la circulación sanguínea a través de la cual llegan hasta su destino final: los músculos estriados, especialmente aquellos más activos del hospedador: masetero, diafragma, intercostales, laringe, lengua (base), pectorales, deltoides, músculos del ojo, bíceps, etc. Allí se produce la transformación de las células musculares,

ahora invadidas por este Nematode con alma de virus, transformándolas en "células nodrizas", en una verdadera "placenta". La migración de estas larvas dentro de los diferentes órganos y tejidos del hospedador, provocarán una reacción inmunológica, alteraciones anatomopatológicas y cambios metabólicos que producen diferentes signos y síntomas clínicos observables durante el curso de esta enfermedad. La reacción inmunológica producirá células inflamatorias (eosinófilos, monocitos, LiT, LiB y mastocitos) citoquinas y anticuerpos que dispararán la respuesta humoral y celular. Una vez dentro de las células musculares esqueléticas provocará las siguientes modificaciones: desaparición de las miofibrillas sarcoméricas, reemplazo de actina y miosina, alargamiento del núcleo celular, hipertrofia del glicocálix y un proceso de angiogénesis (desarrollo de una red capilar que rodea la célula infestada y que dura aproximadamente 21 días) que comienza cuando la célula muscular es invadida por el parásito y tiene como función la de permitir la llegada de alimento, la respiración a la larva y la eliminación de desechos metabólicos. En el caso de las especies encapsuladas, el proceso de encapsulación consiste en la producción de una cápsula de colágeno alrededor de la larva, proceso que dura entre 18 a 20 días. Estos cambios en las células infestadas producen un aumento en la permeabilidad de las mismas, lo que se traduce en un incremento en la salida de las enzimas musculares. Esta larva enquistada mide aproximadamente entre 250 y 400 micrones y tiene forma de un huso. Está rodeada de colágeno (solamente las encapsuladas) lo que daría forma y protección a la misma, formando un quiste que permite la viabilidad de la larva por un período de aproximadamente seis meses, a partir del cual comienza un proceso de calcificación y posterior muerte y destrucción de la larva. No obstante, se han reportado sobrevividas de hasta 30 años. Si bien las larvas no se enquistan ni parasitan el músculo cardíaco, el pasaje, aunque transitorio por el corazón puede producir alteraciones morfológicas, consistentes en infiltrados celulares de eosinófilos y monocitos. Las larvas en el SNC pueden causar vasculitis y perivasculitis con lesiones difusas o focales. Por otra parte, lesiones en corazón y cerebro son a menudo asociadas y pueden ser el resultado de la conjunción de efectos locales de eosinófilos e injuria vascular producto de la migración larval.

Luego del 4to o 5to día post-infestación, y por un período de varias semanas, pueden coexistir la fase intestinal y la muscular, es decir, que en este momento, en el hospedador cohabitan el estadio adulto y el larvario (el hospedador es definitivo e intermediario simultáneamente: Ciclo Autoheteroxeno).

En el hombre, salvo que se realice canibalismo, el ciclo termina aquí, pero en otros animales, como el cerdo, el ciclo se cierra cuando éstos son ingeridos crudos o mal

cocidos por los otros animales susceptibles, o en el caso de la rata cuando ésta es ingerida por otra o por un cerdo, cerrando de esta manera el ciclo.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la Trichinellosis comprende tres aspectos:

- CLINICO EPIDEMIOLOGICO
- SOBRE EL PACIENTE
- SOBRE LA FUENTE DE INFESTACION

DIAGNOSTICO CLINICO EPIDEMIOLOGICO

1. Sucesión sintomática: debe existir una sucesión en la aparición de signos, síntomas y datos de laboratorio que confirmen la enfermedad. Se deben tener muy en cuenta que los diferentes períodos del ciclo coincidan con la sintomatología y corroborar fehacientemente la ingesta de comida supuestamente infestada.
2. Brote: Generalmente existe un brote, con un comportamiento común entre los afectados: comida a la que todos asistieron, un comercio en el que todos compraron carne de cerdo o embutidos sospechosos, participación en faenamientos clandestinos o sin los análisis pertinentes.

SOBRE EL PACIENTE

• PARASITOLOGICO:

Adultos en heces diarreicas (?): de escasa o nula importancia diagnóstica.

Larvas en heces: algunas larvas pueden aparecer en las heces.

Embriones en circulación (?): la probabilidad de hallar un embrión en circulación, es casi nula, debido al escaso tiempo que permanecen allí (recordar que se trata de embriones en tránsito).

Biopsia muscular (15-30 días) (?): muy agresiva y con baja probabilidad de encontrar el parásito.

• SERODIAGNOSTICO:

La respuesta inmunológica en Trichinellosis requeriría de un libro para relatarla adecuadamente, pero, simplemente a los fines de comprender el inmunodiagnóstico, señalemos que en esta enfermedad se generan dos grupos de anticuerpos: los anticu-

erpos de respuesta rápida, generados a partir de la primera quincena de comenzada la invasión a la musculatura de las larvas, y los llamados anticuerpos de respuesta lenta, que aparecen luego del mes de dicha invasión.

Grupo de respuesta rápida (2da. sem):

- Capa interna Cuticular
 - Cutícula intestino
 - Hemolinfa
 - Gránulos de glucógeno
- Grupo de respuesta lenta (4ta. sem)
- Gránulos de Esticocitos
 - Superficie cuticular
 - Esófago
 - Intestino

Estos diferentes grupos de estructuras, generadores de respuesta inmune rápida o lenta, tienen que ver con el diagnóstico, ya que si el test inmunológico utiliza, por ejemplo, antígenos de los llamados "lentos" recién comenzarían a dar positivos a partir del mes de comenzada la invasión muscular de las larvas. Si por el contrario, utilizamos para la preparación de test a antígenos de respuesta rápida, éstos tampoco servirán para el diagnóstico en fase aguda ya que recién a partir de la segunda semana post invasión larvaria, recién comienzan a dar positivos. Por esta razón los tests inmunodiagnósticos son de escasa o nula utilidad para el diagnóstico rápido de Trichinellosis aguda, sirviendo solamente para la fase crónica de la enfermedad. No obstante, en caso de ser positivos, si bien tienen baja sensibilidad, son los únicos específicos.

Los resultados obtenidos con el serodiagnóstico, dependerán fundamentalmente de la calidad, tipo y especificidad de los antígenos seleccionados para confeccionar cada test, siendo los más usados los siguientes:

Intradermorreacción de Bachman: poco utilizada. Se produce una reacción precoz, cuya lectura se efectúa a los treinta minutos y una tardía que se presenta entre las 12 y 24 horas. Se positiviza entre los 10 y 30 días post-infestación. Los resultados varían en función del antígeno utilizado para su preparación.

Aglutinación: al Látex (AL), Hemoaglutinación indirecta (HAI).

Test de floculación a la bentonita: es un test de floculación bastante antiguo pero

que aún se lo utiliza en algunos lugares. Se positiviza entre la tercera y la cuarta semana post-infestación.

Test de Inmunofluorescencia Indirecta (TIFI): se positiviza a la 4ta. semana de comenzada la infestación y puede permanecer positiva por años. Utiliza como antígeno improntas confeccionadas con cortes de tejido muscular con el estadio larval del parásito enquistado.

ELISA: se positiviza a partir de la 2da. semana. Se puede amplificar la probabilidad de detección de anticuerpos utilizando tivelosa (3,6-dideoxihexosa) como antígeno, que es uno de los más dominantes epitopes de *Trichinella* sp. Se la puede utilizar en combinación con inmunoblotting (western blot). Puede presentarse reacción cruzada con TBC, con larva migrans visceral (*Toxocara* spp.) y con *Loa Loa*.

Contrainmunolectroforesis: recomendado como test rápido ya que sus resultados pueden obtenerse en menos de una hora, aunque su sensibilidad es menos que el ELISA.

Los diferentes test inmunodiagnósticos señalados no permiten determinar la especie involucrada en la infestación, ya que dan positivas para todas ellas.

DATOS DE LABORATORIO QUE ACOMPAÑAN UNA TRICHINELLOSIS:

- **Enzimas musculares elevadas:** creatin fosfoquinasa (CPK), lactato deshidrogenasa (LDH), Aldolasa y ocasionalmente la aspartato aminotransferasa. El aumento de estas enzimas, que ocurre en el 75 al 90% de los casos, se produce entre la segunda y la quinta semana de producida la infestación, cuando las larvas invaden las células musculares. Si bien no existe correlación entre los aumentos de estas enzimas y la severidad de la enfermedad, sí hay una relación directa entre estos aumentos y el dolor muscular.
- **Eosinofilia:** ha sido observada en casi todos los casos de trichinellosis, con muy pocas excepciones. Aparece generalmente precediendo a los signos y síntomas clínicos y aumenta entre la segunda y la quinta semana post-infestación. El regreso a valores basales de eosinófilos se produce luego de los dos a tres meses posteriores. El nivel de eosinófilos está correlacionado con el grado de mialgia y es significativamente alto en los pacientes con complicaciones neurológicas. Un aumento importante de los eosinófilos durante el estadio agudo de la

enfermedad, suele ser predictor de mal pronóstico. Los mecanismos efectores de estas eosinofalias no están bien aclarados, aunque se estima que pueden ser debido a modificaciones en los niveles de ciertas citoquinas y a la salida masiva de eosinófilos del sistema vascular.

- **Leucocitosis:** entre la segunda y la quinta semana se produce un incremento de los valores de leucocitos, a expensas de los polimorfonucleares, los que permanecen elevados acompañando los signos y síntomas clínicos, con valores de $12.000/\text{mm}^3$.

Período de incubación: este período depende de distintas variables y de la severidad de la infestación. Se ha observado que mientras más severa es la parasitosis más corto es el período de incubación. En general, para las formas severas se puede estimar en una semana o menos, mientras que para las moderadamente severas dos semanas y para las benignas entre tres a cuatro semanas.

Convalecencia: hasta que la última larva haya ingresado al músculo y sus progenitoras (las hembras) hayan sido eliminadas, no comienza la convalecencia, que se caracteriza por una lenta y progresiva desaparición de signos y síntomas existentes y los parámetros de laboratorio regresan a valores basales. Esto normalmente ocurre, en los casos benignos, entre la sexta y la octava semana post infestación, pero permanecen una astenia más o menos severa durante varias semanas y un dolor muscular durante aproximadamente seis meses. En algunos casos suele ser asintomática. En otros casos se pasa a la cronicidad de la enfermedad, con persistencia de algunos signos y síntomas acompañados por elevados niveles de anticuerpos tipo IgG en suero.

Trichinellosis en la embarazada: aún está siendo objeto de estudios, ya que si bien en ratones de laboratorio se ha podido estudiar, en humanos aparentemente produciría aborto o parto prematuro, sin que se hayan podido determinar los mecanismos que producen alteraciones en la producción de gonadotrofina coriónica, progesterona y citoquinas.

Trichinellosis en el paciente inmunocromprometido: solamente existen tres casos reportados. En un paciente con transplante renal, con 1400 larvas/gramo en el músculo deltoideos, la infección fue asintomática. En un HIV positivo los signos y síntomas fueron no muy severos y en un caso con leucemia mieloide crónica la trichinellosis fue clasificada como severa.

Síntomas

- Diarrea: es el más común de los síntomas intestinales, pudiendo llegar a 10 o

15 deposiciones/día, las que frecuentemente contienen mucus sin sangre. La diarrea se acompaña con dolor abdominal. Estos signos y síntomas generalmente preceden a la fiebre y a las mialgias en 3 a 4 días y desaparecen en una semana. La diarrea se observa en el 41-50% de los casos.

- Vómitos.
- Fiebre: es uno de los más tempranos signos, pudiendo llegar a 39/40°C. Dura aproximadamente 8 a 10 días, aunque en las formas más severas puede durar hasta tres semanas. Se presenta en el 81-90% de los casos.
- Mialgias: afecta a varios grupos de músculos y su intensidad depende de la severidad de la enfermedad. Se presenta en el 82-93% de los casos. Se pueden observar alteraciones electromiográficas por EMG en los músculos más afectados, lo que puede persistir en la cronicidad.
- Edema periorbitario y edema facial: son dos típicos signos de esta enfermedad, aunque su severidad dependerá de la intensidad de la infestación. En las muy severas se puede extender hasta las extremidades. El edema es simétrico y usualmente desaparece en 5 a 7 días, especialmente si se utilizan corticoides. Se observó en el 58-84% de los casos.
- Complicaciones oculares: las lesiones oculares aparecen durante la fase aguda y son la resultante de alteraciones en la microcirculación. El rasgo típico es el edema y lesiones vasculares dentro de la conjuntiva, retina, uvea y en algunos casos en el nervio óptico. Rara vez las lesiones son provocadas por migración de las larvas de *Trichinella* con daño en la visión. Sí es observable diplopia, parálisis, disturbios y/o dolor en la acomodación del ojo.
- Dificultad para respirar: la disnea es común y está causada fundamentalmente por la invasión del parásito a los músculos respiratorios y posterior inflamación, en especial diafragma e intercostales. Las complicaciones respiratorias graves son poco usuales y ceden normalmente a los pocos días con tratamiento con glucocorticoides.
- Debilidad general.
- Rash cutáneo: se presenta en el 11 al 44% de los casos.
- Fotofobia.
- Miocarditis: pueden ocurrir en trichinellosis moderada o severa, generalmente post-infestación, entre la tercera y cuarta semana de la enfermedad. Se desarrolla miocarditis en el 5 al 20% de los casos. Los síntomas incluyen dolor en la zona cardíaca, taquicardia y ECG anormal. Si la sintomatología cardíaca continúa, puede deberse a déficit del potasio, ya que al restablecerlo a valores normales se restablece la normalidad cardiológica. Otras complicaciones cardiológicas son la enfermedad tromboembólica, especialmente tromboflebitis, trombo

intraventricular, y/o tromboembolismo pulmonar, los cuales pueden desencadenar la muerte del paciente. Las complicaciones cardiovasculares pueden estar acompañadas de edemas de miembros inferiores por hipoalbuminemia.

- Encefalitis: las complicaciones neurológicas pueden llegar hasta el 46% de los casos, dependiendo esto de cada brote. Puede haber somnolencia y apatía. Algunos pueden presentar signos y síntomas de meningitis.
- Muerte por complicaciones: De más de 6500 casos de trichinellosis producidos en Europa durante los últimos 25 años, se han reportado solamente cinco muertes, las cuales se debieron a enfermedad tromboembólica y en personas mayores de 65 años de edad. De 10300 casos mundiales fueron reportadas veinte muertes. La hipertensión, un compromiso cardíaco y la obesidad, sin tratamiento, pueden ser agravantes y favorecer un desenlace fatal.

SOBRE LA FUENTE DE INFESTACIÓN

EXAMEN MICROSCOPICO: Triquinoscopia directa. Sensibilidad: más de tres larvas por gramo de músculo estudiado. Es decir que solamente arroja resultados positivos cuando la muestra tiene más de tres larvas/gr. Se debe utilizar el deltoides o el diafragma, aunque en general cualquier músculo es bueno, especialmente aquellos que mencionáramos precedentemente como los más frecuentemente infestados, debiéndose prestar atención de desgrasar bien el músculo. Si el músculo está deshidratado, hay que hidratarlo antes de su observación. La técnica es como sigue: se colocan los cortes finos del músculo a analizar entre dos placas de vidrio (o dos portaobjetos), los que se aprisionan bien con un tornillo en cada extremo (o cinta adhesiva en el caso de los portaobjetos). A continuación se procede a la búsqueda de las larvas de *Trichinella* en el músculo, en lupa o con el menor aumento del microscopio. Permite diferenciar las especies encapsuladas de las que no poseen cápsula. La probabilidad de hallar larvas dependerá de la cantidad de músculo estudiado.

DIGESTION PEPTICA: Utiliza un líquido de digestión preparado con pepsina 1% y ácido clorhídrico al 1% en agua. Sensibilidad: Una o más larvas por gramo de músculo digerido. Tiene la ventaja, además de su mejor sensibilidad diagnóstica, que permite el estudio de suficiente cantidad de muestra (5, 10, 20, 100, g) en un solo proceso, lo que se traduce en un aumento de la sensibilidad, por encima de la basal. Además tiene la ventaja de que permite la cuantificación de las larvas de *Trichinella* sp obtenidas. Esto es importante para evaluar la severidad del brote, no solo en cantidad sino en el tipo de signos y síntomas que se esperan encontrar en

los pacientes. Con referencia al tipo de músculo utilizado para el estudio, es válido todo lo señalado para la triquinoscopia directa.

XENODIAGNOSTICO: aislamiento de cepa en ratón. Tiene buena sensibilidad y permite obtener los aislados de cada brote para estudios posteriores.

DOSIS INFESTANTES

- Dosis infestante para producir enfermedad: 70 larvas en aptitud evolutiva.
- 1-10 larvas/g: infestación leve a moderada
- 10-100 l/g: infestación moderada a severa
- más de 100 l/g: infestación severa a mortal.
- Otros autores: 5 l/g: muerte.

Situación en Bahía Blanca. CASOS HUMANOS:

1994: 37

1995: 102

1996: 106 (DI: 1-3 l/g)

1997: 440 (Notificados: 279) (con rótulos)

2002: 100 (con rótulos)

CASOS HUMANOS DE TRICHINELLOSIS REGISTRADOS EN ARGENTINA, 1990-1999 (Bolpe and Boffi, 2000).

PROVINCIA	AÑOS										Total	%
	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999		
BUENOS AIRES	111	44	153	178	383	477	543	707	135	341	3072	58,8
CORDOBA		4	46	237	227	180	79	65	37	4	879	16,8
SANTA FE				3	387	60	124	157	68	20	819	15,8
CHUBUT				14	1					89	104	2,0
RÍO NEGRO					7		80	3		4	94	1,8
SAN LUIS					1	1	10		7	63	82	1,6
NEUQUEN				17	6	1		8	3	24	59	1,1
OTRAS *				10	14	7	24	5	19	29	108	2,1
TOTAL	111	48	199	459	1026	726	860	945	269	574	5217	100

* Capital Federal, Catamarca, Corrientes, Jujuy, La Pampa, La Rioja, San Juan, Tucumán, Santa Cruz, Santiago del Estero, Tierra del Fuego.

PROFILAXIS

- Control veterinario de la faena, evitando el faenamiento clandestino. Consumir derivados de cerdo con rótulos, es decir, provenientes de frigoríficos confiables e identificados.
- Control municipal en bocas de expendio (Por digestión artificial).
- Educación sanitaria de la población, especialmente en áreas endémicas.
- Manejo y cría correcta de cerdos: alimentación con alimentos balanceados, evitar arrojar basuras a los cerdos, evitar la proliferación de ratas en los chiqueros y mantener la higiene del sector.
- Individualmente: no consumir carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida.

VIABILIDAD DE LA LARVA ENQUISTADA

- El 15% de las larvas no muere en el microondas.
 - A 63 °C muere *T. spiralis*.
 - A -19 °C se necesitan más de 5 días para destruirla.
 - La salazón o ahumado, no le afectan.
 - A -15 °C se necesitan más de 21 días para destruirla.
 - A -30 °C se requieren más de 24 horas para destruirla.
- En cadáver de rata las larvas permanecen viables hasta 4 meses.

VIABILIDAD DE LARVAS LIBRES (* Randazzo y Costamagna, 2007)

- A -30 °C la viabilidad fue de 62 días.
- A -20 °C la viabilidad fue de 150 días, observándose que en los primeros 20 días, el 50% de las larvas estaban muertas.
- A 4 °C la viabilidad fue de 270 días.
- A temperatura ambiente se mantuvieron viables 456 días.
- La destrucción del 100% de las larvas, se logró por calor a 80 °C.

* Randazzo y Costamagna. Rev Arg Microbiol. Vol 39. (Supl 4): 97-98. 2007

ASCARIOSIS

Sixto Raul Costamagna

La Ascariosis es la enfermedad parasitaria producida por el *Ascaris lumbricoides* en el hospedador humano. Este gusano es uno de los Nematodos de mayor tamaño capaces de parasitar al hombre.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA:

Phylum: Nematoda

Orden: Ascaridida

Familia: Ascarididae

Género: *Ascaris*

Especie: *A. lumbricoides* (Linnaeus, 1758)

MORFOLOGÍA

ADULTOS

Son de color blanco marfil o ligeramente rosados. No poseen aletas cefálicas y tienen tres prominentes labios, bien visibles a ojo desnudo, que conforman la boca. Se los distingue fácilmente por su gran tamaño. Tienen forma alargada, como la lombriz de tierra (de allí su nombre de *lumbricoides*). Las hembras miden entre 20 y 35 cm de largo por 0,4 a 0,5 cm de diámetro.

Los machos son de menor tamaño: 15 a 20 cm de largo con un diámetro de 0,2 a 0,4 cm. Se distinguen fácilmente por tener su extremo posterior incurvado ventralmente donde se encuentran dos espículas quitinosas y retráctiles útiles para la cópula, mientras que las hembras lo tienen ligeramente atenuado y de ápice romo.

Las formas adultas, machos y hembras, ocupan la luz de la porción anterior del intestino delgado, donde se mantienen libremente mediante movimientos antiperistálticos y liberación permanente al medio de anti-enzimas, lo que les permite subsistir sin ser digeridos ni eliminados. Las hembras son muy prolíferas, pudiendo expulsar 200.000

huevos por día, albergando en cada útero hasta 27 millones de huevos en un mismo momento.

Los huevos provenientes de hembras fecundadas, al momento de la postura no están larvados, de modo que al ser eliminados con las heces no son infestantes. Requieren de un medio exterior adecuado con temperatura y humedad no demasiado extremas, para que en un período de 15 a 20 días resulten larvados e infestantes. Estos huevos, una vez en el exterior son muy resistentes, gracias a su gruesa membrana mamelonada. En el medio exterior contaminan agua, verduras, alimentos, los que luego, al ser ingeridos sin la debida higiene, continúan el ciclo al ingresar el elemento infestante al aparato digestivo del hombre.

HUEVOS

Huevos mamelonados: huevos fértiles, de forma ovoide. Están formados por tres capas:

- **Interna**: membrana vitelina, delgada e impermeable al agua. Está constituida por glicósidos esterificados.
- **Media**: gruesa, hialina y lisa, de quitina-proteína.
- **Externa**: albuminosa, gruesa, irregular, de superficie mamelonada y de color café. Esta última capa no es elaborada por el propio huevo sino que es segregada por la pared uterina (por lo tanto a veces es delgada o falta completamente).

Pueden estar larvados si la materia fecal permaneció a temperatura ambiente por más de 7 días. Presentan un tamaño de 65 x 45 μm .

Huevos decorticados: son esféricos u ovoides, carecen de capa mamelonada y presentan externamente la membrana transparente gruesa (membrana media de los huevos mamelonados). Son fértiles. Con un tamaño de 60 x 40 μm .

Huevos infértiles: son más largos y más estrechos que los huevos fértiles y los polos suelen tener aspecto truncado. La membrana externa es fina con mamelones escasos o ausentes. No poseen membrana vitelina interna (no observable por microscopía óptica). El citoplasma está lleno de gránulos refringentes de aspecto grosero. Tamaño, 80 a 90 μm de diámetro mayor. Si bien son estériles, tienen valor diagnóstico, ya que indican la presencia de hembras de *A. Lumbricoides* en el intestino.

CICLO BIOLÓGICO

Se trata de un ciclo monoxeno o directo.

La infestación comienza cuando ingerimos, a través del agua, los alimentos o manos contaminadas, huevos larvados de *A. lumbricoides*. Una vez que el jugo gástrico destruye la membrana, queda en libertad la larva que mide unos 300 µm de largo, la que resistirá la acción de estos jugos digestivos y pasará al intestino delgado. Una vez en la luz del intestino delgado penetran la pared intestinal y llegan a los capilares sanguíneos y linfáticos. A través de la circulación mesentérico-portal llegan al hígado y luego al corazón y posteriormente a los pulmones. Este trayecto les demanda entre 2 y 6 días y en ese período la larva muda a un tercer estadio (L3). Ya en el pulmón abandonan los capilares para pasar a los alvéolos pulmonares. Desde allí suben por los bronquios para finalmente llegar a la epiglotis como L4. Allí son deglutidos llegando al esófago a través del cual ingresan al estómago para llegar rápidamente, ahora con una longitud de 1,5 mm aproximadamente, al intestino delgado, donde luego de una última muda se convierten en ejemplares adultos jóvenes, los que en aproximadamente un mes y medio a dos estarán en condiciones de copular y las hembras de oviponer huevos fértiles. El período prepatente oscila entre 2 y 2 meses y medio.

Los ejemplares adultos viven a lo largo del intestino delgado, en cuyo interior se desplazan en forma activa, donde con frecuencia forman ovillos. En promedio viven en el intestino durante un año, para luego morir y ser eliminados con las heces, razón por la cual, muchas veces el parásito es encontrado en las heces en forma solitaria y aislada, sin medicación previa, y como único ejemplar que albergaba el paciente, dándose por finalizada o "auto-curada" esta infestación que cursó como asintomática (curación espontánea). Si se trataba de un único ejemplar presente, sea éste macho o hembra, los exámenes coprológicos directos efectuados con posterioridad a la eliminación del gusano, obviamente arrojarán resultados negativos.

Para lograr la copulación, las hembras buscan el extremo posterior, incurvado, de los machos y éstos las abrazan al nivel de la zona genital de las hembras para que se produzca la copulación, ya que con sus espículas abren la vulva y de esta manera introducen el esperma en ella.

Así fertilizada, la hembra ovipondrá huevos fértiles, en la luz del intestino delgado, donde los huevos adquieren coloración parduzca en su membrana exterior debido a los pigmentos biliares allí presentes.

Una vez en la luz intestinal los huevos son eliminados al exterior, fértiles pero no larvados, donde continúan su desarrollo embrionario, para lo cual requieren de temperaturas de aproximadamente 15 a 30°C, con una óptima de 25°C (temperaturas superiores a los 40°C e inferiores a los 0°C suelen ser letales. Cuando se dan estas condiciones de temperatura y existe suficiente humedad en la tierra y la vegetación circundante impide la acción directa de los rayos solares, los huevos completarán su desarrollo en 12 a 30 días, los que contendrán una larva L2, lo que lo convierte en un huevo infestante. Estos huevos pueden permanecer viables durante mucho tiempo (hasta 8 años en condiciones experimentales), siempre que las condiciones del medio ambiente no sean extremas y no haya demasiada luz solar directa. Por estas razones en esta parasitosis no existe la posibilidad de reproducción dentro del intestino, ni retroinfestación ni autoinfestación.

CLINICA Y PATOLOGIA

Muchos casos de ascariosis pueden ser asintomáticos, pero, aún en infestaciones leves puede aparecer sintomatología.

La clínica y la patología producidas por la ascariosis dependen de la localización de los diferentes estadios evolutivos, así a los fines didácticos podremos dividirlos en:

1. Pulmonares/Alérgicos
 2. Intestinales
 3. Migraciones
 4. Nutricionales
 5. Otros
-
1. Pulmonares / Alérgicos: las larvas, en su pasaje por el pulmón, rompen alvéolos y capilares, provocando inflamación y pequeñas hemorragias. Cuando esto ocurre masivamente, se produce el llamado síndrome de Löeffler, que se caracteriza por múltiples lesiones en los alvéolos con exudado inflamatorio y hemorrágico, lo que con Rx se observa como opacidades dispersas. Ocasionalmente algunas larvas, en lugar de continuar por el pulmón, pueden seguir por la circulación general hasta llegar a cualquier órgano o tejido, donde originarán granulomas de cuerpo extraño. Las manifestaciones pulmonares son las primeras en aparecer. Pueden ser leves y muchas veces pasar inadvertidas o confundirse con un simple catarro. En otros casos puede haber tos, expectoración y fiebre, lo que está acompañado por eosinofilia y probablemente manifestaciones alérgicas de tipo asmático. En

casos de hipersensibilidad se presenta la clínica del síndrome de Löeffler caracterizado por un cuadro respiratorio agudo, fiebre, tos espasmódica y espectoración abundante que pueden simular una neumonía atípica. Esto es más frecuente en la primoinfestación o en personas que no viven en área endémica. Conjuntamente con la sintomatología pulmonar se observa un aumento de IgM e IgE, coincidiendo los mayores aumentos con elevación de eosinófilos en sangre periférica.

2. Intestinales: en el intestino los adultos irritan la mucosa debido a sus permanentes movimientos y a la presión y roces que pueden ejercer por su gran tamaño, provocando, en ocasiones, dolor abdominal difuso, diarrea, meteorismo, náuseas y vómitos.

Cuando la carga parasitaria es grande, especialmente en áreas de alta endemicidad, se pueden producir obstrucciones intestinales por la formación de ovillos o paquetes de adultos, lo que puede llegar a tener un desenlace fatal o ser necesaria cirugía para resolver la obstrucción producida, presentándose en casi todos los casos como un cuadro de abdomen agudo obstructivo. Esta es una de las razones por las cuales la terapia antiparasitaria deberá estar manejada por un experto especialista y siempre evaluando la carga parasitaria mediante exámenes parasitológicos.

3. Migraciones: los adultos de *A. lumbricoides* son inquietos y muchas veces migran, produciendo una de las más graves patologías (la otra es la obstructiva). Esta tendencia a migrar y penetrar en los conductos se llama tigmotactismo. Lo más frecuente es que los adultos asciendan por el intestino delgado y lleguen al colédoco produciendo obstrucción biliar, similar a la producida por cálculos biliares o colecistitis. Si el parásito se retira espontáneamente la situación no es grave, pero si eventualmente no lo hace, puede provocar una infección secundaria, irritación y obstrucción importante que provocará la formación de abscesos tipo piógenos. Si las hembras penetran aún más las vías biliares, ovipondrán y los huevos (recordemos que por día depositan 200.000 huevos) alcanzarán al parénquima hepático donde se producirán granulomas de cuerpo extraño, los que tendrán un tamaño de aproximadamente 1 a 3 mm. Cuando se efectúan cortes histológicos de estos huevos, se los encuentra larvados, ya que pese a encontrarse secuestrados en pleno parénquima hepático, el proceso de embriogénesis continúa. Esta patología es una hepatitis granulomatosa. Si el gusano adulto muere dentro del hígado, se produce un foco necrótico que puede infectarse, originándose abscesos macroscópicos. Los huevos o algún fragmento de un adulto pueden constituirse en núcleos de cálculos coledocianos o intrahepáticos.

Otra migración frecuente es la peritoneal, al pasar el parásito a través de perforaciones intestinales o por ruptura apendicular, produciendo peritonitis. También

puede migrar hasta las trompas de Fallopio. Los huevos colocados en la cavidad peritoneal originan granulomas de cuerpo extraño, igual que en el hígado.

Otras migraciones pueden ser: canal de Wirsung, vías respiratorias, boca, fosas nasales, etc.

Ocasionalmente y como algo excepcional, las larvas podrán pasar a la circulación, a través de la cual serán llevadas a cualquier órgano donde inducirán la formación de granulomas, habiéndose descrito en el ojo, SNC y algunas vísceras; en caso de localización cerebral aparecerán síntomas neurológicos variados y convulsiones.

Cambios importantes en la temperatura corporal (fiebre o muerte) hacen que los parásitos sean expulsados por cualquier vía, especialmente oral.

4. Esta parasitosis provoca desequilibrios nutricionales en niños por:
 - a. Disminución de ingesta alimentaria por anorexia.
 - b. Consumo, por parte del parásito, de carbohidratos, proteínas y grasas.
5. Otros signos y síntomas suelen ser: baja de peso, anorexia, irritabilidad, insomnio, convulsiones, nerviosismo, prurito nasal y/o anal, bronquitis asmátiforme, alergia por contacto con el parásito, eczema, urticarias.

DIAGNOSTICO

Debido a la falta de signos y síntomas patognomónicos de ascaridiosis, el diagnóstico se basa fundamentalmente en la observación de huevos o adultos en materia fecal. El hallazgo de huevos en heces es relativamente sencillo y sensible, debido a su característica morfología y al elevado potencial biótico de las hembras (recordemos que cada una elimina hasta 200.000 huevos/día), por lo que excepcionalmente habrá que recurrir a métodos de concentración.

En general se estima que si la carga parasitaria es menor a 10.000 huevos por gramo de heces la infestación es leve, si hay entre 10.000 y 20.000, moderada y con más de 20.000 es intensa, lo que equivale a tener 5, 10 y más de 10 gusanos en el intestino en cada caso (Botero, 1998). El número de nematodos presentes se estima dividiendo por 2.000 el número de huevos contados por gramo de heces.

Cuando existen solamente machos en el intestino, el estudio coproparasitológico que investiga la presencia de huevos en heces, será negativo.

Si por algún motivo se solicitó radiografía intestinal, simple o con contraste, se podrán visualizar, como un hallazgo radiológico, los vermes en la luz intestinal. Una colangiografía también puede revelar la presencia de *Ascaris*.

EPIDEMIOLOGIA

Se estima que en el mundo afecta a 1300 millones de personas; en China se estimó que la población infestada era, en el año 1990, de 530 millones. La prevalencia es muy diferente en función de los diferentes grupos poblacionales y los climas, siendo particularmente elevada en países tropicales, especialmente pobres o del llamado tercer mundo, mientras que en países desarrollados alcanza a prevalencias de 0,5% al 1%, en contraposición a las otras zonas donde se alcanzan valores de 80-90% de prevalencia.

Los niños son los más frecuentemente parasitados, ya que el contacto con las manos sucias con tierra contaminada con huevos larvados del parásito es la vía más fácil de contagio, aunque no sea la más importante. La utilización de agua para riego contaminadas es la mejor forma de diseminar el parásito, ya que contaminando frutos y verduras se asegura la rápida llegada del elemento infestante a un número importante de población, inclusive alejada de estos centros contaminados, de allí que la higiene de los alimentos sea una importante acción a tener en cuenta para luchar contra estos parásitos.

Los cerdos también albergan ascarídeos: *Ascaris suum*, con morfología idéntica al humano y existe aún controversia, actualmente, respecto de si se trata de una zoonosis o no. Otros ascarídeos del perro y del gato (*Toxocara* sp) pueden infestar al hombre, pero en éste no pueden completar su ciclo y originan una patología conocida como Toxocariosis o Larva Migrans Visceral.

En muchos casos la ascariosis suele ser asintomática, especialmente cuando la carga parasitaria es baja, aunque muchas veces, por su curioso deambulismo por el interior del cuerpo humano, llevan a que encontremos adultos en regiones muy alejadas de su hábitat habitual, o bien que sean eliminados por vía bucal o nasal. Se trata de un parásito muchas veces errático y curioso.

Ya se expresó precedentemente que existe una elevada prevalencia mundial de ascariosis. Esta geohelminthosis, asociada a los malos hábitos higiénicos, a la pobreza y la marginación, está también asociada con la mala eliminación de las excretas y agravadas por el riego de huertas con aguas contaminadas, hechos frecuentes en áreas tropicales y subtropicales y en el subdesarrollo.

Por ello, las medidas higiénico sanitarias fundamentales para evitar el contagio son: adecuada eliminación de excretas, agua potable para todos o hervir bien el

agua antes de beberla, lavado de verduras, alimentos y manos, control de vectores mecánicos (artrópodos) y buena higiene personal. Estas medidas no solamente erradicarían la ascariosis, sino otras parasitosis y enfermedades asociadas. Al ser esta una geohelmintiasis con huevos muy resistentes en la tierra, es importante inculcar, en los niños que habitualmente juegan con tierra, el hábito de lavarse las manos antes de tocar e ingerir cualquier alimento. Esto es muy importante, especialmente en comunidades cerradas.

Los huevos de *A. lumbricoides* son muy resistentes a la mayoría de los desinfectantes químicos y permanece viable en el agua durante meses o años. Son destruidos por exposición a la luz solar directa durante 12 horas o bien con temperaturas superiores a los 40°C. Sobrevive bien a las bajas temperaturas, bajo cero, durante el invierno.

LARVA MIGRANS VISCERAL

Sixto Raul Costamagna

Si bien ascarídeos del perro y del gato como *Toxocara canis* (Johnston, 1916) y *Toxocara cati* (Brumpt, 1927) no logran continuar o cerrar su ciclo en el hombre, adquiere importancia su estudio ya que como parásitos extraviados sí logran infestar al humano y producir una patología, por los estadíos larvarios erráticos, conocidas como **LARVA MIGRANS VISCERAL** (LMV) y **LARVA MIGRANS OCULAR** (LMO) ambas frecuentes en todo el mundo, inclusive nuestra zona. La primera infestación humana con *Toxocara* sp fue descrita en 1950 por Eilder, quien descubre una larva del parásito dentro de un granuloma en la retina de un niño, siendo más tarde asociada con eosinofilia.

Toxocara sp. es más pequeño y fino que *Ascaris*, pero con similares requerimientos nutricionales y fisiología, siendo su ciclo biológico bastante similar. En el perro sigue diferentes caminos, según se trate de cachorros de menos de un mes, perros jóvenes o perras preñadas.

Casi el 100% de los cachorros nacen infestados, por adquirir la parasitosis por la vía transplacentaria, de la madre infestada. Esta elevada prevalencia en caninos y la siembra indiscriminada de deposiciones caninas en la vía pública y áreas de recreación, donde los niños juegan con tierra contaminada y los frecuentes hábitos de geofagia en los niños de muy corta edad, hacen que esta patología adquiera relevancia. Los huevos de *Toxocara* sp, al momento de la eliminación no son infestantes, necesitando entre 20 y 30 días para que se forme la L2 infestante. Estos huevos son infestantes para el perro, o el gato (según la especie) y también, ambos, para el hombre.

La infestación en humanos, generalmente niños, ocurre cuando se ingieren huevos larvados de *Toxocara*. Una vez en el tubo digestivo las larvas liberadas toman la circulación para continuar el ciclo, que si se tratara del hospedador normal (perro o gato) sería hacia los pulmones, pero como el hombre se comporta como un hospedador anómalo, esta larva, muy activa, se "extravía" y como no puede continuar su ciclo de manera normal se dirige erráticamente y sin un rumbo predecible hacia diferentes

órganos, fundamentalmente hígado, cerebro y ojo, donde se ubica, extracelularmente, formándose, en algunos casos, granulomas eosinofílicos como respuesta inflamatoria al parásito, lo que provocaría la muerte del nematode, pero habitualmente permanece viable y activa por un año o más.

El daño causado por esta larva es fundamentalmente mecánico, por su tamaño de 0,4 mm de largo y por la reacción inflamatoria e inmunológica, muchas veces agravada por sensibilizaciones previas asintomáticas.

La sintomatología dependerá del número de larvas presentes y del órgano elegido. Si la larva se dirigió al ojo se formará la llamada LMO, con afectación de la retina, siendo posible que sea confundido con un retinoblastoma. La lesión habitualmente es unilateral y puede estar acompañada por estrabismo.

La LMV, más frecuente en niños de menos de 5 años de edad, se presenta con fiebre, hepato y esplenomegalia, signos y síntomas respiratorios como broncoespasmos, eosinofilia de hasta un 70%, hipergamaglobulinemia tipo IgM e IgG. Nefritis y miocarditis y compromisos del SNC también están descriptos. Muchas veces es asintomática, detectándose simplemente la eosinofilia que orienta hacia el diagnóstico inmunológico.

El **diagnóstico** es habitualmente inmunoserológico, mediante test de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) con una sensibilidad del 78% y especificidad del 92%. También se utilizan una intradermorreacción con antígeno del parásito e inmunofluorescencia indirecta.

La LMO suele diagnosticarse clínicamente durante el examen oftalmológico, ya que las reacciones inmunológicas tienen una sensibilidad menor al 43% en esta localización. El diagnóstico de certeza está dado por el hallazgo de la o las larvas por biopsia.

ENTEROBIOSIS U OXYURIOSIS

Elena C. Visciarelli

Es la parasitosis producida por *Enterobius vermicularis* (Linnaeus, 1758). Este parásito ha recibido otros nombres como *Ascaris vermicularis* y *Oxyurus vermicularis*. El nombre *Oxyurus* hace referencia a la forma de la hembra cuya terminación es larga y fina como una aguja (Oxy: puntiagudo; Uros: cola). En inglés se los conoce como "pinworms".

La infestación por *Enterobius* es de muy frecuente presentación en niños y muy transmisible entre personas que viven juntas, presentándose como una parasitosis de tipo familiar. Produce distintas molestias, destacándose el prurito anal y los trastornos nerviosos.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA:

Reino: Animalia
Subreino: Metazoa
Phylum: Nematoda
Clase: Phasmidia
Orden: Oxyurida
Familia: Oxyuridae
Genero: *Enterobius*
Especie: *E. vermicularis*

J.P. Hugot en 1983 describió otra especie de *Enterobius* que llamó *E. gregorii*. Estudios realizados en distintas partes del mundo indican que los pacientes presentan infestaciones mixtas por *E. vermicularis* y *E. gregorii* lo que ha conducido a especular que las diferencias morfológicas que se presentan entre los machos de estas dos especies se deberían a que una forma sería más juvenil que la otra pero la misma especie. La diferenciación se realiza por la morfología y longitud de la espícula y por la morfología de las excrecencias anteriores de la placa quitinosa subcloacal. Serán necesarios más estudios para determinar si son o no especies diferentes.

MORFOLOGÍA

Son nematodes pequeños, fusiformes, con cutícula estriada y de color blanquecino. El extremo oral no posee cápsula bucal verdadera pero presenta tres labios y un par de "aletas cefálicas" formadas por una expansión cuticular anterior. La boca se continúa con un esófago con bulbo esofágico prominente y fácilmente visible al microscopio óptico gracias a la transparencia de la cutícula.

Las **hembras** miden de 8 a 13 mm de largo. El extremo posterior es muy afilado con el aspecto de una cola cónica transparente que representa la tercera parte de la longitud total del cuerpo. La vulva se abre en el tercio medio y se continúa con una vagina larga que se une a dos úteros. En las hembras grávidas los úteros llenos de huevos se distienden tanto, que ocupan los dos tercios posteriores del cuerpo del nematode.

Los **machos** miden de 2 a 5 mm. Presentan el extremo posterior truncado y muy curvado ventralmente. Tienen una espícula copuladora muy visible (70 μm de largo) pero carecen de gobernáculo.

Los **huevos** miden 50-60 μm de largo por 20-30 μm de ancho. Son ovoides y marcadamente asimétricos, con una cara convexa y la otra plana. Presentan tres capas, una externa albuminosa que facilita la aglomeración de los huevos y la adherencia a cualquier superficie, una segunda quitinosa y una embrionaria interna de tipo lipóide. Son transparentes e incoloros y al momento de la postura encierran una larva no infestante denominada girinífome por su aspecto de renacuajo. En aproximadamente 6 horas a la temperatura corporal el huevo contiene una larva vermiforme infestante de primer estadio y está listo para iniciar el ciclo biológico.

CICLO BIOLÓGICO

Enterobius vermicularis presenta un ciclo biológico directo, por lo tanto sin hospedadores intermediarios, donde el hombre es el único hospedador natural.

Los *Enterobius* son parásitos del intestino grueso, principalmente del ciego, pero se hallan también en las porciones del intestino delgado y grueso próximas a la región ileocecal. Pueden desplazarse por todo el tracto digestivo incluyendo estómago, esófago y nariz.

Los huevos una vez ingeridos eclosionan en el duodeno y se liberan las larvas rabaditoides. En el intestino delgado mudan 2 veces y alcanzan el estadio adulto. Machos y hembras copulan, los machos mueren y son eliminados con las heces. Esto hace que los machos sean de muy difícil hallazgo en materia fecal.

Las hembras grávidas se fijan a la mucosa principalmente en la región cecal, donde se alimentan de *Escherichia coli* y otras bacterias fecales. Presentan los úteros repletos de huevos (11.000 a 15.000 huevos/hembra) y cuando están listas para la oviposición se desprenden de la mucosa y migran por el intestino hacia el recto, atraviesan el esfínter anal y depositan los huevos en la zona perianal donde quedan adheridos gracias a su cubierta viscosa. La descarga de los huevos ocurre por contracciones uterinas y vaginales estimuladas por el descenso de temperatura respecto del tracto digestivo y el ambiente externo aeróbico. Después de la oviposición la hembra muere. La duración del ciclo biológico desde la ingestión de huevos hasta la postura en la zona perianal es de 4 a 6 semanas. El desplazamiento de las hembras grávidas por el intestino ocurre principalmente de noche durante las primeras horas del sueño provocando intenso prurito que induce el rascado inconsciente de la zona perianal. Los huevos quedan debajo de las uñas y caen a la ropa interior y a la cama. Como ya mencionamos estos huevos si bien no son infestantes al momento de la postura lo serán en unas 6 horas de incubación a la temperatura corporal. La infestación de las personas sanas se da por la ingestión o inhalación de estos huevos y la continuación de la parasitosis en los ya infestados es posible gracias a dos formas de **autoinfestación**:

Autoinfestación exógena por vía bucal: se presenta cuando la persona parasitada lleva en sus manos los huevos desde la zona perianal a su boca. Este circuito ano-boca es más común en los niños.

Autoinfestación exógena por vía anal: también denominada **retroinfestación** se presenta cuando un huevo eclosiona en la zona perianal y la larva emergente asciende por el intestino grueso hasta la zona ileocecal donde completa su maduración y continúa el ciclo biológico. Si bien esta vía no parece ser muy importante es un factor más en la persistencia de la parasitosis.

EPIDEMIOLOGÍA

La enterobiosis u oxyuriasis es una parasitosis cosmopolita ya que se transmite de persona a persona sin intervención del suelo y por lo tanto no requiere de condiciones ambientales determinadas. Se presenta en todos los climas y en cualquier nivel social, estimándose que hay entre 400 a 600 millones de infestados en todo el mundo. La prevalencia es mayor en los climas fríos y templados que en los cálidos, probablemente porque en estos últimos las personas están más en contacto con el agua (mar, ríos, lagunas, etc.) y usan menos ropa. En las zonas frías el uso de más vestimenta, los ambientes cerrados y el baño poco frecuente favorecen la dispersión de los *Oxyurus*. El grupo etario más afectado es entre 2 y 15 años ya que los niños se rascan la cola

sin reparos, andan por el suelo y frecuentemente se llevan las manos a la boca. Los niños que practican la onicofagia son más susceptibles a adquirir la parasitosis o reinfestarse, siendo muy común esta práctica entre los infestados por *Enterobius vermicularis*. Entre los adultos no hay diferencias de sexo y muchos parecen no infestarse a pesar de vivir en un ambiente contaminado lo que hablaría de cierta inmunidad, aún no comprobada, hacia estos parásitos. La prevalencia es mayor en los blancos que en los negros. El grado de infestación varía considerablemente. Se han obtenido de un solo paciente hasta 5.000 ejemplares, pero en la mayoría de los casos sólo una hembra migra cada noche y pone aproximadamente 11.000 huevos en la zona perianal.

La biología de *Enterobius vermicularis* hace que se cree un ambiente contaminado alrededor de la persona parasitada presentándose entonces como una infestación colectiva, ya sea familiar, de asilos, guarderías, patronatos, etc. Los huevos son muy livianos y flotan más de dos minutos antes de depositarse sobre alguna superficie, dispersándose por todos los ambientes de la casa, principalmente en dormitorios y baños.

Se levantan con las corrientes de aire, al sacudir las sábanas y barrer el suelo; además el sueño intranquilo por las molestias que producen los parásitos, colabora con su diseminación. Pueden hallarse huevos de *E. vermicularis* sobre los muebles, dinteles de puertas y ventanas, juguetes, enseres, etc. La ropa de cama, ropa interior, toallas y jabones son fuente importante de infestación. Si la temperatura de las habitaciones es inferior a los 20-25°C y la humedad es alta, los huevos pueden permanecer infestantes durante una semana, tiempo que se reduce a más o menos un día en ambientes cálidos y secos. Otra fuente de infestación importante a tener en cuenta es la ingestión de frutas y verduras crudas contaminadas con huevos.

Los **mecanismos de transmisión** de la parasitosis son:

- **Transmisión Directa:** es la ingestión de huevos por la vía ano-boca, más común en los niños. Es sinónimo de autoinfestación exógena por vía bucal.
- **Transmisión Indirecta o secundaria:** por contaminación de alimentos, utensilios, inodoros y cualquier objeto que esté "sucio" con huevos.
- **Transmisión por el aire o el polvo en suspensión:** se da por la ingestión o inhalación de los huevos suspendidos en el aire. Es la vía epidemiológicamente más importante en la transmisión y persistencia de la parasitosis en ambientes cerrados ya sea en el hogar o en escuelas, guarderías, asilos, patronatos, etc.
- **Retroinfestación:** es muy poco frecuente y se produce cuando los huevos eclosionan en la zona perianal y las larvas ascienden por el intestino para alcanzar

la zona ileocecal donde maduran y continúan el ciclo biológico. Es sinónimo de autoinfestación exógena por vía anal.

- **Autoinfestación Interna o endógena:** si bien es excepcional, se ha demostrado la presencia de larvas de *Enterobius* en material de biopsia de pared intestinal de recto, colon e íleon. Se produciría la eclosión de los huevos y la maduración de las larvas hasta llegar a adultos con capacidad reproductiva dentro del intestino del hospedador. Para algunos autores no hay pruebas concluyentes de la existencia de autoinfestación endógena.

CLÍNICA Y PATOLOGÍA

Enterobius vermicularis raramente produce una patología grave, en la mayoría de los casos resulta prácticamente inocuo y en las infestaciones bajas puede resultar asintomático. Las manifestaciones clínicas varían en forma individual y con la carga parasitaria, pero suele presentarse prurito anal y dermatitis perianal y perineal causada por la migración de las hembras y el rascado. Como la oviposición ocurre de noche provoca molestias que se traducen en un descanso inadecuado y las personas parasitadas se sienten cansadas durante el día. Es típico que los niños con *Oxyurus* se muestren con sueño en la escuela y con síndrome desatencional. Algunos pacientes manifiestan pérdida del apetito, cólicos rectales, enuresis, reacciones alérgicas, irritabilidad, inestabilidad emocional, hiperactividad, rechinar de dientes mientras duermen, prurito nasal, dolor abdominal, náuseas y vómitos; pero es difícil probar la relación causal con la enterobiosis.

En su localización intestinal los vermes producen pequeñas úlceras e inflamación catarral de la mucosa que no se traduce en síntomas. La presencia de parásitos adultos y sus huevos en el apéndice puede conducir a la formación de granulomas y apendicitis. Sin embargo, la asociación con cuadros de apendicitis aguda es discutida ya que los parásitos se hallan más frecuentemente en apéndices no inflamados que en los inflamados.

Las hembras grávidas pueden migrar y tener otras localizaciones distintas del lumen intestinal produciendo enterobiosis ectópicas, que pueden ser sintomáticas o asintomáticas dependiendo del órgano afectado.

Hay algunos casos en la literatura que describen la invasión por *Enterobius* de la mucosa intestinal: esófago, estómago y/o intestino. Cuando esto ocurre se produce perforación de la pared, inflamaciones supurativas y abscesos por contaminación con bacterias intestinales. En estos pacientes suele haber síntomas digestivos y eosinofilia.

La migración de las hembras grávidas al tracto genital femenino puede causar vulvitis, vaginitis, flujo vaginal, cervicitis, endometritis, salpingitis y peritonitis. La invasión del peritoneo produce elevada eosinofilia. Siempre que haya un cuadro de vulvovaginitis en una niña debe investigarse esta parasitosis. Se pueden producir patologías serias cuando se forman granulomas que como consecuencia más temida conducen a infertilidad. En las embarazadas puede ocurrir invasión de los tejidos embrionarios.

Las localizaciones ectópicas son más raras en los hombres que en las mujeres, pero pueden producirse en el sistema urinario y en la próstata con consecuente prostatitis. En estas ubicaciones pueden provocar uretritis, disuria, e infecciones bacterianas.

Las hembras grávidas y sus huevos pueden encontrarse en peritoneo, vejiga, ganglios linfáticos, bazo, hígado, y riñón. Las hembras grávidas raramente provocan lesiones pulmonares.

Histológicamente en la mayoría de las localizaciones ectópicas solo se observan huevos porque son más resistentes a la degeneración; pero su hallazgo indica que hay una hembra cerca o recientemente destruida por la reacción inflamatoria y por lo tanto no distinguible.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de certeza se realiza por el hallazgo de huevos, adultos o fragmentos de parásitos adultos preferentemente en mucus anal. Se encuentran ejemplares adultos o huevos en heces solamente en el 5% de los casos, razón por la cual la materia fecal no es la muestra más adecuada para investigar *Enterobius*.

Teniendo en cuenta donde oviponen las hembras la toma de muestra se realiza en la zona perianal por la técnica de la cinta adhesiva de papel transparente o método de Graham. Existe una modificación a esta técnica que es el "test de las gasitas", más adecuado para los pacientes adultos con vello perianal.

Como las hembras grávidas oviponen durante la noche, la toma de muestra debe realizarse cada mañana en la cama antes de levantarse o higienizarse para aumentar la probabilidad de encontrarlos. Se recomienda al paciente que tenga sumo cuidado durante la toma de muestras ya que el material es infestante y que evite el uso de talcos o cremas en la región perianal porque dificulta la observación microscópica. Deben obtenerse muestras durante 7 días consecutivos ya que la migración parasitaria es irregular. Cuando se investiga una sola muestra se diagnostican el 50% de los casos y si la muestra es de tres días consecutivos el 90%. Solo si las muestras son de 7 días consecutivos puede librarse un resultado negativo.

Según el **método de Graham** una tira de 12 cm de cinta adhesiva transparente se coloca sobre el dedo índice como un guante con la superficie adhesiva hacia afuera y se realizan toques alrededor del ano en el área comprendida entre el orificio anal y unos 8 cm de diámetro. Luego se pega sobre un portaobjetos. Se provee al paciente de 7 portaobjetos, cada uno con su tira de cinta pegada de modo que sobresalga cinta en ambos extremos, para que realice la toma de muestra durante una semana. Una vez que los 7 portaobjetos están en el laboratorio se observan al microscopio óptico donde se buscan huevos, adultos y/o fragmentos de ejemplares adultos.

Los portaobjetos pueden ser reemplazados por una placa acrílica transparente, tipo radiográfico, de 15 cm x 15 cm donde se pegan 7 tiras de cinta adhesiva con un pedacito de cartulina en cada extremo para levantarlas más fácilmente en el momento de tomar la muestra.

El "**test de las gasitas**", es básicamente lo mismo que el anterior pero la muestra de mucus anal se obtiene con gasas. Se da al paciente 7 gasitas dobles de 5 cm por 5 cm y un recipiente limpio. Se lo instruye para que cada mañana use una gasita para tomar la muestra y luego la coloque en el recipiente. Una vez que obtiene las 7 muestras consecutivas las lleva al laboratorio donde serán procesadas de la siguiente forma:

- Verter en el frasco 20 ml aproximadamente de formol al 10%
- Con varilla de vidrio presionar las gasas para desprender los huevos.
- Pasar unos 7 ml del contenido a un tubo de centrifuga.
- Centrifugar 5 minutos a 1500 r.p.m.
- Tirar el sobrenadante.
- Volver a cargar el tubo de centrifuga con el líquido del frasco.
- Centrifugar 5 minutos a 1500 r.p.m.
- Repetir el procedimiento hasta volumen cero (no hay más líquido en el frasco).
- Observar microscópicamente una gota del sedimento tomada con pipeta Pasteur entre porta y cubre.

En las niñas que presentan vulvovaginitis es conveniente tomar cuidadosamente una muestra de la zona con un hisopo húmedo en solución fisiológica y observar al microscopio óptico en busca de huevos y/o adultos.

Cuando se producen localizaciones ectópicas, las hembras y los huevos se pueden evidenciar en cortes histológicos donde la observación de las expansiones cefálicas de la cutícula de estos vermes y la morfología típica de los huevos son fácilmente reconocibles.

En pacientes con dolor abdominal y otros síntomas gastrointestinales se debe realizar

un análisis de materia fecal para investigar la presencia de *Dientamoeba fragilis*. Se ha descrito una asociación entre *Enterobius vermicularis* y *Dientamoeba fragilis*, basada en un estudio que se realizó con voluntarios humanos que fueron infestados con huevos de *E.vermicularis* y posteriormente se presentaron co-infectados con *D.fragilis*. Se cree que este protozooario se pegaría ("piggybacks") a la superficie del huevo de *E.vermicularis*

No existen test serológicos específicos para *E.vermicularis* y la eosinofilia que se presenta en algunos casos como es un dato errante no es indicativo de esta parasitosis.

TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

El tratamiento de la enterobiosis debe estar dirigido a las personas parasitadas y al ambiente relacionado con ellas. Para minimizar los riesgos de contraer esta parasitosis, evitar las reinfestaciones y la diseminación de la parasitosis se debe poner especial cuidado en el aseo personal y ambiental.

Teniendo en cuenta esto, la **terapéutica** consiste en:

Tratamiento específico de las personas:

Como la enterobiosis es una parasitosis que se disemina muy fácilmente en grupos, debe diagnosticarse y tratarse en todas las personas expuestas.

Los medicamentos recomendados son pamoato de pirantel en una toma (11 mg/kg de peso corporal) o bien albendazol (400 mg) o mebendazol (100 mg), que matan los vermes que eclosionan de los huevos ingeridos post-tratamiento. Ninguna droga es efectiva contra los huevos o las larvas en desarrollo, por lo tanto el tratamiento debe repetirse dos a tres semanas posteriores a la terapia inicial.

Los pacientes que se presentan co-infectados con *D. fragilis* deben recibir además de la terapia antihelmíntica, medicamentos efectivos contra protozoarios como iodoquinol o tetraciclina.

El rascado de la zona perianal, perineal y genital puede producir excoriaciones susceptibles de infectarse secundariamente con bacterias u hongos. En estos casos se utilizan cremas o pomadas adecuadas a cada caso. Cuando ocurren localizaciones ectópicas en vulva y vagina que se asocian a infecciones secundarias con producción de flujo vaginal se realiza tratamiento antimicrobiano.

La infestación es autolimitada y en ausencia de reinfestación cesa sin tratamiento específico.

Durante el tratamiento, y a fin de evitar reinfestaciones, tener en cuenta:

Higiene personal: Como regla general de higiene hay que lavarse las manos antes y después de ir al baño, y al manipular alimentos, los cuales también deben estar adecuadamente limpios. Es importante bañarse diariamente, mantener cortas las uñas y evitar la onicofagia. Las personas infestadas deben usar pijamas largas para evitar el contacto mano-ano, lavar todos los días con agua muy caliente la ropa interior, de dormir y de cama, exponerlas al sol y plancharlas. Se deben utilizar jabón y toallas personales.

Higiene ambiental: Cuando se realiza la limpieza de la casa, en especial dormitorios y baños, debe evitarse levantar polvillo o facilitar que los huevos de *Enterobius* floten en el aire; por lo tanto no debe barrerse sino pasar un paño húmedo a los pisos y a los muebles y nunca sacudir las sábanas. Deben higienizarse muy bien los inodoros, tanto en el hogar como en lugares públicos ya que se contaminan cuando se sienta una persona infestada por lo que se lo llama vulgarmente "gusano de los asientos".

Los insecticidas y los desinfectantes en las dosis de uso doméstico no destruyen los huevos de oxyurus. La luz solar y la radiación UV mata los huevos en el ambiente y con calor seco pueden decontaminarse objetos no lavables como algunos juguetes.

BIBLIOGRAFÍA

- Leopairut J.; Neafie R. ; Meyers W. and Marty A. "Enterobiasis" en Pathology of Infectious Disease Volume I Helminthiases. Ed: Meyers W. Armed Forces Institute of Pathology. American Registry of Pathology. Washington, DC, United State of America, 2000. pp: 433-446
- Faust E.; Russell P. y Jung R. "Craig y Faust Parasitología Clínica". Ed: Salvat, Barcelona, España, 8º Edición, 1982. pp: 330-335
- Neva F. and Brown H. "Basic Clinical Parasitology". Ed: Prentice-Hall International Inc. United State of America, 6º Edición, 1994. pp: 135-139
- Pessoa S. y Martins A. "Pessoa Parasitologia Médica". Ed: Guanabara Koogan, 10º Edición, 1978. pp: 595-602
- Rey L. "Parasitología". Ed: Guanabara Koogan, 2º Edición, 1991. pp: 497-501

TRICHURIOSIS o TRICOCEFALOSIS

Sixto Raul Costamagna

Geohelmintiosis que predomina, fundamentalmente, en áreas cálidas y húmedas. El agente etiológico es un nematode de localización colónica y rectal, el *Trichuris trichiura*.

Morgagni, en 1740 lo describe por primera vez en el ciego y colon, siendo descripta la morfología de los adultos por Roederer en 1761 y finalmente clasificado por Linnaeus en 1771.

Phylum: Nematoda

Clase: Aphasmidia

Orden: Enoplida

Familia: Trichuridae

Género: *Trichuris*

Especie: *T. trichiura* (Linnaeus, 1771)

El *T. trichiura* es también llamado tricocéfalo, en razón de su aspecto, ya que "trico" significa pelo (cabeza como un pelo). Los machos miden entre 2,5 a 3,5 cm de largo y las hembras entre 3,5 y 4,5 cm. La parte anterior, más fina, ocupa la tercera parte del parásito, dándole el aspecto de un látigo (gusano látigo). El extremo posterior de la hembra es recto, mientras que el macho termina en una pronunciada y característica curvatura, en cuyo extremo se encuentra la espícula copulatríz, cerca de la cual se encuentra la cloaca donde desemboca su aparato genital. El tubo digestivo comienza con una pequeña boca, con una diminuta lanceta, le sigue un esófago que está rodeado de glándulas unicelulares, el esticosoma; a continuación el intestino para terminar en el ano, cerca de la porción posterior. La boca y el esófago están en la parte anterior, delgada, del parásito. Poseen un aparato genital muy desarrollado, especialmente las hembras.

Los huevos de *T. trichiura* son uno de los huevos más perfectos de la parasitología humana y son muy fáciles de identificar, tienen la forma de un limón, miden 50 a 54 μm de largo por 22 a 23 μm de ancho, poseen una doble membrana color marrón y en los extremos se visualizan dos tapones muy característicos, hialinos, translúcidos, como dos tapones de botellas sidra o champagne.

CICLO BIOLÓGICO

La infestación comienza cuando el ser humano ingiere un huevo larvado, infestante, de *T. trichiura*, a través de los alimentos, el agua o simplemente las manos sucias con tierra contaminada. Una vez en el intestino, comienza el ablandamiento de sus gruesas membranas, para permitir la liberación, en el intestino delgado, de la larva, la que penetrará en las glándulas de Lieberkun en donde permanecerá un corto período, para luego salir nuevamente a la luz intestinal y así dirigirse a su hábitat, el colon y el recto. Desde la ingesta del huevo, hasta el enclave de los adultos en la mucosa intestinal, se requiere de aproximadamente uno a tres meses. Allí madurarán y vivirán durante aproximadamente tres años. En el colon y/o recto, los gusanos aparecen enhebrados o clavados por su parte más delgada en la mucosa colónica, ayudados por una lanceta retráctil, donde quedan fuertemente enclavados. Si la parasitosis es grande, aparecen ejemplares por todo el intestino grueso.

Luego de la cópula la hembra elimina huevos que salen al exterior con las heces para madurar y continuar con su ciclo. Cada hembra ovipone de 3.000 a 20.000 huevos/día, números que permitirán, basándose en el recuento de huevos en materia fecal, estimar la carga parasitaria. Cada hembra vive entre 1,5 y 2 años, aunque algunos autores le asignan una longevidad de hasta 10 años.

Una vez en el exterior, los huevos que aún están inmaduros y obviamente no infestantes, al caer en terreno húmedo y con temperaturas no demasiado extremas, en un período de dos o tres semanas a varios meses, madurarán, transformándose en huevos infestantes, listos para comenzar un nuevo ciclo, vía oral. Si la temperatura ambiente es de 26°C requieren de 3 a 4 meses para madurar y si es de 15°C de 4 a 6 meses.

Si las condiciones del medio mantienen la humedad y la temperatura, estos huevos permanecen viables en el medio ambiente durante meses o años. Temperaturas inferiores a 10°C frenan su desarrollo.

CLINICA Y PATOLOGIA

La patología más importante que provoca *T. trichiura* deriva de la lesión que produce cuando se introduce en la mucosa del colon, trauma que causa una gran respuesta inflamatoria local, edemas y hemorragias. La intensidad de estas lesiones está directamente relacionada con la carga parasitaria presente en el colon. Puede llevar a que se presente colitis con pérdida de sangre, prolapso rectal y asociarse a desnutrición. La pérdida de sangre es debida a la lesión traumática producida por este nematode y no porque el mismo sea hematófago. En raras ocasiones este tricocéfalo puede ingresar al apéndice y producir inflamación del mismo.

En infestaciones leves, en general no se evidencia sintomatología, y muchas veces el diagnóstico se efectúa simplemente como un hallazgo de laboratorio. A medida que la infestación es mayor, aparecen dolores tipo cólicos y diarrea. Una franca sintomatología aparece en casos de infestaciones mayores, donde la desnutrición y la anemia acompañan a este parasitismo. Se evidencian disentería, dolor tipo cólico, meteorismo, diarreas con mucus y sangre, pujo y tenesmo. Si el cuadro es grave, especialmente en niños desnutridos, puede aparecer la mucosa rectal inflamada, sangrante y prolapsada donde se suelen observar ejemplares de tricocéfalos, la que está expuesta a sufrir traumatismos e infecciones bacterianas secundarias.

Si la infestación es masiva, el tratamiento puede demandar varios meses o años, con remisiones disentéricas fugaces. Si bien el pronóstico es bueno para infestaciones leves, en casos masivos que se han dejado evolucionar sin tratamiento pueden terminar con la muerte del niño, por anemia e infecciones bacterianas secundarias.

Esta parasitosis, en niños desnutridos causa enflaquecimiento, anemia, baja estatura y bajo desarrollo intelectual. Al tratarse esta parasitosis, se recuperan bien, inclusive la estatura.

En los niños con trichuriasis importante se han descrito los característicos dedos en forma de palillo de tambor.

En algunos niños con tricocefalosis importante, se ha observado geofagia o "pica", que es la necesidad imperiosa de ingerir tierra, la que obviamente al estar contaminada con huevos de este gusano, provocaría un aumento en la carga parasitaria, conducta que sería inducida por el propio parásito, precisamente para producir este efecto.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de laboratorio se realiza mediante el hallazgo de los típicos y elegantes huevos en materia fecal. Es importante efectuar el recuento de huevos a fin de poder evaluar la carga parasitaria.

Según Botero, se consideran infestaciones leves con recuentos menores de 5.000 huevos por gramo de materia fecal, e intensas si los recuentos son superiores a los 10.000 huevos por gramo de materia fecal. Para estimar la carga parasitaria se divide por 200 a la cantidad de huevos contados por gramo de materia fecal. De esta manera, una infestación leve estaría producida por menos de 25 gusanos.

La rectosigmoidoscopia permite visualizar a los parásitos en la mucosa intestinal, así como su eliminación, debiéndose llevar los ejemplares extraídos al laboratorio, a fin de que se efectúe su correcta tipificación y confirmación diagnóstica.

En el hemograma se observa anemia hipocrómica microcítica con eosinofilia elevada. La anemia puede llegar a cifras de hasta 2.000.000 de hematíes por mm^3 y la eosinofilia de 30% a 50%. Si la infestación es leve o baja, no se evidencian cambios en la concentración de glóbulos rojos ni hay eosinofilia importante.

EPIDEMIOLOGIA

La tricocefalosis es una parasitosis cosmopolita y comparte el mapa epidemiológico de *Ascaris lumbricoides*. En áreas de alta endemicidad su prevalencia alcanza al 70-80%, estimándose que la cantidad de parasitados en el mundo es de 800 millones de personas.

Como otras geohelmintiasis, el contacto de manos sucias con tierra contaminada con la boca o la ingesta de agua o alimentos contaminados con huevos larvados del parásito permiten cerrar el ciclo, así como la inadecuada eliminación de las excretas. El único reservorio del parásito es el hombre.

Strongyloides stercoralis

Rodolfo Casero

Strongyloides stercoralis, helminto agente etiológico de la estromyloidosis representa en muchos países una de las principales causas de infección parasitaria. Si bien ésta helmintiasis registra las mayores tasas de prevalencia e incidencia en las zonas tropicales y subtropicales del planeta, no es raro que se informen casos aislados y brotes en regiones templadas con microclimas predisponentes para que éste nematodo pueda realizar su ciclo biológico. *S. stercoralis* durante siglos de evolución, pudo desarrollar estrategias para soportar cambios tanto en el medio ambiente como dentro del huésped y en los humanos, mediante la evasión de su respuesta inmune, logró adaptarse al punto que es uno de los pocos helmintos que resultan letales para su hospedador.

S. stercoralis pertenece al grupo de los denominados geohelminetos (gusanos que cumplen parte de su ciclo en la tierra) y es uno de los parásitos más difíciles de detectar debido tanto a que posee un complejo ciclo de vida como a la falta de sensibilidad de los métodos parasitológicos convencionales que resultan inapropiados para su diagnóstico. Por esta razón las tasas de globales de incidencia y prevalencia demuestran subdiagnósticos en los registros, y lamentablemente en muchas ocasiones el diagnóstico sólo se confirma *post mortem*.

TAXONOMÍA

Los nemathelminetos del género *Strongyloides* pertenecen al Orden Rhabditida que incluye nematodos de vida libre y parásitos de animales, plantas, y del hombre.

Orden Rhabditida

Suborden Rhabditina

Superfamilia Rhabditoidea

Familia Strongyloididae

Strongyloides de animales y plantas

Suborden Strongyla

Superfamilia Strongyloidea

Familia Ancylostomatidae

Género Strongyloides

Especie stercoralis

En la naturaleza se han aislado especies de *Strongyloides* en reptiles (víboras), mamíferos salvajes y domésticos, lo que demuestra la existencia de una gran variedad de huéspedes susceptibles. *S. westeri*, *S. ransomi*, *S. fullbertsoni*, *S. ratti* y *S. papillosus* han sido reportados en caballos, cerdos, monos, ratas y rumiantes respectivamente, mientras que *S. stercoralis* y *S. fullbertsoni* son las especies infectantes reconocidas para los humanos.

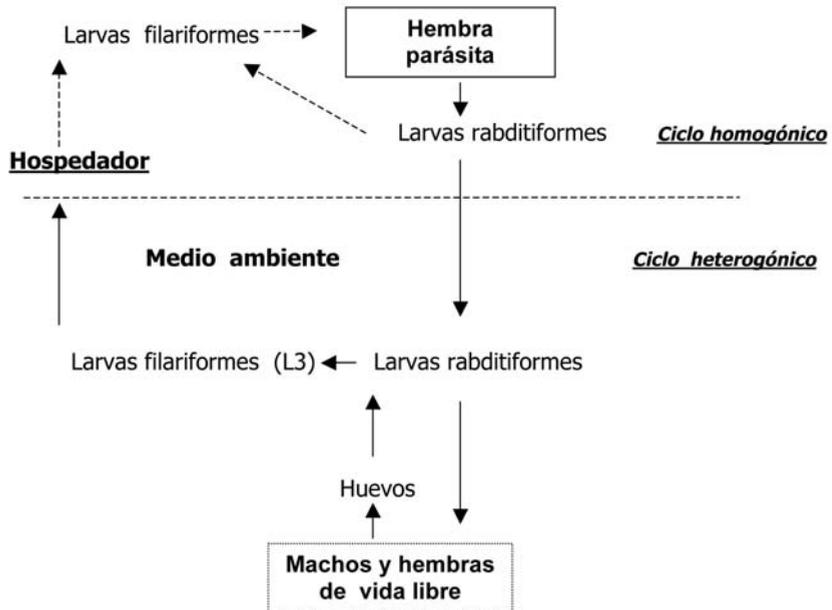
CICLO DE VIDA

El ciclo de *S. stercoralis* es el más complejo de todos los nematodos y es el único helminto, además de *Capillaria philippinensis*, que tiene la capacidad de reproducirse dentro del ser humano, pudiendo completar su ciclo vital tanto en el suelo como dentro del huésped mediante dos ciclos reproductivos que presentan generaciones de vida libre y parásitas, morfológica y biológicamente diferentes entre ambas.

Ciclo heterogónico indirecto o silvestre: Se lleva a cabo en suelos de zonas con climas subtropicales, tropicales y hasta templados, bajo condiciones ambientales de temperatura, nutrientes, humedad, pH y grado de luminosidad controlados. Los machos (700 μm) y hembras (1000 μm) de vida libre copulan y generan huevos parcialmente embrionados (60 μm), de los que al cabo de pocas horas de incubación, emergen las primeras generaciones de larvas denominadas rhabditiformes (LR1), las que dependiendo de las condiciones del medio ambiente, sufren tres mudas de su cutícula para generar larvas filariformes (L3). Éstas, constituyen la forma infectante (Lfi) de la estrongyloidosis y pueden perdurar en el medio ambiente en estado latente sin alimentarse por tiempos prolongados de hasta 40 días hasta detectar al huésped.

Ciclo homogónico o parásito: Las Lfi del suelo se contactan con el huésped ayudadas por sus quimiorreceptores, penetran por la piel, que en los humanos generalmente es a través de la de los pies, y alcanzan pequeños vasos sanguíneos o linfáticos, por medio de los cuales son vehiculizados por la circulación general y transportados hasta llegar a los pulmones, donde penetran en los alvéolos, ascienden por el árbol respiratorio hasta la faringe y desde aquí son deglutidas para llegar al intestino delgado, aquí tras 2 mudas se transforman en hembras adultas (2 mm), única forma parasitaria que se encuentra en los humanos. Este ciclo que incluye infección transcutánea, circulación sistémica, migración pulmonar, deglución e instalación intestinal de hem-

bras parásitas, se conoce como ciclo de Loos, ya que fue A. Loos en 1905, quien se autoinfectó con larvas filariformes y al cabo de 45 días reprodujo la infección al aislar larvas en sus heces. Una característica propia del ciclo de este helminto, es que las hembras parásitas son partenogenéticas, es decir que no necesitan machos para la oogénesis (nunca se ha reportado en el humano el hallazgo de machos parásitos). Éstas viven adheridas a la mucosa intestinal, pero la ovipostura (aproximadamente 200 huevos diarios) es realizada en la submucosa, desde donde los huevos embrionados maduran eclosionando larvas rabaditiformes que alcanzan la luz intestinal y son eliminadas con las heces. En ocasiones *in situ* pueden transformarse en filariformes L3, las que traspasan la submucosa y llegan a los grandes vasos generando una nueva forma de infección denominada **autoinfección interna**. Otra vía de infección es la que ocurre cuando algunas larvas rabaditiformes contenidas en heces húmedas y retenidas en la región perianal, antes de ser eliminadas, mudan a filariformes y así penetran por esta mucosa reiniciando un nuevo ciclo denominado **autoinfección externa**. Las larvas rabaditiformes eliminadas con las heces y en contacto con suelos de condiciones apropiadas, sufren 4 mudas para originar nuevas generaciones de machos y hembras de vida libre, o bien después de 2 mudas o ecdisis nuevas larvas filariformes (L3), completando de esta manera su ciclo silvestre



Características morfológicas de los diferentes estadios

Larva rabadiforme: mide aproximadamente 200 μm , posee cavidad bucal corta y estrecha, esófago con bulbo y estrangulación notoria, rudimento genital de tamaño y apariencia bien determinados en la zona ventral.

Larva filariforme de aproximadamente 500-700 μm , posee cavidad bucal corta y estrecha, esófago cilíndrico que alcanza casi la mitad el total de la larva. Presenta muesca en el extremo caudal, rasgo que lo hace único de su especie.

Hembra parásita: mide 2 mm, es larga y filiforme, esófago cilíndrico, extremo caudal puntiagudo 2 úteros con huevos. Ovipostura aproximadamente hasta 200 huevos diarios.

Huevos, 60 μm embrionados, no se detectan en heces.

Biología de la reproducción de Strongyloides

Un aspecto que lo hace particular a este helminto es que las hembras parásitas son partenogenéticas. (del griego παρθένος parthenos = virgen + γένεσις génesis = generación). Jan Dzierzon fue el primero en descubrir la partenogénesis de los zánganos de las abejas y es una forma de reproducción basada en el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas, que se da con cierta frecuencia en las plantas y también entre los animales en platelmintos, rotíferos, tardígrados, crustáceos, insectos, peces, anfibios, y reptiles. Puede interpretarse tanto como reproducción asexual o como sexual monogamética, puesto que interviene en ella una célula sexual o gameto. Consiste en la segmentación del óvulo sin fecundar, puesta en marcha por factores ambientales, químicos, descargas eléctricas, etc. El producto, llamado partenote, no podrá llevar cromosomas específicamente masculinos.

Otro aspecto propio de este helminto es el traspaso de cromosomas y la diferenciación sexual. Estudios morfológicos efectuados en diferentes especies, revelaron que *Strongyloides* posee 3 pares de cromosomas ($2n+1$), y mientras que los estadios larvales, las hembras parásitas y de vida libre son diploides (XX), ensayos genéticos realizados en *S. ratti*, helminto filogenéticamente relacionado con *S. stercoralis*, indican que los machos poseen $2n-1$ (XO). El mecanismo exacto de esta diferenciación aún no está bien establecido, se piensa que si durante el ciclo de vida libre luego de la cópula se produce la fusión o pérdida de un cromosoma sexual X, se originarán camadas de machos (XO) los que al fecundar hembras (XX) y tras nuevos ciclos originarán igual cantidad de embriones (XX y XO).

Otro aspecto llamativo y único en la reproducción de *S. stercoralis* es la diferenciación que pueden sufrir las larvas rabadiformes originadas por partenogénesis. Éstas, en el medio ambiente y dependiendo de factores externos como la temperatura ambiente, disponibilidad de nutrientes y densidad de individuos de vida libre, pueden originar

selectivamente camadas de larvas filariformes, o machos y hembras de vida libre. Es así que por encima de 34°C se diferencian a Lfi mientras que por debajo de 30°C, en adultos de vida libre. Los primeros cambios morfológicos antes de mudar la cutícula se producen en el primordio genital, donde sus células comienzan a diferenciarse y reproducirse aceleradamente para dar origen selectivamente a especies parásitas o de vida libre. Además las larvas rhabditiformes poseen células especializadas denominadas neuronales, las que tras ser estimuladas térmica o químicamente, promueven la muda de su cutícula larval. Otras señales químicas que también estimulan la diferenciación cuticular son las observadas por la acción de hormonas como la ecdisona (hormona de crecimiento presente también por insectos) y por los corticoides esteroideos que promueven la diferenciación selectiva de los estadios LR1 a LR2 a Lfi, o bien a nuevas generaciones de adultos de vida libre. Estos hallazgos explican los mecanismos por lo cuales en el humano infectado se produce tanto la autoinfección como la hiperinfección diseminada.

EPIDEMIOLOGÍA

La estrombiloidosis afecta entre 30 a 100 millones de personas en el mundo y es endémica en África sub-Sahariana, América latina y Sudeste de Asia. En las Américas, desde Argentina hasta EEUU, se han descripto casos de estrombiloidosis con diferentes tasas de incidencia y prevalencia, especialmente en regiones en las que se realizan cultivos y donde los humanos están expuestos continuamente con suelos contaminados. Durante años se pensó que esta parasitosis estaba confinada solo a zonas de climas tropicales y subtropicales del planeta, pero actualmente hay reportes de brotes en regiones templadas y con climas oceánicos como en la costa sureste de España y en valles de cultivo en Italia septentrional, por lo que su diseminación en estas áreas refleja la capacidad adaptativa que posee de este helminto para poder sobrevivir en el medio ambiente. En Argentina provincias con climas subtropicales como Salta, Corrientes y Misiones son las que poseen, tanto para la población infantil como adultos, las prevalencias más elevadas oscilando entre el 2% hasta el 83% en pacientes de zonas rurales. No obstante, se han reportado casos autóctonos en provincias como Córdoba, donde se habrían creado las condiciones apropiadas para esta helmintiasis probablemente debido a la migración de pobladores golondrina que actúan como portadores de esta parasitosis, junto a los cambios climáticos que han sufrido algunas áreas con microclimas predisponentes.

PATOGENIA

La estrombiloidosis es una de las enfermedades parasitarias en las que el equilibrio huésped-parásito determina tanto la evolución como el desenlace de la misma, no obstante en la mayoría de los casos transcurre como una infección crónica en la que el parásito se perpetua lentamente dentro del huésped en forma silente, registrándose en la bibliografía casos con clínica patente luego de 60 años posteriores a la primoinfección. Si bien esta parasitosis puede pasar inadvertida, en ocasiones dependiendo de la carga parasitaria, del estado inmune del huésped y del órgano que el parásito utiliza para su ciclo, los síntomas varían y se mimetizan con los de otras enfermedades infecciosas, enmascarando el verdadero proceso que se está llevando a cabo y que puede acabar con la vida del paciente. No obstante las manifestaciones cutáneas, gastrointestinales y pulmonares son las más comunes durante el periodo patente de la estrombiloidosis.

Lesiones dérmicas

Estas lesiones pueden ser el síntoma primario mientras se produce el traspaso transcutáneo o primoinfección o bien un signo que en ocasiones se observa tras la reactivación de una infección crónica. Durante el transcurso de la primoinfección, la presencia de las larvas suele pasar inadvertida, con un ligero prurito en el sitio de ingreso que desaparece pronto. Estos signos son poco comunes durante la etapa crónica, pero cuando se produce la migración subcutánea de larvas, denominadas *larva currens*, al desplazarse en forma serpiginosa originan lesiones sobreelevadas y pruriginosas. Durante la hiperinfección la movilización masiva de estas *larva currens* provocan lesiones que cuando aparecen en el tronco se movilizan rápidamente entre 5-10 cm/hora, siendo este fenómeno patognomónico de esta parasitosis ya que no se registran otras lesiones cutáneas que se desplacen tan rápidamente. También se describen en la casuística casos de vasculitis, presumiblemente por la sensibilización de antígenos excretados por las larvas o por bacterias arrastradas desde el intestino durante la migración. En otros pacientes además se observan lesiones en la mucosa perianal debido a que las larvas rhabditiformes acantonadas con las heces mudan a filariformes y éstas finalmente penetran por la piel de dicha región.

Síntomas y signos gastrointestinales:

Los signos clásicos durante la Infección crónica son vómitos, diarreas de corta duración alternadas con cuadros de constipación, mientras que en la infección aguda como durante la hiperinfección se pueden presentar cólicos intestinales, prurito anal, pérdida de peso, ulceraciones intestinales y atrofia de la mucosa intestinal, en espe-

cial aquellos con patologías de base predisponentes. Un cuadro muy importante a tener en cuenta es el ileo o estado de parálisis intestinal debido a la infección masiva (hiperinfección) de larvas filariformes, las que al atravesar la mucosa deterioran la absorción y la motilidad intestinal provocando fibrosis y rigidez de los plexos mesentéricos. Esta parálisis intestinal conduce a que los antihelmínticos de elección no sean absorbidos por esta vía, hecho que amerita a la búsqueda inmediata de otras vías de administración de fármacos para evitar el fracaso terapéutico.

Síntomas pulmonares.

Durante la Infección crónica se observan cuadros pulmonares con tos, parecidos al asma o a la neumonmitis de Loëffler, por otra parte, en el transcurso de la infección aguda e hiperinfección, la migración masiva de larvas hacia pulmones puede desencadenar la ruptura de capilares ocasionando microhemorragias intralveolares, cuadros obstructivos respiratorios y disnea.

Sepsis y *S. stercoralis*

Los casos de sepsis reportados durante la infección activa por *S. stercoralis* se deben a que durante la migración masiva de larvas, al atravesar el intestino, pueden arrastrar enterobacterias adheridas a sus cutículas, y éstas en el torrente circulatorio generan cuadros septicémicos o bien desde aquí dirigirse a cualquier órgano. El SNC resulta uno de los órganos más afectados con cuadros meníngeos originados indirectamente por este gusano.

Hiperinfección

Este síndrome resulta como consecuencia de una autoinfección masiva, originada por la migración indiscriminada de larvas filariformes que se encuentran acantonadas en los tejidos hacia distintos órganos. Su etiología responde a fallas en el sistema inmune del huésped parasitado y se observa especialmente en malnutridos, o en aquellos que cursen estados de inmunosupresión severa, transplantados, tratamiento prolongado con corticosteroides, SIDA. Como resultado el paciente culmina con una strongyloidosis complicada con desenlace fatal debido principalmente a fallas multiorgánicas.

Hiperinfección y corticoesteroides

El cuadro agudo de hiperinfección se observa generalmente en pacientes tratados con corticoides durante periodos prolongados, observándose un incremento en la carga parasitaria tanto en tejidos como en la luz intestinal. Este estallido larval se debe a que los corticoides esteroideos poseen una estructura química similar a la de la hormona que comanda la muda de sus cutículas y al unirse a los receptores de sus

tegumentos aceleran el proceso de maduración de L1 a L3, a la vez que estimulan la ovipostura de las hembras. Por otra parte el uso prolongado de corticoides además disminuye el número de eosinófilos en sangre, por lo que este parámetro tan particular de esta parasitosis se ve enmascarado por la acción de dichos fármacos.

S. stercoralis y HTLV-1

Se ha observado una elevada concordancia entre la presencia de ese retrovirus y la hiperinfección por *S. stercoralis*. Este virus linfotrópico a linfocitos T, disminuye la respuesta Th2 con reducción de IgE, por lo que los infectados por este helminto demuestran valores muy bajos de IgE específica para el parásito y de interleukinas IL-4, IL-5, e IL-3, hechos que junto al descenso en el número de eosinófilos, contribuyen a la severidad en la patología en estos pacientes. Cabe destacar que tanto la estonngyloidosis, como otras helmintiasis parasitarias, promueven una respuesta inmune con el concomitante estímulo en la liberación de interleukinas que movilizan eosinófilos en sangre, tejidos y luz intestinal, alcanzando a veces valores que promedian hasta el 60% del total de leucocitos. En pacientes coinfectados con el HIV o HTLV-1 y *S. stercoralis* este fenómeno no se observa, por lo que bajos recuentos de eosinófilos no debe descartar la sospecha sobre la presencia de esta parasitosis.

S. stercoralis y SIDA

La infección por *S. stercoralis* fue considerado desde los comienzos como infección oportunista y a veces marcadora de la progresión del VIH, pero la baja prevalencia de casos de hiperinfección y SIDA han desmoronado esta teoría. Trabajos recientes concluyen que durante la coinfección de *S. stercoralis* y VIH, no necesariamente se produce la diseminación de la parasitosis ya que ésta es favorecida del mismo modo en pacientes VIH cuando mejoran sus niveles de LiT CD4, mientras que en aquellos con bajos recuentos celulares dicha diseminación no es evidente. Una de las razones por la cual ocurre este fenómeno radica en el tipo de respuesta inmune que predomina durante esta coinfección parásito-virus. El perfil inmune que prevalece durante el transcurso de la infección por HIV es la respuesta Th2 a expensas de la tipo Th1, por lo que el descenso en los niveles de LiT CD4 no ejercería efecto negativo sobre la progresión de la estonngyloidosis; por el contrario son los eosinófilos y el incremento de IgE quienes ejercen el principal control de esta parasitosis, mecanismos efectores primarios destinados al control de esta infección en condiciones de un estado inmune intacto.

DIAGNÓSTICO

Previo al diagnóstico, la anamnesis del paciente resulta de suma utilidad para que en base a sus antecedentes incluir a la estonngyloidosis dentro del panel de probables

enfermedades parasitarias, ya que puede permanecer latente durante años o reactivarse súbitamente tras una inmunosupresión. Es por ello que no se debe descartar a la strongyloidosis cuando se trate de pacientes con epidemiología y síntomas clínicos tales como:

- 1) Pobladores y/o trabajadores rurales residentes o provenientes de áreas endémicas, (consignar la procedencia y ocupación actual o pasada)
- 2) Antecedentes clínicos de diarreas de corta duración que remiten y se reactivan con presencia variable de moco y sangre, acompañada o no de cólicos intestinales. Tos, broncoespasmos (no siempre presentes)
- 3) Estado inmune del paciente: antecedentes de etilismo, desnutrición crónica, tratamiento prolongado con corticoides, donantes de órganos o transplantados, portadores de VIH.
- 4) Pacientes con incrementos en los niveles de IgE y eosinofilia inespecíficas. Si bien en esta parasitosis frecuentemente éstas son moderadas (5 -20%), su persistencia es un buen indicador para comenzar con la búsqueda de *S. stercoralis*

Es importante destacar que si un paciente presenta diarrea con eosinofilia y epidemiología compatible con esta infección, es menester solicitar la búsqueda exhaustiva de *S. stercoralis*.

Materiales biológicos a investigar

Heces formes o diarreicas: en estas muestras la búsqueda está orientada a la detección de larvas rhabditiformes ya que los huevos casi nunca se detectan en materia fecal.

Aspirados y biopsias duodenales podemos detectar larvas, hembras parásitas y ocasionalmente hasta huevos.

Muestras respiratorias (esputos seriados o inducidos, lavados broncoalveolares y bronquiales): principalmente se detectan larvas filariformes, pero en ocasiones de marcada inmunodepresión se pueden encontrar hasta hembras parásitas.

En pacientes con lesiones dérmicas no se debe intentar investigar la presencia de *larva currens*, ya que la iatrogenia causada al paciente resulta mucho mayor que el beneficio de la búsqueda.

Métodos de laboratorio.

El examen directo de las muestras de heces es un método poco sensible para detectar este parásito y desafortunadamente es el más empleado de rutina en muchos laboratorios. Tampoco los métodos clásicos de concentración que se aplican para la búsqueda de huevos y quistes, como son los de flotación y/o centrifugación, son los más eficientes para su diagnóstico ya que los huevos de *S. stercoralis* no se encuentran en la luz intestinal y por otra parte, la hembra partenogenética pone sólo alrededor de 60 huevos diarios, por lo que el número de larvas presentes son generalmente escasas para alcanzar la sensibilidad de los métodos convencionales. Por todo esto es que se deban aplicar otras técnicas de mayor sensibilidad, también utilizadas para investigar otros geohelminos, como son el método de concentración de Baermann, el cultivo de larvas de Harada-Mori y el cultivo en placas en agar. Estos procedimientos aprovechan las propiedades biológicas (termo e hidrotropicas) de larvas vivas y para mantenerlas viables es imprescindible que la muestra de partida sea **materia fecal fresca no formolada ni refrigerada.**

Método de Baermann modificado: Este método fue ideado para la búsqueda de larvas de geohelminos en muestras de suelo y posteriormente fue adaptado para el diagnóstico de *S. stercoralis*. Consiste en un método de concentración de larvas aprovechando las propiedades termo e hidrotropicas de las mismas cuando la materia fecal es sometida a un medio acuoso con temperaturas controladas. Se debe disponer de un soporte sobre el cual se loca un embudo y dentro del mismo una malla de acero o colador con gasa. El vástago del embudo remata con una terminal plástica o de goma obturada en su extremo. El proceso consiste en colocar sobre la gasa al menos 50 g de materia fecal fresca, a la que posteriormente se le adiciona agua no clorada a temperatura entre 37- 40° C, en una cantidad apropiada como para que la materia fecal entre en contacto con la misma, Se deja reposar mínimamente 60 minutos y luego de este tiempo el líquido acumulado en el vástago se recoge y se centrifuga a baja velocidad, observándose los pellets en busca de larvas móviles (foto). Actualmente se han desarrollado en numerosos países métodos que utilizan elementos simplificados del aparato de Baermann original, y que fueron adecuados con el fin de realizar simultáneamente concentraciones de muestras varios pacientes.

Cultivo de larvas de Harada-Mori.

También aprovecha las propiedades termo e hidrotropicas de las larvas pero este método se realiza en tubo de ensayo o placa de Petri. Si el ensayo se realiza en paca de Petri, se debe disponer de varios portaobjetos apilados (aproximadamente cinco), que se recubren con papel de filtro, (si se realiza en tubo de ensayo basta solo un portaobjetos o laminilla de vidrio) sobre éste se depositan 5 g de materia fecal y posteriormente se los introduce dentro de la placa de Petri con 10 ml de agua

no clorada (5 ml para tubos de centrifuga) de tal manera que no cubra soporte con papel de filtro ni toque la materia fecal. En estas condiciones se los deja en reposo a temperaturas entre 25-28°C durante 48-72 hs observándolos periódicamente hasta 10 días. Diariamente se recoge el agua con pipeta y se centrifuga para la búsqueda de larvas. Este método concentra larvas rhabditiformes y permite que éstas muden a filariformes y así poder diferenciar larvas de helmintos de los géneros *Strongyloides*, *Trichostrongylus* y Uncinarias, especialmente en pacientes que habitan en regiones donde estas helmintiasis son prevalentes (foto).

Cultivo de larvas en Placa de Agar

En una placa de Petri con agar se deposita materia fecal (aproximadamente 5 g) y se deja a 28°C durante 24-48 hs. La observación se realiza bajo microscopio y si existen larvas viables, comenzarán a migrar por el agar dejando una huella serpenteante debido al crecimiento de bacterias arrastradas sobre sus cutículas.

Observaciones.

1-Es muy importante que durante el manipuleo de muestras que contienen de larvas viables, los operadores se protejan estrictamente ojos, piel y mucosas del contacto con estos materiales, ya que las mismas son altamente infectivas.

2-*S. stercoralis* es uno de los parásitos más difíciles de diagnosticar ya que un examen aislado de materia fecal, arroja hasta un 70% de falsos negativos, es por ello que deben desarrollarse repetidos exámenes utilizando métodos de concentración específicos (hasta 7 muestras), para considerar a un paciente libre de estrombilidosis activa.

Diagnóstico Inmunológico

El diagnóstico indirecto para este parásito ha progresado en los últimos años, especialmente con el uso tanto de metodologías que utilizan diferentes antígenos como a las que aplican la biología molecular como herramienta más sofisticada, pero lamentablemente no accesibles para la mayoría de laboratorios situados en regiones donde esta helmintiasis es endémica. Dentro del espectro de métodos inmunológicos se destacan la Inmunofluorescencia y el test de ELISA. El primero utiliza como antígeno larvas filariformes fijadas y el segundo extractos crudos de estas larvas para detectar IgG contra el parásito. No obstante en las diferentes regiones del mundo donde se han ensayado arrojaron valores discordantes de especificidad y sensibilidad.

dad, encontrándose en la bibliografía valores de sensibilidad para el ELISA entre el 25-88%, esto se debe a que actualmente no se cuenta con un *gold standard* o patrón para evaluar esta infección ya que sueros de pacientes infectados con *Ascaris lumbricoides*, *Onchocerca volvulus* y *Schistosomas* arrojan falsos positivos debido a que estas especies de helmintos comparten Ags comunes con las larvas filariformes de *Strongyloides*. Es por ello que en caso de querer chequear a un paciente mediante ELISA, debiéramos antes cerciorarnos si éste proviene de zonas endémicas o si padeció filariasis, ascariosis o schistosomiasis aguda, ya que en caso que así fuera, deberíamos recurrir a los métodos directos para interpretar los resultados obtenidos por los inmunológicos. En resumen, las pruebas inmunológicas resultan de utilidad como métodos de screening y en caso de arrojar resultados positivos, se debe completar el diagnóstico con la búsqueda exhaustiva del parásito. Otro método que se ha implementado es el inmunoblotting, éste utiliza Ags de excreción –secreción (Ags E-S) obtenidos a partir de cultivo de larvas filariformes y hasta el presente 18 bandas reactivas fueron detectadas con sueros de pacientes infectados, pero los resultados obtenidos en relación a su especificidad están aún bajo discusión. Mediante la biología molecular se han desarrollado Ags recombinantes (5a y 12a) que son reconocidos por IgE e IgG4 de pacientes infectados y que no cruzan con muestras de portadores de otras helmintiasis. Otros autores proponen a tres Ags del parásito, las enzimas oxoglutarato dehidrogenasa, fosfatasa alcalina e isocitratodehidrogenasa, como candidatas para ser recombinadas a partir de bibliotecas de ADN de *S. stercoralis*, ya que demostraron ser moléculas reconocidos por Acs de infectados con alta afinidad y servirían para realizar ensayos de captura Ag-Ac tanto para la detección de esta enfermedad en sus diferentes etapas como para monitorear la eficacia del tratamiento.

PREVENCIÓN

La prevención de esta helmintiasis debe estar dirigida principalmente a:

- 1) comunidades que habitan en zonas endémicas, requiriendo la puesta en marcha de acciones que aseguran niveles sanitarios adecuados para la eliminación de excretas.
- 2) La educación sobre las correctas prácticas de higiene .
- 3) Estrictas recomendaciones sobre el uso de calzado para proteger la piel del contacto con suelos contaminados.
- 4) Pacientes hospitalizados con hiperinfección deben aislarse ya que son fuente directa de posible transmisión y el personal a cargo debe utilizar guantes, mascarar, y para evitar sobretodo el contacto de las mucosas con sus materiales biológicos.

5) Microbiólogos que trabajen en laboratorios donde se realizan cultivos de larvas (cultivo en placa de agar y el Harada-Mori) deben proteger sus mucosas cuando se destapan cultivos que contienen estadios infectantes.

6) Considerar la strongyloidosis como enfermedad de reporte obligatorio ya que es la helmintiasis de mayor mortalidad, para así asegurar un adecuado tratamiento a los infectados y control de posibles brotes especialmente en áreas endémicas con pobres condiciones socioculturales.

Se deben redoblar los monitoreos de esta parasitosis en:

1) Pacientes que tuvieron infecciones pasadas por *S. stercoralis* o que posean historias relevantes tanto geográficas como de eosinofilia, y que requieran la instauración de corticoides esteroideos,

2) En portadores de HTLV-1 o HIV y que requieran la instauración de corticoides esteroideos,

3) Pacientes sometidos a trasplantes de órganos.

TRATAMIENTO

En aquellas zonas donde las helmintiasis endémicas, los tratamientos contra nematodos que no se replican dentro de su huésped, consisten en la administración de drogas que reducen la carga parasitaria y por ende llevan la infección a niveles en la cual la sintomatología clínica no es evidente. No obstante, en regiones donde las infecciones parasitarias son recurrentes como consecuencia de la carga parasitaria del medio y debido a los hábitos de los moradores, la efectividad de los tratamientos deja de ser el esperado si no se mejoran las condiciones ambientales y socioculturales de los infectados. Por otro lado, en pacientes que no conviven con estas helmintiasis y adquieren la infección, los esquemas terapéuticos resultan más evidentes a la vez que el clearance de gusanos es completado cuando finaliza del ciclo del parásito, ayudado por los efectores de la inmunidad innata del huésped. Pero lamentablemente debido a la pobre sensibilidad de los métodos coproparasitológicos empleados para el diagnóstico de la strongyloidosis, resulta difícil evaluar la efectividad del tratamiento ya que luego de un examen de heces negativo no debe considerarse cura verdadera. Por esta razón la reducción de los títulos de anticuerpos y el descenso del nivel de eosinófilos periféricos resultan marcadores más confiables para evaluar tanto la evolución como la eficacia del antiparasitario. Asimismo resulta vital asegurar la eliminación de hembras para así evitar la potencial replicación de gusanos que puedan conducir a la autoinfección e hiperinfección, por lo que todos los pacientes aún los asintomáticos, deben recibir antiparasitarios cuando se sospecha y/o confirma la adquisición de esta geohelmintiasis. En pacientes inmunocomprometidos

el tratamiento y screening debe aplicarse con más énfasis durante dos semanas, tiempo durante el cual se puede desencadenar la autoinfección.

DROGAS DE ELECCIÓN

Ivermectina: es la droga de elección propuesta por la OMS, se une selectivamente a receptores glutamato-cloruro de los canales iónicos celulares, produciendo una hiperpolarización selectiva de las membranas musculares y nerviosas del parásito con la posterior parálisis y muerte. Se utiliza tanto para la estromyloidosis intestinal como sistémica en dosis de 200 ug/kg peso/día tomados cada 1 o 2 días oralmente. Esta dosis es suficiente para eliminar entre el 60-100% de los parásitos, mientras que en inmunocomprometidos es necesario continuar durante 7-10 días. Es importante resaltar que pacientes con ileo paralítico y/o otros trastornos intestinales que comprometan la absorción de drogas, este fármaco debe ser administrado vía subcutánea o rectal, dependiendo del compromiso colónico

Tiabendazol: Históricamente ha sido la droga de elección a pesar de los innumerables efectos gastrointestinales que presenta. Tiene elevada eficacia para la erradicación de nematodos intestinales no demostrando buena efectividad contra aquellos que alcanzan e hiperinfectan los tejidos. Actúa inhibiendo específicamente la fumarato reductasa mitocondrial de los gusanos, es de rápida absorción y su pico de concentración lo alcanza entre una y dos horas posteriores su administración. Se indica en dosis de 50mg/kg peso/día oralmente en dos dosis (máximo 3g/día, cada 2 días), dosis pediátricas idem a la de adultos. Debido a la sintomatología colateral (principalmente hepato- gastrointestinal e hipersensibilidad) que origina, no debe utilizarse como antiparasitario de profilaxis.

Albendazol: Es un antiparasitario que se administra oralmente, pero al ser de amplio espectro su eficacia antihelmíntica es variable. Debido a su baja solubilidad acuosa se absorbe poco en el tracto gastrointestinal y su promedio de cura es sólo del 50%. Actúa inhibiendo la polimerización de la tubulina y por lo tanto la formación de microtúbulos, estructuras de la matriz citoplasmática esenciales para los procesos de división y biología celular de los parásitos. Dosis de 400 mg dos veces al día durante tres días es la dosis recomendada para adultos, mientras que en casos de hiperinfección se debe continuar por 7-10 días, en niños 15 mg/peso día oralmente después de las comidas, dosis máxima 800 mg.

BIBLIOGRAFÍA

- Siddiqui A, Berk S. Strongyloidiasis. *Curr Treat Op in Infect Dis*. 2003; 5:283–289
- Chiodini PL, Reid AJC, Wisella MJ, Firmin R, Foweraqker J. Parenteral ivermectin in *Strongyloides* hyperinfection . *Lancet* 2000;355 Jan1:43-44
- Fenton A, Paterson S, Viney ME, and Gardner MP. Determining the optimal developmental route of *Strongyloides ratti*: an evolutionarily stable strategy approach. *Int J Org Evolution* 2004; 58 (5 :989-1000.
- Fishman, JA and Rubin, RH. .Infection in organ-transplant recipients. *N Eng J Med* 1998; 338 (24):1741-1751.
- García LS, Bruckner DA, Intestinal Nematodos, "Diagnostic Medical Parasitology", ASM press, Washington D.C. 1997, p. 240-245.
- Hu M, Chilton NB and Gasser RB.. The mitochondrial genome of *S. stercoralis* (Nematoda) idiosyncratic gene order and evolutionary implications. *Int J Par*. 2003; 33:1393– 1408.
- Keiser PB and Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17 (1):208-217.
- Marty FM , Lowry CM, Rodríguez M, Siemba A. Treatment of human disseminated strongyloidiasis with a parenteral veterinary formulation of ivermectin. *Clin Infect Dis* 2005 ; 41:Jul 1 e5-e8
- Rea MJ, Gené CM, Rosa JR, Borda CE. *Strongyloides stercoralis*, estudio en pacientes sintomáticos y en un área rural de San Luis del Palmar, Corrientes, Argentina. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas* 2003 Resumen M-081. Corrientes Argentina.
- Borda CE, Rea MJ, Rosa JR, Maidana Intestinal parasitism in San Cayetano, Corrientes Argentina. *C. Bull Pan Health Organ* 1996; 30:227-233
- Reiman S, Fisher R, Dodds C, Trinh C, Laucirica R, and Whigham CJ. Mesenteric Arteriographic Findings in a Patient with *Strongyloides stercoralis* Hyperinfection. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13:635-638.

P.Román-Sánchez, A. Pastor-Guzmán, S. Moreno-Guille´ N, R. Igual-Adell, S. Sun, Er-Generoso y col. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* among farm workers on the mediterranean coast of Spain: analysis of the predictive factors of infection in developed countries. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2003; 69 (3):336–340.

Siddiqui AA, Stanley CS, Skelly PJ and Berk SL. A cDNA encoding a nuclear hormone receptor of the steroid / thyroidhormone-receptor superfamily from the human parasitic nematode *Strongyloides stercoralis*. Parasitol Res. 2000; 86:24-29.

Taranto N .*Strongyloides stercoralis* reporte de un caso y revisión de la literatura .Acta Gastroenterol Latinoamer 1995; 25: 113-120

Taranto N, Bonomi de Filippi H,. Orione O. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection in childhod.Oran. Salta. Argentina 1993 ;48:49-51

Viney M, Brown M, Omoding NE, Gardner MP, Roberts E. Why does HIV infection not lead to disseminate Strongyloidiasis? The J Infect.Dis 2004;190: 2175-2180

Watanabe K, Noda K, Hamano S, Koga M, Kishihara K, Nomoto K and Tada I. The crucial role of granulocytes in the early host defense against *Strongyloides ratti* infection in mice. Parasitol Res. 2000; 86:188-193.

Nolan TJ, Brenes M, Ashton FT, Zhu X, Forbes WM, Boston R. The amphidial neuron pair ALD controls the temperature-sensitive choice of alternative developmental pathways in the parasitic *Strongyloides stercoralis* Parasitology 2004 129;753-759

Mir,A, Benhamed D, Igual R, Borrás R, O'Connor JE, Morenó MJ, Rull S. Eosinophil-selective mediators in human strongyloidiasis. Parasite Immunology 20

FOTOS Y FIGURAS

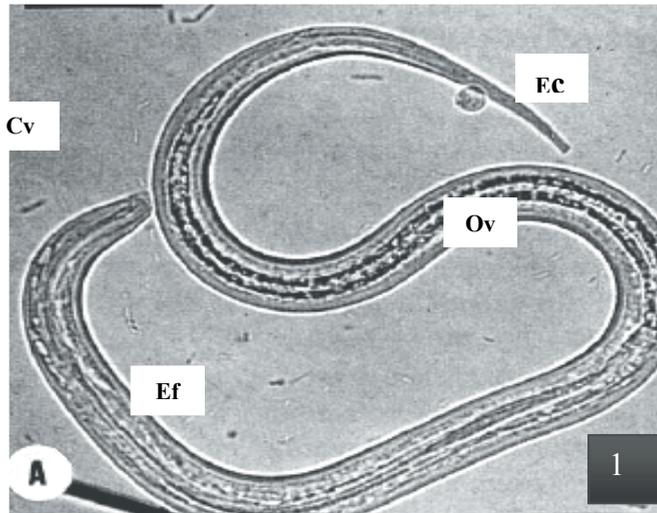


Figura 1. Hembra parásita de tejidos Cavity bucal (Cv), Esófago filariforme (Ef), Ovario doble (Ov), Extremo caudal (Ec)

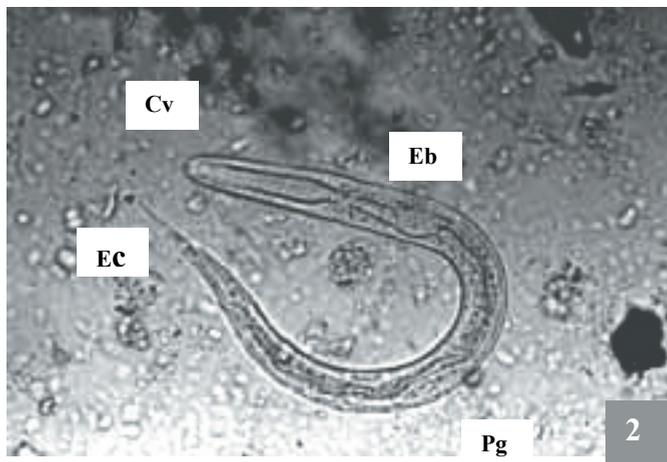


Figura 2. Larva rabaditiforme en heces. Cavity bucal (Cv) Esófago con bulbo (Eb), Primordio genital (Pg), Extremo caudal (Ec)

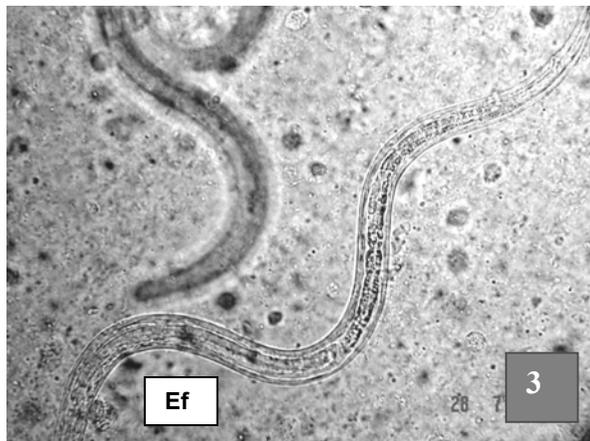


Figura 3. Larvas filariformes en tejidos. Esófago filariforme (Ef)



Figura 4. Larva filariforme en esputo.



Figura 5. Aparato de Baermann

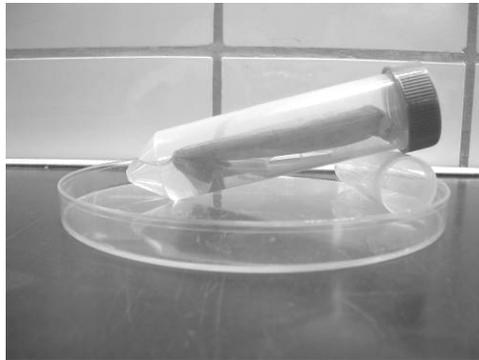


Figura 6. Cultivo de larvas .Método de Harada- Mori en tubo



Figura 7. Cultivo de larvas. Método de Harada- Mori en placa de Petri

ANISAKIDOSIS

Rubén Daniel Tanzola
Silvia Elizabeth Guagliardo

La anisakidosis, o anisakiosis, comprende una serie de trastornos digestivos y/o alérgicos, provocados por la ingesta de carne de pescado cruda, ahumada, marinada o insuficientemente cocida. El agente etiológico es el tercer estadio de larval (L3) de algunas especies de nematodos ascaridoideos de la familia Anisakidae. El individuo humano se comporta como un hospedador accidental.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA

Phylum	Nematoda
Clase	Phasmidea
Orden	Ascaridida
Familia	Anisakidae
Géneros:	<i>Anisakis</i> <i>Pseudoterranova</i> <i>Contracaecum</i>

Especies de interés sanitario: *Anisakis simplex*; *Pseudoterranova decipiens*; *Contracaecum osculatum*.

MORFOLOGÍA

En razón de que el estadio infectivo para el ser humano es la L3 se describe en particular el mismo, dejando de lado las características de los adultos, parásitos naturales de mamíferos y aves marinas, que pueden ser consultadas en tratados de Parasitología General o Animal (Tanzola, 2006). Las larvas de tercer estadio alojadas en las vísceras y musculatura estriada esquelética de peces y cefalópodos (calamares) presentan una cutícula débilmente estriada, son robustas, visibles a ojo desnudo, de color blanco hialino. Bajo lupa binocular presentan esbozos labiales, apenas diferenciados por los primordios de las papilas sensoriales. De la base del orificio bucal se proyecta un robusto diente perforante, relicto de su estadio previo (L2), que utiliza el animal para

perforar tanto la cáscara del huevo y salir a nadar en libertad, como para abrirse paso entre los tejidos viscerales de sus hospedadores. En vista frontal y a grandes aumentos es posible observar, por detrás del diente, la apertura del poro excretor. Sin dudas el carácter más conspicuo, en especial en las larvas de *Anisakis simplex* es la porción glandular del esófago conocida como **ventrículo**. Aparece como una banda longitudinal blanco lechoso, que en vivo se aprecia con la ayuda de una lupa de mano. En el extremo posterior se halla un prominente mucrón que luego en el adulto desaparece. En biopsias de pared estomacal o intestinal humanas, cuando las larvas no han sido aún atacadas por el sistema inmune, es posible identificarlas en sección transversal por la morfología de sus cordones hipodérmicos laterales en forma de "Y", así como por el importante desarrollo de la glándula excretora que discurre ventral al tubo digestivo de la larva (*Nota de los autores*: se pueden encontrar excelentes imágenes histológicas de L3 de *Anisakis*, en cortes transversales, en el Atlas Carlo Denegri Foundation en el sitio: <http://www.cdfound.to.it/HTML/ani1.html>).

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico es indirecto. Las larvas L3 antes descriptas desarrollan en hospedadores intermediarios, en el caso de *Anisakis* spp., el más importante a escala mundial es un diminuto crustáceo marino, de la familia Eufausidae, conocido con el nombre de *krill*. A su vez los crustáceos se infectan al consumir larvas libres de segundo estadio (L2) que eclosionan del huevo en las profundidades marinas. Los anisákidos han tenido un notable éxito evolutivo al explotar de manera eficaz la transmisión serial llamada **paraténica**. A través de ella logran pasar sin sufrir cambios ontogénicos ni mudas, por diversas especies de peces por la vía depredadores-presa. De este modo, las larvas maximizan las probabilidades de alcanzar por medios tróficos a los mamíferos marinos, hospedadores definitivos en el medio natural (en especial delfines para *Anisakis* spp. y lobos marinos, para el caso de *Pseudoterranova decipiens* y *Contracaecum osculatum*). Una vez que los peces son ingeridos por los mamíferos, se disparan señales moleculares que inducen la reanudación del ciclo de transformaciones y rápidamente mudan a estadio 4 (L4) y en cuestión de días estos mudan a adultos, macho y hembra. En la mucosa digestiva, gástrica o intestinal, las L4 experimentan una localización tanto en las criptas de Lieberkhün como perforando el epitelio de revestimiento y anidando en el corion. Allí, los mamíferos disparan una respuesta inmune agresiva que, en general y dependiendo del estado sanitario del animal, determina la destrucción larval. Aquellas que logran escapar del ataque celular de macrófagos y eosinófilos, alcanzan nuevamente el lumen digestivo y maduran a adultos. Las hembras son muy prolíficas y oviponen miles de huevos, redondos, de

cáscara delgada y transparente que, en el momento de abandonar al hospedador, junto con las heces, apenas cuentan con dos blastómeras embrionarias.

PATOGÉNESIS HUMANA Y EPIDEMIOLOGÍA

Más del 95% de la casuística mundial de la anisakidosis se debe a L3 de *Anisakis*, si bien también los géneros emparentados *Pseudoterranova*, *Contracaecum* e *Hysterothylacium* constituyen agentes etiológicos menos frecuentes o experimentales. Cuando un pez ingiere presas parasitadas (por ejemplo crustáceos del plancton), las larvas atraviesan la pared del tubo digestivo y se alojan en la cavidad visceral. Esto constituye aparentemente un comportamiento normal de las larvas de éstos nematodos en sus hospedadores intermediarios. Por circunstancias aun no dilucidadas, suelen migrar atravesando el peritoneo y se implantan en la musculatura estriada esquelética (filet) del pez. De allí el riesgo que representa el consumo de esos productos cárnicos sin la debida cocción. Algunos autores opinan que el porcentaje de infección muscular es mayor en las especies con mayor intensidad parasitaria en la cavidad visceral, lo que incrementa la probabilidad de escape hacia otros tejidos (Smith and Wootten, 1975). Otros le asignan un efecto influyente a la talla de los peces, siendo mayormente infectados a nivel del filet, los peces de tallas superiores. Finalmente, otros trabajos sugieren que la intensidad de infección del músculo está directamente relacionada con el tiempo transcurrido entre la captura del pez y su evisceración, siendo el escape larval hacia el músculo, una consecuencia de cambios fisico-químicos postmortem (Angot and Brasseur, 1995). En la mucosa gastrointestinal de los mamíferos, por su parte, los anisákidos provocan lesiones úlcero-granulomatosas tanto al estadio de L4 como adulto (Ito *et al.*, 1998), en lo que parecería ser un tránsito obligado de la L4 hasta alcanzar su madurez. En el 90% de los casos sintomáticos estudiados en humanos, las larvas ingresan a la mucosa gástrica, principalmente a nivel de la curvatura mayor del órgano. El 10% restante ingresa por la mucosa del íleon terminal. Son raras las localizaciones ectópicas (hepática, pancreática, mesentérica, pleural, ovárica) así como los desenlaces fatales.

En los últimos años ha aparecido una nueva forma de anisakidosis, con un rápido aumento en los registros epidemiológicos, denominada "alergia por *Anisakis*" (Audicana *et al.*, 2002). Se trata de un estado alérgico provocado como consecuencia del pasaje de la larva viva por la mucosa esofágica, provocando reflujo y sensación de picazón, con un máximo de 2 horas postingestión. La descarga de antígenos termoestables en la mucosa digestiva induce mecanismos de urticaria y angioedema.

En los peces marinos costeros que habitan el estuario de Bahía Blanca y áreas adyacentes, se han identificado miembros de los cuatro géneros de anisákidos antes

mencionados (Tanzola y Guagliardo, 2004). Esta situación no difiere de la mayor parte de las comunidades de peces en el resto del mundo, las cuales se hallan comúnmente parasitadas por éste grupo de nematodos. Así mismo, cabe señalar que en el Mar Argentino otros autores han hallado larvas de *Anisakis* sp. en especies de consumo como la merluza hubbsi, la anchoíta, el abadejo y la caballa. En el área estudiada, sólo dos especies se hallaron infectadas con larvas de *Anisakis*, la pescadilla y la palometa (Tablas 1 y 2). Sin embargo, la intensidad media de infección y la abundancia en la pescadilla tienen valores muy bajos, no habiéndose registrado su presencia más que en la cavidad visceral. En el caso de la palometa, la intensidad absoluta de infección suele ser mayor, pero la prevalencia es menor que en la pescadilla. Además tampoco se han reportado casos de invasión muscular en el filet de palometa. En el resto de los peces examinados los estimadores poblacionales son muy fluctuantes, pero un común denominador es la baja intensidad media en todos ellos, no llegando a superar los 2-3 individuos por hospedador.

TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

No existe tratamiento específico ni antiparasitario. En la mayoría de los cuadros gástricos la simple remoción del nematode mediante forceps endoscópicos resuelve el problema. En casos de granulomas profundos de difícil acceso el tratamiento es sintomático. La profilaxis consiste en extremar las medidas de control bromatológico en el análisis de la calidad de productos pesqueros destinados al consumo humano. Así mismo se deberá procurar la evisceración inmediata de los peces. Se recomienda someter la carne de pescado a congelación por freezer (-20°C) durante 72 horas, si será empleada para la preparación de platos crudos (orientales) del tipo surimi, ceviche, green herring. En caso contrario, cocinar muy bien el pescado, esto es lograr que toda la masa a consumir adquiera por más de 5 minutos una temperatura mínima de 60°C.

Tabla 1. Lista de especies de peces examinadas y de infectadas (+) por nematodos anisákidos en el área de Bahía Blanca (tomado de Tanzola y Guagliardo, 2004)

Especie	<i>Anisakis</i>	<i>Pseudoterranova</i>	<i>Terranova</i>	<i>Contracaecum</i>	<i>Hysterothylacium</i>
Pescadilla	+	-	+	+	+
Corvina rubia	-	-	+	+	+
Mero	-	+	-	+	-
Pez palo	-	-	+	+	-

Pejerrey	-	-	+	+	-
Palometa	+	-	-	+	-
Anchoa de banco	-	-	+	+	-
Saraca	-	-	-	-	-
Anchoíta	-	-	-	-	-
Congrio	-	-	+	+	-
Brótola	-	-	-	+	-
Sapo de Mar	-	-	+	+	+
Lenguado	-	-	+	+	+
Pez gallo	-	-	-	-	-
Gatuso	-	-	+	+	-
Cazón	-	-	-	-	-
Raya "A"	-	-	+	+	+
Raya "B"	-	-	+	-	-
Gatopardo	-	-	-	-	-
Pez ángel	-	-	-	-	-
Escalandrún	-	-	+	-	-
Bacota	-	-	-	-	-

Tabla 2. Principales caracteres morfológicos y medidas de las larvas de nematodos anisákidos presentes en la cavidad corporal de la pescadilla, *Cynoscion guatucupa* (tomado de Tanzola y Guagliardo, 2004)

Carácter	Especies			
	<i>Anisakis</i> sp.	<i>Terranova</i> sp.	<i>Hysterothylacium</i> sp.	<i>Contracaecum</i> sp.
Longitud total del cuerpo (mm)	24.50 (20.25-27.67)	7.81 (5.70-9.05)	11.529 (8.45-20.88)	3.41 (2.61-4.30)
Ancho máximo (mm)	0.469 (0.378-0.540)	0.193 (0.168-0.252)	0.342 (0.21-0.528)	0.130 (0.99-0.176)
Anillo nervioso (mm) (distancia a la boca)	0.292 (0.270-0.378)	0.400	0.420	0.137 (0.11-0.176)
Poros Excretor (posición)	Ventral a la boca	Ventral a la boca	A nivel del Anillo nervioso	Ventral a la boca
Long. del esófago (mm)	2.074 (1.89-2.32)	0.919 (0.648-1.20)	0.910 (0.71-1.20)	0.470 (0.352-0.583)

Long. del ventrículo (mm)	0.969 (0.783-1.215)	0.393 (0.336-0.444)	0.10-0.12	Inaparente
Long. del apéndice ventricular (mm)	Ausente	Ausente	0.877 (0.576-1.032)	0.341 (0.198-0.495)
Long. del ciego intestinal (mm)	Ausente	0.677 (0.504-0.828)	0.351 (0.24-0.405)	0.338 (0.242-0.484)
Diente perforante	Presente	Presente	Ausente	Presente
Long. de la cola (mm)	0.125 (0.108-0.135)	0.158 (0.09-0.192)	0.213 (0.12-0.324)	0.103 (0.088-0.121)
Espina distal o mucrón	Presente	Ausente	Presente	Ausente

BIBLIOGRAFÍA

Angot V, Brasseur P. Les larves d'Anisakidés et leur incidence sur la qualité des poissons et produits de poisson. *Revue Méd Vét.* 1995, 146(12): 791-804.

Audicana MT, Ansotegui IJ, Fernández de Corres L, Kennedy MW. Anisakis simplex: dangerous, dead and alive? *Trends Parasitol.* 2002; 18(1): 20-24.

Ito, M, Sato T, Shirai W, Kikuchi S. Parasites and related pathological lesions in the gastrointestinal tract of a seal (*Phoca vitulina* Linnaeus). *J Vet Med Sci.* 1998, 60(9): 1025-1028.

Smith JW, Wootten R. Experimental studies on the migration of *Anisakis* sp. larvae (Nematode: Ascaridida) into the flesh of herring, *Clupea harengus* L. *Int J Parasitol.* 1975, 5: 133-136.

Tanzola, R.D. (2006). Anisakidosis. En: Basualdo, Coto y De Torre: *Microbiología Biomédica*. 2da Ed. Editorial Atlante, BsAs., 1537 pp.

Tanzola R.D. y Guagliardo S.E. (2004). Nematodes Anisákidos presentes en peces del área de Bahía Blanca y el riesgo potencial de anisakidosis humana. *Revista de la Asociación Médica de Bahía Blanca*, 14 (3): 67-73.

MIASIS

Susana García †
Leandro Lucchi

Es el parasitismo de tejidos y órganos, del hombre y de los animales, provocado por la invasión de larvas de dípteros, generalmente de dípteros ciclorrafos.

UBICACIÓN SISTEMÁTICA

Reino: Animalia
Subreino: Metazoa
Phylum: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Díptera
SubOrden: Cyclorrhapha

Este suborden incluye a un grupo de dípteros conocidos vulgarmente con el nombre de "moscas". Se diferencian de otros dípteros por presentar los siguientes caracteres exclusivos:

- Antenas formadas por tres segmentos, el último muy desarrollado con una cerda dorsal, lisa o plumosa, llamada arista antenal.
- Reducción de los estiletes bucales: labro-epifaringe e hipofaringe
- Presencia de una sutura en la región frontal en forma de herradura (sutura frontal) o de una sutura reducida en forma de media luna (lúnula frontal). Estas líneas son las secuelas que quedan en los adultos al abandonar el pupario.
- Apertura del pupario por un orificio circular para la emergencia del adulto (proceso de ciclografía).

La mayoría de las especies son de vida libre, unas pocas son hematófagas alimentándose en estado adulto de sangre de vertebrados, en otros casos las larvas pasan por un parasitismo obligatorio o facultativo ocasionando una miasis.

Se cita a continuación las familias de ciclorrafos de mayor importancia en Entomología Médica en Argentina:

Familia: Sarcophagidae moscas grises

Género y especie: *Sarcophaga crassipalpis* (mosca gris o de la carne)

Familia: Calliphoridae moscas metalizadas

Género y especie: *Cochliomyia hominivorax* (mosca brava)

Cochliomyia macellaria (mosca carnicera)

Phaenicia sericata (mosca verde común)

Calliphora vicina (mosca azul común)

Chrysomya albiceps (mosca de cabeza blanca)

Chrysomya megacephala (mosca de cabeza grande)

Sarconesia chlorogaster (mosca de abdomen verde)

Familia: Cuterebridae

Género y especie: *Dermatobia hominis* (ura)

Familia: Muscidae

Género y especie: *Musca domestica* (mosca doméstica o común)

Familia: Oestridae

Género y especie: *Oestrus ovis*

Familia: Fannidae

Género y especie: *Fannia canicularis* (mosca casera menor)

Familia: Syrphidae

Género y especie: *Eristalis tenax* (larvas cola de ratón)

En Argentina las dos especies más importantes son *Cochliomyia hominivorax* y *Dermatobia hominis*. La primera causa graves cuadros de miasis debido a la voraz acción de sus larvas ya que puede llegar a perforar hueso, provocando la muerte en miasis descuidadas, es la responsable del 80% de las miasis humanas en nuestro país. La segunda especie citada es productora de miasis forunculoide benigna.

MORFOLOGÍA DE LOS ADULTOS

Por ser insectos presentan el cuerpo dividido en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen.

La cabeza es grande, globosa, se destaca nítidamente del tórax y está dotada de

una amplia movilidad rotatoria. Su superficie está ocupada casi totalmente por un par de ojos grandes, compuestos formados por millares de omatidios (omatidios = cada una de las unidades visuales que componen un ojo compuesto). Entre los ojos, próximo a la línea media de la cabeza, se inserta un par de antenas, cortas y gruesas compuestas por tres segmentos, los dos primeros son cortos y el último un poco más largo lleva arista.

En el vértice de la cabeza se encuentran los ojos simples u ocelos, generalmente en número de tres. Entre los ojos se observan grupos de cerdas y pelos, cuyo número y disposición es de importancia taxonómica.

Las piezas bucales se agrupan para formar dos tipos de aparato bucal:

- a) **Lamedor-chupador:** en las moscas no hematófagas. Las piezas que integran este aparato bucal forman una trompa o probóscide blanda y carnosa, constituida por una porción basal (rostro), un segmento intermedio (haustelo) y un segmento terminal o disco oral (con dos labelas que llevan denticulos para permitir la absorción de los líquidos). Se complementa con un par de palpos maxilares. Las maxilas y las mandíbulas están ausentes.
- b) **Picador-chupador:** característico de las moscas hematófagas. Las piezas bucales forman una probóscide rígida y dura, constituida por la epifaringe e hipofaringe, que juntas constituyen el canal de succión. Estas piezas junto con el labio, fuertemente quitinizado y con pequeños dientes cortantes en la extremidad, penetran en la piel del hospedador

El tórax se divide en tres segmentos: protorax, mesotorax y metatorax. Es muy voluminoso por el desarrollo del anillo medio dorsal del mesotorax, el mesonoto (= arco dorsal o tergal del mesotorax). Este a su vez se subdivide en pre-escudo, escudo y escutelo.

En el mesonoto se implantan una serie de setas o cerdas en forma longitudinal y transversal que son de valor taxonómico.

Del tórax nacen las alas. El primer par o alas anteriores son expansiones del mesotorax, presentan nervaduras longitudinales, que limitan dos celdas típicas, características para cada familia o género, constituyendo un elemento de gran importancia sistemática. El segundo par o alas posteriores, llamadas balancines o halterios, son muy reducidas y se sitúan a cada lado del metatorax, funcionan como órganos de equilibrio durante el vuelo.

De cada uno de los segmentos torácicos emerge un par de patas robustas, con tarsos de cinco artejos, presentando el último dos uñas y entre ellas un empodio cerdoso

(cerda espiniforme) y dos pulvillos membranosos (lóbulos blandos) esto le facilita la locomoción sobre superficies lisas.

El abdomen es globoso, formado por cinco segmentos o pre-abdomen, cubiertos de pelos o cerdas, y dos segmentos genitales modificados: el ovopositor en las hembras, que se invagina dentro del abdomen durante el reposo; y la terminalia o genitalia compleja en los machos, que se encuentra replegada en la superficie ventral el último segmento abdominal.

CICLO BIOLÓGICO

Generalmente las hembras de los ciclorrafos son ovíparas, después de haber sido fecundadas depositan los huevos que evolucionan en el medio externo. Pero en algunas especies el huevo es retenido en una dilatación del canal vaginal donde se produce la evolución de la fase larvaria, dichas hembras depositan larvas, son entonces larvíparas.

Se desarrollan mediante una metamorfosis completa pasando por los siguientes estados evolutivos: huevo, larvas, pupa y adulto.

Los **huevos**, alargados y de tamaño variable entre 1-2 mm, son puestos en lugares donde hay abundante materia orgánica en descomposición, pasado el período de incubación, cuyo tiempo depende de cada especie, emerge la larva I que luego muda a larva II y ésta finalmente a larva III. Los caracteres morfológicos del último estadio larval son los que se utilizan para realizar la clasificación de género y especie, utilizando claves taxonómicas para tal fin.

Las **larvas** (gusanos o queresas) son vermiformes, con el extremo anterior acuminado provisto de dos papilas fotosensibles, son ápodas y se las consideraba acéfalas, esta denominación no es correcta, en realidad son criptocéfalas, ya que los segmentos cefálicos existen, pero no están a la vista, se encuentran retraídos dentro del tórax. Presentan aparato bucal masticador muy esclerotizado y modificado, las piezas bucales (esqueleto cefalofaríngeo) terminan en dos ganchos curvos que sobresalen por la boca. El esqueleto cefalofaríngeo se extiende en el interior de los segmentos torácicos, está formado por un conjunto de escleritos o piezas que reciben cada una de ellas una nomenclatura determinada, dando caracteres diagnósticos de especie y varía de un estadio larval a otro.

El primer segmento del cuerpo se denomina pseudocéfalo; en el segundo segmento larvario, en las larvas de segundo (larvas II) y tercer estadio (larvas III), se encuentra un par de espiráculos anteriores o protorácicos, estructuras salientes con digitaciones en su extremo apical que semejan una mano abierta, el número de estas ramificaciones es característico para cada especie. Los espiráculos anteriores están ausentes en las larvas de primer estadio (larvas I).

El extremo posterior de las larvas es truncado o cóncavo, corresponde al último segmento, número doce; se encuentran aquí un par de espiráculos posteriores, en placas espiraculares esclerotizadas cuya forma y estructura es de gran valor sistemático y permite, mediante el uso de claves taxonómicas, arribar a la clasificación de familias, géneros y especies.

Cada placa espiracular está rodeada por un anillo quitinoso completo o incompleto llamado peritrema, presenta una abertura circular o botón, es una interrupción en el peritrema que indica el lugar de salida del esqueleto cuticular del estadio larval anterior. La presencia o ausencia de botón es un carácter diagnóstico genérico o específico. Los espiráculos posteriores contienen hendiduras espiraculares en número de dos, en las larvas I y II y tres hendiduras en las larvas III.

Es importante aclarar que en la mayoría de los casos sólo es posible realizar la clasificación taxonómica utilizando los caracteres diagnósticos de las larvas III. En la superficie ventral de las larvas cada segmento forma un reborde carnoso con espinas cuticulares que pueden extenderse en la superficie dorsal. El segmento posterior presenta un pseudópodo o pata falsa carnosa.

La mayoría de las larvas de ciclorrafos se alimentan de detritos orgánicos, líquidos y cuerpos en descomposición. En algunas especies las larvas crecen sobre cadáveres de animales y eventualmente en cadáveres humanos: larvas necrobiontófagas. Estas especies adquieren una gran importancia en Medicina legal, ya que permiten informar el tiempo que un cadáver permanece expuesto a las moscas.

Otras especies se alimentan de tejidos vivos: larvas biontófagas. Son parásitas solamente en la fase juvenil ya que al finalizar el período larvario abandonan el hospedador y caen al suelo donde se entierran para empupar. Existe un estado de prepupa que se reconoce por un color blanco opaco. La **pupación** (transformación de larva en pupa) se produce dentro de envoltorio quitinoso con aspecto de barril o tonel, de color oscuro, formado a expensas de la cubierta de la larval III, que no se

desprende sino que se endurece formando el pupario. La pupariación (formación del pupario) ocurre antes a la pupación propiamente dicha.

El estado de pupa permanece inmóvil, sin alimentarse, consumiendo las reservas nutritivas acumuladas en el período larvario. El **adulto** o imago rompe el pupario, por una abertura circular, al empujarlo con una ampolla presente en la parte superior de la cabeza que se dilata por la afluencia de hemolinfa llamada ptilineo. En los adultos recién emergidos ésta estructura se mantiene activa y luego se retrae en la cavidad cefálica.

El tamaño que tiene el imago al nacer es el definitivo, y ya no variará, de modo tal que las moscas pequeñas, aunque sean similares a otras de mayor tamaño, no están en crecimiento, sino que corresponden a especies o subespecies de poco tamaño.

IMPORTANCIA MÉDICA DE LAS MOSCAS

La importancia de éste grupo de dípteros radica en que pueden producir y transmitir ciertas enfermedades por medio de tres mecanismos principales:

- a) **Como vectores mecánicos:** nos referimos a aquellas moscas que transportan agentes infectantes, desde la fuente de infección hasta un hospedador susceptible, sin que éstos sufran cambios o se multipliquen en el insecto. Acarrear microorganismos en la pilosidad del cuerpo, en las patas, en las piezas bucales o también en el contenido intestinal. Las enfermedades transmitidas pueden ser bacterianas (salmonellosis, cólera, disentería bacilar, etc.), protozosis (amebosis, giardosis, etc.), helmintiosis (ascariosis, himenolepiosis, etc.) y además infecciones virales y micóticas.
- b) **Como vectores biológicos:** cumplen esta función las moscas hematófagas, donde el agente que transmiten sufre cambios, pasando por distintas fases evolutivas en el insecto. Ejemplo: las conocidas moscas tsé-tsé del continente africano *Glossina morsitans* y *Glossina palpalis* que transmiten las tripanosomiasis africanas.
- c) **Como parásitos:** son las especies de moscas cuyas larvas de manera natural o accidental producen cuadros de miasis, moderados o graves. Pudiendo ser éstos últimos mortales debido a la severa destrucción de tejidos ocasionado por la voracidad de las larvas provistas de un potente aparato bucal masticador.

Según la vinculación que tengan con el hombre y los alimentos de consumo humano, las moscas pertenecientes a la familia Calliphoridae se clasifican en eusinantrópicas, hemisinantrópicas y asinantrópicas.

Las especies eusinantrópicas están vinculadas con el hombre, la mayoría son urbanas ocupando lugares densamente poblados, pudiendo habitar en el interior de las viviendas (endófilas) o en el exterior de ellas (exófilas). Se consideran comunicativas por establecer el contacto entre microorganismos infecciosos y los alimentos de consumo humano.

Las moscas hemisinantrópicas se distribuyen en áreas donde existen viviendas aisladas, pero pueden establecer un puente entre un determinado foco infeccioso y el hombre.

Las especies asinantrópicas no poseen ninguna vinculación con el hombre

CLASIFICACIÓN DE LAS MIASIS

Podemos clasificar a las miasis según el tipo de larvas que las produzcan o según el tipo de lesión que ocasionan:

Según el tipo de larvas

De acuerdo al modo de vida de las larvas se presentan tres tipos de miasis:

1- Miasis primaria o específica

Producida por **larvas biontófagas**, parásitas obligadas, están adaptadas a la vida parasitaria. En forma obligada en su ciclo deben pasar por una fase larval parasitaria en tejidos vivos de los animales o del hombre. Sólo pueden desarrollarse sobre tejidos vivos del tegumento cutáneo o en mucosas de cavidades naturales (nasal, oral, auditiva, urogenital).

En estas últimas es de destacar la capacidad destructora que presentan las larvas de *Cochliomyia hominivorax*, donde por ejemplo en un caso de miasis auditiva llegó a perforar el hueso temporal y la cirugía reveló la ausencia de tímpano, como caso curioso se observó además la presencia de un ejemplar adulto, supuestamente la hembra que quedó en el canal auditivo luego de la oviposición. Este comportamiento también fue observado en una paciente geriátrica con una miasis oral donde *C. hominivorax* ocasionó la perforación del paladar duro y blando.

Ejemplos: *Cochliomyia hominivorax*, *Dermatobia hominis*, *Oestrus ovis*, etc.

2- Miasis secundaria o semiespecífica

Producida por **larvas necrobiontófagas**, parásitas facultativas, generalmente se alimentan de tejido muerto o de materia orgánica en descomposición, sólo atacan al hombre o animales cuando éstos tienen heridas o lesiones descuidadas o infectadas; pueden acudir a miasis previas o a lesiones preexistentes producidas por larvas biontófagas, donde se alimentan de tejido necrosado. Ejemplos: *Sarcophaga* sp., *Cochliomyia macellaria*, *Phaenicia sericata*, *Calliphora vicina*, *Musca doméstica*, *Eristalis tenax*, *Sarconesia chlorogaster*, etc.

3- Miasis accidental o pseudomiais

Causada por la ingestión de ciertos alimentos contaminadas con huevos o larvas de moscas necrobiontófagas. Estas larvas son ingeridas de modo accidental, ya que no se alimentan normalmente de tejidos o secreciones humanas, pasan por el tubo digestivo y como no tienen capacidad para vivir allí son eliminadas con las deposiciones, son por lo tanto "de paso", su presencia causa síntomas mecánicos como trastornos digestivos o bien pueden producir cuadros de alergia: Ejemplos: *Musca doméstica*, *Sarcophaga* sp., *Calliphora* sp., *Chrysomya* sp., *Phaenicia* sp., *Eristalis tenax*, etc.

Según el tipo de lesión

De acuerdo a la clasificación propuesta por Leclercq (1990), en base a la localización anatómica de las larvas, las miasis se pueden dividir en dos grupos: cutáneas y orgánicas.

A- Miasis cutáneas : las larvas se localizan en la piel superficial y/o tejidos subcutáneos sanos hasta la infestación. Se subdividen en:

1) **Miasis forunculoide:** subcutánea, se presenta un nódulo cutáneo inmóvil, sin desplazamiento de la larva, rojizo, inflamado, con un orificio. Provocadas por larvas responsables de miasis específicas. Ej.: *Dermatobia hominis*, *Cochliomyia hominivorax*.

2) **Miasis rampante:** subcutánea, la larva tiene un desplazamiento subcutáneo (subcutánea migratoria), se forma un nódulo antes que abandone el hospedador. Ocasionadas por larvas que producen miasis específicas. Ej.: *Hypoderma*, *Gasterophilus*. No desarrollan en el hombre.

3) **Miasis traumática o de heridas:** superficial, se localizan en heridas o úlceras crónicas que pueden o no estar infestadas. Producidas por larvas responsables de miasis específicas, miasis semiespecíficas y/o miasis accidental. Ej.: *Cochliomyia hominivorax*, *Sarcophaga barbata*, *Phaenicia sericata*, *Musca domestica*.

B- **Miasis orgánicas o cavitarias:** son pocos los casos de miasis en cavidades sanas y limpias, en general la falta de higiene o una afección anterior son, entre otros, factores predisponentes para que las moscas depositen sus huevos o sus larvas en dichas cavidades. Debido a que se localizan en cavidades naturales en diversos lugares del cuerpo reciben las siguientes denominaciones:

- 1) Miasis bucal: de la boca
- 2) Miasis nasal o rinomiasis: de las fosas nasales
- 3) Miasis ocular u oftalmomiasis: del globo ocular
- 4) Miasis auricular u otomiasis: del conducto auditivo externo
- 5) Miasis urogenital o cistomiasis: uretra, vagina, vulva, escroto,
- 6) Miasis del tubo digestivo: recto, gástricas e intestinales (accidentales)

Otros autores mencionan dentro de este grupo a las miasis generalizadas: son las que se presentan simultáneamente en varias cavidades a la vez, son casos raros, muy dolorosas y graves.

TRATAMIENTO

El tratamiento depende de las formas clínicas presentadas. En todos los casos es fundamental la remoción de las larvas, sugiriéndose:

En la miasis **forunculoide** la extracción quirúrgica puede ser riesgosa ya que si la larva se rompe dentro de la lesión puede provocar reacciones alérgicas, por lo tanto esta práctica solo se recomienda cuando el cirujano tiene experiencia con esta afección. Se utiliza entonces un método menos cruento que da buenos resultados. En el caso miasis forunculoide por *Dermatobia hominis* (ura) consiste en la oclusión del orificio del forúnculo con un apósito (curita) o un trozo de grasa, la larva al no poder respirar trata de salir, lubrica el orificio con sus movimientos, se engancha mediante las placas espiraculares al trozo de grasa o apósito, y cuando éste se retira sale intacta. En la miasis forunculoide por *Cochliomyia hominivorax* (mosca brava) las larvas causan una lesión característica con dos orificios, el tratamiento de elección es aplicar una torunda de algodón con éter ocluyendo uno de los orificios, esto produce la salida instantánea de las larvas por el otro.

Es importante tener en cuenta que hay menos posibilidades que el forúnculo se infecte mientras la larva está viva, ya que muerta sin extraer complica aún más el cuadro. Es también peligrosa la aplicación de cloroformo dentro del forúnculo ya que puede causar necrosis del tejido subcutáneo.

En el caso de miasis **traumáticas o heridas** se debe limpiar la herida de sangre, pus o material necrótico y luego se aplica una compresa embebida en benzol (Mazza y Jorg, 1939). En el caso de úlceras varicosas de miembros inferiores, se practican lavados con suero fisiológico, luego se aplica éter y se retiran las larvas mediante pinzas. También se ha usado aceite vegetal o vaselina líquida adicionada de 15% de cloroformo para producir la emergencia de las larvas por asfixia (Jorg, 1976).

En **rinomiasis** se procede a la extracción manual de las larvas mediante pinzas finas de puntas romas. La bibliografía del siglo pasado menciona como tratamiento utilizado para esta miasis en América del Sur, los baños nasales con infusión de albahaca. Mazza y Jorg, 1939, utilizaron con éxito la albahaca fresca, en hoja o infusión que parece ser la causante de la emergencia casi inmediata de las larvas. Además utilizaron alcohol 35° con benzol 5-10% que forma una suspensión lactescente, esto no produciría ningún daño al paciente si se respetan esas dosis y en aplicaciones breves.

Jorg 1976, recomienda los lavados con varios litros de agua a través de una cánula empleando solución de Dakin-Carrell, solución isotónica de cloruro de sodio con 5% de para-cloro-metaxileno (espadol) o una solución 5% con 1% de lactato de etoxi-diamino-acridina (rivanol). También menciona la eficacia de la albahaca, macerada en agua tibia con 10 % de alcohol.

En los cuadros de **otomiasis** el tratamiento es semejante al anterior.

En **oftalmomiasis** se debe proceder a la extracción quirúrgica de las larvas, previa anestesia local. Según James (1947) las miasis aurales pueden producirse por invasión secundaria a partir de una miasis oral o nasofaríngea, o por infestación directa del canal auditivo.

En estos casos hay que recurrir a la prevención, advirtiendo que los cuadros supurativos en orificios naturales pueden condicionar la infestación por este tipo de agentes.

En miasis **gastrointestinales** se utilizan vermífugos y se debe tratar de evitar el consumo de bebidas o alimentos sospechosos.

Una vez realizado el tratamiento correspondiente una miasis debe cicatrizar rápido.

Una mala práctica por parte del paciente o una atención inadecuada pueden ser causa de una infección secundaria por lo que se recomienda el uso de antibióticos.

FACTORES DE RIESGO

No es posible generalizar los factores de riesgo o predisponentes a contraer una miasis, ya que dependen de varias circunstancias que están relacionadas fundamentalmente con los hábitos de vida de las personas afectadas. Citamos a continuación los de mayor ocurrencia:

Alcoholismo: el comportamiento de beber alcohol no representa por sí solo una tendencia a adquirir una miasis, sino las consecuencias que producen en el individuo alcoholizado como ser insensibilidad, mal aliento y hábito de dormir al aire libre. El alcohol produce anestesia periférica por lo tanto la persona bajo estos efectos no reacciona y no percibe el contacto de la mosca en su piel.

Heridas infectadas: la infección de heridas por bacterias alcalinas exhalan un olor desagradable que estimula y produce la atracción a las moscas grávidas a oviponer sobre las mismas.

Mala higiene personal: la mala higiene personal puede ser causa de ciertas miasis cavitarias como vulvovaginales o anales.

Hemorroides expuestas: individuos carentes de hábitos de higiene, realizan la consulta médica cuando la enfermedad llega a un estado avanzado de ulceración.

Tareas relacionadas con la ganadería: los trabajadores rurales representan el sector más expuesto a especies de larvas de moscas parásitas del ganado.

Pediculosis: el intenso prurito ocasionado por *Pediculus capitis* conduce a un enérgico rascado pudiendo producir lesiones en el cuero cabelludo que son puerta de entrada a infecciones secundarias; en pacientes con infestaciones de largo tiempo y descuidadas las lesiones pueden ser atraídas por moscas que depositan allí sus huevos.

Pacientes con trastornos mentales, inválidos o abandono de infantes: es el caso de ciertas larvas coprófagas que se alimentan normalmente de excrementos y pueden atacar tejidos vivos.

Uso terapéutico de larvas de díptera (Maggot-therapy)

La terapia que utiliza larvas de moscas para fines curativos ya era conocida por pueblos primitivos; en el siglo XVI se observó la rápida cicatrización de heridas que tenían larvas de moscas. Durante la Primera Guerra Mundial este hecho también fue comprobado por el cirujano americano Baer quien observó, en soldados abandonados durante 7 días en el campo de batalla, un proceso de cicatrización en severas heridas que se habían infestado con gusanos. Esto lo impulsó a proponer un método para esterilizar huevos de moscas y utilizar las larvas para limpiar heridas; esta técnica se utilizó con excelentes resultados hasta la aparición de los antibióticos, inclusive en casos de osteomielitis crónica.

La técnica consiste en la esterilización de los huevos con formaldehído al 5%, luego varios lavados con hipoclorito de sodio diluído. Las larvas emergidas de dos días se implantan en las heridas con un collar de gasa para que el paciente no las sienta en el tejido sano. Pasadas 24 o 48 horas son retiradas, se cambia el vendaje embebido en suero fisiológico y se repite la aplicación. Se usaban por cada aplicación entre 200 a 600 larvas, el tratamiento podía durar tres semanas a seis meses y se podía llegar a eliminar por día un promedio de 10 a 15 gramos de tejido necrosado.

Las especies de moscas utilizadas para este terapia fueron *Phaenicia sericata*, *Phormia regina* y *Lucilia illustris*. Curiosamente también ha sido usada *Musca domestica* en úlceras crónicas de piernas, probablemente actúe digiriendo bacterias; pero es recomendable seleccionar especies con tendencia definida a alimentarse sólo de tejidos necrosados.

Leclercq en 1990 publicó un resumen de ésta técnica y le atribuye a las larvas 8 tipos de efectos benéficos o curativos:

- 1) Limpieza mecánica de bacterias debido a que las espinas presentes en la cutícula de las larvas irritan los tejidos produciendo un exudado.
- 2) Formación rápida de tejido granular por la irritación mecánica ejercida.
- 3) Licuefacción de tejido necrosado por la enzima colagenasa segregada por las larvas.
- 4) Ingestión y digestión de bacterias.
- 5) Aumento de alcalinidad, favorable a la evolución de las heridas y a la cicatrización.
- 6) Secreción de diversos agentes cicatrizantes como alantoína, amoníaco y carbonato de calcio.

- 7) Secreción salivar bactericida.
- 8) Secreciones proteolíticas de larvas de *Calliphora vicina* que digiere escaras de quemaduras, aunque esta especie no es segura para usar en maggot therapy, sus secreciones se pueden aplicar en una pomada.

Miasis: Situación y estado actual en Argentina

Las miasis fueron estudiadas inicialmente en Argentina por el equipo de trabajo a cargo del Dr. Salvador Mazza, en la Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (MEPRA) en Jujuy en el año 1939, del cual participaron investigadores como el Dr. Miguel Jorg, el Dr. Redento Basso quien presentó la frecuencia y naturaleza de las miasis en Mendoza, el Dr. Héctor Reyes Oribe relata casos de miasis urinaria y miasis forunculosa en Formosa, el Dr. Andrés Cornejo que presenta consideraciones sobre miasis observadas en la provincia de Salta. La caracterización morfológica de ciertas especies de moscas y los casos clínicos presentados en esta publicación son relevantes para la época en que fueron estudiados y aún hoy es la bibliografía de elección para los que trabajamos en este tema.

Más tarde, en 1958, el Dr. Eduardo del Ponte aportó datos de interés sobre las miasis humanas y las miasis en animales de nuestro país. La última revisión del tema para la Argentina fue publicada en 1976 por el Dr. Miguel Jorg.

Actualmente las investigaciones referidas a esta temática son llevadas a cabo por la Dra. Adriana Oliva, el Dr. Juan Carlos Mariluis y el Dr. Néstor Centeno, entre otros. Debido a que existen hoy en día pocos registros de miasis humanas en Argentina, la cátedra de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur, está llevando a cabo un proyecto destinado a evaluar y registrar los casos de miasis que se presentan en la ciudad de Bahía Blanca, en la zona y en otras regiones del país. Para ello es importante informar a los profesionales que trabajan en hospitales públicos la importancia de detectar y diagnosticar esta parasitosis, entregándoles un protocolo de trabajo que se cumplimentará en caso de estar en presencia de un paciente con una supuesta miasis. De este modo se remite al laboratorio de la Cátedra el material extraído de heridas o lesiones para su procesamiento y posterior clasificación taxonómica. Hasta la fecha en la ciudad de Bahía Blanca, son 18 los casos clínicos de miasis documentados, producidos por las siguientes especies: *Cochliomyia hominivorax* (13 casos), *Phaenicia sericata* (4 casos) y *Chrysomya megacephala* (1 caso). Siendo *C. hominivorax* la especie más involucrada en los casos de miasis analizados.

Protocolo de trabajo para miasis (Cátedra de Parasitología Clínica. UNS.)

Se divide en cuatro secciones: extracción y fijación, extracción y cría, planilla de datos entomológicos, datos del paciente.

1) Extracción y fijación

Se procede a la extracción de las larvas de la herida o lesión con éter, utilizando pinzas. Si a simple vista hay larvas de dos tamaños, las más grandes (posibles larvas III) se colocan en un recipiente y se les agrega agua a 95° C o más, se dejan por espacio de 5 minutos y luego se las pasa a otro frasco o tubo de plástico que contenga alcohol etílico 75-80° para su fijación. Nunca dejarlas en agua. Nunca usar formol. Si se intenta conservar las larvas directamente en alcohol etílico 75-80°, se producirá un ennegrecimiento en los tejidos internos, lo que dificultará su posterior estudio.

2) Extracción y cría

Una vez extraídas las larvas, tanto las más chicas como las grandes, se colocan en un frasco de vidrio de boca ancha y se pone dentro del mismo un trozo de carne, sin grasa. Tapar el frasco con una malla fina sujeta con una banda elástica para evitar que no se destape. Importante: si de la herida se extrae un gran número de larvas es aconsejable no ubicar a la totalidad dentro del mismo frasco, se deben separar en diferentes recipientes.

Conviene ubicar el frasco bajo campana con salida al exterior, especialmente mientras la carne se mantenga fresca debido al mal olor. No deben recibir luz solar directa, la temperatura será la del laboratorio y es importante registrarla diariamente.

Cuando se observa que la carne está deshidratada y oscura, destapar el frasco, retirar la carne con una pinza y transvasar las larvas a otro frasco que contenga tierra hasta una altura mínima de 6 cm (este es el sustrato adecuado para que la larva empupe). Volver a tapar el frasco con la malla.

Pasado un tiempo variable emergerán los adultos que se conservarán EN SECO, a diferencia de las larvas, de acuerdo a los siguientes pasos:

Colocar la mosca adulta dentro de un frasco que contenga un algodón embebido en éter o cloroformo, dejar aproximadamente una hora.

- Retirar el ejemplar y colocarlo en una cajita de cartón rígida, recubierta por papel tisú, NUNCA ALGODÓN. Se debe tener mucho cuidado al manipular los ejemplares adultos ya que se pueden dañar con facilidad. No presionarlos con pinzas.

Recomendaciones generales a tener en cuenta:

- No mezclar los frascos que correspondan a casos diferentes. Rotularlos correctamente.
- Utilizar un frasco para cada herida o lesión rotulado con el nombre del paciente, ya que un mismo paciente puede llegar a tener miasis producidas por diferentes especies de larvas.
- Cuando se lleva a cabo la cría, cuidar que no entre en el frasco ninguna otra mosca a oviponer. Ajustar bien la malla a la boca del frasco.
- Para evitar que el trozo de carne que vamos a colocar en el frasco, esté contaminado con huevos de moscas, conviene "pelarlo" con un cuchillo. O bien colocar varios trozos de carne en un recipiente y guardarlos en el freezer a fin de ser utilizados a medida que se necesiten.
- Durante las experiencias no utilizar insecticidas de ningún tipo en el laboratorio o habitaciones contiguas.

3) Planilla de datos entomológicos

Estos datos son importantes porque nos permiten describir con exactitud el ciclo evolutivo de la especie en estudio. Para ello se debe tener presente:

- La fecha en que fueron extraídas las larvas y el lugar del cuerpo del paciente (heridas y/o cavidades naturales).

- Tamaño y número de larvas colocadas en el recipiente de cría.
- Fecha en que se coloca la tierra en el frasco.
- Fecha en que emergen los adultos y cantidad de ejemplares.
- Una vez retirados del frasco, revisar la tierra y contar el número de pupas abiertas y/o cerradas.
- Durante toda la experiencia registrar diariamente la temperatura ambiente y la humedad relativa.

4) Datos del paciente

Registrar edad, sexo, ocupación, lugar de residencia y condición socioeconómica. Anotar fecha de la consulta, si es posible fecha de la supuesta infestación como así también circunstancias que la rodean

Si es un paciente que está internado consultar la historia clínica y extraer los datos que se consideren de importancia como alcoholismo, inmunosupresión, diabetes, episodios cerebrovasculares, etc.

En todos los casos descripción de la lesión: zona, tamaño, aspecto y si es posible sacar una fotografía de la lesión.

ENTOMOLOGÍA FORENSE

No debemos dejar de mencionar una rama de la entomología que se dedica al estudio de los insectos y otros artrópodos presentes en un cadáver, para poder fechar su deceso y si es posible determinar algunas circunstancias que rodearon al hecho. El intervalo entre el deceso y el hallazgo de los restos se denomina Intervalo Post-Mortem (PMI) y se estima por las especies de artrópodos presentes y por la etapa de desarrollo en que se encuentran.

La Entomología forense para ser aplicada correctamente requiere de un entomólogo experto ya que los casos a resolver dependen generalmente de la clasificación taxonómica de especies. De todos los dípteros ciclorrafos la familia Calliphoridae es la más importante desde el punto de vista forense.

Es sabido que un cadáver, como todo sustrato orgánico, va cambiando a lo largo del tiempo a causa de la descomposición, y en parte por la acción de organismos que lo colonizan, representando entonces un medio favorable a una gran diversidad de fauna cadavérica en las distintas etapas de la descomposición.

La fauna presente en un cadáver se divide en cuatro categorías según el tipo de alimentación:

- a) necrófagos se alimentan del cadáver.
- b) necrófilos se alimentan de los necrófagos (predadores y parásitos).
- c) omnívoros, se alimentan del cadáver en forma no obligatoria.
- d) oportunistas, usan el cadáver como refugio.

Fue creado un método para distinguir las oleadas sucesivas que colonizan un cadáver llamado Sistema de Mégnin, para poder relacionarlas con la etapa correspondiente de descomposición y estudiar el desarrollo de cada especie. Este sistema forma la base teórica de la Entomología forense aunque no siempre se cumplen en la práctica. Mégnin determinó ocho oleadas o "cuadrillas" para cadáveres expuestos, ya que la sucesión es diferente para cadáveres sumergidos o inhumados:

- 1- Cadáver fresco
- 2- Olor cadavérico
- 3- Grasas rancias (fermentación butírica)
- 4- Proteínas en descomposición (fermentación caseica)
- 5- Fin de la anterior (fermentación amoniacal)

- 6- Deseccación del cadáver por ácaros
- 7- Cuerpo momificado
- 8- Desaparición de los restos de oleadas anteriores.

El Dr. Néstor Centeno de la Universidad Nacional de Quilmes realizó una serie de experimentos en el interior de una habitación utilizando como modelo experimental el cerdo doméstico, con el objetivo de obtener datos cualitativos sobre el patrón de descomposición y sucesión de artrópodos y otra variedad de organismos sobre un cuerpo encerrado. Se reconocieron por este ensayo 5 estados de descomposición y la fauna cadavérica de interés forense.

La Entomología forense fue iniciada a mediados del siglo pasado y se aplica actualmente en muchos países del mundo. Con el paso del tiempo su estudio ha adquirido gran importancia siendo un aporte fundamental en Medicina Legal. La sucesión de artrópodos en cuerpos en descomposición tiene mucha importancia para la Entomología forense ya que se puede establecer el Intervalo Postmortem, y en algunos casos revela el entorno en que se produjo la muerte.

En Buenos Aires, Argentina, se creó en el año 1994 el Laboratorio de Entomología forense de la División Entomología del Museo argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"; se atiende allí pericias entomológicas para el Cuerpo Forense de la Justicia Nacional y organismos análogos.

BIBLIOGRAFIA

- Calderon O, Sanchez C, Sandi J. 1995. Miasis oral por *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) en una paciente geriátrica. *RevCost Cienc Med.* 16: 61-66.
- Calderon O, Riviera P, Sanchez C, Solano M. 1996. *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) como agente causal de miasis aural en un niño de Costa Rica. *Parasitol al Día* 20: 130-132.
- Costamagna, R.; García, S.; Visciarelli, E.; Lucchi, L.; Oliva, A. 2002. Lista preliminar de Dípteros ciclorrhafos de interés sanitario en Bahía Blanca. Argentina. V Congreso Argentino de Entomología. Buenos Aires. Pag. 436

Del Ponte, Eduardo. 1959. Manual de Entomología Médica y Veterinaria argentinas. Ed. Librería del Colegio, Buenos Aires. 349 pp.

García, S.; Visciarelli, E.; de Mena, F.; Gabbarini, M.; Lucchi, L. y Costamagna, S.R. 2002. Un caso de miasis humana por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858)(Diptera: Calliphoridae) en Bahía Blanca. Argentina. Entomol. Vect. 9 (4): 591-597

James M T. 1947. The flies that cause myiasis in man. U.S. Dept Agric Misc Publi., 631, 175 pp.

Jorg, Miguel. 1976. Miasis anal y consideraciones generales del parasitismo por larvas de moscas. La Prensa Médica Argentina. 63: 47-51

Leclerq, Marcel. 1990. Les Myiases. Annls Soc. ent. Fr. (N.S.) 26 (3): 335-350

Leclerq, Marcel. 1990. Utilisation de larves de Dipteres- Maggot Therapy- en medicine: historique et actualite. Bulletin et Annals de la Societe royale belge d'Entomologie 126: 41-50

Mariluis, J.C. y E.A. Guarnera. 1983. Miasis producida por *Phaenicia sericata*. Revta. Soc. ent. arg. 42 (1-4): 43-47

Mariluis, J.C. y Schnack, J.A. 2002. Calliphoridae de la Argentina. Sistemática, ecología e importancia sanitaria (Diptera, Insecta). En Actualizacionres en arthropodología sanitaria argentina. Publicación Monográfica 2. Serie Enfermedades Transmisibles. Pág.23-37

Mazza, Salvador. 1930. Investigaciones sobre Dípteros Argentinos. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (Jujuy). Publicación N° 41. 93 pp.

Oliva, A. 1996. Recent advances in forensic Entomology in Argentina (Abstract). Proceedings of the XX Intenational Congress of Entomology. (Firenze, Italy): 762

Oliva, Adriana. 1997. Insectos de Interés Forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos binómicos. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Entomología 7 (2): 13-59.

Oliva, A. 2002. Entomología forense en la Argentina. En Actualizacionres en arthropo-

dología sanitaria argentina.. Publicación Monográfica 2. Serie Enfermedades Transmisibles. Pág.39:43

Oliva, A. 2002. Miasis en Argentina. En Actualizaciones en artropodología sanitaria argentina. Publicación Monográfica 2. Serie Enfermedades Transmisibles. Pág.45-50

Visciarelli, E.; García, S.; Salomón, C.; Jofré, C. Y Costamagna, S.R. 2003. Un caso de miasis humana por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858)(Díptera: Calliphoridae) asociado a Pediculosis en Mendoza. Argentina (En prensa)

PEDICULOSIS

Susana García †
Norma Basabe

Es la infestación cutánea producida por la presencia de piojos hematófagos en el cuerpo.

Existen tres especies que afectan al hombre presentando una territorialidad definida en el cuerpo humano, sin competir entre ellas: *Pediculus humanus capitis* (DeGeer, 1778), *Pediculus humanus humanus* (Linneo, 1758) y *Phthirus pubis* (Linneo, 1758).

UBICACIÓN SISTEMÁTICA

Reino: Animalia
Subreino: Metazoa
Phylum: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Phthiraptera
Suborden: Anoplura

Familia: Pediculidae

Género y especie: *Pediculus humanus capitis* (piojo de la cabeza)
Pediculus humanus humanus (piojo de la ropa)

Familia: Phthiridae

Género y especie: *Phthirus pubis* (piojo pubiano o ladilla)

Los Anoplura son insectos pequeños, exclusivos de mamíferos, miden entre 2 y 6 mm de longitud, presentan cuerpo achatado dorsoventralmente, segmentos del tórax fusionados, un par de antenas cortas, ausencia de alas, patas desarrolladas adaptadas para fijarse a los pelos de sus hospedadores y aparato bucal especializado para picar y succionar sangre, tanto hembras como machos son hematófagos.

Las hembras de los anopluros se caracterizan por poseer un par de glándulas accesorias que segregan un pegamento con el cual adhieren las liendres o huevos a los pelos de sus hospedadores de diferente tamaño y grosor, sin importar la talla de

los mismos.

Tal es así que en una superficie corporal pequeña, pero con cobertura de distinto tipo de pelo, es posible hallar huevos de más de una especie, como es en el caso de *Pediculus* y *Phthirus* en el hombre; contrariamente a un animal con un solo tipo y grosor de soporte tendrá liendres de una sola especie, como por ejemplo el cerdo doméstico.

Según la clasificación propuesta por Kim y Ludwig (1978) dentro del suborden Anoplura existen 15 familias, 11 de ellas con especies encontradas en Argentina, siendo las de mayor interés médico las familias Pediculidae y Phtiriidae.

Para impedir la confusión del lector aclaramos que, el género correspondiente al piojo pubiano fue escrito por primera vez como *Phthirus*, pero luego por error se transcribió como *Pthirus* y fue confirmado por la Comisión Internacional de Nomenclatura Científica, por esta razón podemos encontrar en la bibliografía este género escrito de las dos formas.

Mencionaremos a continuación 3 aspectos de su biología que son de gran importancia por su valor epidemiológico:

- 1) **Especificidad del hospedador**, esto significa que en forma natural solo parasitan a una determinada especie de animal siendo incapaces de afectar a otras. Así los piojos del hombre son estrictamente humanos y no se transmiten a otros animales, y a su vez los piojos de los animales domésticos no son transmisibles al hombre.
- 2) **Ectoparásitos permanentes y obligados**, es decir que realizan todo su ciclo evolutivo, desde huevo hasta adulto, sobre el mismo hospedador; no sobreviven más de 48 a 72 hs fuera de él. Esto es por dos razones, primero dependen de la temperatura corporal del hospedador ya que es de gran importancia para el desarrollo embrionario, y otra de las razones es su poca capacidad de ayuno, necesitan alimentarse casi en forma continua.
- 3) Son insectos **ápteros**, es decir no poseen alas y también tienen **patas prehensoras** adaptadas para sujetarse al hospedador más que para la locomoción. Se dice con frecuencia que los piojos saltan o vuelan, estas creencias populares son por falta de información o conocimiento de su morfología. Son incapaces de caminar eficientemente sobre una superficie plana y como no vuelan ni saltan, su transmisión se realiza por contacto directo o por objetos contaminados.

Las familias Pediculidae y Phthiridae tienen características propias que las diferencian haciendo casi imposible confundir los integrantes de cada una de ellas.

Los de la familia Pediculidae son: delgados, con el cuerpo dos veces mas largo que ancho, el abdomen mas largo que el tórax, con márgenes laterales mas oscuras, llamadas placas esclerotizadas y con tres pares de patas iguales, terminados en garras (patas prehensoras).

Los de la familia Pthiriidae son robustos, con el cuerpo tan largo como ancho, tórax muy ancho, abdomen corto y con lóbulos laterales prominentes, el primer par de patas es más delgado que los dos pares posteriores, los cuales son robustos y todos terminan en fuertes garras.

MORFOLOGÍA DEL GÉNERO *PEDICULUS*.

La morfología de las especies del género *Pediculus* es semejante y es muy difícil diferenciarlos si no se conoce su procedencia.

Pediculus humanus humanus tiene dimensiones levemente superiores y es mas delgado que *Pediculus humanus capitis*. Éste tiene una segmentación mas marcada del abdomen y en los lados del tórax presenta una pigmentación oscura, características ausentes en el piojo de la ropa.

El tamaño de los adultos varía de 2 a 4 mm de longitud, siendo las hembras mayores que los machos. Por ser insectos tienen el cuerpo dividido en: cabeza, tórax y abdomen.

La cabeza es pequeña, ovoide, posee un par de antenas sensitivas, un par de ojos simples, laterales y salientes y un aparato bucal picador-chupador muy modificado. Cuando no se alimenta, se encuentra retraído dentro de la cabeza debajo de la faringe en un "saco de estiletes" o "saco trófico de Ferris", desde el cual se evagina cuando se va a alimentar. Está formado por estiletes perforantes que se introducen en la piel del hospedador inoculando saliva y succionando sangre, no poseen palpos maxilares.

El tórax no presenta una segmentación nítida de sus tres segmentos torácicos (protórax, mesotórax y metatórax). Del tórax emergen los tres pares de patas prehensoras, cada una de ellas formada por cinco segmentos: coxa, trocánter, fémur, tibia y tarso. Este último termina en una poderosa uña o garra encorvada que se cierra sobre una protuberancia de la tibia formando así un anillo o pinza con el cual el piojo se agarra firmemente del pelo.

Esta estructura llamada "anillo prehensil" es la adaptación que tienen estos insectos para fijarse o sostenerse del hospedador. Es también una manera de asegurarse el alimento y la continuidad del ciclo biológico.

En el mesotórax se hallan un par de orificios denominados espiráculos respiratorios, que se visualizan desde la cara dorsal.

El abdomen es voluminoso, ovoide y está formado por nueve segmentos cada uno de los cuales lleva a cada lado placas espiraculares con un par de espiráculos respiratorios por segmento. Son visibles solo siete de ellos ya que los dos primeros se encuentran fusionados y ubicados por debajo del tórax.

La forma del último segmento abdominal nos permite observar el dimorfismo sexual, ya que en las hembras es bilobulado o escotado; entre ambos lóbulos y ubicado ventralmente se encuentra el orificio vulvar; a ambos lados de éste orificio se encuentran un par de apéndices llamados gonópodos utilizados por las hembras para fijar los pelos en los que depositarán sus huevos.

En los machos el último segmento es redondeado y presenta en su cara dorsal un orificio o gonoporo por donde se proyecta el pene, muy quitinizado, el cual se encuentra invaginado mientras no se realiza la copula.

CICLO BIOLÓGICO

Se desarrollan mediante metamorfosis incompleta, es decir que pasan por los siguientes estados evolutivos: huevo, ninfa (I, II y III) y adulto.

Recordemos que todas las etapas de este ciclo se desarrollan sobre el hospedador (ectoparásitos permanentes), teniendo en cuenta que la temperatura corporal es muy importante para el desarrollo embrionario. Este aspecto ha sido estudiado por Laesson (1941) determinando que se detiene el desarrollo si la temperatura corporal desciende a menos de 23°C o si asciende a más de 38 °C; así cuando una persona parasitada tiene fiebre, los piojos tienden a alejarse para buscar otro hospedador; ocurre también cuando una persona fallece.

Las hembras de *Pediculus* carecen de espermateca (reservorio en el que se acumulan los espermatozoides durante la copulación) entonces deben aparearse en forma reiterada para la fecundación de sus óvulos y tener mayor éxito reproductivo.

Los piojos están en condiciones de copular luego de 10 horas de vida adulta, para ello, la hembra se fija sobre el dorso del macho y luego de ser fecundada, puede comenzar a oviponer, si se ha alimentado.

Las hembras de *Pediculus humanus capitis* ponen los huevos en la base de los pelos, cerca del cuero cabelludo, a una distancia que varía entre medio y 3 cm aproximadamente.

Los huevos son depositados preferentemente en áreas de la cabeza con una densidad baja de pelo, siendo las mas frecuentes, las regiones parietal, temporal y occipital; muy raramente lo hacen en las cejas.

Las hembras de *Pediculus humanus humanus* no utilizan el soporte piloso del hospedador, depositan los huevos en las costuras y fibras de la ropa que están en contacto con la piel.

Los huevos o liendres son blancos, ovoides y operculados. Miden aproximadamente 0.8 mm de diámetro mayor y se encuentran firmemente adheridos al pelo o a la fibra en su polo inferior, por una sustancia cementante que segrega la hembra. El polo superior es libre y posee un opérculo mamelonado con cámaras aéreas que le servirán a la ninfa I para eclosionar. Esta particular forma de postura es otra de las adaptaciones que tienen estos insectos para continuar su desarrollo sobre el hospedador y no caerse ni desprenderse fácilmente de él, asegurando así la continuidad del ciclo.

La hembra fértil ovipone de 4 a 10 huevos por día. A lo largo de su vida (unos 30 días) pone entre 120 a 300 huevos aproximadamente. No todos los huevos son viables, algunos no están fecundados. Cuando hay muchas hembras oviponiendo en el mismo hospedador puede ocurrir un cuadro de pediculosis severo.

Pasado el período de incubación, cercano a los 7 días a una temperatura óptima de 37°C, la liendre eclosiona y surge la ninfa I, de aspecto muy similar al adulto, mide alrededor de 1 mm de largo y no posee aún los órganos genitales. Es de hábitos hematófagos y si no se alimenta dentro de las 24 hs puede morir, o sea que prácticamente no tiene capacidad de ayuno.

En el transcurso de 2 a 3 semanas, dependiendo de la temperatura y la alimentación, esta ninfa I sufre 3 mudas y llega al estado adulto. En términos generales el ciclo completo dura entre 21 y 28 días; los adultos viven aproximadamente 30 días. Debido a su poca capacidad de ayuno, todos los estados evolutivos necesitan alimentarse varias veces, aunque no siempre lo hacen del mismo hospedador. Los piojos pueden pasar fácilmente de una persona a otra por simple contacto y recorrer varias cabezas en un solo día.

Pediculus humanus humanus es actualmente una especie restringida a grupos de personas indigentes, que viven hacinadas y en condiciones higiénico-sanitarias deficientes.

El ciclo biológico es similar al de *Pediculus humanus capitis* con la diferencia que depositan sus huevos en las costuras de la ropa y pasan al hospedador temporalmente para alimentarse. En algunas ocasiones pueden depositar los huevos en los pelos de hospedador en el momento en que se alimentan.

MORFOLOGÍA DEL GÉNERO PHTHIRUS

Dentro de este género esta la especie *Phthirus pubis*, (más comúnmente llamada ladilla). Su nombre refiere a la localización habitual en el cuerpo humano: región pilosa del pubis y área genito-abdominal; con menor frecuencia se lo encuentra en

zona pectoral anterior, axilas, piernas, pestañas, barba, espalda y brazos.

Tienen menor tamaño que los integrantes del género *Pediculus*, miden de 1,5 a 2 mm de longitud, su cuerpo es tan largo como ancho, semejante a un cangrejo, de ahí que se lo conoce también con el nombre de "piojo cangrejo".

El tórax y el abdomen se encuentran unidos en una sola pieza, este último se caracteriza por la presencia en ambos márgenes, de protuberancias subcónicas terminadas en cerdas.

Las patas meso y metatorácicas son robustas, contrastando con el primer par que es más delgado y esbelto; todas terminan en fuertes garras.

Sus liendres o huevos miden alrededor de 0,5 a 0,7 mm, son de color blanquecino y poseen opérculos mamelonados, al igual que *Pediculus*.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo evolutivo es similar al de *Pediculus*, presentan una metamorfosis incompleta, pasando por los estados de huevo, ninfa (I, II y III) y adulto.

Las hembras poseen espermateca, almacenando allí los espermatozoides luego de la cópula, asegurando así prácticamente la fecundidad de todos sus óvulos con un alto éxito reproductivo. Por eso, solo necesitan aparearse una sola vez para ser fértiles toda la vida.

Depositán alrededor de 3 huevos por día en los pelos de las regiones infestadas

Las ninfas I son hematófagas al igual que los restantes estadios ninfales y el adulto.

Tienen poca capacidad de ayuno, fuera del hospedador mueren en menos de 24 hs. El ciclo completo desde huevo hasta adulto dura alrededor de 21 a 28 días y el tiempo de supervivencia del adulto es cercano a los 30 días.

IMPORTANCIA MÉDICA DE LOS PIOJOS

Los piojos tienen importancia médica por dos mecanismos distintos de acción; directo, como ectoparásitos e indirecto actuando como agentes vectores de infecciones bacterianas.

MECANISMO DIRECTO: ACCIÓN PARASITARIA

Los piojos provocan lesiones en la piel en el momento de alimentarse e inoculan saliva que posee un anticoagulante muy irritante, provocando intenso prurito o picazón. Esto conduce al rascado provocando escoriaciones cutáneas, variando desde simples ronchas a una verdadera dermatitis en casos severos de infestación masiva, seguida de infecciones bacterianas secundarias.

Experimentalmente los piojos humanos pueden succionar sangre dos veces por día y en cada picadura demoran de 3 a 10 minutos.

Se denomina "Pediculosis" a la infestación producida por las especies de *Pediculus humanus capitis* y *Pediculus humanus humanus* y "Ptiriasis" a la producida por *Phthirus pubis*.

Pediculosis

En la pediculosis del cuero cabelludo los parásitos se ubican en las regiones occipital, parietal y temporal o retroauricular.

En infestaciones masivas los cabellos se encuentran como "salpicados" por liendres y con una gran cantidad de parásitos aglutinados por los exudados inflamatorios; en algunas ocasiones estos exudados forman una coraza o casco piloso denominado "plica palónica" de aspecto costroso, duro y maloliente, bajo el cual se encuentran ocultos gran cantidad de piojos. Las lesiones del cuero cabelludo atraen a las moscas las cuales depositan sus huevos o sus larvas provocando una nueva parasitosis llamada miasis.

En nuestra ciudad hemos hallado 2 casos que fueron reportados a la cátedra de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur, habiendo diagnosticado las especies productoras de las miasis.

Debemos tener en cuenta entonces, que la pediculosis es un importante factor de riesgo que predispone y facilita el desarrollo de otra parasitosis como la miasis.

El efecto de las picaduras por piojos acarrea principalmente complicaciones de tipo cutáneas por las escoriaciones producidas con el rascado, y por las infecciones secundarias por bacterias piógenas, habituales de la piel, llegando en algunos casos hasta la piodermatitis o el impétigo.

Otras consecuencias de esta infestación son las dificultades respiratorias que se producen muchas veces por la inhalación de pediculicidas que contienen insecticidas; reacciones alérgicas a las lociones pediculicidas y otras son de origen psicológico que se producen, en el ámbito familiar por las reiteradas inasistencias escolares y a nivel

individual por sentir vergüenza de padecer esta parasitosis.

Esta parasitosis no distingue niveles sociales, ni económicos.

La infestación por *P. humanus capitis* es más frecuente en niños que en adultos y más en mujeres que en varones. Generalmente los piojos no parasitan a los hombres que tienen más de 20 años, porque al parecer el nivel hormonal que poseen, hace que se reproduzcan menos y además tienen mayor número de folículos pilosos vacíos, por lo tanto menos pelo.

La transmisión se hace en forma directa, de manera tal que entre mujeres y niños hay más posibilidades que ocurra el contagio, seguramente debido a la mayor demostración de afecto que hay entre ellos.

También se puede transmitir por objetos infestados como peines, sombreros, bufandas, juguetes de peluche, almohadas, colchonetas de gimnasia, etc. y por ambientes contaminados como areneros y piletas de natación.

En la pediculosis por *P. humanus humanus*, los parásitos no se encuentran directamente sobre la piel del hospedador sino que se hallan en los pliegues y costuras de sus ropas.

Generalmente las lesiones cutáneas producidas por las picaduras de estos insectos se encuentran ubicadas en la región dorsal, interescapular, axilas, pliegues submamaros, cintura y glúteos; provocando un intenso prurito o picazón al igual que el piojo de la cabeza. Debido a la irritación y rascado continuo durante largos períodos, la piel aumenta el grosor y adquiere una pigmentación oscura, como bronceada, denominada "melanodermia pediculósica" ubicándose principalmente en la región torácica, también se la conoce como "enfermedad de los vagabundos".

Esta pediculosis está presente en individuos con deficiente higiene personal y que se encuentran en condiciones de hacinamiento; se puede encontrar en cárceles, asilos, instituciones de caridad y entre mendigos o vagabundos. Se presenta en regiones de clima templado a frío donde se utiliza ropa más abrigada que no se cambia regularmente y el hábito de bañarse es menos frecuente.

La transmisión es directa y se produce por contacto entre personas afectadas y sanas o por intercambio de ropas y el uso de las camas por varios individuos.

En las épocas de guerra y campos de concentración se producían verdaderas epidemias, que afectaban no sólo por las picaduras en sí, sino por el poder vectorial reconocido en tres importantes enfermedades infecciosas.

Ptiriasis

El hábitat normal de éste piojo, en ambos sexos, es la región púbica. Ocasionalmente pueden hallarse en otras regiones como: axilas, piernas, bigote, barba e incluso

pestañas. La picadura produce una dermatitis característica con pequeñas pápulas rosadas y con prurito muy intenso, sobre todo durante la noche o cuando el individuo se encuentra quieto; esto obliga al rascado enérgico provocando lesiones que pueden evolucionar al eczema.

Los síntomas más característicos de esta infestación son: el prurito intenso y la aparición, de pequeñas manchas azuladas denominadas "maculae cerulae" ubicadas en el abdomen bajo, el interior de los muslos y en la región púbica. Estas manchas se producen porque tienen el hábito de dejar fijas dentro de la piel sus piezas bucales para alimentarse y por acción de la saliva van degradando la hemoglobina durante varios días en el mismo sitio.

El contagio se produce en forma directa, habitualmente por contacto sexual, con menor frecuencia se da en otras situaciones, como en niños que comparten la cama con personas infestadas. Es excepcional como fuente de contagio el paso a través de la ropa o toallas.

Mecanismo indirecto: Acción como vectores biológicos

Recordemos que un vector es un organismo que por sus hábitos, puede transportar un microorganismo infectante desde la fuente de infección hasta el hospedador susceptible. Es indispensable la presencia del vector para el agente patógeno, en él se multiplica y/o pasa por diferentes estadios evolutivos.

Pediculus humanus humanus es la única especie de piojo humano que ha sido comprobado como vector de las siguientes infecciones bacterianas: el tifus exantemático epidémico, la fiebre recurrente y la fiebre de las trincheras.

Estas tres enfermedades citadas están actualmente en extinción y solo son mantenidas en pequeños focos epidémicos.

Hace poco tiempo una investigación reveló que gran parte de los soldados del ejército de Napoleón habría muerto en los campos rusos de tifus y fiebre de las trincheras.

a) Tifus exantemático epidémico

El agente transmitido es una bacteria llamada *Rickettsia prowazeki*, que se elimina con las heces del piojo, permaneciendo viables en la heces secas o en los piojos muertos durante meses. Por esta razón es muy peligroso el contacto con la vestimenta o ropa de cama de un paciente con tifus.

Las rickettsias no pueden ser inoculadas por la picadura ya que cuando

ingresan al piojo, pasan al estómago y allí se multiplican en las células epiteliales del intestino. La infección al hombre se puede producir de distintas maneras: por ejemplo, cuando se producen escoriaciones en la piel por rascado y entra en contacto con las heces contaminadas; o por transferencia a las conjuntivas oculares con dedos contaminados con deyecciones; o por aplastamiento del piojo sobre la piel escoriada; o por inhalación de las rickettsias que están en el aire.

Esta última forma de infección, por vía inhalatoria, produce una forma de tifus más suave, llamada enfermedad de Brill- Zinsser, con manifestaciones de tipo respiratorias, presente principalmente en Europa.

El tifus es una enfermedad cosmopolita, se producen brotes en lugares donde hay gente en condiciones deficientes de higiene y nutrición, frecuentemente en estación invernal.

El cuadro de tifus comienza con un cuadro febril agudo, escalofríos, con dolor muscular, cefalea, en casos severos se puede llegar a la insuficiencia renal, crisis delirantes y gangrena en las extremidades. Posteriormente a estos síntomas aparece una erupción cutánea rojiza (exantema) en la parte superior del tronco que luego se extiende al resto del cuerpo y las extremidades. Existen casos benignos, pero en los cuadros severos la letalidad varía entre el 10 al 40% de los casos.

Durante la Primera Guerra Mundial en 1914-1918 y algunos años siguientes, muchas personas murieron de Tifus exantemático en Europa. Actualmente existen áreas con pequeños focos en algunas regiones de México, América Central, América del Sur (Cordillera de los Andes, Colombia y Ecuador), África (Burundi, Etiopía y Ruanda) y en algunos países de Asia.

b) **Fiebre recurrente**

El agente transmitido es una espiroqueta llamada *Borrelia recurrentis*, ésta invaden la cavidad general del piojo cuando ingresan a él y se multiplican en la hemolinfa. No regresan al aparato digestivo, por lo tanto no son eliminadas con las heces y no pueden ser inoculadas al picar. La transmisión solo se produce por aplastamiento de piojo contra la piel, y allí las borrelias penetran por las escoriaciones de la piel producidas por el rascado, o por la mucosa oral o por la vía conjuntival.

Como su nombre lo indica, en esta enfermedad se producen accesos febriles de 2 a 9 días de duración alternados con períodos de apirexia de 2 a 4 días.

La letalidad en los casos no tratados varía de 2 a 10 % siendo de gran importancia durante los brotes epidémicos cuando alcanza el 50%.

Es una enfermedad cosmopolita y en épocas de guerras mundiales hubo grandes epidemias en Europa, en la actualidad persisten algunos focos en Etiopía, África.

c) **Fiebre de las trincheras**

El agente transmitido es una rickettsia, llamada *Rickettsia quintana*, la cual se multiplica en el intestino de los piojos y es eliminada con las heces.

La enfermedad se transmite al hombre por contaminación y aplastamiento del piojo sobre la piel.

Se manifiesta con un cuadro febril de inicio súbito y escalofríos que declina y reaparece cada 3 a 5 días, de allí el nombre de quintana, la evolución es generalmente benigna. Como las enfermedades anteriores, ésta se presentó en forma epidémica durante las guerras mundiales, registrándose mas de un millón de casos solo en la primera guerra. Actualmente está en extinción.

DIAGNÓSTICO

Las manifestaciones clínicas de la pediculosis y de la ptiriasis nos pueden orientar para llegar al diagnóstico.

Algunos de los signos y síntomas más frecuentes son:

Prurito intenso, producido por la inoculación de saliva del insecto que provoca gran irritación.

Lesiones costrosas y áreas de depilación, provocadas por el rascado constante, continuo y engrosando la piel por la misma reacción inflamatoria que acompaña a las escoriaciones, derivadas del rascado enérgico durante largos períodos.

Manchas azuladas en la región pubiana, debido a la fijación de las piezas bucales e inoculación de saliva del *Phthirus pubis*.

El hallazgo de liendres, ninfas y/o adultos de estos ectoparásitos, nos da un diagnóstico de certeza. Como los piojos que parasitan al hombre tienen territorialidad definida, se realizará la búsqueda en las áreas del cuerpo que cada especie habita.

TRATAMIENTO

Se debe realizar el tratamiento siguiendo algunas premisas generales, como por ej: aplicar el producto sobre las personas y/o sus ropas de vestir, o ropas de cama, no al mobiliario, pisos, ni paredes ya que en ellos no sobreviven los piojos. Debemos tratar también a todos los individuos que conviven o están en contacto con la persona infestada. Y repetiremos el tratamiento cada 7 o 10 días, de manera tal que podamos ir cubriendo todo el período que dura el ciclo biológico.

Para que el tratamiento sea eficaz, en el caso de *Pediculus humanus capitis*, deberemos combinar el uso de productos pediculicidas con el uso del peine fino.

Básicamente los pasos a seguir para combatir la pediculosis son:

- 1) Aplicar el piojicida siguiendo estrictamente las instrucciones del prospecto.
- 2) Enjuagar muy bien el pelo.
- 3) Peinar el cabello con peine fino, preferentemente metálico, ya que éste tiene los dientes muy juntos y permite arrastrar ejemplares adultos, ninfas e incluso liendres. Esta tarea debe realizarse con mucha paciencia y en forma habitual, se recomienda hacerla dos veces al día.
- 4) Algunos especialistas sugieren que en el último enjuague se agregue una parte de vinagre por cada dos partes de agua, esto permitiría ablandar el cemento con el cual están adheridas las liendres al pelo, pero no previene el contagio.

Si bien el tratamiento individual es efectivo, no debemos olvidar que la pediculosis es una enfermedad comunitaria y por lo tanto debe controlarse en forma colectiva, reduciendo así su incidencia en la comunidad.

El estudio de ésta enfermedad parasitaria demuestra que la mayoría de los tratamientos fracasan; no existiendo un control químico exitoso sobre *Pediculus humanus capitis*.

El problema que aparece en forma periódica es el cambio que se va produciendo en éstos parásitos, apareciendo cepas resistentes de piojos a los productos disponibles para eliminarlos. Además ésta situación se agrava porque muchos padres frente a ésta falta de respuesta satisfactoria de algunos tratamientos, incrementan el número de aplicaciones o las dosis, lo que aumenta el riesgo toxicológico en forma innecesaria y aumenta aún más la resistencia.

En el año 1943 comenzó el control químico utilizándose el insecticida DDT, luego se usaron entre otros el lindane, la permetrina y actualmente la d-fenotrina.

Gracias a los estudios realizados en el año 2000 por el CIPEIN (Centro de Investigaciones en Plagas e Insecticidas) en Bs. As. detectaron que los piojos son entre 165 y 655 veces mas resistentes a la permetrina y a otros piretroides que hace 15 años, cuando se comenzaron a usar estos insecticidas en el país.

La resistencia de algunas poblaciones de piojos es preocupante debido a la baja disponibilidad de compuestos alternativos eficientes.

La Sociedad Argentina de Pediatría, a través de su comisión de Dermatología aconsejó NO usar productos veterinarios para tratar a los niños. Hay en el mercado unas pipetas popularmente reconocidas para pulgas, piojos y garrapatas de uso animal, que las están utilizando como alternativa de tratamiento, al ver que con los productos pediculicidas comunes no se obtienen los resultados esperados.

Estos productos contienen insecticidas del grupo de los Organofosforados (Clorpirifos), Piretrinas (permetrina y cipermetrina) y compuestos Cloronicotinílicos (Imidaclopid) en altas concentraciones, de manera tal que, solo unas gotas son suficientes para el tratamiento de las mascotas. Los efectos tóxicos para el ser humano se pueden ocasionar por la absorción cutánea o la ingestión accidental. Pueden ser de tipo local produciendo eritema, alopecia y prurito; o de tipo sistémicas dependiendo del insecticida utilizado.

Los que contienen organofosforados inhiben a la enzima acetilcolinesterasa y pueden provocar: vómitos, diarrea, visión borrosa, broncoespasmo, debilidad, fatiga, incluso parálisis de los músculos respiratorios, bradicardia, hipotensión etc.

Los fabricados con piretrinas funcionan como bloqueantes de los canales de sodio y pueden producir, si se los ingiere, conjuntivitis, rinitis, faringitis, vómitos, etc. Son muy alergénicos.

Los que contienen cloronicotinílicos, funcionan como antagonistas de los receptores nicotínicos de acetilcolina y pueden llegar a provocar incoordinación motora, náuseas, diarrea, temblores, dificultad respiratoria, etc.

Cabe recordar que las sustancias inflamables como el kerosene y la gasolina, antiguamente utilizados, no deben ser usadas nunca.

Un buen pediculicida debe reunir ciertas condiciones: tener eficacia terapéutica, baja toxicidad, precio comercial económico y no ser antiestético en su aplicación; los investigadores de distintos lugares están abocados a desarrollar un producto con estas características.

Los investigadores del CIPEIN están trabajando hace muchos años en un proyecto de investigación para evaluar en el laboratorio la susceptibilidad a insecticidas, a fórmulas piojicidas y también desarrollar nuevos productos menos tóxicos.

Las nuevas formulaciones pediculicidas tienden a mejorar los excipientes para que optimicen el principio activo; para ello estudiaron alcoholes alifáticos de cadena larga como el dodecanol que junto a la d-fenotrina son muy efectivos. El daño cuticular producido por el alcohol favorecería la penetración del insecticida, lo que haría muy efectiva esta fórmula.

En el año 2001 se comercializaron con gran éxito pediculicidas que contenían ésta fórmula, aproximadamente el 65% de los piojicidas vendidos contenían d-fenotrina. En el año 2002 se comenzaron a estudiar distintos aceites de plantas aromáticas, algunas de ellas son: menta, lavanda y eucalipto.

A fines del año 2004 y comienzos del 2005 investigadores de CIPEIN y un laboratorio privado desarrollaron una nueva fórmula pediculicida basada en el uso de aceites esenciales como principio activo. El desarrollo de esta novedosa formulación, a diferencia de los productos disponibles, no contiene insecticidas químicos y demostró ser 100% efectiva para combatir a los piojos. Para este nuevo producto se testearon más de 30 aceites esenciales de plantas de todas las provincias argentinas y se eligieron dos: el del eucalipto y el del limonero. Este aceite esencial fue denominado Leem H26.

La Dra. María Inés Picollo bióloga a cargo del la División de Entomología del CIPEIN afirma que, "el producto es natural y mucho más seguro".

Los resultados fueron del 100% de efectividad comparada con el 5 a 50 % observada en los productos cuya fórmula contiene permetrinas.

Cabe destacar que también se hicieron estudios clínicos para evaluar efectos adversos en el niño, verificando la ausencia de irritación dérmica, irritación ocular y toxicidad

En este último año se continuaron los estudios en el CIPEIN y demostraron que una nueva formulación en base a aceites esenciales cítricos es 100% efectiva, para combatir piojos y liendres. Se ha demostrado que cuando los aceites esenciales cítricos entran en contacto total con las liendres, por un determinado período de tiempo, interrumpen el desarrollo de los huevos, evitando que estos eclosionen y se desarrolle un nuevo piojo.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Para controlar la pediculosis debemos tomar ciertas medidas de prevención, por ejemplo:

- 1) Evitar el contacto físico con personas afectadas, sus ropas, camas o ciertos objetos de uso personal como son: peines, cepillos, gorras, toallas, bufandas y otros accesorios.
- 2) Llevar el cabello recogido o corto, aunque muchos autores coinciden con que la longitud del pelo no es determinante para la presencia de piojos, pero sí facilita la tarea del peinado diario.
- 3) Examinar periódicamente la cabeza de los niños, especialmente la zona occipital y detrás de las orejas.
- 4) Utilizar gorras de baño en piletas y natatorios.
- 5) Adquirir el hábito del peinado diario con peine fino, esta medida aunque parezca muy simple fue la conclusión de las Primeras Jornadas Internacionales para la Prevención y control de la Pediculosis realizadas en 1996, en Bs. As.

Los piojos no respetan clases sociales, ni situaciones socio-económicas, ni distinguen nivel cultural, como así tampoco distinguen entre cabezas limpias y sucias. Nadie es inmune a ella, por eso debemos notificar los casos y hacer la consulta médica correspondiente

***Pediculus humanus capitis*: cambios en la prevalencia y situación en la Argentina.**

La pediculosis tiene distribución universal y es considerada una enfermedad endémica. En nuestro país afecta a gran parte de la población infantil y juvenil, los brotes ocurren con mayor magnitud en el comienzo de la estación fría, en los meses de marzo y abril coincidiendo con el inicio del período escolar. Además ocurren en comunidades de alta densidad poblacional y en grupos cerrados como pueden ser: guarderías, colegios, instituciones penitenciarias, colonias de vacaciones, clubes, etc.

Los estudios de prevalencia referidos a esta problemática son escasos, pero de gran preocupación debido al aumento del número de casos, probablemente como consecuencia del incremento en la resistencia.

Detallaremos algunos de los estudios realizados en nuestro país, a lo largo de estos últimos años.

Costamagna *et al.* (1989) determinaron una prevalencia del 67,8% de *Pediculus humanus capitis* en niños de edad escolar en una escuela periférica de la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, durante los meses de abril, mayo y junio. La prevalencia en función del sexo fue de 56,83% en mujeres y 43,10 % en varones.

Castro *et al.* (1994) realizaron en la provincia de Buenos Aires un estudio de la prevalencia mensual de la pediculosis capitis y su correlación estacional en una determinada población infanto-juvenil durante un año. Encontraron una prevalencia anual significativamente alta de 38,04% manifestándose todo el año. En los meses de verano (diciembre a marzo) se registraron los niveles más bajos de prevalencia 16,8%; en otoño (abril a junio) se mantuvieron constantes 45,9%; en invierno (julio a septiembre) se mantuvieron altas 42,9% y en verano (octubre a diciembre) 38,8%. La prevalencia máxima fue en el mes de agosto con un pico de 56,8%.

En octubre de 2006 se realizó en Buenos Aires el "Tercer Congreso Internacional sobre Phthiraptera", el cual mostró que esta enfermedad no es vista como tal, lo que deriva en un aumento de la prevalencia, es decir mayor cantidad de chicos con piojos y la mayor proporción son del sexo femenino.

Los resultados de los estudios realizados en escuelas públicas en Bs. As. demostraron que el 70% de las nenas de 6 a 8 años tiene piojos.

En un estudio realizado sobre 357 niños; el 40% de los chicos estaban infectados, con picos del 70% en niñas de 7 años y casi el 60% en los varones de 8 años.

La prevalencia en niñas es del 51,85%; en niños, 26,78%. Una posible explicación: por el pelo largo, es más difícil remover piojos en las nenas que en los nenes.

En otro estudio trabajaron con 45.000 niños de jardines de infantes (de 3 a 5 años) de la ciudad de La Plata y en escuelas con niños (de 6 a 12 años) en los años 1996 (38% de pediculosis), 1998 (45% de pediculosis), 1999 (48% de pediculosis) y luego se siguió un control de los grupos hasta la actualidad. La franja de ubicación suburbana es la de mayor incidencia de pediculosis (44%). Luego, dentro de esta área suburbana se eligieron dos barrios: uno de nivel medio bajo y otro indigente. El porcentaje de pediculosis fue de 60% en los indigentes y de 48% en el de nivel medio bajo.

Estos son algunos datos sobre prevalencias anual, por edad y sexo que hay en distintas regiones de nuestro país; estos estudios aportan datos epidemiológicos importantes y necesarios para conocer la problemática de esta enfermedad parasitaria y así poder realizar programas de control y prevención adecuados, para un futuro cercano.

BIBLIOGRAFÍA

Picollo ,M I. Riesgos y beneficios en el uso de pediculicidas. Rev. Entomol. Argent.58 (1-2.):238-242.1999.

Picollo ,M I. Pediculosis: la picazón que continúa. V Congreso Argentino de Entomología. 132-133.2000

Mougabure Cueto,G.; Vassena,C. ; González Audino,O; Picollo ,M I y Zerba, E. Efectividad de lociones capilares sobre poblaciones de *Pediculus capitis* resistentes a insecticidas. Acta Toxicol.Argent. 8(1):10-12.2000

Picollo ,M I ; Vassena,C; Casadio, J.; Máximo J. and Zerba E.. Laboratory Studies of Suceptibility and Resistente to Insecticidas in *Pediculus capitis* (Anoplura, Pediculidae) J.Med.Entomol.35: 814-817.1998.

Picollo ,M I; Vassena,C; Mougabure Cueto, Vernetti, M. and Zerba E. Resistance to insecticides and effects of synergists on permethrin toxicity in *Pediculus capitis* (Anoplura, Pediculidae) from Buenos Aires. J.Med. Entomol 37: 721-725.2000

Castro D. del C.; Abrahamovich A.; Cicchino A.; Rigoni, A.M.; Rafaela C.; de Barrio A. Prevalencia y estacionalidad de la Pediculosis capitis en la población infanto juvenil de la Región Sanitaria XI, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista de Saúde Pública 28(4):295-299.1994.

Abrahamovich A.; Cicchino A.; González A.; Castro D. del C y Mandez E. *Pediculus capitis*: Estudio sobre la influencia del sexo y la edad en la prevalencia anual, mensual y estacional. Archivos Argentinos de Dermatología 46: 91-96.1996

Maunder, J.W. The apreciation of lice. Proceedinngs of the Royal Institution of Great Britain. 55:1-31.1993

Bértoli de Visentini, M. Estudio de Anopluros en tres comunidades de Santa Fé. Revista Pest Report. 1(1):3-7.1991

Nuttall , G.M. The pathologgical effects of Phthirus pubis . Parasitology 10: 375-382.1918

Brisota Marcondes, C. Entomología Médica e Veterinária. Ed. Atheneu. Sao Paulo. Rio de Janeiro.432pp.2001

Castro D. del C.; Cicchino A. Anoplura en Biodiversidad de Artrópodos Argentinos.125-139.(Morrone,J. y Coscarón ,S.) Ediciones Sur. La Plata, Argentina.599pp.1998

PULICOSIS Y TUNGIOSIS

Ferrero Adriana Alicia
Gutiérrez María Mercedes

Reino: Animalia

Subreino: Metazoo

Phylum: Artrhopoda

Clase: Insecta

Orden: Siphonaptera

Familia: Pulicidae

Género y especie: *Pulex irritans*, *Ctenocephalis canis*, *Ctenocephalis felix*,
Echidnophaga gallinacea, *Xenopsylla cheopis*

Familia: Tungidae

Género y especie: *Tunga penetrans*

Las pulgas son insectos pertenecientes al Orden Siphonaptera. En Sudamérica están presentes dos familias Pulicidae y Tungidae. Las especies más importantes en relación a la salud humana de la Familia Pulicidae son: *Pulex irritans* (pulga del hombre), *Ctenocephalis canis* (pulga del perro), *C. felix* (pulga del gato), *Echidnophaga gallinacea* (pulga de la gallina) y *Xenopsylla cheopis* (pulga de la rata) y de la Familia Tungidae, la *Tunga penetrans* (pulga de la arena) (de Villalobos y col, 2000; Lareschi y col, 2005). Estos insectos pueden actuar como vectores biológicos de bacterias, virus y rickettsias, ocasionado enfermedades conocidas como la peste y el tifus. Además pueden actuar como huéspedes intermediarios de cestodes (Atias y Neghme, 1995).

Se denomina en general pulicosis al cuadro dérmico producido por las pulgas de la Familia Pulicidae y tungiosis a las manifestaciones clínicas producidas por la *Tunga penetrans*.

Los machos y las hembras adultos son ectoparásitos hematófagos; la ingestión de sangre estimula en el macho la unión sexual y en la hembra la maduración de los huevos (Autino y Lareschi, 1998). El ciclo biológico de las pulgas tiene una duración de 3 a 6 semanas en condiciones óptimas, pero frecuentemente dura varios meses, dependiendo de las condiciones ambientales y la especie. Son holometábolos pasando por los estados de huevo, larva, pupa y adulto.

Las hembras oviponen en el suelo o sobre el hospedador entre 300 a 800 huevos (de 0,3 a 0,5 mm), que se desprenden rápidamente. Son blancos, ovals, maduran entre los 2 a 21 días dependiendo de la especie de la pulga, de la temperatura y la humedad. Las larvas (4 a 10 mm) rompen el corión con la ayuda de una espina situada en la parte dorsal de la cabeza; blancas, carecen de patas y ojos, presentan un aparato bucal masticador, no ingieren sangre alimentándose de partículas de materia orgánica, restos de exuvias y heces de los adultos, que tienen sangre coagulada pues necesitan proteínas para poder desarrollarse inmediatamente. Las pulgas tienen tres estadios larvales con excepción de la *Tunga penetrans* que solo tiene dos. La duración del periodo larval varía entre 14 y 21 días. Las larvas dejan de alimentarse y mudan a pupas ovoides de 3 mm, son termoresistentes emergiendo los preadultos luego de una semana a un mes; a bajas temperaturas o en ausencia del hospedador permanecen quiescentes en sus capullos varios meses. Los adultos deben parasitar a un hospedador para alimentarse y lo hacen más de una vez por día pudiendo pasar bajo condiciones de alta humedad, largos períodos sin alimentarse.

Los adultos tienen el cuerpo dividido en cabeza, tórax y abdomen. La cabeza es pequeña y en general, está dividida en dos regiones separadas por dos fosas en las que se alojan las antenas, una región anterior cuya parte dorsal es la frente y la ventral la gena o mejilla y una región posterior u occipucio. A veces la gena puede estar provista de dientes de color moreno oscuro constituyendo el peine genal o ctenidio. Carecen de ojos pero pueden presentar ocelos. El aparato bucal es sucto-picador. El tórax con tres segmentos bien diferenciados presenta a veces, en el primero y tercer segmento ctenidios; patas largas y fuertes, estando las posteriores desarrolladas para el salto. Las pulgas pueden saltar hasta 40 cm verticalmente y hasta 30 cm horizontalmente, para poder parasitar nuevos hospedadores. El abdomen presenta los tres últimos segmentos modificados para la cópula y la ovipostura con caracteres

de gran valor para la identificación específica. El aparato genital de la hembra está constituido por una espermateca quitinosa, su forma y tamaño tienen importancia sistemática. El órgano copulador o edeago del macho es largo y arrollado en espiral y consta de dos pares pequeños de parámetros que le ayudan en el momento de la cópula.

Generalmente presentan en todo el cuerpo setas finas, espinas en menor número y formaciones cuticulares con una serie de dientes dispuestos en forma pennada (ctenidios). Todas estas estructuras se disponen con el ápice dirigido hacia atrás, de modo que participan activamente en la progresión hacia delante de las pulgas, mientras que las uñas y cerdas de las patas son fuertes para agarrarse al huésped.

Pulex irritans es vector de la peste bubónica. Carece de ctenidios y presenta la cabeza redonda. En el huésped produce reactividad cutánea, al comienzo no hay lesión, una vez sensibilizado el sujeto se produce una pápula eritematosa centrada por una petequia que corresponde al punto de penetración de las piezas bucales y suele persistir por varios días. Las pápulas aparecen en tobillos y muñecas. Luego una mácula, son todas muy pruriginosas; son menos frecuentes las vesículas, bulas y pústulas. En Argentina la intromisión de la peste se produjo en el año 1899 por medio de ratas infectadas con la enfermedad, venidas en un barco. Veinte provincias argentinas sufrieron focos epidémicos de peste en encuestas realizadas hasta el año 1950 (Autino y Lareschi, 1998).

Tunga penetrans es la pulga más pequeña (1 a 1,5 mm). Se la encuentra en el norte argentino donde es llamada niguá o pique. La cabeza termina en ángulo agudo, carece de ctenidios y los tres segmentos torácicos son muy angostos y el abdomen se subdivide en siete segmentos bien definidos, adquiriendo una forma puntiaguda en el macho y ovalada en la hembra.

La picadura de la hembra usualmente ocurre en áreas tropicales, donde la población camina descalza; la lesión habitualmente está en los pies. La pulga penetra debajo de la piel y pasa su gestación por 8 a 10 días, se forma un nódulo inflamatorio con cráter central siendo el tratamiento más adecuado la extracción con agujas.

Esta pulga hematófaga tiene poca especificidad de huésped; además del hombre puede afectar a aves de corral, perros y cerdos. Es por esto que se considera a la *Tunga penetrans* como parásito estricto de los animales homeotermos. El hábitat, donde más frecuentemente se halla, está constituido por suelo seco, arenoso,

sombreado y templado, así como por suelos de cobertizos, viviendas y establos de animales (ejemplo de los chanchos). Sin duda, la coloración pardo-rojiza de este parásito lo mimetiza perfectamente a su entorno (Argumosa, 1959). La *T. penetrans*, al ser un parásito hematófago, se alimenta de la sangre del huésped y aumenta de tamaño hasta alcanzar 0,6 a 1 cm, a expensas de un abdomen repleto de huevos (Botero y Restrepo, 1998). Durante siete a diez días, la hembra expulsa 150 a 200 huevos diarios a través de su orificio abdominal caudal, muriendo después de esta deposición y completándose así el ciclo (Argumosa, 1959).

En el huésped, las lesiones se localizan preferentemente en pies, sobre todo en espacios interdigitales, regiones sub y periungueales, dorso de pie y tobillo, debido a que los saltos que da son pequeños (Martínez, y col., 1992). Aunque en la mayoría de los casos la lesión es única, pueden darse infestaciones severas, que cursan con varios nódulos o incluso confluyen para formar placas (Guillen, 1994). Esto es particularmente importante en pacientes con lepra o diabetes por la ausencia de sensibilidad en partes acras, que conlleva a que padezcan serias complicaciones y a que las infecciones recurrentes no son infrecuentes (Eisele, y col., 2003).

Para poder diagnosticar la tungiosis se basará en la historia clínica del paciente, incluyendo viajes que haya podido realizar a zonas endémicas, en la morfología y localización de las lesiones, y por último, apoyándose en los datos obtenidos de la biopsia cutánea. En el estudio histopatológico se observará una epidermis hiperplásica rodeando una cavidad quística intraepidérmica con una cutícula eosinófila. La dermis presentará un infiltrado mixto de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Además, según los cortes histológicos realizados, pueden ponerse de manifiesto algunas estructuras internas del parásito, como pueden ser los anillos traqueales, secciones del tubo digestivo, etc. (Martínez y col., 1992).

El diagnóstico diferencial se realizará con patologías como la paroniquia aguda, escabiosis, dracunculosis, trombiculosis, miasis, picadura de *Pulex irritans*, úlceras tropicales severas, dermatitis por cercaria y foliculitis, e incluso, con verrugas plantares.

La prevención y el control de la pulicosis y tungiosis, consiste en un tratamiento integrado, teniendo en cuenta el medio ambiente y el hospedador. En el medio ambiente debe realizarse en forma mecánica (higiene de los ambientes), química (insecticidas) o por captura del ectoparásito. Sobre el hospedador puede ser mecánico con peine o químico con insecticidas (Lareschi y col., 2005). Se debe mantener las

casas en condiciones de limpieza perfecta. En el caso particular de la tungiosis, dado que la pulga se cría en terrenos arenosos o en suelos secos de tierra y se desarrolla fuera o dentro de las viviendas humanas para evitar la infestación, lo más eficaz es utilizar calzados cerrados y evitar sentarse o recostarse en los parajes donde habita esta pulga. Además es importante mantener el terreno húmedo mediante baldeos, rociar el lugar con repelentes, evitar la cercanía de los animales domésticos, realizar autoexamen diario con la finalidad de detectar las lesiones incipientes. En áreas endémicas, es importante desarrollar campañas educativas tendientes a mostrar las causas (ambientales y conductuales) que favorecen su desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA:

Argumosa. Enfermedades importadas: Tungiasis. En: Medicina Neotropical Afroamericana. Madrid: Ed. Paz Montalvo. 1959; pp,180-2.

Autino A.G y Lareschi M. Siphonaptera. 1998. En: Morrone J.J y Coscarón S. Biodiversidad de Artrópodos Argentinos. Ed. Sur. La Plata. Argentina. cap 27:279-290.

Botero D, Restrepo M. 1998. Parasitosis Humanas. Enfermedades causadas por Artrópodos. Tercera Edición, Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas. 387-402.

De Villalobos C, Gonzalez A, Coscarón M del C y Ranalletta MA. 2000. Pulícidos: aspectos adaptativos y biológicos. Arch. Argent. Dermato 50:59-65.

Eisele M, Heukelbach J, van Marck E, Mehlhorn H, Meckes O, Franck S, Feldmeier H. 2003. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil: I. Natural history of tungiasis in man. Parasitol Res 90:87-99

Guillén Z. Miasis. 1994. Miasis nasal producida por larvas de *Oestrus ovis* Linnaeus, 1758 (Diptera, Oestridae) en Lima, Perú. Rev Per Med Trop UNMSM ;8:115-6.

Lareschi M, González A y De Villalobos C. Siphonaptera-Pulgas. 2005. En Artrópodos de interés médico en Argentina. Serie Enfermedades Transmisibles. 1ra Ed. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano, cap12:85-89.

Martínez JA, Febrer MI, Quecedo E, Fortea JM, Aliaga A. 1992. Tungiasis. Act Dermosifiliogr 83:649-51.

Reyes H. En Atías A y Neghme A. 1995. Parasitología Clínica 3ra Ed. Editorial Mediterráneo. Santiago. Chile. cap.64:529-539.

SARNA SARCÓPTICA O ESCABIOSIS

Elena C. Visciarelli

La **escabiosis** o **sarna** sarcóptica es una parasitosis de la capa córnea de la piel causada por *Sarcoptes scabiei*, un ácaro que parasita numerosas especies animales con buena especificidad para cada una de ellas. Las especies de *Sarcoptes* propias de los animales (*S. scabiei cati*, *S. scabiei suis*, *S. scabiei equi*, entre otras) no parasitan al ser humano y si lo hacen es sólo transitoriamente; de igual modo, *Sarcoptes scabiei hominis*, agente etiológico de la sarna humana, es poco transmisible a los animales.

CLASIFICACIÓN

Phylum: Arthropoda
Clase: Arachnida
Orden: Acarina
Suborden: Astigmata
Familia: Sarcoptidae
Género: *Sarcoptes*
Especie: *scabiei hominis*

MORFOLOGÍA

Es un ácaro pequeño, aplanado dorsoventralmente, que presenta en su parte anterior un capítulo sobresaliente o falsa cabeza. La superficie dorsal del cuerpo es convexa y cubierta de cerdas orientadas hacia atrás, la ventral es plana. La hembra mide de 300 a 350 μm y el macho es mucho más pequeño, alrededor de 150 μm . Sus cuatro pares de patas se dividen en dos anteriores y dos posteriores cuya morfología permite distinguir machos de hembras. En ambos sexos, las patas anteriores tienen cerdas cortas que terminan en copillas; las posteriores presentan en las hembras cerdas largas sin copillas y en los machos cerdas largas sin copillas en el tercer par y cerdas cortas que terminan en copillas en el cuarto par.

CICLO BIOLÓGICO

Sarcoptes scabiei hominis completa su ciclo biológico, desde huevo hasta adulto en el hospedador humano, siendo el hombre el único reservorio del parásito. La hembra es fecundada en la superficie de la piel o en pequeñas excavaciones de refugio y luego perfora un túnel en la capa córnea de la epidermis. A medida que excava la galería, se alimenta del material córneo y va depositando los huevos (tamaño: 150 μm), tres a cinco por día, y sus desechos fecales. La hembra no puede abandonar el túnel ya que sus espinas dorsales le impiden retroceder, por lo tanto sigue avanzando y muere dentro de la galería una vez terminada la oviposición. Vive entre 30 y 45 días. Los huevos eclosionan en tres a ocho días emergiendo una ninfa hexápoda que sale a la superficie de la piel rompiendo el techo del túnel. En la superficie continúan su desarrollo mudando al primer y segundo estadio de ninfas octópoda. Los machos no pasan por el segundo estadio de ninfa octópoda y por eso son más pequeños que las hembras. El desarrollo postembrionario dura unos 15 días y el ciclo de huevo a adulto se completa en unas tres semanas. Machos y hembras copulan reiniciando el ciclo. *S. scabiei hominis* completa toda su vida en el hospedador humano y sobrevive poco tiempo en el ambiente exterior.

Según lo expuesto se destaca que:

- *S. scabiei hominis* es un parásito específico y permanente del hombre, con la capacidad de provocar las lesiones típicas de la sarna humana.
- Existen dos poblaciones definidas en el hospedador infestado: una superficial, constituida por las formas juveniles, y responsable de la transmisión de la parasitosis y una profunda representada por las hembras fecundadas y causante de la patología que se observa en esta parasitosis.

Patogénesis y Patología

El paciente con escabiosis presenta dos tipos de lesiones: **Directas**, propias de la acción del parásito e **Indirectas** que son debidas a la sensibilidad frente al ácaro.

- 1. Directas:** están representadas por los túneles que cava la hembra, por la reacción local frente a este daño y por las pequeñas excavaciones de alimentación y refugio que realizan los parásitos en la superficie de la piel.

En los túneles la hembra va depositando los huevos y los bolos fecales comprometiéndose generalmente la capa córnea de la piel, pero puede llegar al estrato espinoso.

Frente a este daño se produce el engrosamiento de capa córnea (hiperqueratosis), el aumento del número y de la profundidad de las papilas dérmicas (acantosis) y la formación de vacuolas serosas, muchas veces visibles macroscópicamente al final de los túneles, que reciben el nombre de "vesículas perladas de Bazin". Por lo tanto, las lesiones más típicas son los "surcos acarinos", líneas grisáceas y sinuosas de 1 a 15 mm de largo, que son el reflejo exterior de la galería excavada por la hembra y las vesículas perladas, del grosor de una cabeza de alfiler, producidas por la secreción del parásito. Estas lesiones se localizan más a menudo en los pliegues corporales, entre los dedos, en las manos, las muñecas, los codos, rodeando los senos y en las axilas, la cintura y parte inferior del abdomen, la ingle, pliegue interglúteo y nalgas, cara posterior de las rodillas, tobillos y entre los dedos de los pies. Respetan la cara y cuando se presentan lesiones son debidas a hipersensibilidad. Algunas localizaciones son electivas: en el varón, el prepucio y el glande (chancro escabioso); en la mujer, la areola (fuera de la lactancia, las lesiones bilaterales de ambas mamas hacen pensar en la sarna); en los niños menores de 2 años, las lesiones tienden a aparecer en la cabeza, el cuello, las palmas de las manos y las plantas de los pies.

Indirectas: son lesiones secundarias de hipersensibilidad que reciben el nombre de "prurigo acarino" o "prurigo parasitario". Se manifiestan como erupciones foliculares, papulosas con reacciones importantes de tipo hiperqueratósico que abarcan grandes extensiones del cuerpo, ya sea alrededor de los surcos acarinos o bien a distancia de los mismos. Son muy pruriginosas y por el rascado pueden producirse lesiones inducidas por microbios (piodermatitis, eczema, linfangitis, etc.)

En algunos pacientes puede presentarse una forma grave de sarna conocida como "sarna noruega", "sarna costrosa" o "sarna equina", caracterizada por una gran proliferación de parásitos y de lesiones hiperqueratósicas. La piel del hospedador adquiere un aspecto paquidérmico o de corteza de árbol con abundantes grietas, muchas veces sangrantes, costras y escoriaciones. Esta forma de sarna se presenta en pacientes con trastornos de respuesta inmune, lo cual posiblemente explique por qué el prurito no es muy intenso.

El periodo de incubación de la sarna es de una a tres semanas. Los síntomas generalmente incluyen:

- Picazón
- Surcos y vesículas.

- Piel escamosa o con costras (cuando la condición se encuentra avanzada).

La picazón es generalmente intensa y se acentúa durante la noche, después del baño o al cambiarse la ropa. También se exagera en situaciones estresantes. Suele ser el síntoma que lleva al paciente a la consulta.

Los surcos tienen una topografía característica, ya descrita, y se presentan como trazos sinuosos de algunos milímetros hasta 1,5 cm de longitud, delgados y ligeramente elevados. No se observan fácilmente a simple vista por lo cual hay que pincelar con tina o usar una lupa. Al final de los surcos suele verse la vesícula perlada.

Cuando la parasitosis está avanzada la piel se vuelve seca, escamosa y áspera. El prurito hace que el paciente se rasque produciendo lesiones de escoriación y de infección secundaria, entonces se suman costras, pústulas y placas eczematosas.

El prurito se debe a una reacción de sensibilización y no se relaciona en forma proporcional con el número de parásitos ya que puede adquirir gran intensidad aunque el número de ácaros en el hospedador sea muy escaso. Puede observarse un cuadro muy florido con tan solo diez hembras.

Los síntomas de la sarna pueden parecerse a los de otras condiciones de la piel, por lo que requiere de un diagnóstico diferencial.

En los casos de infestaciones humanas por *Sarcoptes* de animales, las lesiones son más benignas ya que no cavan túneles en la piel del hombre. Se autolimitan en una a tres semanas salvo que ocurran reinfestaciones.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la sarna sarcóptica se realiza por el examen clínico y por el análisis de laboratorio. El primero se basa en el tipo y topografía de las lesiones y en la presentación de casos similares en la familia o grupo conviviente. El segundo se fundamenta en la búsqueda de los parásitos.

El diagnóstico de certeza de esta parasitosis se basa en el hallazgo del parásito adulto, sus formas juveniles y/o huevos en muestras tomadas de la piel del hospedador. Muchas veces se observa también la cáscara o corion de los huevos eclosionados. Para recoger las muestras se recomienda la **Técnica del raspado de piel**:

1. Ubicar lesiones típicas de la sarna: los surcos y las vesículas o pápulas
2. Colocar una gota de aceite mineral (vaselina líquida, o aceite de inmersión) en un bisturí.

3. Dejar que el aceite fluya dentro de la vesícula, y que los ácaros se adhieran a él.
4. Raspar vigorosamente con bisturí 5 ó 6 veces para remover la parte superior de la vesícula (podrán aparecer hilos de sangre en el aceite).
5. Transferir el aceite y el material raspado a un portaobjetos.
6. Agregar 1 ó 2 gotas de aceite mineral sobre el portaobjetos y mezclar.
7. Colocar un cubreobjetos y observar al microscopio.

Se recomienda no utilizar en esta técnica KOH o agua sino aceite, que no disuelve los bolos fecales y permitirá reconocerlos como formaciones ovaladas, con un tamaño de 15 a 30 μm y de color marrón amarillento.

El raspado dérmico con bisturí no es recomendable en los niños porque les produce mucho temor. En estos casos se recomienda tomar la muestra mediante el Acaro-Test que utiliza para ello cinta adhesiva transparente. El método consiste en aplicar la cinta adhesiva sobre las lesiones típicas, previa escarificación suave, logrando que las escamas de la piel se adhieran a ella. Posteriormente se coloca la cinta sobre un portaobjetos y se observa al microscopio óptico en busca de los elementos diagnósticos.

EPIDEMIOLOGÍA

La sarna es una afección cosmopolita, extremadamente contagiosa que se encuentra a través de todo el mundo, entre gente de todo tipo de grupos y edades, y en particular en los estratos socio-económicos más bajos, donde las condiciones de higiene personal son inadecuadas y en las personas que viajan a menudo. El mayor número de casos se presenta en niños y adolescentes y afecta a mujeres y hombres por igual. El agente etiológico de la escabiosis humana, *Sarcoptes scabiei* *hominis*, afecta solo a los seres humanos, pasando de una persona a otra por contacto directo, frecuentemente íntimo (ETS según la OMS) o en forma indirecta (ropa de cama o de vestir contaminadas), lo que explica su transmisión familiar y la importancia que tienen el hacinamiento y la promiscuidad en su diseminación.

Es una ectoparasitosis frecuente y en los últimos años se ha registrado un marcado aumento que se explicaría, por lo menos en parte, por la ausencia de programas de vigilancia epidemiológica.

TRATAMIENTO

La sarna responde bien a las medidas terapéuticas y todos los miembros de un grupo familiar, conviviente o en estrecho contacto con el paciente, deben tratarse al mismo tiempo. El tratamiento puede incluir lo siguiente:

1- Escabicidas tópicos:

Son eficaces. Se aplican en capa fina sobre la superficie cutánea limpia y seca, cubriendo todo el cuerpo, desde el mentón hasta los pies. Se respetará únicamente la cabeza en niños mayores y en adolescentes pero no así en lactantes y niños mayores de 2 años. Se deben seguir rigurosamente las indicaciones del producto. El tratamiento se repite si aparecen signos de recidiva.

Los productos utilizados son:

- Permetrina crema al 5%: se deja actuar durante 8-12 horas previamente al baño.
- Crotamitón, crema o loción al 10%: se aplica una vez al día, 2 días, aclarando a las 48 horas de la segunda aplicación.
- Lindano 1%, loción: se mantendrá de 8 a 12 horas. Se presenta también en el mercado, una combinación de lindano y permetrina (champú y loción). Son productos tóxicos, por lo tanto, deberán observarse las contraindicaciones y precauciones de su uso.
- Ungüento de azufre precipitado en petrolato (2,5%): es una alternativa antisar-cóptica para niños, embarazadas y madres durante la lactancia, quimioterapéuti-camente eficaz y válida, especialmente para los países subdesarrollados por su bajo costo.

2- Escabicidas orales:

- Ivermectina, en dosis única de 200 mg/kg, ha demostrado alta eficacia, buena tolerancia y prácticamente ausencia de efectos colaterales. La simpleza y comodidad de la terapia con ivermectina aseguran la aceptabilidad y el cumplimiento del tratamiento por el paciente. Suele ser recetado para tratar la sarna costrosa.

3- Otras medidas terapéuticas:

- Antihistamínicos orales y corticosteroides tópicos: para el tratamiento del prurito que puede persistir varios días o semanas después del un tratamiento.
- Corticosteroides locales: para el tratamiento del exantema vesiculopustuloso que en ocasiones aparece en manos y pies a las 2-3 semanas de la curación.
- Antibióticos tópicos o sistémicos: para el tratamiento de las sobreinfecciones bacterianas.

Es importante lavar todas las prendas de vestir y ropa de cama con agua caliente y secarlas en una secadora a alta temperatura o exponerlas al sol. Los elementos que no pueden lavarse (por ejemplo, almohadas, peluches, etc.) deben colocarse en una bolsa plástica durante al menos una semana.

PROFILAXIS

Es de gran importancia realizar el diagnóstico correcto y conocer la epidemiología de la enfermedad para impedir su propagación. Se debe evitar el contacto directo con personas infectadas y compartir vestimentas o ropa de cama.

La denuncia de los casos a las autoridades sanitarias iniciará las acciones pertinentes para llevar a cabo, en forma oportuna, las campañas de prevención y educación de la población.

BIBLIOGRAFÍA

Basualdo J.A.; Coto C.E.; de Torres R.A. Microbiología Médica 2006. Ed. Atlante s.r.l. 2ª ed. 1537 p. Buenos Aires. Argentina. ISBN 950-9539-47-3

Chosidow O. Scabies and pediculosis. Lancet 2000; 355:819-26.

Chouela E, Abeldano A, Pellerano G, Hernandez MI. Diagnosis and treatment of scabies: a practical guide. Am J Clin Dermatol 2002; 3:9-18.

Chouela EN, Abeldano AM, Pellerano G, et al. Equivalent therapeutic efficacy and safety of ivermectin and lindane in the treatment of human scabies. Arch Dermatol 1999; 135: 651-655.

Giudice P. Ivermectin in scabies. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15:123-126.

6. Mahe A. Bacterial skin infections in a tropical environment. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14 :123-126.

DEMODECIDOSIS

Sixto Raul Costamagna

Phylum: Artropoda
Subphylum: Chelicerata
Clase: Arachnida
Subclase: Acarina
Orden: Acariforme
Suborden: Prostigmata
Familia: Demodicidae
Género: *Demodex*
Especie: *folliculorum*
brevis
canis
cati

La enfermedad conocida como demodécidosis es una parasitosis producida por artrópodos del género *Demodex*. Aunque su rol como patógeno es aún hoy tema de debate, efectuaremos algunas consideraciones que permitirán disponer de elementos de juicio suficientes como para decidir al respecto.

Demodex spp. parasita a caninos y felinos y a otros animales tales como caprinos, conejos, roedores, equinos, felinos, ovinos, etc., reconociéndose hasta el momento más de setenta especies con morfología y ciclo biológico similar, lo que dificulta el correcto diagnóstico de especie, con más de 200 hospedadores diferentes. Hasta el momento no se han reportado casos de infestaciones cruzadas, por lo que no se la puede considerar una zoonosis. No obstante, la probabilidad de existencia de híbridos podría ser factible, situación ésta que dificultaría la correcta determinación de especie.

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico del género *Demodex* es complejo, desarrollándose completamente en el hospedador ya que es un parásito obligado. Las especies parásitas del hombre son *D. folliculorum* y *D. brevis*.

La duración del ciclo, en el hombre es de 3 a 4 semanas, según la especie, aunque "in vitro" es de dos semanas aproximadamente, siendo el intervalo entre copulación y ovoposición de 12 horas. Del huevo, de aspecto fusiforme, emerge una larva I con tres pares de patas, inmóvil. Luego ésta se transforma en larva II quien también tiene tres pares de patas, aunque ésta ya se desplaza lentamente. En 6 a 7 días aparece una protoninfa con cuatro pares de patas, la que originará la ninfa II, con piezas bucales ya desarrolladas, para finalmente dar origen al estadio adulto, con diferenciación sexual y patas, aunque atrofiadas, ya completas.

El estadio adulto es transparente, alargado y mide entre 100 y 400 µm de largo y 40 a 50 µm de diámetro, cuerpo segmentado, con cuatro pares de patas atrofiadas y formado por una parte anterior: el prosoma o cefalotórax y de una parte posterior: el opistosoma o abdomen. El prosoma está compuesto por el gnatosoma que contiene las piezas bucales (boca, estiletes y pedipalpos) y el podosoma que contiene los cuatro pares de palpos motores o patas. El opistosoma constituye los 2/3 del largo total del parásito. No posee ano ni aparato excretor.

Los huevos miden de 30 a 40 µm de largo y presentan aspecto ovoide, con un extremo aguzado.

Su hábitat es la piel (preferentemente cutis grasa) las glándulas sebáceas y los folículos pilosos. Si bien se localiza preferentemente en nariz y párpados, se lo puede encontrar en cualquier región del cuerpo, inclusive la zona pubiana y tórax.

D. brevis se aloja preferentemente en las glándulas sebáceas y es más solitario (máximo de tres ejemplares por sector) y rara vez es hallado en el pelo del folículo. *D. folliculorum* es hallado con más frecuencia sobre la superficie de la piel, especialmente si ésta es muy grasa y en el canal polibáceo.

PATOGENIA

Desde que Owen en 1843 describe el *D. folliculorum*, su verdadero rol en patología dermatológica es aún tema de debate. Mientras algunos le otorgan rol de comensal,

otros, en cambio, lo señalan como el principal implicado en dermatitis humanas, sin descartar al *D. brevis*, quien también estaría involucrado en la producción de dermatopatías, especialmente rosácea.

El *D. folliculorum* y el *D. brevis* son ectoparásitos que pueden causar una variedad de desórdenes en humanos. *Demodex* suele ser considerado comensal en la piel humana. En hospedadores inmunocomprometidos se lo ha hallado asociado con leucemia linfoblástica aguda, en niños, donde producía dermatitis perioral y erupción demodécica con lesión primaria de 1 a 2 mm, áspera, pápuloeritematosa con finas escamas agrupadas en racimos con configuración en anillo o serpenteante. La escasa cantidad de casos reportados en población pediátrica, quizás se deba a la reducida actividad de las glándulas sebáceas en niños.

La vía de infestación se desconoce, aunque se supone que se trataría de contacto directo de persona a persona.

La mayoría de los autores correlacionan la concentración parasitaria (número de parásitos hallados por unidad de superficie estudiada), con enfermedad en el humano, no obstante estas relaciones cuantitativas aún suelen ser motivo de controversia.

En el hombre se lo ha implicado en la producción de: rosácea eritemoescamosa tipo pitiriasis, en la variante papulopustulosa o estadio III y en la variante granulomatosa y en blefaritis (rosácea ocular), dermatitis perioral, blefaritis y nódulos inflamatorios. *Demodex canis* (Leydig, 1859) parasita al perro produciéndole la "sarna demodécica" o "sarna folicular" o "sarna roja", enfermedad tegumentaria parasitaria inflamatoria, provocada por un aumento en la concentración de estos ácaros en la piel, la que puede ser focalizada o generalizada, siendo la primera de curso benigno, mientras que la generalizada suele estar acompañada de procesos neoplásicos e inmunodepresión. *Demodex cati* produce demodécidosis en el gato.

En medicina veterinaria la disfunción del sistema inmune ha sido asociada con Demodécidosis y depresión de células T.

Demodécidosis se ha observado en pacientes con alteraciones en las células T con incrementos en linfocitos CD4+ y CD5+ y disminución de los CD8+ en el infiltrado inflamatorio de la pared folicular y la epidermis. La depleción de LiT juega un rol importante en la susceptibilidad a la infección oportunista en estos pacientes. En pacientes tratados con inmunosupresores, las erupciones demodécicas ocurren durante estos períodos. También se lo ha encontrado asociado con lesiones papulares en cara

en pacientes con SIDA. El predominio de células T helpers en infiltrados dérmicos de pacientes con rosácea en asociación muy frecuente con *Demodex*, refuerza la hipótesis de que la respuesta inmune mediada por células juega un importante rol en la patogénesis de esta patología, asociada con este ácaro.

En pacientes con rosácea, con antígenos preparados con *D. caprae* se demostró la presencia de respuesta humoral en suero y en estudios inmunohistopatológicos se puso en evidencia IgG género-específica y un predominio de células T helpers en el infiltrado inflamatorio de las lesiones al igual que en casos de rosácea ocular.

En un estudio de casos que a la consulta presentaban rosácea o eccematide seborreica, y controles con piel normal y edades entre 20 y 53 años se encontró que en el 33% de los casos, *Demodex* sp. estaba asociado con enfermedad dermatológica: dermatitis perioral, rosácea, eccematide seborreica y en conducto nasal asociado a *Staphylococcus aureus*. En los controles se halló al ácaro solamente en el 3,3%. Odds Ratio: 14,5 Chi-cuadrado (con corrección de Yates):7,12 p: 0,007, para un límite de confianza del 95%.

En todos los casos estudiados observamos que siempre que se demostró la presencia del parásito, existía una disminución del estado anímico del paciente, stress y antecedentes cercanos o superpuestos de afecciones virósicas.

Al existir una asociación estadísticamente muy significativa entre las dermatopatías mencionadas y *Demodex* spp., que se produce una remisión de los cuadros luego de tratamiento específico para el ácaro, y que al estar asociado con situaciones de stress o virosis, podemos considerar al *Demodex* sp. un parásito oportunista, que en determinadas situaciones es capaz de agravar o producir dermatopatías, en especial rosácea, por sí mismo, comportándose en estas situaciones como un verdadero patógeno. La localización intradérmica del parásito favorecería esta situación. Además, el comportamiento inquieto del mismo, moviéndose desde la superficie de la piel hacia los folículos pilosos, facilitaría el ingreso, por arrastre o contaminación, de patógenos bacterianos que pudieran estar sobre la piel de las personas, produciendo infecciones bacterianas secundarias.

Estudios espectrométrico por fluorescencia de rayos-X de *Demodex* sp. obtenidos de piel humana demostraron la presencia de: Calcio, Titanio, Hierro, Azufre, Fósforo, Cobre, Níquel, Zinc, Potasio, Cloro, Magnesio, Aluminio y Silicio, correspondiendo al Cobre y al Hierro los picos de mayor intensidad, por lo que se puede sospechar que el

Cobre y el Hierro que poseen estos parásitos podrían contribuir a agravar los cuadros por reacciones alérgicas. (Costamagna, 2000)

DIAGNOSTICO

De acuerdo con nuestra experiencia, el diagnóstico suele ser accidental cuando se extraen muestras para exámenes micológicos, aunque para la búsqueda específica de este artrópodo hemos tenido buenos resultados con lo que hemos llamado "Graham en cara", que consiste en la aplicación de cinta adhesiva transparente sobre la cara, presionando lo suficiente como para que el parásito que pudiere estar sobre la piel o en la porción más externa de los poros pueda quedar adherido a la cinta; posteriormente esta cinta es adherida a un portaobjetos y observada al microscopio con objetivos de menor aumento, lo que permitirá detectar con facilidad el ácaro por su típica morfología y su gran tamaño.

Los lugares que preferentemente deben ser investigados son: las comisuras nasal y labial, frente, cejas, pestañas, mejillas, pómulos y alguna otra zona donde existan signos que permitan sospechar la presencia del parásito, tales como los llamados puntos negros, o acné, eritema, lesiones compatibles con rosácea, canal auditivo externo, cera de los oídos, etc.

El hallazgo de tan solo un parásito por este método, ya debe ser considerado como significativo, ya que se trata de la técnica de menor sensibilidad.

Existen otras técnicas más agresivas como la biopsia, pero que, precisamente por el cuestionado papel de estos ácaros, la concentración de los mismos es lo que podría definir su rol patógeno, que para la biopsia estaría por encima de los cinco ejemplares por centímetro cuadrado de piel estudiada; por este motivo se sugiere la utilización de la técnica descrita, por su baja sensibilidad, ya que solamente arrojaría resultados positivos cuando estemos frente a una alta densidad parasitaria.

La correcta tipificación de estos ácaros debe efectuarse utilizando claves, puesto que son morfológicamente muy similares; solamente señalemos como discreta característica diferencial, el hecho de que *D. folliculorum* es más delgado y largo que *D. brevis*. A los fines del diagnóstico clínico de Demodicosis determinando el género es suficiente.

Los huevos raramente son visualizados.

EPIDEMIOLOGIA:

Es un ectoparásito cosmopolita, generalmente hallado en la piel de adultos de más de 30 años. En Alemania, se halló *D. folliculorum* en folículos pilosos y glándulas sebáceas en el 29% de autopsias efectuadas. Las prevalencias de hallazgo dependen de la metodología utilizada en los diferentes estudios, oscilando entre el 20% y el 100%.

INMUNOPARASITOLOGÍA

Maria Ines Prat

GENERALIDADES

Las enfermedades parasitarias constituyen un problema de gran importancia sobre todo en las regiones tropicales, y en los países con un elevado índice de pobreza. Recordemos que los parásitos pueden clasificarse en: **protozoos**: unicelulares, que en su mayoría se comportan como intracelulares, y **metazoos**: multicelulares, fundamentalmente extracelulares. Si bien existe una gran diversidad filogenética entre todos, comparten algunas características biológicas:

- poseen ciclos de vida complejos: presentan distintos estadios evolutivos en los cuales cambian de morfología, composición antigénica e incluso pueden variar el tropismo por el tejido que invaden.
- las infecciones que producen son crónicas, pueden permanecer meses, años o toda la vida del individuo.
- algunas infecciones se presentan en forma asintomática. Durante este período asintomático el agente infeccioso sigue replicándose.

Para poder abordar la **INMUNOPARASITOLOGÍA** debemos considerar distintos aspectos:

- **Ciclo evolutivo del parásito**: si el ciclo es directo o indirecto, si existen hospedadores intermediarios, cuáles son las distintas formas evolutivas que posee el parásito y su localización (**intracelular**: *T. cruzi*, *Leishmania* spp, *Plasmodium* spp, *T. Gondii*, y *T. spiralis*), **intratisular** : *Cysticercus cellulosae*, *E. granulosus*, **de cavidades**: parásitos intestinales o **externa**: artrópodos). Además debemos tener en cuenta que ciertos estadios parasitarios tiene alta especificidad por el sitio donde se ubican (por ej.: esporozoítos de *Plasmodium*, las larvas de primer estadio de *T. spiralis*, estadios adultos de cestodos en intestino). La localización a su vez, puede ser permanente o temporal, de acuerdo al ciclo evolutivo del parásito.
- **Factores genéticos del hospedador**: algunos parásitos tienen una alta especificidad de hospedador, otros en cambio no. El *E. vermicularis* o el

Plasmodium infectan sólo al hombre. Otros son menos específicos, como *T. gondii* (parásito de aves y mamíferos) o el *T. cruzi* (hombre y mamíferos pero no aves). Por otra parte, algunos individuos son más susceptibles que otros a padecer infecciones parasitarias, por ej. *P. vivax* no penetra en glóbulos rojos grupo Duffy (-), y se ha detectado una asociación significativa entre HLA-B53 (que es una molécula de histocompatibilidad de clase I) y la resistencia a desarrollar formas severas de paludismo. Experimentalmente se ha demostrado en ratones que la resistencia a *Leishmania* está asociada a un gen no ligado al complejo mayor de histocompatibilidad, que controla la activación de macrófagos.

- **Antígenos de importancia en la respuesta inmune:** existen antígenos que son inmunodominantes, que generan respuesta inmune y pueden ser utilizados en el diagnóstico.
- **Mecanismos efectores de la respuesta inmune:** son generados en el hospedador para eliminar al agente agresor.
- **Mecanismos de escape:** son implementados por el parásito para evadir la respuesta inmunológica.
- **Inmunopatología:** muchas veces el daño que se produce en el hospedador es consecuencia de la respuesta inmune generada contra el parásito.

La respuesta inmune que genera el ingreso de un agente parasitario puede conducir a:

- **Inmunidad esterilizante:** es un tipo particular de respuesta. El individuo se infecta, el parásito se elimina por completo y el individuo queda inmune, por ej: *Nippostrongylus brasiliensis*, *Trichostrongylus*.
- **Inmunidad concomitante:** coexisten en el hospedador la respuesta inmune y el parásito. La respuesta inmune no es totalmente efectiva para eliminar el parásito, pero el hospedador es resistente a una nueva infección: *T. spiralis*.
- **Respuesta no efectiva:** esto ocurre en todos los casos de enteroparasitosis. La respuesta inmune no es capaz de eliminar al parásito y tampoco genera protección.

MECANISMOS EFECTORES DE LA RESPUESTA INMUNE

La inmunidad puede ser clasificada en **Inmunidad Innata** o **inespecífica** e **Inmunidad Adaptativa** o **específica**, cada una de ellas tiene características particulares (**Tabla 1**).

Durante el curso de una infección parasitaria se desarrollan ambos tipos de respuesta.

	INNATA	ADAPTATIVA
CARACTERISTICAS		
Especificidad	estructuras microbianas compartidas	todo tipo de antígenos, microbianos y no microbianos
Diversidad	limitada	muy extendida
Reactividad hacia lo propio	no	no
Memoria	no	si
Velocidad de reacción	rápida (horas)	lenta (días a semanas)
Calidad de la respuesta	constante	mejora con el tiempo
COMPONENTES		
Barreras físicas y químicas	piel, epitelio de mucosas, HCl	linfocitos epiteliales, anticuerpos secretados en mucosa
Proteínas séricas	complemento	anticuerpos
Células	macrófagos, neutrófilos, NK	linfocitos T (LT) y linfocitos B (LB)

Tabla 1: Características particulares de la Inmunidad Innata y Adaptativa.

INMUNIDAD INNATA

1. Mecanismos humorales:

Activación del Complemento (C): al activarse el C (**Figura 1**) se desencadena una potente reacción inflamatoria local que favorece la fagocitosis de parásitos opsonizados por C3b, o que permite la destrucción de los mismos por la formación del complejo de ataque a membrana. Los parásitos presentan en su superficie residuos de manosa, que son reconocidos por la proteína MBL (lectina que une manosa) y se inicia la activación por la vía de las lectinas. Este mecanismo es de importancia en la defensa contra parásitos extracelulares.

Factores solubles: los más estudiados son los factores líticos específicos para tripanosomas (TLF). En los seres humanos estos factores contribuyen a la resistencia contra *T. brucei* y son dos: TLF1 y TLF2. TLF1 está constituido por apolipoproteínas y proteínas relacionadas con la haptoglobina. TLF2 comparte algunas propiedades con TLF1. Se desconoce cuál es exactamente el mecanismo de acción, pero poseen actividad peroxidasa, lo que sugeriría que la lisis de los parásitos se produciría por daño oxidativo.

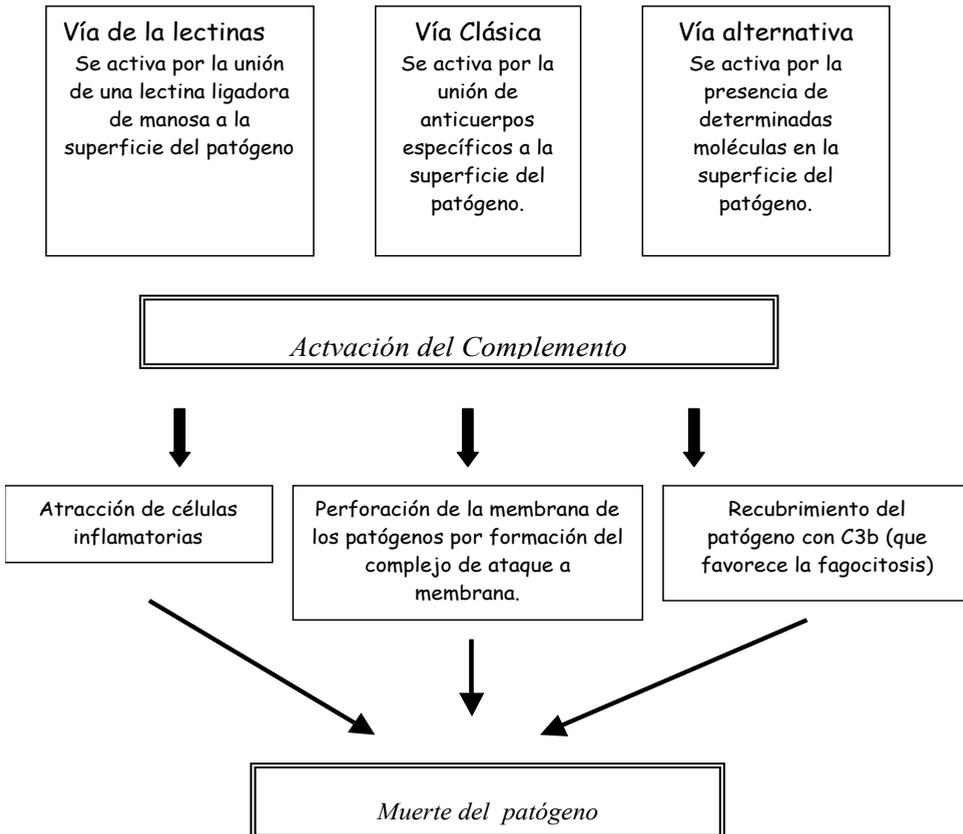


Figura 1: Vías de activación del complemento. Las vías de activación de la respuesta innata son la vía de las lectinas y la vía alterna o alternativa.

2. Mecanismos celulares (Tabla 2):

Fagocitosis mediada por macrófagos: los macrófagos constituyen la primer línea de defensa contra los protozoarios. Los parásitos son captados por los macrófagos, ya sea porque están opsonizados por distintos componentes del complemento o porque interaccionan con otro tipo de receptores, por ejemplo los de lectina tipo C (RLC). Una vez ingresado el patógeno al macrófago se produce en éste el estallido respiratorio, que conduce a la muerte del agente agresor. La capacidad de los parásitos para evadir o modificar esta función es crítica para su supervivencia. Por ejemplo *T. gondii* invade células del hospedador, forma una vacuola parasitófora que no se acidifica evitando así su destrucción. En el caso de los helmintos, si bien no pueden ser fagocitados por su tamaño, los macrófagos pueden intervenir en su destrucción cuando son activados por mediadores generados en la respuesta adaptativa (anticuerpos).

Rol de los eosinófilos: los eosinófilos se acumulan en los tejidos luego de una infección por helmintos. Si bien su mecanismo de acción aún no está definido su efecto protector estaría mediado por la liberación del contenido de sus gránulos (proteínas tóxicas ricas en arginina), la producción de intermediarios reactivos del oxígeno y la liberación de citoquinas. Como su respuesta es sumamente tóxica y puede dañar al hospedador existen varios mecanismos de control que tratan de limitar este daño. Los eosinófilos tendrían un efecto protector frente a las distintas especies de *Schistosoma* en las infecciones humanas, y en infecciones parasitarias experimentales en ratones con *Onchocerca* o *Brugia*. Es importante destacar que distintos estadios evolutivos de un mismo parásito pueden expresar diferente susceptibilidad a los eosinófilos. Estas células pueden actuar también a través de un mecanismo de citotoxicidad anticuerpo dependiente mediado por IgE.

Células NK: las células NK son linfocitos granulares grandes. Reconocen glucoproteínas de alto peso molecular presentes en la superficie de los patógenos. Cuando las células NK son activadas por la IL-12, producida por los macrófagos y células dendríticas activadas, generan gran cantidad de IFN- γ y TNF- α , que actúan sobre los macrófagos e incrementan su actividad microbicida. La producción de IFN- γ por las células NK se ha descrito en infecciones por *Leishmania*, *T. gondii*, *T. cruzi*, *E. histolytica* y *Plasmodium chabaudi*. El IFN- γ favorece el desarrollo de las respuestas hacia la subpoblación de LT helper 1 (TH1). Su acción es regulada en forma negativa por la IL-10 y TGF- β , que median una supresión importante para proteger al hospedador del daño producido por el IFN- γ . Además las células NK ejercen su acción antiparasitaria a través de los mecanismos clásicos de citotoxicidad mediada por granzimas (activan las caspasas que participan en los procesos de apoptosis) y perforinas (desestabilizan las membranas) o través del sistema Fas-FasL (las células NK almacenan FASL, cuando

se activan lo expresan en la superficie celular e interactúan con otras células que expresen a la molécula FAS en su superficie, esta interacción conduce a la apoptosis de esta última célula). Su activación está regulada por la disminución en la expresión de las moléculas de histocompatibilidad en la célula blanco.

Células NKT: las células NKT son linfocitos T, ya que expresan un receptor T ($\alpha\beta$) pero también expresan marcadores propios de las células NK. El receptor T es de escasa diversidad y reconoce glucolípidos presentados en el contexto de las moléculas de histocompatibilidad no clásicas: CD1. Existen dos poblaciones de células NKT, las que son CD4(+) y las CD4 (-). Las CD4(+) son fundamentales en la producción de IL-4 que polariza la respuesta hacia la subpoblación de linfocitos T helper de tipo 2 (LTH2). La participación de estas células en las infecciones parasitarias es controvertido. Se ha demostrado por ejemplo que animales resistentes a la infección por *L. major* presentan un incremento de este tipo celular en nódulos linfáticos, pero esto no ocurre en el caso de infecciones por *Trichuris muris*.

Células T $\gamma\delta$: son linfocitos T no convencionales (la mayoría de las células T expresa el receptor $\alpha\beta$) que están en baja proporción en sangre y órganos linfáticos periféricos, pero en alta proporción en los tejidos asociados a mucosa, vía importante de ingreso de antígenos parasitarios. Su número se incrementa en individuos parasitados con protozoos y helmintos. En modelos experimentales de infección por *Toxoplasma* o *Plasmodium* se demostró que estas células tienen una función protectora ejercida a través de la secreción de IFN- γ y TNF- α , induciendo la expresión de las proteínas del shock térmico HSP65 en macrófagos infectados.

TIPO CELULAR	RECEPTORES	MECANISMO DE ACCIÓN
Macrófagos	receptores de reconocimiento de patógenos (PPR), receptores para el fragmento Fc de las Inmunoglobulinas, receptores para el complemento	producen citoquinas y quimioquinas, destruyen patógenos por el estallido respiratorio, actúan como células presentadoras profesionales
Eosinófilos	receptores para el fragmento Fc de IgE y receptores para C3b del complemento	liberan enzimas tóxicas, participan en mecanismos de citotoxicidad anticuerpo dependientes

Células NK	receptor tipo lectinas	producen citoquinas (IFN- γ y TNF- α) y citotoxicidad mediada por granzimas y perforinas.
Células NKT	receptor T ($\alpha\beta$) que reconoce glucolípidos presentados por CD1.	producen citoquinas (IL4 e IFN- γ)
Linfocitos T $\gamma\delta$	receptor T ($\gamma\delta$)	producen citoquinas (IFN- γ y TNF- α)

Tabla 2: Células que participan en la inmunidad innata

Las células de la inmunidad innata (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas) reconocen patrones moleculares (PAMP) conservados, compartidos por los patógenos de un mismo género. En el caso de los protozoos, un grupo importante de PAMP son los lípidos de anclaje del tipo glucosilfosfatidil inositol (GPI). Los GPI de *T. brucei*, *L. mexicana* y *Plasmodium falciparum* estimulan en los macrófagos la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible y la secreción de TNF- α e IL-1. Los GPI de los tripomastigotas de *T. cruzi* estimulan la producción de IL-12 y TNF- α por los macrófagos, mientras que las formas epimastigotas presentes en el insecto no son capaces de hacerlo.

Actualmente el principal tema de investigación de numerosos grupos que trabajan en Inmunología son los receptores Toll. Estos receptores reconocen PAMPs y son importantes en las respuestas innatas antivirales y antibacterianas, pero no se sabe aún su importancia en las respuestas antiparasitarias. Existen alrededor de 11 familias de receptores tipo Toll (**Tabla 3**). Se ha descrito que ratones deficientes en el receptor TLR-2 son incapaces de producir IL-12, TNF- α y óxido nítrico al ser estimulados por GPI de *T. cruzi*, lo que parecería indicar que estos receptores estarían involucrados en el reconocimiento de estas estructuras. En el caso de ratones infectados con *L. major* se demostró que los parásitos sobreviven más en ratones deficientes en TLR-4. Un tipo particular de reconocimiento ocurriría en el caso de los helmintos, a través de un receptor Toll aún no caracterizado ya que poseen en su estructura proteínas altamente glicosiladas, que disparan respuestas innatas.

RECEPTOR	LIGANDO	TIPO CELULAR
TLR-4	lipopolisacáridos	macrófagos, monocitos, neutrófilos, células dendríticas y endoteliales
TLR-9	DNA con motivos CpG no metilados	monocitos y células dendríticas
TLR-3	DNA de doble cadena	células dendríticas
TLR-5	flagelina	epitelio intestinal, monocitos y células dendríticas
TLR-7	imidazoquinolinas	monocitos y células dendríticas
TLR-2, TLR-6	peptidoglucano, lipoarabinomano, porinas, lipoproteínas bacterianas, lipopéptidos bacterianos, mananos de levaduras, lipopolisacáridos (LPS)	macrófagos, monocitos, neutrófilos, células dendríticas.

Tabla 3: Algunos receptores Toll, sus ligandos y las células que los presentan.

El nexo entre la respuesta innata y la respuesta adaptativa: Las células presentadoras de antígeno (CPA).

La gran mayoría de las células del organismo tiene la capacidad de procesar proteínas y poseen moléculas de histocompatibilidad de clase I, por lo tanto pueden actuar como células presentadoras de antígenos (CPA) y presentar péptidos asociados a estas moléculas. Contrariamente son pocas las células del organismo que expresan moléculas de histocompatibilidad de clase II y pueden presentar péptidos a través de ellas. Estas células se conocen como CPA profesionales, y dentro de este grupo se incluyen a las células dendríticas (CD), los LB y los macrófagos. Las CPA profesionales difieren en la expresión de moléculas de clase II y en la expresión de moléculas co-estimuladoras (Tabla 4). En particular, las CD son las únicas células capaces de activar a los LT helper vírgenes.

TIPO DE CPA	EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE CLASE II	EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS CO-ESTIMULATORIAS
Células dendríticas (CD)	Constitutiva, aumenta en CD maduras	Constitutiva baja, aumenta en CD maduras
Macrófagos	Constitutiva baja, aumenta en macrófagos activados	Constitutiva muy baja, aumenta en macrófagos activados
Linfocitos B	Constitutiva baja, aumenta en LB activados	Constitutiva baja, aumenta en LB activados

Tabla 4: Algunas propiedades de las células presentadoras de antígenos profesionales

La respuesta innata es de suma importancia no sólo para un primer control de la infección, sino también porque ejerce influencia sobre el tipo de respuesta adaptativa que se va a desarrollar, en especial en cuanto a la diferenciación de células TCD4(+) en un perfil TH1 o TH2 (**Figura 2**).

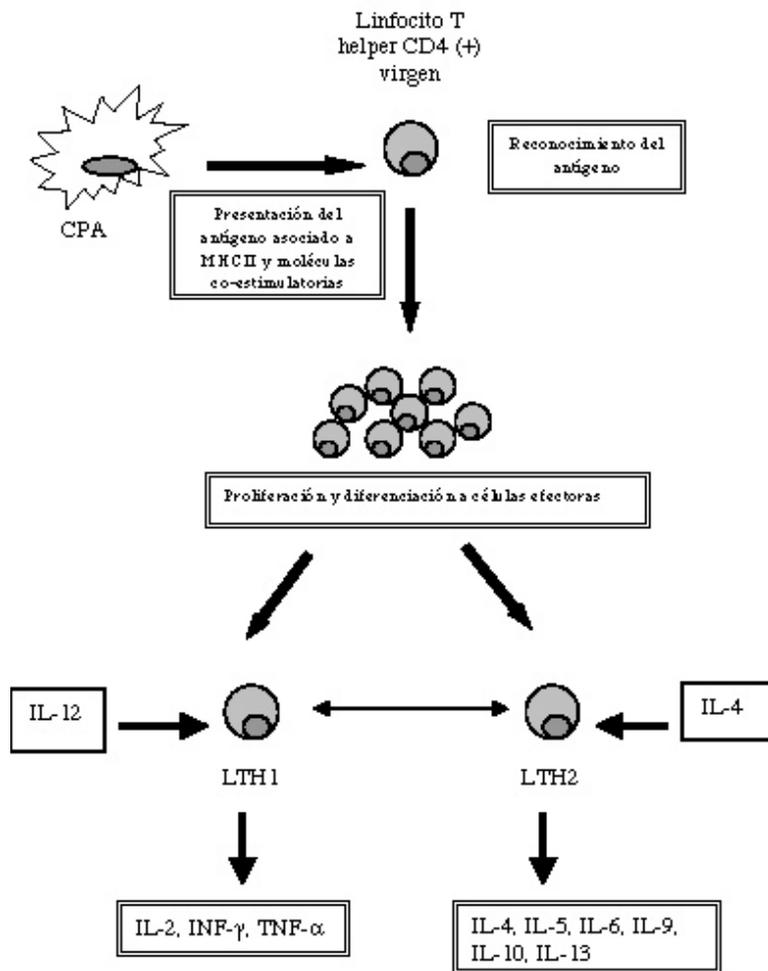


Figura 2: Polarización TH1/TH2. La línea punteada indica que las citoquinas producidas por una población linfocitaria inhiben a la otra. La IL-12 (producida por macrófagos y CD activadas) es esencial para la diferenciación hacia TH1, mientras que la IL-4 (producida por mastocitos y células NKT) es fundamental para la diferenciación hacia TH2.

Las células **TH1** favorecen el desarrollo de una **respuesta inflamatoria en tejidos periféricos**, cuya principal célula efectora es el **macrófago**. La activación de macrófagos es esencial contra patógenos que se ubican en sus vacuolas.

Las células **TH2** colaboran con los **LB** en los **órganos linfoides secundarios** para que estos se diferencien a células plasmáticas productoras de anticuerpos de los isotipos **IgG, IgA e IgE**.

Los helmintos disparan una fuerte respuesta TH2, asociada con altos niveles de IgE, eosinófilos y mastocitos en sangre y tejidos. Los protozoos intracelulares inducen respuestas TH1.

La primera observación respecto a la relevancia del balance TH1/TH2 para el control de los procesos infecciosos provino de estudios en infecciones murinas con *L. major*. La mayoría de las cepas de ratones presentan un fenotipo resistente a las infecciones. En cambio, otras cepas como las Balb/c fracasan en el control, desarrollando lesiones progresivas y enfermedad sistémica, y no presentan inmunidad frente a futuras re-infecciones (cepa susceptible). Estudiando entonces la enfermedad en las distintas cepas se determinó que la resistencia estaba asociada a la producción de IL-12 y una respuesta TH1. Este tipo de respuesta promueve la eliminación del parásito y la curación de las lesiones, ya que el IFN- γ liberado por los TH1 activa los macrófagos y favorece la capacidad de eliminar a los amastigotas intracelulares. En las cepas susceptibles, en cambio, la respuesta se polariza hacia los TH2, y se caracteriza por la producción de IL-4, IL-10, IL-13 y una baja producción de IFN- γ .

INMUNIDAD ADAPTATIVA.

La respuesta adaptativa humoral y celular se induce contra un amplio número de antígenos del parásito. Los mecanismos efectores de defensa varían según el tipo de parásito involucrado, es decir según si se trate de un parásito intra o extracelular.

1. Mecanismos efectores contra parásitos intracelulares

Citoquinas producidas por los LTCD4 (+): Dentro de estas la más importantes es el IFN- γ , particularmente de relevancia en las infecciones por *Leishmania*, *T. cruzi* y *Toxoplasma gondii*. El IFN- γ induce la expresión de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), con la subsecuente generación de intermediarios reactivos del oxígeno en las células infectadas. En el caso de los enterocitos infectados por *T. gondii* y estimulados por IFN- γ se reduce la disponibilidad de hierro y triptofano, factores limitantes para el crecimiento intracelular del parásito. En el caso de los hepatocitos invadidos por esporozoitos de *P. falciparum* el IFN- γ incrementa la producción de intermediarios reactivos del oxígeno y nitrógeno.

LTCD8(+): Estos linfocitos citotóxicos son importantes en el control de infecciones producidas por parásitos como *T. gondii* y *T. cruzi* que infectan células no fagocíticas que expresan sólo moléculas MHC de clase I. Los LTCD8(+) destruyen a las células infectadas que no son capaces de eliminar por sí mismas al patógeno. La acción citotóxica depende del sistema Fas/FasL, la liberación de los parásitos al destruirse la célula infectada permite que estos sean capturados por células fagocíticas profesionales con mayor capacidad parasiticida. Además los LTCD8(+) producen IFN- γ , que ya dijimos es una pieza clave en el control de las infecciones por *Leishmania* y en las etapas hepáticas de la infección por *P. falciparum*. La actividad de estos linfocitos sería trascendente en la resistencia a las re-infecciones.

Rol de los anticuerpos: Los parásitos intracelulares presentan etapas extracelulares de muy corta duración, durante el período inicial de la infección y al intentar invadir células nuevas. En estos momentos serían el blanco de ataque de los anticuerpos, que si bien no inducen una muerte directa de los patógenos restringen la infección al favorecer la captura del microorganismo por células fagocíticas (a través de la unión a sus receptores para el fragmento Fc) y/o bloquear la invasión de nuevas células. Se ha observado el desarrollo de una inmunidad natural adquirida frente a *P. falciparum* en ciertas zonas endémicas. En esta forma de inmunidad anticuerpos específicos para antígenos de los estadios asexuales de la sangre serían protectores ya que aglutinan glóbulos rojos infectados, inhiben la adherencia de estos a los vasos sanguíneos y/o bloquean la invasión de los glóbulos rojos. La acción protectora de estos anticuerpos queda demostrada ya que en áreas endémicas y durante los primeros meses de vida los hijos de mujeres infectadas presentan resistencia a la infección.

Otro ejemplo de la participación de los anticuerpos en la defensa contra algunos patógenos se encuentra en ratones deficientes en LB, que sucumben ante una infec-

ción por *T. gondii*, a pesar de que la respuesta celular es normal. Si a estos animales se les transfieren anticuerpos pueden ser protegidos de la muerte.

Todo esto sugiere que si bien los anticuerpos tienen un papel limitado en la resistencia contra los patógenos intracelulares y actúan complementando la inmunidad celular, se requiere de una respuesta humoral para conferir protección.

2. Mecanismos efectores contra parásitos extracelulares.

Es bastante difícil poder generalizar las características de las respuestas inmunes en este grupo de parásitos, con gran variabilidad de tamaño, tropismo celular y mecanismos de evasión. Aún más, podemos preguntarnos qué pasa en el caso de los helmintos intestinales o en el caso de aquellos parásitos que son tisulares pero tienen una fase intestinal. La resistencia tiene que ver con las respuestas TH2, mientras que la polarización TH1 tiene un efecto perjudicial. Los estudios de inmunidad frente a helmintos se están concentrando en las 4 especies principales de nematodos intestinales: *T. muris*, *Nippostrongylus braziliensis*, *T. spiralis* y *Heligmosoides polygyrus*.

Citoquinas: La principal interleuquina que participa en estos mecanismos de defensa es la IL-4. Se ha demostrado que si se administran anticuerpos contra IL-4 o contra su receptor se bloquea la capacidad del hospedador para controlar las infecciones primarias. En estos casos se induce una respuesta TH1, con producción de IFN- γ e IgG2a, y la inhibición de la respuesta asociada con TH2 (recordemos que la polarización hacia TH1 induce la producción de IgE e IgG1, eosinofilia y mastocitosis). Es decir que las respuestas TH1 promueven una mayor susceptibilidad a padecer infecciones por helmintos.

Otras citoquinas involucradas en la expulsión de los parásitos intestinales son la IL-13, la IL-9 y la IL-5. La IL-4 y la IL-13 promueven la expulsión de los parásitos gastrointestinales actuando sobre células no linfoides, como las células de la musculatura lisa, promoviendo su contractilidad. Además inducen la hiperplasia de las células de Goblet, el incremento en la producción de moco y cambios en la permeabilidad y en los procesos de adsorción y secreción. La IL-5 promueve la eosinofilia, mientras que la IL-9 la mastocitosis y la eosinofilia.

Eosinofilia y mastocitosis: En la mayoría de las infecciones por parásitos intestinales se observa eosinofilia y mastocitosis. Se ha demostrado sin embargo, que los eosinófilos no son necesarios para el control de la infección en los casos de *N. braziliensis*, *T. spiralis*, *T. muris* y *N. polygyrus*, pero si serían fundamentales en el caso de schistosomiosis. Los mastocitos no serían importantes en el caso de *N. braziliensis* y *T. muris* pero sí *N. polygyrus* y *T. spiralis*. Aún no han sido caracterizados los mecanismos por los cuales ambos tipos celulares expulsan a los nematodos, pero parece ser que generan una respuesta inflamatoria no específica, mediada por la secreción de proteasas y leucotrienos que contribuyen a crear un ambiente desfavorable para la sobrevida del parásito.

Participación de los anticuerpos: La importancia de los anticuerpos en el control de las infecciones producidas por parásitos extracelulares se ha demostrado por su capacidad para transferir una respuesta protectora. Como el nivel de anticuerpos adecuado se produce recién en las etapas tardías de la infección podemos decir que el rol de los mismos sería fundamentalmente el de la protección frente a las re-infecciones. Los anticuerpos de tipo IgG1 e IgE fueron implicados en la resistencia a *N. polygyrus* y *T. spiralis* respectivamente. La IgE sería importante también en el caso de *Schistosoma*, mientras que una respuesta en mucosa con elevado incremento de IgA, es esencial para el control de *Giardia*.

Muchas infecciones parasitarias provocan hipergamaglobulinemia inespecífica. Esto puede deberse a que muchos antígenos actúan como mitógenos policlonales de las células B.

Los anticuerpos participan en la citotoxicidad anticuerpo dependiente, por ej en infecciones causadas por *T. spiralis*, *S. mansoni* y filarias. Las células citotóxicas, los macrófagos, neutrófilos y eosinófilos se adhieren a los helmintos en presencia de anticuerpos por medio de los receptores para Fc y C3. Los eosinófilos son más efectivos en matar larvas recién nacidas de *T. spiralis*, los macrófagos son más eficaces contra microfilarias. La IgE puede mediar la muerte por eosinófilos y la IgG por macrófagos. No está claro el papel de los elevados niveles de IgE en infecciones por nematodos. Parecería que la IgE sensibiliza mastocitos y basófilos de la mucosa intestinal para producir el fenómeno de autocuración. Se postula que los antígenos de los helmintos tienen propiedades semejantes a la de los alérgenos ambientales, como su bajo PM y su punto isoeléctrico ácido y por eso son capaces de generar anticuerpos del isotipo IgE. Debe tenerse en cuenta también las características genéticas del hospedador.

MECANISMOS DE EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

Los parásitos son capaces de producir infecciones crónicas porque han desarrollado estrategias que les permiten evadir la respuesta inmune. Estas estrategias involucran por un lado la evasión del reconocimiento específico mediado por LT o anticuerpos y por otro la supresión de una respuesta innata o adaptativa.

Dentro de los mecanismos de evasión podemos destacar:

reclusión anatómica (ocupar espacios a los cuales no tengan acceso las células T o los anticuerpos): Algunos parásitos se ubican dentro de las células y evitan los efectos de los anticuerpos. El *T. gondii* y *P. falciparum* secretan proteínas que facilitan su internalización en células nucleadas y eritrocitos, respectivamente. Los eritrocitos maduros, no expresan MHC I ni MHC II, por lo tanto no pueden ser atacados por las células efectoras y los anticuerpos tampoco pueden penetrar en ellas. *T. cruzi* se aloja en corazón o músculo esquelético, células que no son reconocidas por las células CD8(+). Los parásitos que penetran en los fagocitos deben desarrollar mecanismos que les permitan evadir la muerte. *T. cruzi* en su estadio amastigota secreta una hemolisina activa a pH 5,5 que lisaría la vacuola parasitófora y permitiría el escape del parásito a citoplasma. El *T. gondii* impide que se desencadene el estallido respiratorio ya que secreta sustancias que participan en la formación de la membrana de la vacuola parasitófora. Estas sustancias lo protegen de la acidificación y fusión con los lisosomas, y facilitan una permeabilidad selectiva para permitir la nutrición del parásito. Las leishmanias entran pasivamente en los macrófagos y se multiplican en las vacuolas parasitóforas. La protección está dada por un lipofosfoglicano (LPG) que inhibe el estallido respiratorio, una superóxido dismutasa que degrada el anión superóxido de los peroxisomas del fagocito, una proteasa (GP63) que degrada las enzimas lisosomales y una fosfatasa ácida. Otros parásitos como *T. spiralis* se enquistan dentro de la musculatura del hospedador.

recubrimiento con antígenos del hospedador: Los helmintos recubren sus superficies con moléculas del hospedador para evitar ser reconocidos como extraños. Este fenómeno se conoce como **mimetismo molecular**. Los *Schistosoma* adsorben sobre su superficie antígenos de grupo sanguíneo, proteínas séricas y moléculas de MHC y DAF (factor acelerador del decaimiento). Otros parásitos sintetizan proteínas con epitopes semejantes a motivos presentes en las proteínas del hospedador que no inducen la activación de los LB o LT.

variación antigénica: Este mecanismo es compartido por varias clases de protozoos, como los tripanosomas africanos, *Giardias* y *Plasmodium*. Los antígenos involucrados son muy inmunogénicos, e inducen una respuesta rápida de escasa reactividad cruzada. El *T. brucei* produce ondas de parasitemia a diferentes tiempos post-infección, estas ondas son el producto del desarrollo de subpoblaciones de parásitos que expresan distintas formas de la principal glicoproteína de superficie llamada VSG (variant specific glycoprotein). En el curso de una infección se produce una fuerte respuesta capaz de eliminar los parásitos que expresan esa VSG y permite la selección o permanencia de los que han cambiado su expresión. Este cambio ocurre con mucha frecuencia, es aleatorio y no depende de la respuesta inmune. *G. lamblia* varía proteínas ricas en cisteína llamadas proteínas específicas de variantes (VSP). Los *Plasmodium* producen variantes antigénicas dominantes que aparecen en forma secuencial. En el caso de *P. falciparum* las formas variables de las proteínas derivadas del parásito se expresan en el glóbulo rojo y le permiten evadir la respuesta específica y la inespecífica. Estas proteínas son producto de unos genes llamados VAR. Se localizan en estructuras electrónicamente densas que le dan al glóbulo rojo infectado capacidad para adherirse al endotelio vascular. Este mecanismo evita el pasaje de eritrocitos infectados por el bazo, donde pueden ser reconocidos por los macrófagos esplénicos y eliminados.

capping: Los complejos antígeno-anticuerpo ubicados en la membrana celular se agrupan formando un casquete, cerca del aparato de Golgi, estos complejos luego son exocitados o endocitados por las célula. Este fenómeno ha sido descrito para *E. histolytica*, *T. cruzi*, *L. donovani* y *T. gondii*. La rápida distribución de los complejos antígeno-anticuerpo en la superficie celular puede determinar que los anticuerpos presenten una distribución espacial que impida la adecuada fijación del C o que se lleven a cabo otros mecanismos efectores como el de la citotoxicidad anticuerpo dependiente (CCAD).

alteración de una presentación antigénica adecuada: Los parásitos adultos de una filaria (*B. malayi*) secretan una proteína de 15 kDa perteneciente a la familia de las cisteínproteasas. Esta proteína bloquea la papaína y la endopeptidasa que participarían en la vía exógena de procesamiento de antígenos en células B. *T. gondii* inhibe la actividad de STAT-1, lo que conduce a una disminución en la expresión de moléculas MHC en células estimuladas por IFN- γ .

evasión, supresión y regulación de la respuesta inmune: Los parásitos son capaces de alterar la respuesta protectora generada por el hospedador a diferentes

niveles e interferir en los mecanismos efectores, tanto de la respuesta innata como adaptativa. Un ejemplo de esto encontramos en algunos helmintos que codifican proteínas homólogas a citoquinas humanas. Los parásitos adultos de *B. malayi* producen dos proteínas homólogas a TGF- β , que son capaces de unirse al receptor para TGF- β en las células de mamífero y suprimir el desarrollo de una respuesta adaptativa (recordemos la función de TGF- β , que es la de inhibir la expansión clonal de las células T). También producen un factor análogo a MIF (factor inhibidor de macrófagos). Las tenias emplean el ácido araquidónico endógeno o exógeno para sintetizar prostaglandina E2 y prostaciclina, que ejercen una actividad inmunosupresora. En casos de leishmaniosis se ha detectado una alta frecuencia de LT CD4(+)CD25(+) (LT reguladores) en los sitios de infección, donde persisten los microorganismos dentro de los tejidos. Estas células podrían servir para que el parásito prolongara su supervivencia. Se ha demostrado que la eliminación de los LT reguladores permite a los ratones recuperarse de una infección. Por el contrario también se ha observado en otros casos, que la presencia de estas células podría ser beneficiosa para el hospedador, ya que pueden modular los mecanismos inmunopatogénicos que muchas veces definen el carácter de la enfermedad, como vamos a ver más adelante.

Los antígenos solubles derivados de parásitos pueden producir una disminución de la respuesta. La inmunosupresión inespecífica es una característica de las infecciones parasitarias y se ha demostrado tanto para anticuerpos como para la respuesta mediada por células. Algunos parásitos producen factores bloqueantes de la cascada del C, como por ej, *T. taeniformes* o producen proteasas que clivan a las inmunoglobulinas, como *S. mansoni* y *F. hepatica*. En la enfermedad de Chagas la inmunosupresión puede deberse a la excesiva carga antigénica. En el caso de *Schistosoma* están suprimidas muchas respuestas inmunes: disminución de los LTH, disminución de la hipersensibilidad retardada, disminución de la proliferación ante mitógenos. Un factor producido por el helminto inhibe directamente la proliferación, y se ha demostrado la existencia de LT supresores. Los huevos del parásito inducen la producción de IL-10, que es una citoquina que inhibe la activación de los macrófagos, polarizando la respuesta hacia los LTH2. Los granulomas van disminuyendo con el tiempo y se cree que esto se debe a la menor producción de linfoquinas, por ejemplo, el factor que promueve la estimulación de eosinófilos (ESP). El *Schistosoma* posee un gen con homología para una hormona humana que posee propiedades inmunomoduladoras. En el caso de este parásito la IgE tiene un efecto protector, pero también se producen IgM e IgG que pueden bloquear la CCAD dependiente de IgE. La capacidad de los helmintos de estimular la producción de IgE puede ser perjudicial, ya que si hay mucha IgE inespecífica compite con la específica disminuyendo la posibilidad de estimular a las células cebadas.

En el caso de las filarias, los individuos son incapaces de montar una respuesta de hipersensibilidad inmediata protectora mediada por IgE y eosinófilos como resultado de la supresión de TH2.

resistencia al ataque del Complemento: Un ejemplo de esta resistencia aparece en *Leishmania* y *T. cruzi*. En el caso de *Leishmania*, existe una glicoproteína, la GP63, encargada de mediar la interacción entre la forma infecciosa promastigota y los macrófagos del hospedador. Además esta proteína tiene actividad proteasa e inhibe al C, convirtiendo al C3b en su forma inactiva, evitando la generación de C3convertasa y C5convertasa y la formación del complejo de ataque a membrana. Además *Leishmania* es capaz de cambiar la composición química de su membrana durante el pasaje de promastigota a la forma metacíclica infectante. Este cambio impide la inserción del complejo de ataque a membrana (se expresa la molécula LPG, cuya longitud impediría la inserción de C5-b9, produciendo su liberación y evitando la lisis celular). En el caso de *T. cruzi*, las formas epimastigotas son más susceptibles a la activación por las vía alterna del C, en cambio, los tripomastigotas metacíclicos son resistentes. El C3 fijado a la membrana del parásito se convierte en C3bi, impidiendo que se continúe la cascada de activación. Esta resistencia se debe a la expresión de la glicoproteína gp160, homóloga a la proteína DAF. La GP160 puede unirse a los componentes C3b y C4b e inhibir la continuidad de la cascada de activación. *S. mansoni* puede evadir el ataque incorporando la molécula DAF a su superficie.

control de la disponibilidad, número y función de las células efectoras: *E. hystolítica* al ponerse en contacto con los neutrófilos hace que estos reduzcan su movilidad, pierdan sus gránulos citoplasmáticos, desapareciendo posteriormente el núcleo. De esta forma se desactiva un componente clave en la respuesta inmune. *B. malayi* expresa durante su estadio de microfilaria un inhibidor de serín proteasas que bloquea la actividad de las proteasas que participan en la acción citotóxica mediada por neutrófilos. Algunos protozoos tienen la capacidad de evadir la actividad microbicida mediada por células fagocíticas, por ejemplo *Leishmania* penetra a los macrófagos a través de CR1 (que es un receptor del complemento), evade el estallido respiratorio y parasita dentro de la célula. El *T. cruzi* es capaz de escapar del fagolisosoma, expresa una proteína semejante a C9 que le permite romper la membrana del fagosoma y acceder al compartimiento citoplasmático.

La inducción de apoptosis en los linfocitos activados, tanto en sangre periférica como en órganos linfáticos secundarios permite controlar el número de células efectoras. Esto puede ser disparado por el propio hospedador, con la intención de eliminar

linfocitos infectados o mantener la homeostasis, o puede ser inducida por el agente infeccioso. Los mediadores de la apoptosis inducida por activación más estudiados son FasL y TNF- α , que pueden inducir apoptosis luego de actuar con sus receptores celulares Fas y TNFR-1. En una infección por *T. cruzi*, luego de la activación de LT a través de su receptor T, una fracción de células es eliminada. Como los LT son productores de IFN- γ la muerte de los linfocitos favorece la replicación del parásito. Durante la infección por *T. cruzi* se incrementa también la expresión de Fas y Fas-L en LT y LB. Si se administran anticuerpo anti FasL se impide el fenómeno de la apoptosis. El antígeno inductor de esta apoptosis sería la enzima transalidasa. Esta enzima se encuentra en grandes cantidades en sangre durante la etapa aguda de la infección, participa en el proceso de internalización y está implicada en el transporte del ácido siálico, necesario para la unión a la célula huésped. Esta formada por dos dominios uno catalítico y otro que es altamente antigénico y se denomina SAPA. Este antígeno es muy inmunogénico, genera muchos anticuerpos que no inhiben la actividad enzimática, por lo tanto se puede producir la internalización del parásito.

En células B activadas por infección con *Schistosoma mansoni* se observó un aumento de Fas-L. Estas células B ejercen un efecto supresor sobre los LT controlando su supervivencia.

El IFN- γ también puede inducir apoptosis de linfocitos activados ya que estimula la producción de factores inductores de la misma como el óxido nítrico y las moléculas Fas y FasL.

La eliminación de células efectoras también es perjudicial para el hospedador porque se cambia el perfil de citoquinas, por ejemplo en la infección por *S. mansoni* hay disminución de la respuesta TH1 y un aumento de la TH2, esto se atribuye a muerte prematura de las TH1.

liberación de antígenos: Estos antígenos pueden combinarse con anticuerpos neutralizando su acción, bloquear las células efectoras directamente por la formación de inmunocomplejos, pueden inducir tolerancia T o B, pueden producir una activación policlonal (mitógenos), o pueden activar células supresoras. Un ejemplo de esto es el *Toxocara canis*, que secreta gran cantidad de antígenos y cuya larva 2 puede permanecer viable en el ser humano por largos períodos. En las infecciones por protozoarios tisulares se genera activación policlonal e inmunosupresión (paludismo, enfermedad de Chagas, enfermedad del sueño). La activación policlonal vigorosa involucra linfocitos con distintas especificidades, algunos pueden ser efectivos contra el parásito y otros pueden ser autoreactivos y/o específicos para antígenos no relacionados. Esto también ocurre por ejemplo en el caso de la respuesta inmune dirigida contra los

tripanosomas africanos: los LB se activan masivamente y se produce gran cantidad de IgM (parecería ser que la proteína VSG actuaría como mitógeno produciendo una expansión masiva de LB).

Consecuencias inmunopatológicas de las enfermedades parasitarias.

Las manifestaciones inmunopatológicas de las infecciones parasitarias se originan en una respuesta inmune excesiva, inapropiada o no debidamente regulada. Como ejemplo de las complicaciones inmunopatológicas que pueden ocurrir en algunos individuos encontramos: el mega-esófago en las infecciones por *T. cruzi*, la hipertensión portal en *S. mansoni*, y el síndrome nefrótico en *P. malarie*. Varias moléculas efectoras asociadas al perfil TH1 pueden resultar perjudiciales si son producidas durante mucho tiempo o en lugares no apropiados. Dentro de estas moléculas son de especial importancia el óxido nítrico, IL-1, IFN- γ y TNF- α .

En estudios experimentales se observó que ratones deficientes en IL-10, inoculados con *T. gondii* o *T. cruzi* morían a las 2 semanas de la infección. En estos animales se encontró un menor número de parásitos, pero la mortalidad parecía deberse a los elevados niveles sistémicos de IFN- γ , TNF- α e IL-12. En el hígado de los ratones infectados se encontraron focos de necrosis e infiltrados celulares.

El TNF- α producido localmente en el sistema nervioso central es responsable del paludismo cerebral que causa la muerte en adultos y niños no inmunes. Los pacientes tratados con anticuerpos neutralizantes anti-TNF- α resuelven mejor los síntomas clínicos. Aparentemente la interacción entre TNF- α y el receptor TNFR de tipo II es crítica en el desarrollo de esta afección. El TNF- α media la expresión de ICAM-1 en el endotelio vascular, que induce la adherencia de los glóbulos rojos infectados a las endoteliales, fenómeno que desencadena la expresión de genes relacionados con la inflamación y la apoptosis.

En algunos casos las respuestas TH2 pueden ser nocivas. Una fuerte respuesta a anticuerpos puede producir la formación de altos niveles de complejos antígeno-anticuerpo y la génesis de lesiones tisulares asociadas con su depósito. Los eosinófilos asociados con la inducción de respuestas TH2 también están involucrados en las reacciones de hipersensibilidad asociadas a la filaria *O. volvulus*.

Se han detectado auto-anticuerpos contra eritrocitos, linfocitos y DNA en tripanosomiasis, que aparecen como resultado de la activación policlonal. Los anticuerpos contra el parásito pueden dar reacciones cruzadas con los tejidos del hospedador, se cree que estoe es lo que ocurre en la cardiomiopatía, el agrandamiento del esófago y el megacolon que se observa en al enfermedad de Chagas. La esplenomegalia y la hepatomegalia del paludismo, enfermedad del sueño y la leishmaniosis visceral

se asocian con un aumento del número y actividad de macrófagos y linfocitos en hígado y bazo.

El agrandamiento y la fibrosis del hígado en esquistosomiasis son consecuencia de la formación de granulomas alrededor de los huevos del parásito, que recuerdan una reacción de hipersensibilidad retardada, y de una fuerte respuesta TH2.

La inmunosupresión inespecífica explica el hecho de que personas que padecen infecciones parasitarias sean especialmente sensibles a las infecciones bacterianas y víricas, por ejemplo al sarampión.

Es fundamental entonces, no sólo generar una respuesta inmune lo suficientemente potente como para controlar una infección, sino inducir también una buena respuesta reguladora o supresora que impida que los mecanismos efectores produzcan daño.

BIBLIOGRAFÍA

Agudelo S, Robledo S. Revisión de tema: respuesta inmune en infecciones humanas por *Leishmania* spp. IATRELA vol 13, N° 3, 167-173, 2000.

Corradin S, Ransijn A, Corradin G, Bouvier J, Delgado MB, Fernández Carneado J, Montram JC, Vereres G and Maüel J. Novel peptide inhibitors of the leishmania gp63 based on the cleavage site of marcks (myristoylated alanine-rich C kinase substrate) related protein. *Biochem J*, 367, 761-769, 2002.

Cuevas IC, Cazzulo JJ, Sánchez DO. Gp63 homologues in *T. cruzi* surface antigens with metalloprotease activity and a possible role in host cell infection. *Infect. Immun.*, 71 (10), 5739-5749, 2003.

Fainboim-Geffner. Introducción a la Inmunología Humana. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. 2005.

Margni RA. Inmunología e Inmunoquímica. Fundamentos. 5° edición. Editorial Médica Panamericana. 1996.

Palau MT. Relación hospedero-parásito Trypanosoma cruzi. MVZ Córdoba, 5:(1), 33-37, 2000.

Parham. Inmunología. 2° edición. Editorial Médica Panamericana. 2006.

Rabinovich. Inmunología molecular: nuevas fronteras de la medicina. Editorial Médica Panamericana. 2004.

Regueiro González, López Larrea, González Rodríguez, Martínez Naves. Inmunología, biología y patología del sistema inmune. 3° edición. Editorial Médica Panamericana. 2002.

Roitt I, Brostoff J, Male D. Inmunología. 1° edición. Editorial MEDSI. 1987.

Roitt. Inmunología. Fundamentos. 10° edición. Editorial Médica Panamericana. 2003.

Russell DG. The macrophage attachment glycoprotein gp63 is the predominant C3 acceptor site on Leishmania mexicana promastigotes. European Journal of Biochemistry, vol 164, 213-221, 1987.

EL DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS

Sixto Raúl Costamagna
Javier M. Dupin

Toda vez que se intente realizar el diagnóstico de una Parasitosis, se lo puede orientar desde dos puntos de vista, DIRECTA E INDIRECTAMENTE:

1. **METODOS DIRECTOS:** Nos permiten encontrar al parásito o alguna de sus formas evolutivas (huevos, larvas, quistes, etc.). Estos métodos se pueden aplicar cuando el parásito se encuentra en zonas fáciles de investigar sin ocasionar mayores molestias al paciente. (Ej. Tubo digestivo, sangre, orina, biopsia, autopsia, mucus anal, líquido duodenal, esputo, médula ósea, ganglios linfáticos, lesiones mucocutáneas, úlceras, nódulos linfáticos, mucosa anal, flujo vaginal, líquido cefalorraquídeo, etc.).

2. **METODOS INDIRECTOS:** Estos métodos ponen de manifiesto la respuesta inmunológica con que el organismo parasitado reaccionó ante la invasión parasitaria. Existen varios métodos, entre los cuales podemos citar:

Pruebas de aglutinación:

- Reacción de hemoaglutinación indirecta
- Reacción de aglutinación al látex

Reacciones de precipitación:

- Precipitación en líquido
- Precipitación con elementos parasitarios
- Precipitación en gel: doble difusión, inmuno electroforesis y contra inmuno electroforesis.

Reacción de inmunofluorescencia indirecta

Reacción de Fijación de complemento

Reacción de Sabin Feldman

Intradermoreacciones

ELISA

ISAGA

Otros.

METODOS DIRECTOS PARA EL DIAGNOSTICO COPROPARASITOLÓGICO

Al análisis coproparasitológico (enteroparasitograma mínimo) lo podemos dividir en dos partes, igualmente importantes, que son:

- A. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL
- B. EXAMEN COPROPARASITOLÓGICO
 - a) Examen macroscópico
 - b) Examen microscópico
 - 1.Sin enriquecimiento
 - 2.Con enriquecimiento
 - 3.Con coloraciones (material fijado)

- c) Cultivos
- d) Inoculaciones
- e) PCR
- f) Test de inmunofluorescencia directa (TIFD)
- g) Otros. (CoA-Toxo, antígenos, etc)

Ambas partes del diagnóstico deben merecer nuestra correcta atención ya que una mala recolección del material, aunque sea acompañada de un muy buen examen de Laboratorio nos puede conducir a un resultado erróneo y a la inversa, si no se analiza correctamente la muestra (por falta de conocimiento o dedicación por parte del profesional Bioquímico), llegaremos a un diagnóstico de laboratorio erróneo con todo lo que ello significa para el paciente.

A. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL

En el enteroparasitograma, mínimo o «estudio coproparasitológico mínimo» se investigan, tres tipos distintos de muestras:

1. Heces conservadas y en solución Formol-Sal al 10% o con Alcohol polivinílico (PVA) o bien con soluciones: SAF, MIF o PAFS.
2. Heces frescas (sin fijadores)
3. Mucus anal

1. HECES CONSERVADAS (Técnica de DESCHIENS)

Heces formalizadas de 6 a 7 días (seriada). Las heces se recolectarán en un frasco de boca ancha, con tapa y limpio, de unos 150 ml de capacidad, con 50 a 70 ml de solución fisiológica formolada al 10% (Formol-Sal). Se recoge una porción de materia fecal de cada una de las deposiciones efectuadas durante 6 a 7 días consecutivos (o no), mezclándolos bien con el líquido conservador-fijador. La cuchara utilizada debe ser del tamaño de una cucharada de café. Se debe evitar tomar la muestra del inodoro para evitar contaminación con otras formas parásitas y con orina.

El formol actúa como fijador, desodorizante y fijador del material, permitiendo la identificación de muchos parásitos aún años después de haber sido recolectados; y el cloruro de sodio permite mantener la isotonicidad del medio que corresponde. Por este método se pueden estudiar bien los quistes de protozoarios y huevos o larvas de helmintos que no ven alterada su morfología. No obstante por este método no se pueden efectuar coloraciones sobre el material fijado. Coloraciones como la Tricrómica o Hematoxilina-Férrica requieren que el material sea recolectado en las soluciones de PVA o de SAF (ver más adelante forma de prepararlas).

Este método no se puede usar para el estudio de los trofozoítos de los protozoarios (formas vegetativas móviles) a los que altera y retrae haciendo imposible su clasificación. Además el formol inmoviliza y mata las amebas, impidiendo diferenciarlas por su movimiento; Aparte impide el diagnóstico de flagelados que no poseen quistes (*Trichomonas hominis*) y de otras amebas que tampoco los tienen (*Dientamoeba fragilis*). Tampoco es el método para investigar huevos de *Oxyurus vermicularis*.

Al ser seriada esta técnica permite el diagnóstico de las Parasitosis aún en las llamadas «fases negativas» de las mismas. (Las fases negativas son los períodos en los que el parásito no es eliminado por la materia fecal del hospedador).

Durante este período de recolección el paciente puede tomar BILIS DE BUEY para producir irritación de las vellosidades intestinales, ya que con esta maniobra se favorece la eliminación de los parásitos que se encuentran adheridos a las mencionadas microvellosidades del intestino, como ocurre con *Giardia lamblia*.

2. HECES FRESCAS (Técnica de SIMIC)

Por el método anterior se recolectaron heces durante 6 a 7 días; al séptimo día, por la mañana temprano, el paciente tomará una purga salina (no oleosa pues las gotas

de grasa interferirían con la observación microscópica). La purga puede ser sulfato de magnesio o limonada Rogé. Luego, durante las siguientes veinticuatro horas el paciente recolectará una porción de la materia fecal de cada deposición del día en el frasco con formol (T. de Deschiens) y otra porción en un frasco que contendrá solución fisiológica de cloruro de sodio, o solución Ringer y otra porción en un frasco que contendrá solución de PVA o SAF; Al octavo día enviará los tres frascos al laboratorio junto con el material que se explica más abajo para mucus anal.

Esta técnica tiene la ventaja de permitir el diagnóstico y diferenciación de formas vegetativas, que por la técnica de Deschiens no se podían observar vivas. Normalmente, al igual que el método de Deschiens, no es utilizado para la búsqueda de huevos de *Oxyurus vermicularis*.

3. MUCUS ANAL (Técnica de GRAHAM).

Se estudia el mucus anal que se adhiere a la cintilla de celofán adhesivo y transparente. Esto es importante pues, como veremos oportunamente, hay parásitos que como el *Oxyurus vermicularis* depositan sus huevos en la mucosa perianal de las personas durante la noche. Es por esta razón que si deseamos hallarlos deberemos buscarlos en el mucus perianal de las personas, obtenido a la mañana temprano y antes de que los pacientes se levanten de la cama.

Para realizar la búsqueda, se entregan al paciente 7 (siete) portaobjetos a los que se ha adherido previamente la cinta citada precedentemente. Se lo instruye para que a la mañana temprano y antes de levantarse de la cama, o en los momentos de mayor prurito anal, retire la cinta del vidrio y la coloque a modo de dedo de guante, con la parte engomada hacia afuera en uno de los dedos de la mano y proceda a apoyar ese dedo alrededor del ano, presionando levemente, con el objeto de que los huevos (o el parásito completo) del *O. vermicularis* que pudieren encontrarse en la mucosa perianal queden adheridos a la cinta. Luego la cinta se coloca nuevamente sobre el portaobjetos de modo tal que los huevos y/o el parásito queden «encerrados» entre el porta y la cinta. Se debe utilizar un portaobjetos por día. Una vez que tenemos los siete portaobjetos listos se remiten al laboratorio y una vez allí se procede a colocarlos directamente al microscopio óptico y se observa comenzando con 10X y siguiendo con 40X. Debe recorrerse la totalidad de los portas, salvo que en el primer campo hallemos algún huevo; de todas maneras es conveniente mirarlos a todos para tener una idea de la carga parasitaria.

Las cintas adheridas a los portas pueden ser aclaradas con xilol a tolueno.

Este método podría utilizarse también para el diagnóstico de *Tenia* sp., ya que los proglótidos de este parásito flanquean el esfínter anal y al hacerlo podrían quedar huevos adheridos al mucus anal.

Es conveniente tener cuidado en la manipulación de estas muestras pues pueden estar parasitadas. RESPETE LAS NORMAS DE BIOSEGURIDAD.

MUCUS ANAL (Técnica de las GASITAS)

En lugar de entregar al paciente, los portaobjetos con las cintas engomadas se entregan 7 trozos de gasa de 20 x 20 cm aproximadamente cada uno. Al igual que, en el Test de GRAHAM y por la misma razón, antes de levantarse de la cama el paciente tomará una gasita, la doblará hasta que quede de 5 x 5 cm de ancho aproximadamente y luego procederá a limpiarse la zona perianal.

El objetivo es recolectar los huevos que pudieren haber quedado adheridos a la zona perianal. Luego deja la gasa en un frasco que puede contener formol al 5%. Este procedimiento se repetirá durante siete días. Posteriormente se remite el frasco que contiene las siete gasas al laboratorio junto con los frascos que contenían las heces frescas y formoladas o con PVA.

Una vez que el material se encuentra en el laboratorio se procede al centrifugado del líquido donde están las gasas, hasta «volumen cero». Si las gasas no fueron remitidas en frasco con formol, en el laboratorio se le debe agregar.

TENER MUCHO CUIDADO PUES EL MATERIAL ES ALTAMENTE INFESTANTE.

No pipetee el líquido sobrenadante con la boca: Use propipetas o pipetas automáticas o algún otro mecanismo para protegerse.

Antes del centrifugado a «volumen cero» se deberá agitar con varilla de vidrio para desprender los huevos de las gasas. Este líquido debe estar en una cantidad que no supere a los 30 o 40 ml para no tener que centrifugar muchas veces ni perder sensibilidad en el método. Recuerde que si queda líquido sin centrifugar usted pierde sensibilidad. La velocidad de centrifugación será de 1500 a 2000 rpm por un lapso no mayor de los 3 a 5 minutos.

DIETA PREVIA: Siempre que se desee investigar enteroparásitos se deben evitar la ingestión de: verduras (acelga, espinaca, etc.), frutas cítricas (mandarina, naranja),

frutas con "cáscara aterciopelada", grasas en demasía deberán eliminarse, sustancias radioopacas, ya que estas sustancias o elementos producen artefactos que dificultan la observación microscópica y pueden generar falsos resultados tanto negativos como positivos, especialmente en personas no experimentadas ni cautelosas. Evite grasas, porotos, carbón, bario, bismuto (1 sem.), vaselina, talcos, etc.

NIÑOS Y BEBES:

Siempre que se trate de niños, consultar al médico pediatra respecto de la conveniencia o no de administrar purgantes al mismo.

En los casos de bebés el test de Graham o el de las gasas no se podrá efectuar, ya que utilizan pañales, por lo tanto en estos casos la mamá deberá traer el pañal no solo para el examen de las heces sino para investigar *O. vermicularis*, caso contrario se le explicará al familiar que tome una porción de materia fecal que no haya estado en contacto directo con el pañal o alguna sustancia perteneciente al mismo. Cada bebé o niño pequeño es un caso en particular debiendo el profesional Bioquímico analizarlo en forma independiente y contando con la colaboración de los padres.

Para la investigación del mucus anal, deberá explicárselo muy bien a la mamá o a su papá respecto de la posibilidad de contagiarse con la maniobra de recolección del material, razón por la cual los papás deberán extremar las medidas de higiene de las manos y uñas luego de efectuadas las recolecciones de materia fecal y mucus anal. Sea gráfico en la explicación al paciente. Evite intermediarios. Gesticule y asegúrese de que el paciente o la madre entendió las indicaciones. Utilice el mismo lenguaje que su paciente, evitando la utilización de terminología científica y de esta manera logrará buenos resultados diagnósticos.

RECUERDE QUE UN BUEN DIAGNOSTICO DE LABORATORIO COMIENZA CON UNA BUENA MUESTRA Y UNA BUENA MUESTRA COMIENZA CON UNA BUENA EXPLICACIÓN Y UNA BUENA EXPLICACIÓN TERMINA CUANDO NOS HEMOS ASEGURADO QUE EL PACIENTE NOS COMPRENDIÓ.

B. EXAMEN COPROPARASITOLÓGICO

a) EXAMEN MACROSCÓPICO

Se homogeniza la materia fecal diluida en un poco de solución fisiológica de cloruro

de sodio y luego se filtra por un colador de unos 10 a 20 cm, de diámetro, haciendo pasar un chorro de la misma solución diluyente para colar y poder observar mejor el material que queda retenido a ojo desnudo o con lupa. Cualquier forma sospechosa se retira con la ayuda de un ansa o aguja histológica para un estudio posterior más detenido. El material retenido en el colador ó malla de alambre y que no tiene importancia para nuestro estudio se desecha y con el filtrado se efectúan los exámenes que se indican a continuación;

b) EXAMEN MICROSCÓPICO

1. Examen microscópico sin enriquecimiento

- A. Se toman con un ansa o varilla de vidrio dos gotas de la materia fecal filtrada y diluida y se colocan en un portaobjetos. A una se le agrega una gota de colorante (lugol, MIF, lugol-Eosina) y a la otra no. A ambas se les coloca un cubreobjetos, y se observa al microscopio óptico, primero con 10X y luego con 40X buscando identificar al parásito o a alguna de las formas evolutivas de los mismos. Para la preparación de los colorantes mencionados, ver más adelante las fórmulas.
- B. Método seco de Mendoza (1993). Una variante del método A, "en fresco" es el "MÉTODO SECO" (Mendoza, 1993), que consiste en efectuar un extendido grueso y homogéneo de materia fecal en el centro de un portaobjetos. Dejar secar en un lugar seco y sin polvo, y una vez seco cubrirlo con una gota de aceite de inmersión bien diluido y observar con objetivos de 10X, 40X en microscopio óptico. Según los autores este método tendría un 18% más de sensibilidad que la observación en fresco señalada en el punto A.

2. Examen microscópico con enriquecimiento

Siempre que se desee aumentar la sensibilidad de los métodos descriptos, es conveniente concentrar el material con los llamados MÉTODOS DE ENRIQUECIMIENTO que concentran quistes y/o huevos por mecanismos físicos de flotación o centrifugación. Nosotros describiremos los siguientes:

- A. Método de RITCHIE
- B. Método de CARLES BARTELEMY
- C. Método de FAUST y Colaboradores.
- D. Método de WILLIS

3. Examen microscópico con coloraciones

Siempre que se desee estudiar en detalle la morfología de quistes ó trofozoítos de protozoarios (cromatina nuclear, flagelos, etc) se deberá proceder a la recolección del material (PVA ó SAF) y colorearlo siguiendo algunas de las técnicas para coloraciones que se señalan más adelante:

- Hematoxilina Férrica
- Tricrómica, Coloración de WAYSON y Tinción de VAGO
- Coloración para *Cryptosporidium*
- Para el caso en que se desee estudiar Helmintos, se procederá a efectuar el contraste del mismo ó mejor dicho su transparentización y posterior coloración para la mejor visualización de sus estructuras internas.

En el apéndice de técnicas el lector encontrará las fórmulas y los procedimientos operativos normales para la ejecución de las distintas coloraciones señaladas.

COLORACIONES

COLORACIONES PARA MATERIA FECAL

COLORACIÓN TRICROMICA DE GOMORI WHEATLEY Modificado

Lugol 5% en Alcohol etílico 70%	5 minutos (5 + 95)
Alcohol 95 %	3 minutos
Alcohol 95 %	3 minutos
Colorante	30 minutos
Ácido acético al 1% en Alcohol al 95 %	20 segundos (1+99)
Alcohol 100%	2 minutos
Alcohol 100%	2 minutos
Xilol	1 minuto
Bálsamo o DPX.....	Montar y luego de ser secado, observar con 10X, 40X y 100X.

Colorante:

Chromotrope 2 R	0,6 g
Light green SF.....	0,3 g
Ácido fosfotungstico	0,7 g
Ácido acético glacial (dejar 1 minuto) ...	1 ml.
Agua destilada	100 ml.

COLORACIÓN DE HEMATOXILINA FERRICA DE HEIDENHAIN

Solución I: Solución madre de Hematoxilina.

Hematoxilina 1 g
Alcohol etílico absoluto c.s.p. 100 ml

Mantener el colorante en frasco oscuro y tapado. Dejar madurar por lo menos una semana en lugar iluminado naturalmente.

Solución II: Sulfato de hierro amoniacal al 2%

Esta solución se prepara en el momento de usar, se filtra y se conserva en la heladera.

Solución de trabajo: se mezclan partes iguales de las soluciones I y II. Se conserva durante siete días.

Técnica para la COLORACIÓN de HEMATOXILINA FERRICA

Frotis de materia fecal preservados en PVA o SAF, delgados y secos.

Etanol al 70 % 5 minutos.*
Etanol al 70 % con lodo D'ANTONI (color vino oporto) 2 a 5 min.
Etanol al 70 % 5 minutos.*
Lavar en agua de red 10 minutos.
Solución de Hematoxilina-Férrica 4 a 5 minutos.
Lavar en agua de red 10 minutos.
Etanol al 70 % 5 minutos.*
Etanol al 95 % 5 minutos.*
Etanol al 100 % 5 minutos.*
Etanol al 100 % 5 minutos.*
Xilol o Toluol 5 minutos.
Xilol o Toluol 5 minutos.

Montar, secar y observar al microscopio óptico.

En los pasos señalados con: * el preparado puede quedar sumergido toda la noche.

CONTRASTE PARA HELMINTOS:

CARMÍN DE SEMICHON

Ácido acético glacial 1 volumen.
Agua destilada 1 volumen.

Agregar carmín en exceso. Hervir media hora. Enfriar y filtrar. Para su uso mezclar partes iguales de esta solución y alcohol etílico al 70%.

COLORACIÓN ESPECIAL PARA CRYPTOSPORIDIUM

A un frotis de materia fecal realizado con ansa y fino se lo fija con metanol durante cinco minutos. Se lo deja secar se lo puede fijar levemente a la llama del mechero de bacteriología. Luego se tiñe con carbol-fucsina (sin calentar) durante 25 minutos. Se lo lava prolongadamente con agua de red y se diferencia con Ácido sulfúrico al 10 % durante 55 segundos. Lavar exhaustivamente y luego contrastar con verde de malaquita al 5 % (o azul de metileno) durante no más de cinco minutos. Lavar con agua, secar a temperatura ambiente y para observarlo puede colocarse un cubreobjetos sobre la preparación con aceite de inmersión como adherente.

COLORACIONES PARA SANGRE

COLORACIÓN DE MAY-GRUNWALD-GIEMSA

1. Cubrir el preparado con solución comercial de May Grunwald durante tres minutos.
2. Diluir al medio con solución Buffer de fosfato de pH: 7 durante un minuto.
3. Lavar con agua de red.
4. Cubrir el preparado con solución de Giemsa (una gota por mililitro del buffer fosfato de pH:7) durante 10 minutos.
5. Lavar, Secar y observar con aceite de inmersión y con objetivo de 100X.

En el caso de que se desee colorear una GOTA GRUESA de sangre se procederá igual que lo descrito precedentemente para sangre, pero previo a la coloración se debe efectuar una DESHEMOGLOBINIZACIÓN de la muestra seca de sangre, colocando el portaobjetos con la gota gruesa en un frasco que contenga agua destilada en cantidad suficiente como para cubrir, todo el preparado y se lo dejará allí durante

quince minutos sin moverlo. Luego proceder a retirarlo CON CUIDADO. Secarlo al aire o en estufa de 37°C y luego colorearlo igual que si fuera un frotis sanguíneo. Secar y observar con aceite de inmersión y proceder a buscar las formas parasitarias que correspondiere.

COLORANTES PARA PREPARACIONES EN FRESCO DE HECES

LUGOL:

Yodo 5 g
Ioduro de potasio 10 g
Agua destilada c.s.p. 100 ml

Conservar en heladera.

Se mezcla la materia fecal con una gota de lugol y al observar al microscopio la preparación veremos que el citoplasma de los parásitos se tiñe de color amarillo; el glucógeno color caoba y la cromatina pardo negruzca.

TIONINA FENICADA

Agua fenicada al 2 % 4 partes.
Solución alcohólica saturada de Tionina 1 parte.

Si al preparado le agregamos una pequeña gota de lugol los núcleos se tiñen de azul intenso.

TIONINA DE FROST (sin lugol)

Tionina 1 g
Fenol 5 g
Ácido acético glacial 20 ml
Agua dest. c.s.p. 400 ml

Colorea el citoplasma color rosa violáceo, la cromatina azul intenso.

MIF: Preserva y tiñe Protozoarios.

Solución A:

Agua destilada 500 ml
Formol comercial 50 ml
Mertiolate 400 ml
Glicerina 10 ml

Solución B:

Yodo 5 g
Ioduro de potasio 10 g
Agua destilada c.p.s. 100 ml

Solución de trabajo (en el momento de usarla): se mezclan 23,5 ml de la solución "A" (94 %) + 1,5 ml de la solución "B" (6%).

FIJADORES-CONSERVADORES

S.A.F (Sol de JUNOD)

Preserva quistes, larvas y huevos de parásitos, como así también TROFOZOÍTOS.

Acetato de sodio 15 g
Ácido acético 20 ml
Formol comercial 40 ml
Agua destilada 1000 ml

P.V.A. (Poli-Vinil-Alcohol)

Fijador de SCHAUDINN:

Cloruro de mercurio (sat) 1,2% 2 partes.
Alcohol 95% 1 parte.

PRECAUCIÓN PUES EL CLORURO DE MERCURIO ES VENENOSO

SCHAUDINN modificado:

Ácido acético 50 ml
Glicerina 15 ml
Schaudinn c.s.p. 1000 ml

Solución de PVA:

Solución de Schaudinn mod. ... 100 ml
PVA (polvo) 5 g
Disolver a 75 °C agitando. La solución resultante de límpida o discretamente turbia (en lo posible límpida).

PAFS-PAF (Fenol-Alcohol-Formol-Sal)

Fenol 20 ml
Formol 50 ml

Alcohol etílico 125 ml
 Solución Fisiol 815 ml

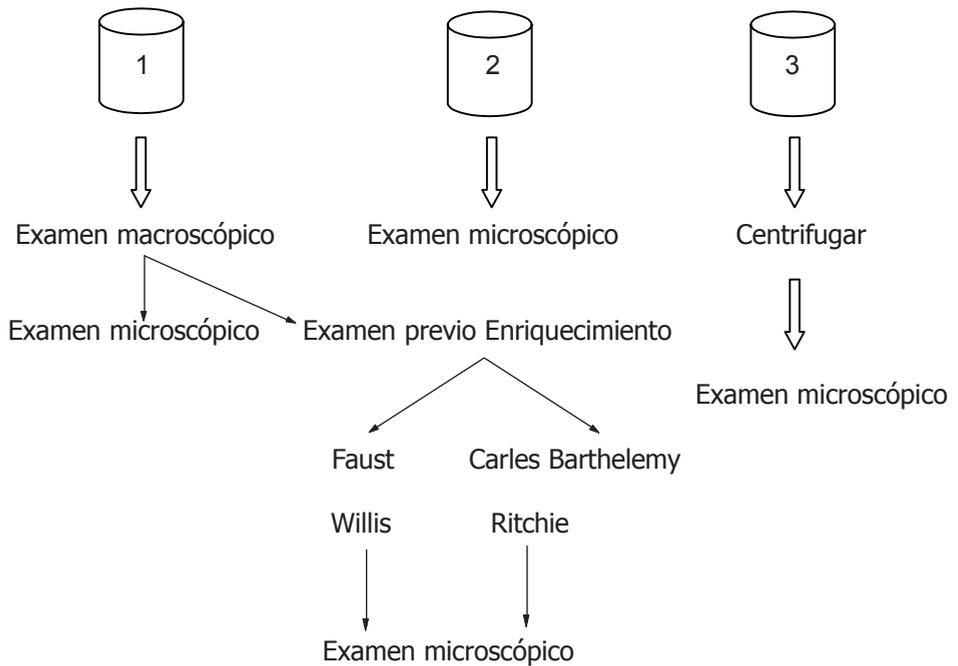
Colorante muy útil para destacar la cromatina nuclear en el caso particular de *Entamoeba coli* y *Entamoeba histolytica*. No solo es colorante sino que también fija y conserva elementos parasitarios.

MARCHA A SEGUIR PARA UN ENTEROPARASITOGRAMA MINIMO

HECES FORMOLIZADAS

HECES FRESCAS

MUCUS ANAL



MARCHA SUGERIDA PARA EL DIAGNOSTICO COPROPARASITOLÓGICO

Esta es solo una orientación respecto de la marcha a seguir para llegar al diagnóstico de laboratorio de las enteroparasitosis mediante la utilización de metodologías directas. El profesional Bioquímico, en base a sus conocimientos de las distintas Parasitosis, el estado del paciente, edad del mismo, presunción diagnóstica enviada por el profesional médico y al tipo de heces remitidas insistirá en determinados procedimientos diagnósticos. Un aspecto importante a tener en cuenta es el lugar de procedencia del paciente.

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la forma en que se procesará la muestra: MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD y, además, algo que epidemiológicamente es muy importante es la manipulación posterior de las muestras. **TODO EL MATERIAL DEBERÁ SER PERFECTAMENTE DECONTAMINADO ANTES DE SU DISPOSICIÓN FINAL PARA LA INCINERACIÓN DE RESIDUOS.**

TÉCNICAS DE CONCENTRACIÓN DE HECES

1. TÉCNICA DE RITCHIE modificada

En un tubo colocar partes iguales de solución fisiológica y formol al 10 % (10 ml aproximadamente).

Agregar un gramo de materia fecal previamente homogenizada y mezclar.

Filtrar por gasa doble.

Agregar 3 ml de éter. Tapar y agitar vigorosamente. Destapar CUIDADOSAMENTE evitando la proyección peligrosa de la materia fecal.

Centrifugar durante dos minutos a 2000 rpm.

Sacar de la centrífuga y eliminar con una maniobra brusca y golpe seco sobre la pileta las tres capas, de sobrenadante (éter, restos de materia fecal y formol salino). Al sedimento homogenizado de la materia fecal concentrada se lo observa al microscopio y se investiga respecto de la presencia o no de parásitos o de algunas de las formas evolutivas de los mismos. Si se desea, y de acuerdo a lo que se observa se puede diluir el concentrado con solución fisiológica o con formol salado al 5 %. Las observaciones microscópicas se efectúan con 10X y con 40X (preparaciones en fresco).

Este método sirve para quistes de Protozoarios, pero como resulta obvio, destruye a los trofozoítos de los mismos.

2. TÉCNICA DE CARLES BARTHELEMY

Esta técnica de concentración de heces se utilizará fundamentalmente para la búsqueda de Protozoarios.

Reactivos:

Solución "A":

Solución fisiológica de ClNa al 9% 90 ml

Formol comercia 10 ml

Solución "B":

Ácido cítrico 12 g

Formol comercial 2 ml

Agua destilada 86 ml

Esta solución deberá tener una densidad de 1.047

Solución "C":

Éter sulfúrico.

Técnica:

A dos o tres gramos de materia fecal de preferencia líquida o pastosa se agregan 10 ml de solución "A" y se mezcla bien con una varilla de vidrio, a fin de obtener una suspensión uniforme. Se filtra la suspensión anterior por gasa doble, recibiendo el filtrado en un tubo de centrifuga. Centrifugar durante 2 a 3 minutos a 2000 rpm. Decantar el sobrenadante agregando al sedimento (en el mismo tubo), solución "B" dejando actuar la misma por unos pocos segundos, y dejando lugar para agregar luego 2 o 3 ml de éter sulfúrico. El agregado de la solución "B" y el éter sulfúrico deberán dejar espacio para poder tapar el tubo y luego agitarlo vigorosamente. Luego de agitar se deja reposar hasta que la capa etérea vuelva a ocupar la parte superior. Centrifugar luego durante un minuto. Cuando sacamos el tubo de la centrifuga veremos que el éter tomó una coloración amarilla más o menos oscura debido a que el éter solubilizó las grasas y suspendió los restos fecaloides y vegetales, que por ser más livianos se van a la superficie, mientras que los huevos y quistes de parásitos, etc., más pesados que la solución "B" van al fondo. Conviene recordar que SIEMPRE QUE AGITEMOS MATERIA FECAL CON ÉTER SE VAN A PRODUCIR PROYECCIONES DEL MATERIAL INFECTANTE SI NO TENEMOS PRECAUCIÓN DE DESTAPAR LOS TUBOS CUIDADOSAMENTE. Deshacer el anillo con varilla de vidrio presionando contra las

paredes (raspando) del tubo, por si algún quiste, huevo etc., hubiera quedado retenido. Centrifugar rápidamente un minuto y medio. Al sacar el tubo de la centrífuga se verá el anillo etéreo-fecaloide, una capa de líquido y un pequeño sedimento. Imprimir al tubo un golpe seco para que el anillo etéreo se desprenda (igual que como se indicara para la técnica de RITCHIE). Luego, ayudado con un ansa o varilla de vidrio se remueve el sedimento y se hacen preparaciones entre porta y cubreobjetos y se procede a la observación al microscopio óptico con objetivos de 10X y 40X.

3. TÉCNICA DE FAUST Y COLABORADORES

Los huevos y larvas de Helminthos y los quistes de Protozoarios tienen la propiedad de flotar en la superficie de soluciones más densas (CINa, Azúcar, Sulfato de cinc). Se utilizará esta técnica preferentemente para la búsqueda de quistes de Protozoarios. El éxito depende fundamentalmente de la densidad del sulfato de cinc y de la pronta observación de las muestras, ya que el contacto prolongado con el sulfato de cinc deforma las formas parasitarias y por otro lado si no se procede a la inmediata observación del concentrado los parásitos sedimentan nuevamente.

Técnica

Preparar una suspensión de heces diluídas en agua corriente en una proporción de 1:10.

Filtrar a través de una gasa doblada en cuatro.

Pasar el filtrado a un tubo de centrífuga y centrifugar 2 a 4 veces a 2400 rpm. Hasta que el sobrenadante se observe claro.

Tirar el sobrenadante (agua) y agregar en su lugar el sulfato de cinc de densidad 1.182 g/L (o al 33% en solución acuosa). Centrifugar a 2400 rpm por un minuto, tomando el tiempo cuando la velocidad señalada se haya alcanzado en la centrífuga.

En la capa superficial han quedado flotando los elementos que deseamos observar. Luego con un ansa sacamos el material y los colocamos entre porta y cubreobjetos y lo observamos al microscopio con 10X y 40X.

Observaciones: Cuando la materia fecal sea recolectada en formol al 5% o al 10%, la densidad del sulfato de cinc deberá ser de 1,200 g/L.

4. TÉCNICA DE WILLIS

Se basa en la flotación de los huevos de Helminthos en una solución saturada de cloruro de sodio en agua (densidad 1,200).

Se utiliza fundamentalmente para la búsqueda de huevos como los de Uncinarias *Hymenolepis* sp. y *Trichiuris*. Los quistes de Protozoos son deformados por la solución de CINA.

Técnica

Preparar una suspensión de 1 gramo de heces en 10 ml de la solución saturada de CINA (dens: 1.200). Homogenizar bien.

Colocar o verter esta suspensión de heces en un tubo hasta llenarlo, sin que se derrame. Colocar luego un cubre o portaobjetos sobre la boca del tubo, de modo que la superficie del líquido concentrador toque el cubre o portaobjetos.

Esperar tres minutos, sacar con un movimiento rápido el vidrio (cubre o porta), colocarle un cubre al porta o a la inversa en el caso de que se hubiese coloca un cubre y observar esta preparación en fresco al microscopio con 10X y 40X.

5. OTROS METODOS:

1. MÉTODO DE LA SACAROSA (Sheather,1965)
2. MÉTODO DE TELEMAN
3. MÉTODO DE BAILENGER

MÉTODOS DIRECTOS PARA EL ESTUDIO PARASITOLÓGICO DE LA SANGRE

1. Extendidos: En fresco
Fijados
2. Gota gruesa
3. Métodos de concentración: Bass y Johns
Martin Lebeuf
4. Cultivos
5. Inoculaciones
6. Xenodiagnóstico
7. Hemocultivo
8. PCR (Polimerase chain reaction)
9. TIFD (Test de Inmunofluorescencia Directa).

Los parásitos que podemos encontrar en sangre son:

Plasmodium vivax

Plasmodium malariae

Plasmodium falciparum

Plasmodium ovale

Trypanosoma cruzi

Trypanosoma gambiense

Trypanosoma rhodesiense

Toxoplasma gondii

Filarias

1. EXTENDIDOS

Preparaciones en fresco: se coloca una gota de sangre en un portaobjetos, se le agrega una gota de solución fisiológica, se cubre con un cubreobjetos y se observa al microscopio con 10X y 40X. Estos preparados son utilizados para observar microfilarias y tripanosomas.

Extendidos fijados y coloreados: Se fija el frotis de sangre con alcohol metílico durante dos a tres minutos: luego se pueden colorear con solución de Giemsa o bien colorear directamente, con la coloración de May Grunwald Giemsa ya que el May Grunwald ya tiene el fijador incorporado (alcohol metílico). Estas preparaciones permiten visualizar muy bien la morfología de los hematozoarios.

2. GOTA GRUESA

Se considera como método de enriquecimiento. Describiremos el método de MAZZA para la realización de una gota gruesa:

Se punza la parte media externa del hélix del pabellón auditivo, la parte lateral del dedo anular de un adulto o el dedo pulgar del pie en el caso de un niño, zona que previamente fuera desinfectada. Se coloca el portaobjetos y se hace girar en forma circular para esparcir la sangre y evitar que coagule. Se deja que se seque y luego se repite la operación dos veces más, siempre con un diámetro de 1 a 1,5 cm. Se deja secar y se colorea con Giemsa (previa fijación) o con May Grunwald-Giemsa. No se debe calentar, ya que de esta manera los glóbulos rojos quedarían fijados y retendrían la coloración dificultando la identificación parasitaria. Antes de la coloración se deberá dehemoglobinizarse, tal como se indicó precedentemente.

3. METODOS DE CONCENTRACIÓN

a. METODO DE BASS Y JOHNS

Muestra: sangre venosa con anticoagulante (citrato de sodio al 4 %, en proporción 1:5). Se centrifuga la sangre extraída y se separa la proporción de glóbulos blancos (leucocitos) con un poco de hematíes y de plasma. Se coloca en un tubo más pequeño y se centrifuga nuevamente. La porción media luego es separada y vuelta a centrifugar mediante la utilización de un microhematocrito cerrado luego de ser cargado en uno de sus extremos. Luego de la centrifugación este microhematocrito es cortado por la parte del medio donde están los leucocitos (y eventualmente en caso de parasitosis positiva: los parásitos). Con esta parte media del hematocrito se hace un extendido dejando caer una gota de esta zona media sobre un portaobjetos el que luego se deja secar al aire y se colorea al igual que un frotis de sangre común.

Existe una variación al método descrito mediante, la utilización desde un primer momento de microhematocritos heparinizados. Esto es útil como microtécnica especialmente para niños o bebés.

b. METODO DE MARTIN-LEBEUF

Muestra: 5 ml de sangre más 1 ml de solución de oxalato de potasio al 1% en solución fisiológica de cloruro de sodio. Se centrifuga la muestra en forma enérgica y la capa hemática, recubierta por una ligera capa de leucocitos, se separa con pipeta Pasteur y se hacen extendidos y gota gruesa.

4. CULTIVOS: Se utilizan cultivos específicos para cada parásito en particular.

5. INOCULACIONES: para cada parásito se utilizan diferentes animales de experimentación.

6. XENODIAGNÓSTICO

Para la realización del Xenodiagnóstico de Brumpt se requieren ninfas de *Triatoma infestans* no infectadas en su tercer estadio ninfal, criadas desde el estadio de huevo, alimentadas en gallinas o palomas, en virtud de que éstas son naturalmente refractarias al *T. cruzi*.

Se necesita, además, un dispositivo para que las vinchucas sean colocadas en el brazo del paciente, el cual consiste en un recipiente de unos 3 cm de diámetro de madera o plástico (no transparente), provisto de unas tiras de tela fijadas para permitir que queden sujetas al antebrazo del paciente. Para evitar que los artrópodos salgan del recipiente, éste se deberá tapar con gasa, siendo ésta la parte que toma contacto con la piel del paciente.

Técnica:

Se colocan en el dispositivo anterior 10 ninfas en su tercer estadio ninfal de *T. infestans* (Vinchuca) no infectadas, las que deben tener un ayuno de 20 a 25 días. Cuatro de estos dispositivos se colocan en los dos brazos del paciente (dos en cada brazo) y se dejan durante media hora aproximadamente, para que los Triatominos, se alimenten con la sangre del mismo. Luego se retiran las vinchucas de estos dispositivos y se las continúa alimentando de la misma forma, pero en aves, durante veinte días más. A partir de este tiempo se empieza a investigar las deyecciones para ver si se descubren (entre porta y cubre) los Tripanosomas metacíclicos, al microscopio con 40X, los que se observarán con la típica morfología de tripomastigota, debiéndose efectuar coloraciones para ver su morfología en forma más detallada y confirmar de esta manera el diagnóstico.

7. HEMOCULTIVO

Es una técnica más simple que el xenodiagnóstico y se puede realizar en cualquier laboratorio de bacteriología. En cuanto a la sensibilidad, para casos agudos, es similar al xenodiagnóstico.

Se realiza la extracción sanguínea venosa con heparina (0,1 ml cada 10 ml de sangre).

Retirar los medios de cultivo de la heladera, llevarlos a temperatura ambiente y agregar 1 ml de sangre a cada tubo (utilizar de 10 a 20 tubos por paciente).

Luego incubar a 27-30° C agitando cada 24 a 48 hs. A partir del 10º día se procede a observar semanalmente entre porta y cubre y coloreados con Giemsa.

Se tomará la muestra con pipeta Pasteur o ansa de la interfase entre el medio y los hematíes del fondo.

Se debe repicar a ciegas a los 15 días tomando 0,5 ml del cultivo agitado a un medio nuevo.

8. POLIMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Se trata de un diagnóstico directo donde se buscan fragmentos de ADN del parásito en sangre. Es un método muy sensible y altamente específico.

La alta especificidad está lograda por la utilización de "primers" (fragmentos de ADN complementarios al ADN del patógeno) compuestos por aproximadamente 20-25 nucleótidos, los que deben estar avalados de manera tal que permitan la estandarización internacional del método.

La reacción consiste básicamente en someter al ADN parasitario a ciclos de calentamiento y enfriamiento, mediante los cuales se consiguen separar las dos hebras y al ser monocatenarios permitir la unión de los primers complementarios. Luego, mediante la utilización de una Polimerasa que actúa a altas temperaturas, se consigue aumentar las copias de manera exponencial de manera que se evidencian, aún que se encuentre tan solo un fragmento de ADN exógeno al hospedador.

9. TIFD (Test de inmunofluorescencia Directa): Con anticuerpos monoclonales.

MÉTODO DE CONCENTRACIÓN DE STRUT

El presente método se lo utiliza especialmente para el diagnóstico de las Tripanosomiosis.

El método clásico es el siguiente:

Se extrae sangre venosa (sin anticoagulante) y se centrifuga tres minutos a 160 G (800 rpm). El sobrenadante se vuelve a centrifugar un minuto a 300-600 G (2000-2500 rpm) durante 10 minutos, observándose al microscopio el sedimento de esta segunda centrifugación. Con el suero extraído se pueden hacer reacciones indirectas. Es una técnica muy utilizada por su sensibilidad.

Una variante a la técnica descrita sería el MICROSTROUT:

Este método consiste en la utilización de seis capilares heparinizados de microhematocritos, los cuales se llenan de sangre del paciente. Una vez sellados los tubos por uno de los extremos se centrifugan a 1000-1500 G durante 3 a 5 minutos. Después de la centrifugación los tubos se mantienen en posición vertical. Luego, cada tubo se corta entre el sobrenadante y el pellet de glóbulos rojos. El sobrenadante se coloca entre porta y cubre y se observa al microscopio. Con un solo parásito hallado ya se considera positiva la parasitemia. Otra manera de realizar este estudio es tomando tubos Ependorf a los cuales se les agrega 0,5 ml de sangre venosa y una gota de heparina, luego se procede a la centrifugación a 3000 rpm por un lapso de 2 minutos. Se realizan como mínimo cuatro preparados entre porta y cubre de la interfase entre el suero y el paquete globular.

Es un método altamente sencillo, rápido y sensible que es utilizado para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas en nuestro país. Se lo utiliza tanto en el período agudo como para el crónico. Hay que tener precaución en las zonas donde coexisten *Trypanosoma rangeli* y *Trypanosoma cruzi*. Una variante de este clásico método consiste en agregar Naranja de Acridina en solución al tubo capilar antes de iniciar la recolección de la sangre y luego, en lugar de utilizar microscopio de luz común se utiliza el microscopio de fluorescencia para visualizar mejor y más certeramente el flagelado.

DIAGNOSTICO INMUNOLOGICO DE LAS PARASITOSIS

Venturiello Stella Maris
Gentile María Teresa

Las enfermedades parasitarias afectan a diversos sectores de la población, representando un riesgo para la salud y la calidad de vida, es por ello que es de suma importancia el diagnóstico precoz y la profilaxis. La búsqueda de los parásitos se extiende además a los reservorios naturales animales y a otras fuentes de infección como carnes y aguas contaminadas.

La sintomatología clínica y el exhaustivo interrogatorio del paciente son fundamentales para orientar el diagnóstico de sospecha de una enfermedad parasitaria. Para confirmarlo es indispensable la realización de estudios auxiliares como radiografías, ecografías y/o imágenes por resonancia además de pruebas de laboratorio mediante la observación directa e identificación de los parásitos (P) en fluidos, tejidos o excretas del hospedador (H). Para seleccionar los estudios a realizar debe tenerse en consideración el estadio parasitario buscado y las características de las muestras a analizar.

En los casos en los cuales el hallazgo del parásito en cualquiera de sus estadios es negativo se cuenta con la herramienta del inmunodiagnóstico. El objetivo de la utilización de estas técnicas es la identificación del parásito ya sea mediante la detección de antígenos parasitarios o por la evaluación de la respuesta inmune específica del hospedador (anticuerpos, células sensibilizadas). El inmunodiagnóstico es indispensable en los casos de parasitosis con localizaciones tisulares profundas (Ej. amebosis hepáticas), en la fase de invasión de las helmintosis antes de que los vermes eliminen los huevos (distomatosis hepáticas, bilharziosis) y en los estadios crónicos de ciertas enfermedades en las cuales el parásito permanece en estado latente en los tejidos. Actualmente el laboratorio ofrece una variedad de técnicas de inmunodiagnóstico y de equipos comerciales de diagnóstico de uso corriente, sin embargo los problemas se plantean cuando se trata de diagnosticar parasitosis poco comunes o esporádicas para las cuales no es posible encontrar reactivos comerciales en el mercado. Las metodologías varían considerablemente en su **sensibilidad** (porcentaje de resultados positivos obtenidos en un grupo certero de infectados, *verdaderos positivos*),

en **especificidad** (porcentaje de reacciones negativas obtenidas en un grupo de individuos no infectados, *verdaderos negativos*) y en **reactividad** o sensibilidad analítica (cantidad de antígeno -Ag- o anticuerpo -Ac- necesaria para producir una reacción serológica demostrable). Afortunadamente la mayoría de los equipos comerciales de uso corriente tiene un alto grado de reactividad.

IMPORTANCIA DEL INMUNODIAGNÓSTICO Y DE SU APLICACIÓN

Existen diferentes tipos de metodologías para el diagnóstico de las parasitosis basados en: la detección de anticuerpos específicos, antígenos parasitarios y/o inmunocomplejos (IC) en fluidos, o en la detección de la respuesta inmune celular específica (linfocitos T sensibilizados) y de otras células sensibilizadas con inmunoglobulinas específicas (basófilos/mastocitos). En general estas metodologías tienen la ventaja de no requerir de una interpretación subjetiva y de tener una eficiencia de detección superior a los métodos directos.

Las técnicas basadas en la determinación de Acs específicos en sueros son generalmente las de mayor aplicación en el diagnóstico de las parasitosis como la enfermedad de Chagas, la toxoplasmosis y la trichinellosis. Sin embargo no pueden aplicarse en individuos inmunosuprimidos (malnutrición, inmunocomprometidos: SIDA, trasplante, corticoterapia) o en parasitosis que no presentan una importante respuesta inmune del hospedador. Además, debe tenerse en cuenta que el diagnóstico inmunoserológico por búsqueda de Acs, salvo raras excepciones, no puede distinguir entre una infección actual o pasada.

En la utilización de estas metodologías es necesario considerar el período de seroconversión o ventana, como así también la posibilidad de transferencia materna de inmunoglobulinas.

La detección de Ag circulante permite diagnosticar una parasitosis activa y su intensidad. Además, es útil en el diagnóstico de pacientes inmunosuprimidos, como así también en aquellas parasitosis no productoras de una importante inmunidad humoral en el hospedador. Sin embargo, la detección de Acs circulantes tiene la desventaja de presentar resultados falsos negativos debido a que el Ag puede encontrarse formando inmunocomplejos (IC). El empleo de esta metodología se aplica al diagnóstico del paludismo donde se detectan en sangre Acs circulantes de *Plasmodium falciparum* mediante técnicas inmunocromatográficas con Acs monoclonales.

La búsqueda de Acs es utilizada además, en el estudio de la viabilidad del parásito

mediante su detección en el material parasitario. Este es el caso de la detección de Ags en fluido del quiste hidatídico del *Echinococcus granulosus* obtenido por punción (método P.A.I.R.) o después de una intervención quirúrgica. Entre otras aplicaciones se encuentra la identificación del agente etiológico parasitario a nivel de género y especie mediante el uso de metodologías que utilizan Acs monoclonales, como por ejemplo, en la diferenciación de huevos de tenias.

El inmunodiagnóstico es de utilidad además en estudios epidemiológicos, en la determinación de prevalencia e incidencia en la población de una determinada parasitosis y en el seguimiento de pacientes después de un tratamiento farmacológico o quirúrgico (Ej. hidatidosis, enteroparasitosis).

Es fundamental tener en cuenta que para desarrollar cualquiera de las metodologías de inmunodiagnóstico se requiere de Ags o Acs altamente representativos del agente etiológico en estudio.

En resumen, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones para el uso del diagnóstico inmunológico en las parasitosis:

- 1-**La selección del material biológico a analizar (materia fecal, orina, suero, tejido, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso) debe estar relacionada con el ciclo evolutivo del parásito y/o la respuesta inmune del hospedador.
- 2-**La sensibilidad, especificidad y reactividad de la metodología a emplear están directamente relacionadas con:
 - 2.1- Tipo de interacción Ag-Ac (primaria o secundaria).
 - 2.2-Tipo de Ags o Acs utilizados en la metodología. Estos deben ser específicos del parásito (importancia del estadio parasitario presente, isotipo de inmunoglobulinas, utilización de Acs monoclonales (mAb) o policlonales, presencia de reacciones de cruce con otros parásitos, utilización de Ags purificados, recombinantes u homogéneos).
 - 2.3-El tiempo post-infección en el que se realiza la detección de la respuesta inmune y/o Ag circulante.
 - 2.4- En el caso de detección de los Acs específicos circulantes, los Ags del parásito secretados *in vivo*, no deben reducir de manera significativa la posibilidad de la interacción Ag-Ac en la reacción.
- 3-** Necesidad de por lo menos dos técnicas inmunoserológicas para el diagnóstico de la parasitosis utilizando dos tipos diferentes de Ags y/o Acs específicos.
- 4-** Determinación del título de corte de la reacción de acuerdo a la zona donde se realice el estudio, empleando un $n > 30$ para tener validez estadística.

- 5- Período de seroconversión.
- 6- Posibilidad de transferencia materna de inmunoglobulinas específicas.
- 7- Importancia de la determinación de IgE específica fijada a células a pesar de tener el paciente un nivel sérico de IgE total normal y/o ausencia de IgE específica circulante.

TIPOS DE ANTÍGENOS UTILIZADOS EN LAS METODOLOGÍAS DE INMUNODIAGNÓSTICO

Los parásitos presentan un amplio espectro de Ags los cuales impactan al sistema inmune del hospedador dirigiendo el tipo de respuesta característica de cada relación H-P. Esencialmente podemos encontrar: Ags somáticos, que son aquellos que forman parte de las estructuras del P, y los metabólicos que son sus productos de excreción-secreción.

A nivel de las diferentes técnicas o metodologías del inmunodiagnóstico podemos clasificarlos en antígenos solubles, antígenos figurados o formes y antígenos particulados.

Antígenos solubles y particulados: entre ellos encontramos homogenatos totales, Ags semipurificados o purificados, productos metabólicos o de excreción y secreción, Ags recombinantes y Ags sintéticos.

Los extractos antigénicos o metabólicos de vermes y protozoarios, fraccionados por separaciones en gradientes de densidad o por cromatografía pueden ser utilizados directamente en las diferentes reacciones como en la fijación de complemento o unidos a soportes como glóbulos rojos, latex en reacciones como la aglutinación indirecta, transformándose en Ags particulados, o inmovilizados a fases sólidas como en el ELISA.

Antígenos figurados o formes: se utilizan diferentes estadios parasitarios como trofozoítos, quistes o huevos que pueden encontrarse en suspensión, vivos o inactivados, o en tejidos parasitados, en cortes por criostato (congelación) o micrótopo (inclusiones en parafina). Entre las reacciones que utilizan estadios de P vivos se encuentra la reacción de precipitación periovular o pericercarianas de Oliver Gonzales de utilidad en el diagnóstico de trematodes.

METODOLOGÍAS MÁS UTILIZADAS

En esta parte del capítulo describiremos las metodologías que con mayor frecuencia se utilizan en el diagnóstico de las enfermedades parasitarias (tabla 1). Debe tenerse en cuenta que muchas de las viejas metodologías han sido remplazadas y otras, desarrolladas recientemente, no se encuentran disponibles para el uso general. Para determinar la presencia de Ags parasitarios y de Acs específicos totales o de diferentes isotipos (IgM, IgG, IgA, IgE) y para estudiar la evolución de la respuesta inmune se pueden emplear una variedad de técnicas basadas en la interacción Ag-Ac primaria o secundaria. La interacción primaria es aquella unión Ag-Ac que no puede ser visualizada en forma directa a diferencia de la interacción secundaria. Las técnicas de interacción primaria permiten la identificación de Ags o Acs que por su baja concentración o por sus características fisicoquímicas no pueden ser detectados por reacciones de interacciones de menor sensibilidad como las de interacción secundaria.

1-Reacciones de aglutinación

Se denomina aglutinación a la reacción de interacción secundaria que se produce cuando un antígeno particulado interacciona *in vitro* con su anticuerpo específico. En las reacciones de aglutinación, un anticuerpo puede unirse a la vez a dos antígenos, y cada antígeno puede unirse a varias moléculas de anticuerpos y formar un entramado de complejos Ag-Ac que se visualizan a simple vista como un velo o malla en el fondo del tubo o policubeta. Si no hay anticuerpos, las partículas antigénicas sedimentarán formando un anillo definido o botón en el fondo del tubo o pocillo de la placa de reacción.

Si la estructura antigénica reconocida por las moléculas de Ac forma parte de la partícula hablamos de aglutinación directa, si por el contrario el Ac reconoce a moléculas antigénicas que se incluyen artificialmente en su superficie esta reacción se denomina aglutinación pasiva o indirecta. En el caso de utilizar glóbulos rojos como soporte de un antígeno soluble, la reacción será de hemoaglutinación indirecta o pasiva (HAI) y al utilizar soportes inertes como el látex, poliestireno, se hablará de aglutinación pasiva.

Generalmente la unión del antígeno a soportes es no covalente y puede realizarse en forma directa, sin embargo existen otros métodos que utilizan reactivos químicos para producir uniones covalentes.

Los métodos de aglutinación cualitativos se utilizan comúnmente en el diagnóstico

serológico. Las técnicas de aglutinación también pueden realizarse de modo semicuantitativo, diluyendo la muestra de suero o fluido biológico y determinando como título de anticuerpos la inversa de la máxima dilución aglutinante.

En algunas ocasiones se observa ausencia de aglutinación con alta concentración de anticuerpos específicos, efecto que se conoce como "fenómeno de prozona", sin embargo, si se realizan diluciones mayores de esa misma muestra manteniendo constante la concentración de antígeno, la reacción de aglutinación se positiviza.

En todas las reacciones de aglutinación directa o indirecta es fundamental el diseño de protocolos que incluyan los controles necesarios que validen los resultados.

Estas técnicas cuentan con una serie de ventajas tales como la rapidez y facilidad de ejecución y el bajo costo.

1.1-Aglutinación directa (AD): se utiliza para determinar anticuerpos en muestras de fluidos biológicos los que aglutinan *in vitro* al parásito generalmente formolado. La reactividad de la reacción es relativamente alta (tabla 2) y presenta buenos resultados especialmente en el período agudo de la infección cuando existe un título alto de anticuerpos específicos del isotipo IgM. Es utilizada en el diagnóstico de toxoplasmosis entre otras.

1.2-Aglutinación indirecta: utiliza látex como soporte de antígenos solubles. Actualmente existen equipos comerciales para el diagnóstico serológico, para la detección de Acs específicos, en echinococcosis, toxoplasmosis, amebosis, enfermedad de Chagas y trichinellosis.

1.3-Hemaglutinación indirecta (HAI): utiliza glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito siendo de utilidad en la detección de anticuerpos en muestras de fluidos biológicos, y de aplicación en estudios epidemiológicos. La hemaglutinación indirecta presenta dificultades tales como la preparación de extractos antigénicos adecuados y la selección de eritrocitos óptimos para ser utilizados como soportes.

2- Reacciones mediadas por complemento

Reacción de fijación de complemento: esta técnica a pesar de no ser utilizada de rutina en el laboratorio debido a la inestabilidad y variabilidad de los reactivos biológicos (complemento, hemolisina, glóbulos rojos) ha hecho grandes progresos introduciendo modificaciones en la metodología como la puesta a punto de micrométodos en placas y el mejoramiento de la calidad del antígeno utilizado.

En una primera etapa de la reacción se forman los complejos inmunes incubando el antígeno (soluble) con el suero problema. Luego se agrega el complemento (suero fresco de cobayo) que va a ser activado si se formaron los complejos inmunes Ag-Ac en los que las inmunoglobulinas pertenezcan a isotipos fijadores de complemento por la vía clásica (IgG, IgM) y en condiciones de pH, concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} y temperatura adecuadas. En una segunda etapa de la reacción se añade un sistema indicador denominado sistema hemolítico constituido por eritrocitos de carnero y hemolisina (suero de conejo anti-eritrocitos). Si el complemento fue consumido por los complejos antígeno-anticuerpo formados no se observará la lisis de los glóbulos rojos y el resultado de la reacción será positivo. En caso contrario la ausencia de anticuerpos específicos en una muestra problema dejará al complemento libre que se fijará al sistema hemolítico produciendo la lisis de los glóbulos rojos (reacción negativa). Esta técnica requiere de una precisa estandarización del método con controles apropiados y un tratamiento especial de las muestras a analizar ya que muchos sueros presentan anticomplementariedad (fijación inespecífica de complemento en ausencia de antígeno).

La reacción de fijación de complementos se aplica al diagnóstico de hidatidosis (reacción de Bordet-Gengou mod. por Kolmer) donde el líquido hidatídico es utilizado como Ag. Dentro de las reacciones más conocidas en parasitosis mediadas por el sistema complemento se encuentran la reacción de Machado Guerreiro para enfermedad de Chagas y la reacción de Sabin Feldman que también recibe el nombre de Prueba de azul de metileno o Dye Test. Estas pruebas diagnósticas son altamente específicas (no presenta reacciones cruzadas con otros protozoos o agente infeccioso) y sensibles pero desafortunadamente las dificultades técnicas limitan su empleo a un reducido número de laboratorios especializados. El Dye test utiliza como antígeno parásitos vivos, taquizoitos, obtenidos de exudado peritoneal de ratones infectados. El fundamento de la técnica se basa en que los anticuerpos en presencia de una fuente de complemento modifican la viabilidad de los toxoplasmas, de modo que inhiben su capacidad de teñirse con el colorante azul de metileno. Si el 50% o más de los toxoplasmas se encuentran sin teñir cuando se realiza la observación en microscopio óptico o de contraste de fase la reacción se considera positiva. La prueba se positiviza desde el comienzo de la infección.

3- Reacciones de precipitación

En este tipo de reacciones se utilizan antígenos solubles (polivalentes) que al unirse a las moléculas de anticuerpo específicas (por lo menos bivalentes) forman complejos

que precipitan cuando la relación Ac-Ag es óptima. Las reacciones de precipitación pueden realizarse en medio líquido y en medio gelosado en condiciones establecidas de temperatura, pH y fuerza iónica del medio.

3.1-Reacciones de precipitación en medio líquido: son poco utilizadas en el diagnóstico clínico y pueden ser cualitativas o cuantitativas.

3.2-Reacciones de precipitación en medio gelosado o técnicas de inmunodifusión: se basan en la difusión de las moléculas de antígeno y/o anticuerpo en el medio semisólido las que al reaccionar y en la concentración adecuada precipitan formando una banda o arco. Si las macromoléculas difunden en forma espontánea la reacción es de difusión doble como por ejemplo la reacción de arco 5 para el diagnóstico de hidatidosis. Si la difusión de macromoléculas es forzada mediante la aplicación de un campo eléctrico podemos citar las técnicas de inmunoelectroforesis, contrainmunolectroforesis y rocket electroforesis.

3.2.1-Inmunoelectroforesis: la inmunoelectroforesis es un procedimiento que combina la separación electroforética de proteínas en un gel, la difusión de las macromoléculas y la inmunoprecipitación. En un primer paso aplicando una diferencia de potencial y en condiciones adecuadas de pH y fuerza iónica las proteínas de una mezcla compleja se separan en un gel de agar, agarosa o acetato de celulosa de acuerdo a sus respectivas cargas. En un segundo paso las proteínas difunden libremente en el gel y reaccionan con un antisuero específico que fue colocado en una canaleta paralela al orificio donde fue sembrada la muestra. Los complejos antígeno-anticuerpos precipitan en el gel dando bandas que generalmente se visualizan en forma de arcos, lo que posibilita la identificación de los componentes de una mezcla compleja de acuerdo a su posición. En muchas ocasiones es conveniente la tinción de los geles con colorantes para proteínas o para hidratos de carbono. Esta técnica es utilizada en el diagnóstico de fasciolosis humana en la que se detecta el arco No 2 al reaccionar los Acs del suero de individuos parasitados con las diferentes fracciones de un extracto acuoso del verme adulto de *Fasciola hepatica*. El uso de esta metodología se aplica también en el diagnóstico de hidatidosis detectándose la presencia del arco No 5 en la reacción de precipitación del líquido hidatídico de *Echinococcus granulosus* con los Acs presentes en el suero del paciente.

3.2.2- Contrainmunolectroforesis (CIE) o Electrosinéreis o es una variante de la reacción de inmunodifusión en gel en la cual el desplazamiento de las moléculas de Ag y Ac se efectúa sobre la influencia de un campo eléctrico en condiciones

experimentales tales que el Ag y el Ac migren en sentido inverso. Es utilizada en el diagnóstico de la hidatidosis, fasciolosis, cisticercosis, amebosis. Es una metodología relativamente sensible y rápida pero limitada a Ags con carga negativa en las condiciones de pH de la metodología y deberá tenerse en cuenta que su desventaja radica en su escasa reactividad (tabla2).

4- Reacciones inmunoenzimáticas

Los métodos inmunoenzimáticos se basan en reacciones inmunológicas que utilizan conjugados con enzimas para poder visualizar la interacción primaria Ag-Ac. Entre ellos podemos citar al ELISA, Dot-blot, técnicas inmunohistoquímicas, inmunoblot e inmunolectrotransferencia. Independientemente de los esquemas empleados para su realización son altamente sensibles y su ventaja reside en la sencillez de la técnica, la utilización de equipos poco sofisticados y que permite por lo general trabajar con un número importante de muestras a analizar. Otro sistema ampliamente difundido es el que utiliza anticuerpos marcados con biotina la que es detectada con un sistema avidina/streptavidina (acopladas a algún otro tipo de marcador), debido la alta afinidad de la unión avidina/streptavidina-biotina.

4.1-ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay): en esta técnica se utilizan anticuerpos, antígenos o haptenos marcados con una enzima (fosfatasa alcalina, peroxidasa, etc) tal que los conjugados resultantes tengan actividad enzimática sin perder la inmunológica. El ELISA se utiliza para la identificación y cuantificación de diferentes sustancias biológicas y químicas como ser antígenos y anticuerpos, hormonas, citoquinas, mediadores de la inflamación, fármacos, etc.

Los enzimoensayos pueden clasificarse en:

A) *Homogéneos*: en general se desarrollan en fase fluida y no es necesaria la separación del agente marcador libre del combinado ya que la actividad enzimática es muy diferente en uno u otro caso. Este tipo de ensayo se conoce como EMIT y no es utilizado, hasta el momento, para el diagnóstico de las parasitosis.

B) *Heterogéneos*: generalmente uno de los componentes, antígeno ó anticuerpo, se encuentra inmovilizado en una placa y el otro permanece en fase fluida. Los complejos formados una vez producida la reacción Ag-Ac quedarán inmovilizados y podrán ser revelados mediante la adición de un conjugado enzimático y su correspondiente sustrato cromogénico. Esta reacción dará lugar a productos coloreados solubles, que se pueden medir por espectrofotometría.

Existen diferentes estrategias utilizadas para la detección de antígenos y anticuerpos a saber:

B.1-ELISA para la determinación de antígenos

-ELISA Indirecto o «Sandwich». En este método al Ac monoclonal o policlonal específico que se encuentra en fase sólida, luego del bloqueo de los sitios libres de la placa y del lavado, se le añade la muestra que contiene los antígenos a investigar y luego de un tiempo de incubación se adiciona un segundo anticuerpo específico marcado con la enzima (conjugado). Por último, se añade el sustrato/cromógeno para revelar la reacción. En estos casos la intensidad del color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de Ag. Todos los pasos van precedidos de incubaciones y lavados. Las soluciones de bloqueo más utilizadas son: la de leche descremada, seroalbúmina bovina, gelatina, etc.

-ELISA Competitivo: El antígeno marcado con una enzima compete con el antígeno presente en la muestra a analizar por una limitada cantidad de anticuerpos específicos. La intensidad del color producto de la degradación enzimática del sustrato es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra.

B.2-ELISA para determinación de anticuerpos

-ELISA Indirecto: es el método más utilizado para la determinación de anticuerpos. Básicamente, consiste en la inmovilización de antígeno a la fase sólida, bloqueo de sitios libres y la posterior adición del suero problema, finalizada la incubación y luego de los lavados se agrega un segundo anticuerpo anti-inmunoglobulina marcado con la enzima. Después de un nuevo lavado se añade el sustrato y cromógeno y se determina la actividad enzimática. Este método se aplica en el diagnóstico de trichinellosis, pudiéndose utilizar como antígenos extractos crudos o antígenos de excreción-secreción de *Trichinella spiralis*, estos últimos brindan una mayor especificidad de reacción, mientras que el uso de extractos crudos da lugar a falsos resultados. En el diagnóstico de toxoplasmosis se utilizan antígenos de toxoplasmas obtenidos de cultivo en peritoneo de ratón y diluciones del suero problema. Actualmente se dispone de técnicas de ELISA para el diagnóstico de cisticercosis, toxocarosis, fasciolosis, entre otros. El resultado positivo de la reacción se determina de acuerdo con el valor de corte establecido para la población en estudio.

La presencia de anticuerpos de un isotipo determinado como podrá ser IgM o IgG se puede demostrar utilizando anticuerpos anti-cadena H de gammaglobulinas, anti-m o anti-g, conjugados a la enzima. La identificación de un isotipo u otro involucrado en la respuesta al parásito es de importancia, en algunas parasitosis, cuando se desea determinar una fase aguda de infección.

-ELISA Competitivo: se denomina ELISA competitivo ya que el suero problema es incubado con el antígeno, previamente a realizar la reacción, y en la placa un anticuerpo específico monoclonal o policlonal inmovilizado compite con él por el antígeno. El siguiente paso es la adición del conjugado, lavado y agregado del sustrato/cromógeno. En este caso la disminución del color, determinada por lectura espectrofotométricamente, es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

4.2-Dot-blot: es un método inmunoenzimático que consiste en la captación de uno de los inmunoreactantes Ag o Ac sobre papel de nitrocelulosa u otras membranas sobre los cuales se hacen reaccionar las muestras a analizar. Previamente se necesita realizar el bloqueo de los sitios libres de la membrana con soluciones que ya han sido comentadas en la descripción del método de ELISA. Luego de la incubación y los lavados se agrega el conjugado evidenciándose la reacción mediante el agregado del sustrato y cromógeno. A diferencia del ELISA, éstos deben dar lugar a productos coloreados insolubles que se depositan sobre la membrana en el lugar donde se produjo la reacción inmunoenzimática. Dot-blot se utiliza para el diagnóstico de trichinellosis humana y porcina entre otras parasitosis, usando antígenos purificados o productos de excreción-secreción del parásito.

4.3-Técnicas inmunohistoquímicas: permiten la identificación de antígenos parasitarios en tejidos infectados o en estadios parasitarios libres los que pueden o no haberse fijado con formol, glutaraldehído, etc. En esta técnica los anticuerpos conjugados a enzimas actúan sobre sustratos/cromógenos dando productos coloreados insolubles. Pueden desarrollarse métodos directos con un anticuerpo marcado con enzima específico para el antígeno a determinar o métodos indirectos, usando un primer anticuerpo no marcado y un segundo anticuerpo anti-inmunoglobulina marcado con enzimas. Esta reacción tiene la ventaja, respecto a la inmunofluorescencia indirecta, de poder utilizar los microscopios convencionales para la observación de los resultados.

4.4-Inmunolectrotransferencia o immunoblot: es una metodología altamente sensible utilizada para la identificación de componentes de una mezcla antigénica o para el estudio de la especificidad de anticuerpos.

La inmunolectrotransferencia permite la detección de Acs en sueros y otros fluidos utilizando Ags específicos, representativos del parásito y la detección de isotipos específicos (IgA, IgE, IgM, IgG y sus subclases) dependiendo del conjugado utilizado en la reacción.

Brevemente con los extractos antigénicos obtenidos o con antígenos semipurificados

se realiza la electroforesis en gel de poliacrilamida y la electrotransferencia de las proteínas a una membrana de nitrocelulosa, PVDF o nylon. Posteriormente se bloquean los sitios libres de la membrana y luego de exhaustivos lavados se incuba con el suero problema. En el próximo paso se agrega un anticuerpo anti-inmunoglobulina marcado con una enzima y posteriormente el sustrato/cromógeno que luego de reaccionar dará lugar a productos que precipitan en el lugar de la reacción. Es una técnica básicamente cualitativa y en la que se puede observar una o varias bandas según existan anticuerpos específicos para uno o varios componentes del antígeno. Se utiliza como diagnóstico confirmatorio de varias parasitosis por protozoarios y helmintos, debido por lo general, a su alta especificidad y sensibilidad y se recomienda cuando no hay que estudiar un gran número de sueros.

4.5-Radioalergosorbent Test (RAST): teniendo en cuenta que los antígenos parasitarios actúan como alérgenos y que en las helmintosis aparece la IgE específica además del incremento de la IgE total se ha desarrollado el RAST para su detección. Brevemente, la técnica consiste en poner en contacto el suero o fluidos del paciente con matrices que contiene el Ag absorbido a su superficie; después del lavado esta unión Ag-Ac es revelada por Acs anti-IgG o IgE humana marcados con radioisótopos. La presencia y cantidad de radioactividad es proporcional a la cantidad de Ac presente en el suero. Actualmente, y para estar a un mayor alcance de los laboratorios, también se dispone de dicho test empleando Acs marcados con enzimas.

5- Técnicas de Inmunofluorescencia

Estas técnicas utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales específicos marcados con fluorocromos como el isotiocianato de fluoresceína o rodamina. Los antígenos utilizados pueden ser formas o particulados tales como trofozoítos, quistes, larvas, cutículas parasitarias, etc. Si existe reacción positiva, los complejos Ag-Ac formados se ponen de manifiesto mediante la observación en un microscopio de fluorescencia.

5.1-Inmunofluorescencia directa (IFD): en la IFD los anticuerpos utilizados como reactivos están marcados con fluorocromos que se añaden sobre los parásitos libres o cortes de tejidos infectados en los que se desea comprobar la existencia de un determinado antígeno específico. Estas reacciones pueden desarrollarse en suspensión o en improntas. Entre las parasitosis diagnosticadas por esta metodología se encuentra la cryptosporidiosis.

5.2-Inmunofluorescencia indirecta (IFI): la IFI utiliza cortes de tejidos infectados o suspensiones parasitarias para determinar la presencia de anticuerpos espe-

cíficos en fluidos biológicos. Luego de la incubación con la muestra problema si hay anticuerpos éstos se unirán al antígeno. Esta unión se visualiza como fluorescencia de superficie y/o en organelas tras la adición de un conjugado anti-inmunoglobulina marcado con el fluorocromo. Se puede demostrar la presencia de cualquier isotipo de inmunoglobulina (Ej. Test de Remington, detección IgM por IFI para toxoplasmosis) teniendo en cuenta la especificidad del anticuerpo conjugado a utilizar. Este test se utiliza para el diagnóstico de enfermedad de Chagas, giardiosis, toxoplasmosis, trichinellosis, hidatidosis, entre otras.

6-Técnicas celulares

6.1-Intradermoreacción (IDR): la presencia de linfocitos T sensibilizados al antígeno parasitario se puede evidenciar mediante la realización de la intradermoreacción, metodología actualmente no utilizada para el diagnóstico de rutina de enfermedades parasitarias. Entre las reacciones intradérmicas más conocidas en el diagnóstico de enfermedades parasitarias se encuentran la IDR de Montenegro (leishmaniosis), la IDR de Casoni (hidatidosis) y la de Bachmann (trichinellosis).

6.2- Test de degranulación de basófilos humanos (TDBH): los polimorfonucleares basófilos pueden ser considerados como el equivalente circulante de los mastocitos tisulares. Como ellos, se caracterizan por la presencia en el citoplasma de granulaciones metacromáticas que con el colorante azul de toluidina se colorean de rojo violáceo. Además, y como los mastocitos, los basófilos presentan en su membranas receptores para el fragmento Fc de la IgE. Al tener la IgE alta afinidad por su receptor, dicha inmunoglobulina se fija tanto a mastocitos como a basófilos circulantes. Cuando un Ag multivalente se une a dos moléculas de IgE específicas adyacentes, forman un puente y la célula libera sus granulaciones ricas en histamina provocando, en un individuo, diferentes grados de manifestaciones de hipersensibilidad pudiendo llegar al choque anafiláctico. El TDBH se basa en determinar si existe degranulación de basófilos en poblaciones celulares enriquecidas provenientes de pacientes parasitados en presencia de diferentes concentraciones de antígenos. El resultado se expresa como el porcentaje de basófilos degranulados (determinación en microscopio óptico basada en la metacromasia del basófilo granulado) o de histamina liberada (determinación química). Resultados muy interesantes se han obtenido en el estudio de pacientes con hidatidosis y bilharziosis utilizando como Ag el fluido del quiste hidatídico y un extracto de cercarias de *Schistosoma mansoni* respectivamente.

Tabla 1: TECNICAS INMUNOLOGICAS DE INTERES EN EL DIAGNOSTICO DE LAS PARASITOSIS

	Parasitosis	Principales técnicas	Aplicación
Protozoosis	Amebosis	IFI, latex, CIE, HAI	Amebosis tisular
	Toxoplasmosis	IFI, AD, Sabin Feldman	Principal método de diagnóstico
	Leishmaniosis	IFI, CIE	Formas viscerales
	Paludismo	IFI, CIE	Interés diagnóstico limitado
	Tripanosomosis	IFI, HAI, ELISA	Importante en las dos fases de la infección
Helmintosis	Larva migrans	ELISA, CIE	Principal método de diagnóstico
	Distomatosis	IFI, IEF, CIE	Principal método de diagnóstico
	Trichinellosis	IFI, ELISA, CIE, IT	Principal método de diagnóstico
	Hidatidosis	ID, IFI, ELISA, IEF	Principal método de diagnóstico (Resultado negativo no excluyente)
	Filariosis	IFI, TDBH	Interés en ausencia de microfilarias
	Bilharziosis	Reacción pericercariana ELISA	Principal método de diagnóstico

AD: aglutinación directa, CIE: contraelectroforesis, ELISA: enzimoimmunoensayo, HAI: hemaglutinación indirecta, ID: inmunodifusión, IEF: inmunoelectroforesis, IFI: inmunofluorescencia indirecta, TDBH: test de degranulación de basófilos humanos, IT: inmunoelectrotransferencia.

Tabla 2: VALOR RELATIVO DE REACTIVIDAD LAS DIFERENTES METODOLOGIAS INMUNOLOGICAS PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS.

METODOLOGIA	REACTIVIDAD RELATIVA
Precipitación en medio gelosado	1
Precipitación en medio líquido	2
Fijación del complemento (al 100% de lisis)	4
Fijación del complemento (al 50% de lisis)	100
Aglutinación directa	50
Hemaglutinación pasiva	133
IFI	400
ELISA	2.000
RIA	20.000

BIBLIOGRAFÍA

Roitt I.M., Delves P.J. *Técnicas Inmunoquímicas*. En: *Inmunología Fundamentos*. Editores: Roitt I.M., Delves P.J. Ed. Médica Panamericana. 2003. 10ma edición. Cap. 6., Pag. 119.

Miller H.R.P. *Immunity to internal parasitism*. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1990 9(2), 301-313.

Markell, John, Krotoski. *Immunodiagnostic Techniques*. En: *Markell and Voge's Medical Parasitology*. 2001. 8th edition Ed. W.B. Saunders Company. Pag. 473.

Ripert Ch. *Introduction a l'étude des Helminthoses*. En: Epidemiologie des Maladies Parasitaires. Helminthoses. Tomo 2. 1998. Ed: EM Inter (Francia). Pag 1.

Margni R.A. *Métodos utilizados para la identificación y cuantificación de antígenos y anticuerpos*. En Inmunología e Inmunoquímica. *Fundamentos*. Editor: R.A. Margni. Ed: Médica Panamericana. 1996. 5ta edición. Pag 697.

Zwirner N. *ELISA*: En Inmunología e Inmunoquímica. *Fundamentos*. Editor: R.A. Margni. Ed: Médica Panamericana. 1996. 5ta edición. Pag 798.

Gentilini M. *Maladies parasitaires*. En: Medecine Tropicale. 2th partie. Editor: Gentilini M. Ed: Flammarion Medicine-Sciences (Francia). 1995. pag. 91

Kagan I. G. *Métodos de serodiagnóstico en parasitología*. En: Parasitología y Medicina Tropical. Editores: Godsmith R., Heyneman D. Ed: Manual Moderno. 1995. Cap. 49, Pag 1136.

Leynadier F., Luce H., Dry J. Une technique simple d'isolement et de fixation des polynucléaires basophiles humains. *Rev.Franc.Allergol*. 1977, 17(4), 215-218.

Capron A., Biguet J., Vernes A., Afchain D. *Path.Biol*. 1968, 16, 121-138.

LAS PARASITOSIS EN BAHÍA BLANCA (PROVINCIA DE BUENOS AIRES)

Sixto Raúl Costamagna
Susana García
Elena Visciarelli
Nilda Casas

La ciudad de Bahía Blanca, fundada en 1828, está ubicada al sur de la provincia de Buenos Aires, sobre la costa del Océano Atlántico, a 38° 44" de latitud sur y 62° 16" de longitud oeste, a 730 Km al sur de la Capital Federal. Se destaca por su rol de "metrópoli regional", favorecida por su cercanía al puerto de Ingeniero White, con un calado de 45 pies de profundidad (a sólo 8 Km). La temperatura media anual es de 15,1°C con variaciones entre 42°C y -11,8°C y una precipitación media anual de 613,6 mm, medidos durante la última década. El promedio de velocidad de vientos anual es de 24 Km/hora.

La población, estimada al 31 de junio de 1997 es de 296.586 habitantes, lo que representa el 2,4% del total de la población de la Provincia de Buenos Aires, donde se concentra un tercio de la población de Argentina, con un 2,9 % de pasivos transitorios, un 58,8 % de activos y un 13,3 % de pasivos definitivos.

La estructura poblacional, según censo poblacional de 1991, conformada por un 48,1% de varones y un 51,9% de mujeres, se muestra en el cuadro 1:

La población entre 0-14 años representa el 27,9% del total. La tasa de analfabetismo de adultos es del 1,3 %, la tasa de escolarización de 6 a 12 años es de 98,8 % y de 13 a 17 años del 76,5 %. La tasa de mortalidad infantil para 1996 fue del 1,7 % de nacidos vivos, existiendo un 26,4 % de la población sin cobertura en salud y la tasa de natalidad para el mismo año, del 1,53%.

La ciudad se presenta como cabecera del sudoeste de la Provincia de Buenos Aires, con una producción base agrícola-ganadera, consolidándose como centro urbano proveedor de bienes y servicios para la zona circundante, lo que la ha convertido en el lugar elegido para el asentamiento de importantes empresas agroindustriales y del

sector petroquímico, dando lugar a un proceso de industrialización que en estos últimos años se ha convertido en el motor dinamizador de la economía de la ciudad. Funcionan dos Universidades Nacionales y a 30 km está la mayor base de la Armada Argentina. A pesar de los avances tecnológicos, la industrialización, la urbanización y la tendencia a mejorar la calidad de vida de la ciudad, las enfermedades parasitarias continúan afectando la salud humana. Por ello es que se decidió presentar el presente estudio, con el objeto de que se pueda disponer de una descripción epidemiológica mínima sobre las parasitosis humanas en esta ciudad, con datos propios y de bibliografía local, en virtud de que solamente existían referencias aisladas y parciales. Esta descripción se completa con investigaciones de parásitos presentes en heces de perros de la vía pública, hallazgo de parásitos o quistes o huevos en verduras de quintas de la ciudad y presencia de parásitos en aguas, de recreación y bebida en de Bahía Blanca.

AREAS ESTUDIADAS Y FUENTES CONSULTADAS

1. Enteroparásitos

Se efectuó búsqueda de enteroparásitos en cinco centros de la ciudad:

- a. **Zona periférica:** Definimos así al área urbana externa de la ciudad, donde el agua potable no llega a todas las viviendas y la mayoría de ellas carece de sanitarios adecuados por falta de cloacas en el sector, no existe buen drenaje del agua de lluvia, las calles son de tierra y el nivel socioeconómico de la población corresponde a los más bajos de la ciudad. Se incluyó, en este estudio, a los barrios Fortaleza Argentina y Villa Nocito. En estos sectores se estudiaron 300 niños de escolaridad primaria, con edades comprendidas entre los 5 y 12 años.
- b. **Hogar de niños:** comunidad semi cerrada: En este hogar se estudiaron 80 niños con edades entre 5 y 12 años, que viven durante la semana en el lugar, retirándose la mayoría a sus hogares los fines de semana.
- c. **Guarderías:** En este grupo se estudiaron 100 niños entre 2 y 4 años de edad, que concurrían a cuatro guarderías maternas, de la zona céntrica, hijos de padres de clase media.
- d. **Hospital Militar Bahía Blanca:** Se analizaron 105 muestras correspondientes a pacientes menores de 12 años que concurrieron al Laboratorio de Análisis Clínicos

del Hospital Militar Bahía Blanca, a realizarse enteroparasitogramas por solicitud médica. Este hospital está abierto a la comunidad y las muestras seleccionadas correspondieron a pacientes residentes en el entorno hospitalario, oriundos de Bahía Blanca.

- e. **Hospital Público:** Se obtuvieron los resultados 2447 pacientes menores de 15 años, que concurrieron al Laboratorio de Parasitología del Hospital Interzonal "Dr José Penna", de la ciudad de Bahía Blanca, a realizarse estudios enteroparasitológicos, por indicación médica, durante el período 1995 / 1999.

En los cinco centros la recolección de materia fecal se realizó durante 7 días en frascos con formol al 5%. Una vez en el laboratorio las muestras de materia fecal fueron observadas microscópicamente (una gota entre porta y cubreobjetos) y se efectuaron concentraciones por los métodos de Ritchie y MIF (Merthiolate-Yodo-Formol). Con respecto a la investigación del mucus de la región perianal para la investigación de *Enterobius vermicularis* se efectuó mediante el "Test de las Gasitas": limpieza de la zona perianal a la mañana y antes de levantarse, con un trozo de gasa doblado, durante siete días (un trozo de gasa por día). Una vez en el laboratorio, a estas gasas se les agregó 35 ml de formol al 5% y luego de mezclar bien para permitir que los huevos de los parásitos se desprendieran de las mismas, se centrifugó el líquido a 2000 rpm durante 5 minutos, procediéndose luego a la observación microscópica del sedimento, entre porta y cubreobjetos, al microscopio óptico. En ningún caso se investigó la presencia de *Cryptosporidium* sp. Para una mejor tipificación de *Entamoeba* spp. se efectuaron coloraciones Tricrómica de Gomori.

La selección de los pacientes en la zona periférica, en la comunidad semi-cerrada y en las guarderías, se efectuó al azar, utilizando tabla de números aleatorios.

2. Trichomonosis

Se estudiaron 600 mujeres con edades comprendidas entre los 22 y 55 años que concurrieron a los consultorios de ginecología de los diferentes hospitales de la ciudad. La investigación de *Trichomonas vaginalis* se efectuó, en todos los casos, en flujo vaginal obtenido de fondo de saco con hisopo estéril, el cual fue colocado en tubo estéril que contenía 5 ml de solución salina de solución fisiológica. Además se efectuaban, en el lugar, dos extendidos del flujo en portaobjetos, los que fueron secados al aire

y remitidos inmediatamente al laboratorio. A cada muestra se le realizó:

- a. Examen en fresco de flujo vaginal, entre porta y cubreobjetos ("wet mount"), observación efectuada inmediatamente luego de finalizada la extracción.
- b. Coloración de May Grunwald-Giemsa.
- c. Coloración fluorescente con naranja de acridina.

Fue considerada positiva la muestra en la que se demostraba la presencia del parásito por alguno de los tres métodos.

3. Toxoplasmosis

Se realizaron reacciones de Hemoaglutinación Indirecta (HAI) (Wiener Lab. S. A. I. C.®) a 400 mujeres embarazadas que concurrieron al Hospital Militar Bahía Blanca y se revisó la bibliografía existente para los Hospitales Penna, Municipal y Privado del Sur.

4. Enfermedad de Chagas

Se obtuvieron los resultados de 5792 estudios serológicos efectuados en bancos de sangre de un hospital público (Hospital Interzonal Dr. José Pena) (n: 2909) y del Hospital Militar Bahía Blanca (n: 2883). Las reacciones utilizadas en ambos centros fueron Hemoaglutinación Indirecta y test de látex (Wiener Lab. S. A. I. C.®), respetándose en todos los casos las indicaciones de los fabricantes para la ejecución.

5. Paludismo e Hidatidosis

Se efectuó un relevamiento de casos de Paludismo presentados en los principales centros asistenciales de la ciudad y para Hidatidosis se revisó la bibliografía existente.

6. Toxocariosis, Cysticercosis, Trichinellosis y Dipylidiosis

Para estos tres parásitos, se revisó la bibliografía existente y se efectuaron las correspondientes consultas en el Area Epidemiología de la Región Sanitaria I, dependiente del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires.

7. Investigación de parásito en heces de perros

Se recolectaron 200 muestras de materia fecal de perros, halladas en la vía pública

y a una distancia entre cada una de ellas no menor a doscientos metros (a fin de minimizar al máximo la probabilidad de escoger dos muestras del mismo animal) en un radio de 10 cuadras alrededor de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca). Las heces caninas se recolectaron en formol al 5%, durante los meses de julio a diciembre de 1994 y 1995 y fueron procesadas de la misma forma que las muestras de humanos.

8. Parásitos en verduras de huertas

Se seleccionaron tres huertas de la zona periférica de la ciudad:

- a. Huertas regadas por molino (agua de pozo).
- b. Huertas regadas por el arroyo Sauce Grande.
- c. Huertas regadas por el arroyo Napostá.

Se muestreó una quinta de cada sector por mes, durante un año. En cada quinta las muestras (verduras que se consumen crudas) fueron recolectadas en diferentes sectores elegidos al azar (n: 153). En el laboratorio cada muestra fue colocada en recipientes individuales conteniendo 5 litros de agua destilada y se dejaron durante 24 horas. Luego el líquido se centrifugó a volumen cero. El sedimento obtenido se analizó por microscopía directa y por los métodos de concentración de Ritchie, MIF y Willis.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

1. ENTEROPARASITOS

Los resultados referidos a frecuencia de hallazgo de parásitos en materia fecal y mucus anal se muestran en el Cuadro 2 y el espectro parasitario correspondiente a cada centro en el Cuadro 3.

2. TRICHOMONOSIS

La prevalencia de trichomonosis hallada, sobre las 600 muestras estudiadas, fue del 26,35%.

3. SEROLOGIA PARA TOXOPLASMOSIS

Los resultados de exámenes serológicos, obtenidos para Toxoplasmosis son mostrados en el Cuadro 4.

4. SEROLOGIA PARA CHAGAS EN DONANTES DE SANGRE

Los resultados correspondientes a la serología para chagas, fueron los que se muestran en el Cuadro 5.

5. PALUDISMO e HIDATIDOSIS

Paludismo: 2 a 3 casos denunciados a la Región Sanitaria I, por año.

Hidatidosis: los datos obtenidos de búsqueda bibliográfica, se muestran en el cuadro 6.

6. TOXOCARIOSIS, CYSTICERCOSIS, TRICHINELLOSIS y DIPYLIDIOSIS

Toxocariosis: positividad global: 33% (Adultos; 26,4% y en población pediátrica 44,2%).

Neurocysticercosis: 2 (dos) casos reportados.

Trichinellosis: Año 1995: 27

Año 1996: 106

Año 1997: 440 (Notificados solamente 279)

Año 2002: 100 casos.

Dipylidiosis: solamente existe un caso comunicado, en 1983.

7. PARASITOS EN HECES DE PERROS DE LA VIA PUBLICA

De las 200 muestras analizadas, el 33% fueron positivas, demostrándose en ellas la presencia de huevos o quistes de parásito, muchos de ellos de importancia zoonótica. En 18 de las muestras positivas se encontró más de una especie parasitaria.

La prevalencia de elementos parasitarios encontrados en heces de perros se muestra en el cuadro 7.

8. ELEMENTOS PARASITARIOS HALLADOS EN VERDURAS DE HUERTAS

La frecuencia de hallazgos de elementos parasitarios en las diferentes huertas, según el tipo de riego, se pueden visualizar en el Cuadro 8.

El espectro parasitario hallado en verduras obtenidas de las huertas de la ciudad de Bahía Blanca se muestra en el cuadro 9.

Si comparamos las prevalencias de elementos parasitarios hallados en Huertas regadas con agua de Molino (40%) con las regadas con aguas del Arroyo Napostá (57%), para un límite de confianza del 95%, obtenemos un riesgo relativo de 1,43 (0,95-2,15), con un χ^2 (chi cuadrado): 3,11 p: 0,07.

CONSIDERACIONES

Siendo este un estudio epidemiológico descriptivo, en esta sección del trabajo, simplemente nos limitaremos a efectuar algunas reflexiones sobre nuestros hallazgos, haciendo referencia a aspectos que consideramos relevantes.

Las prevalencias de parásitos encontrados en heces y mucus anal en niños menores de 12 años de la ciudad de Bahía Blanca y que mostramos en los cuadros 2 y 3 es preocupante y pareciera no esperarse para estas latitudes, con un clima muy frío y ventoso. Sin embargo estos hallazgos son muy similares a otros encontrados en diferentes zonas cálidas y húmedas de Argentina y América del Sur, como así también en áreas más frías y ventosas de nuestro país. Tal como puede notarse en el cuadro 3, *Giardia lamblia* junto a *Enterobius vermicularis* y *Entamoeba coli* se destacan por su rol de «parásitos de guarderías infantiles». En el mismo cuadro se visualiza la alta prevalencia registrada para *Hymenolepis nana*, quien junto a los tres parásitos anteriormente citados son los más prevalentes.

Con relación a los parásitos no intestinales, nuestros resultados muestran que para Trichomonosis la prevalencia, sobre muestras obtenidas de mujeres que concurren

a consultorio ginecológico de hospitales es del 26,35%, lo que coincide con otros resultados obtenidos en otros lugares de Argentina. El conocimiento de la verdadera y real prevalencia de Trichomonosis en la población mundial es difícil de precisar, ya que no existen estudios epidemiológicos transversales que hayan permitido obtener la información necesaria, y además éstos difieren de acuerdo con la sensibilidad del o de los métodos utilizados para el diagnóstico de laboratorio. En virtud de que no es posible obtener muestras estadísticamente significativas, no se disponen de datos sobre la verdadera prevalencia de esta parasitosis en la población en general,

Con referencia a Toxoplasmosis, las seroprevalencia mostrada en el cuadro 4 oscila entre un 41,7 % y un 65% según sea el grupo estudiado, con resultados similares a los obtenidos en otras ciudades de Argentina. En el caso de Enfermedad de Chagas, las diferencias de prevalencias mostradas en el cuadro 5, se debería a que los donantes que concurren a cada centro son diferentes; en el caso del Hospital Interzonal Dr. José Penna, los donantes muchas veces son oriundos de áreas endémicas de Argentina y Chile.

Respecto de Paludismo, al ser Bahía Blanca una región que está prácticamente unida al Puerto de Ingeniero White, anualmente se detectan casos de Paludismo, los que obviamente corresponden a la tripulación de algún buque extranjero presente en el puerto. No existe, por razones climáticas, paludismo autóctono en la ciudad ya que no está presente el hospedador invertebrado.

La Hidatidosis es una enfermedad endémica en el sur de la Provincia de Buenos Aires y la Patagonia Argentina, por lo que anualmente en Bahía Blanca, como centro regional de alta complejidad médica, se registran numerosos casos de Hidatidosis quirúrgica, tal como queda documentado en el cuadro 6. La seroprevalencia para Toxocariosis, encontrada por Gentili y col., muestra resultados similares a otros obtenidos en las ciudades de La Plata y Buenos Aires en Argentina, aunque superiores a los hallados en Chile.

Con relación a Neurocysticercosis si bien solamente se han comunicado dos casos, nos estaría indicando que la prevalencia de Teniosis a *Taenia solium* podría estar subestimada.

Trichinellosis, por ser Bahía Blanca y su zona una región ganadera, con faenas caseras de embutidos, es una patología prevalente desde hace mucho tiempo, la que tuvo en

los años 1996 y 1997 un pico que llegó a los 440 casos, lo que significó el 70% del total provincial. Las medidas adoptadas por el municipio, en la actualidad han hecho descender estas cifras.

En la ciudad de Bahía Blanca, con una población de casi 300.000 habitantes, existen 18.000 perros vagabundos y 50.000 perros con dueño. El municipio gasta 30.000 dólares anuales para esterilizar perras, pero la irresponsabilidad de quienes adoptan mascotas y luego las abandonan, hace que esta labor sea insuficiente. Si cada perro excreta 200 g de heces/día, los 18.000 perros vagabundos de Bahía Blanca excretarán diariamente 3,6 toneladas de heces, las que quedan esparcidas por la vía pública en toda la ciudad; si tenemos en cuenta que el 33% de esas heces están contaminadas por elementos parasitarios infectantes e infestantes con importancia zoonótica (Cuadro 7) creemos que la peligrosidad de estas heces queda demostrada.

Con referencia a los elementos parasitarios hallados en las huertas estudiadas, los resultados mostraron que en el 100% de las huertas estudiadas se hallaron elementos parasitarios en algún momento del estudio. No obstante el menor el porcentaje corresponde a las huertas regadas con agua de molino mientras que los mayores a las regadas con agua del arroyo Napostá, tal como puede observarse en el cuadro 8, con un Riesgo Relativo significativo para las verduras provenientes de las huertas regadas con aguas del Arroyo Napostá. Si analizamos el espectro parasitario mostrado en el cuadro 9, podemos notar la peligrosidad de estas verduras, situación que concuerda con los elevados índices de parasitismo encontrados en humanos de esta ciudad, comparables a los hallados en zonas más cálidas de América.

Es fundamental la difusión de estos hallazgos con el fin de que se implementen medidas de control y prevención adecuadas para minimizar los riesgos que significan las fuentes de contaminación parasitaria en nuestra ciudad, ya que el espectro parasitario hallado, tanto en humanos, en perros y en verduras, reveló presencia de elementos parasitarios de importancia zoonótica en cantidades significativas. Además, es conveniente un mayor conocimiento de la enfermedad parasitaria, a fin de que el profesional médico y bioquímico puedan efectuar mayor cantidad de diagnósticos y adecuados tratamientos, como así también colaborar para una mayor difusión de estos resultados e implementar mejores campañas de prevención de las enfermedades parasitarias para lograr una mejor calidad de vida de la población.

Cuadro 1: Estructura poblacional de la ciudad de Bahía Blanca (Argentina), 1997.

EDAD (Años)	PORCENTAJE (sobre el total)
0 - 4	9,3
5 - 14	18,6
15 - 24	15,5
25 - 39	20,1
40 - 59	21,2
60 - 84	14,7
85 a más de 95	0,52

Cuadro 2: Prevalencias y Número de especies (Pluriparasitismo) de enteroparásitos en niños de edad escolar en Bahía Blanca (Argentina), 1994 - 1995.

CENTRO ESTUDIADO	PREVALENCIA	NUMERO DE ESPECIES HALLADAS (%)			
	%	UNA	DOS	TRES	CUATRO
Zona Periférica	87,9	35,4	48	12,5	4,1
Hogar de Niños	85,3	41,37	17,2	20,7	20,7
Guarderías Céntricas	54,5	83,3	0,0	16,6	0,0
Hospital Militar	30,5	78	18,75	0,0	3,12
Hospital Penna	28	47,7	41	10	1,3

Cuadro 3: Espectro parasitario hallado en heces en niños menores de 15 años, en la ciudad de Bahía Blanca (Argentina), 1994-1997.

PARASITO	PORCENTAJE DE PARÁSITOS HALLADOS, SOBRE EL TOTAL DE POSITIVOS, POR ÁREA.				
	ZONA PERIFERICA	HOGAR DE NIÑOS	GUARDERIAS	HOSPITAL MILITAR	HOSPITAL PENNA
<i>Enterobius vermicularis</i>	56,3	38.2	54.0	25.0	28.0
<i>Hymenolepis nana</i>	20.2	24.5	0	0	2.0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1.0	8.8	0	0	0.9
<i>Giardia lamblia</i>	33.3	55.8	9.0	15.6	38.0
<i>Blastocystis hominis</i>	15.0	8.0	0	56.2	54.0
<i>Chilomastix mesnili</i>	0.25	0	0	3.1	0.8

<i>Endolimax nana</i>	0	0	0	0	2.0
<i>Entamoeba coli</i>	40.9	61.7	9.0	21.9	15.0
<i>Entamoeba histolytica</i>	0	0	0	0.9	0.9
<i>Trichomonas hominis</i>	0	0	0	0	0.6
<i>Isoospora belli</i>	0	0	0	0	0.6
<i>Taenia sp.</i>	0	0	0	0	0.2
Uncinarias	0	0	0	0	0.4
<i>Trichuris trichiura</i>	5.3	0	0	0	0
<i>Iodamoeba buetschlii</i>	0	0	0	3.1	0

Cuadro 4: Prevalencias de serología positiva para Toxoplasmosis en Hospitales: público (Municipal) y privados (Militar y Privado del Sur). Bahía Blanca, 1997 - 1999.

lugar	N	Prevalencia
Hospital Militar Bahía Blanca	400	44,8 %
Hospital Interzonal Dr. José Penna	783	65,0 %
Hospital Privado del Sur	60	41,7 %
Hospital Municipal de Agudos Dr. Leó- nidas Lucero	80	45,0 %

Cuadro 5: Prevalencias de serología positiva para enfermedad de Chagas. Bahía Blanca, 1995 - 1997.

Lugar	N	Prevalencia
Hospital Interzonal de Agudos José Penna	2909	3,7 %
Hospital Militar Bahía Blanca	2883	1,2 %

Cuadro 6: Registros bibliográficos sobre Hidatidosis. Bahía Blanca, 1997 - 2000.

Autor– Año	N	Casos por año	Localización			
			Hepática		Pulmonar	
			N	%	N	%
Yazyi, 1997	750	28	619	72,5	131	17,5
Carignano, 2000	56	8	56	100		

Cuadro 7: Prevalencia de elementos parasitarios hallados en heces de perros (n:200) en la vía pública. Bahía Blanca, Argentina, 1994-1995.

Parásito	% hallado
<i>Trichiuris vulpis</i>	18
<i>Toxocara canis</i>	7
<i>Giardia</i> sp (quiste)	5
<i>Uncinaria stenocephala</i>	5
<i>Capillaria</i> sp	3
<i>Toxascaris leonina</i>	3
<i>Entamoeba</i> sp (quiste)	2
<i>Dipillidium caninum</i>	1
<i>Taenia</i> sp	1

Cuadro 8: Grado de parasitación en huertas de Bahía Blanca (Argentina), según el tipo riego. (1995-1996).

TIPO DE RIEGO	N	n+	% (+)
Por molino	50	20	40
Arroyo Sauce	47	21	45
Arroyo Napostá	46	32	57
TOTAL	153	73	47,7

Cuadro 9: Elementos parasitarios hallados en huertas de Bahía Blanca (Argentina, según el tipo de riego. 1994 - 1997

Elementos Parasitarios Hallados	Tipo de Riesgo					
	Por Molino		Arroyo S. Grande		Arroyo Naposta	
	N	%	N	%	N	%
Entamoeba sp (4 y 8 núcleos)	7	9.6	5	6.8	6	8.2
Giardia sp.	3	4.1	4	5.5	6	8.2
Ancylostoma sp.	1	1.4	3	4.1	0	0
Taenia sp. (huevo)	3	4.1	1	1.4	3	4.1
Hymenolepis nana	3	4.1	6	8.2	5	6.8
Ascaris sp.	1	1.4	3	4.1	2	2.7
Iodamoeba sp.	1	1.4	1	1.4	1	1.4
Chilomastix sp.	1	1.4	2	2.7	0	0
Enterobius sp.	0	0	0	0	3	4.1
Toxocara sp.	0	0	1	1.4	1	1.4

PARÁSITOS DE IMPORTANCIA SANITARIA EN AGUAS DEL ARROYO NAPOSTA, EN AGUAS DE CONSUMO Y RECREACION EN LA CIUDAD DE BAHIA BLANCA (Provincia de Buenos Aires) ARGENTINA

Sixto Raúl Costamagna
Susana García
Elena Visciarelli
Leandro D. Lucchi

Durante un año, en el período comprendido entre el 29 de agosto de 2001 y el 30 del mismo mes de 2002, se recolectaron muestras de agua del arroyo Napostá y del canal Maldonado, ambos de la ciudad de Bahía Blanca, en 6 (seis) lugares previamente determinados (antes, durante y luego de su paso por la ciudad). Los sectores de muestreo se muestran en la Figura 1, correspondiendo las siguientes numeraciones:

Area 1: Zona Puente Canesa, distante 20 Km de la ciudad de Bahía Blanca.

Area 2: Puente camino La Carrindanga, que corresponde a lo que llamamos la entrada del arroyo a la ciudad. Sector de quintas.

Area 3: Parque de Mayo; el arroyo ha entrado en la ciudad. Sector con gran proliferación de ratas, ubicado a 5 kilómetros del área 2.

Area 4: Villa Rosario, frente a la terminal de colectivos, en un sector periférico y de bajos recursos, con viviendas muy precarias ubicadas en las márgenes del arroyo.

Area 5: Sector ubicado a 100 m de la desembocadura en la ría, ubicado a 4 Km del área 4. Atravesía, en su recorrido, sector periférico de escasos recursos.

Area 6: Sector periférico y de bajo nivel socioeconómico, denominado Villa Nocito. Corresponde al brazo del Napostá denominado Canal Maldonado.

En total, se tomaron y analizaron 24 muestras de 1000 litros de agua cada una, cuatro en cada sector. Cada muestra fue filtrada utilizando filtros con poro de 1 μm de diámetro. Se utilizó una bomba de aspiración portátil.

Una vez en el laboratorio, los filtros fueron procesados de acuerdo con la técnica descrita por Madore y colaboradores (1987) y De Luca y colaboradores (1997). Para la identificación de quistes de *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* spp. se utilizó inmunofluorescencia directa (Meri flúor Crypto y Giardia, Meridian Diagnóstics, cód. 250050).

Para la investigación de parásitos en el agua de consumo, se efectuaron cuatro tomas de muestras en diferentes sectores de la ciudad, las que se procesaron de la manera señalada.

Para investigar parásitos en aguas recreacionales (piscinas públicas), se procedió a la toma de muestras en forma similar a lo ya señalado precedentemente, en los siguientes lugares: Piletas del Balneario Municipal Maldonado (agua salada, llenada directamente con agua de la ría de Bahía Blanca), pileta del Parque Illia y pileta del Parque Independencia, donde concurrían más de 600 niños por día en cada uno, con doble turno.

Como resultado de nuestras investigaciones, pudimos detectar en el agua del Arroyo Napostá estudiada las formas parasitarias que se indican en la Tabla I. No se observaron variaciones de especies parasitarias en el transcurso del año y en los diferentes muestreos.

Tabla I: Formas parasitarias halladas en aguas del Arroyo Napostá y canal Maldonado, ciudad de Bahía Blanca, Argentina, año 2002.

Parásito	Area Estudiada					
	1	2	3	4	5	6
Quistes de <i>Giardia</i> sp.			*	*		*
Quistes de <i>Entamoeba</i> sp.		*		*		***
Quistes de <i>Blastocystis</i> sp.		*				
Quistes de <i>Cryptosporidium</i> sp.					*	*
Quistes de <i>Endolimax</i> sp.				*		
Huevos de <i>Toxocara</i> sp.		*	*	*	*	*
Huevos de <i>Trichostrongylus</i> sp.	*					*
Huevos de <i>Ascaris</i> sp.						*
Huevos de <i>Hymenolepis diminuta</i>			*			
Larvas de Nematodos	*			*	*	*
Larvas Familia Oxuridae				**		

En el área 4 se encontró gran cantidad de larvas de Nematodos pertenecientes a la Familia Oxyuridae y en área 6 numerosos quistes pertenecientes al género *Entamoeba*.

Los parásitos hallados en aguas recreacionales fueron los siguientes:

Parásito hallado	Pileta		
	Parque Illia	Parque Independencia	Maldonado
Quiste de <i>Giardia</i> sp.			+
Quiste de <i>Cryptosporidium</i> sp.	+	+	
Quiste de Coccidio		+	
Adultos de <i>Echinococcus granulosus</i>		+	
Huevos de <i>Enterobius vermicularis</i>		++	
Huevos de <i>Toxocara</i> sp.	+		
Huevos de <i>Ascaris</i> sp.	+		+
Huevos de <i>Trichuris</i> sp.		+	

Con relación al agua de consumo, nuestros estudios demostraron la presencia de quistes de *Cryptosporidium* sp.

Nuestros resultados muestran que, a medida que el arroyo atraviesa la ciudad, se contamina, por la llegada al mismo de aguas contaminadas y desechos cloacales de diferentes asentamientos poblacionales rivereños.

Antes de ingresar a la ciudad y de acuerdo con los hallazgos en el área 1, el arroyo presentaría elementos parasitarios correspondientes a animales de la zona, mientras que ya a nivel del puente del camino a la Carrindanga, luego de atravesar un sector de quintas, en la perifería del área urbana, ya están presentes los primeros indicativos de contaminación con huevos de *Toxocara* sp. (Área 2). Continuando en su recorrido, notamos cómo, al atravesar el Parque de Mayo (Área 3), un sector donde habitualmente se pueden observar una alta población de roedores, aparecen huevos de *Hymenolepis diminuta*, además de continuar la presencia de *Toxocara* sp. y aparecer los quistes de *Giardia* sp. provenientes, probablemente, de cánidos que habitualmente frecuentan el sector, muchos de ellos llevados por sus dueños los fines de semana, ya que éste es un sector de recreación familiar.

Debemos destacar, que las áreas 4 y 6 (Villa Rosario y Villa Nocito) son las más contaminadas, y que ello coincide con las altas tasas de parasitismo intestinal hallados

por los autores en estudios previos (Costamagna, 1988, 1991; Visciarelli, 2000) apareciendo en ellas los quistes de *Cryptosporidium* sp., los que se continúan observando hasta la desembocadura del arroyo en el estuario de la ciudad.

En base a los resultados obtenidos, estimamos conveniente que las autoridades sanitarias de la ciudad adopten medidas tendientes a evitar que el hombre y los animales tomen contacto con estas aguas contaminadas y riesgosas para la salud, pudiéndose, en un primer análisis, señalar a la pobreza, la marginación y la falta de cloacas en los sectores más contaminados como una de las causales de tan relevante contaminación parasitaria. No obstante, y teniendo en cuenta que nuestros estudios demostraron que en 5 de las 6 áreas estudiadas, todas correspondientes a sectores dentro de la ciudad, están contaminadas con huevos de *Toxocara* sp., que la seroprevalencia de esta infestación en niños de la ciudad es de 44,2% (Gentili, 1994), que la tasa de infestación por *Toxocara* sp. encontrada en heces de perros de la ciudad es de 7% (Torno y col. 1996) y que en Bahía Blanca, con 300000 habitantes existen 18000 perros vagabundos y 50000 perros con dueño, sería conveniente que se adoptaran medidas tendientes a evitar la defecación de perros en los sectores estudiados, ya que el arroyo actuaría como agente diseminador de estos elementos infestantes.

Con relación a la presencia de quistes de *Cryptosporidium* sp. en el agua de bebida para la población, es pertinente que se arbitren los medios para eliminar los parásitos del agua de consumo, por el peligro que encierra, especialmente para niños, personas inmunocompetentes y pacientes con SIDA.

El estudio de parásitos en agua se realizó con subsidios de Fundación "Alberto J. Roemmers", años 2002 y 2003.

Investigación de Amebas de Vida Libre en piscinas cubiertas de Bahía Blanca

Visciarelli Elena, Costamagna Sixto Raúl,
Pérez María José, Gertiser María Laura,
Díaz Alejandra, Basabe Norma,
Lucchi Leandro

Las amebas de vida libre (AVL) son protozoos anfitrónicos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Han sido aisladas del suelo, polvo, aire, agua natural y tratada, agua de mar, sedimento oceánico, de piscinas, aguas residuales, lagos, lagunas y acuarios (Marciano-Cabral & Cabral, 2003). La información sobre la ecología y distribución es sumamente importante ya que algunas especies pueden causar enfermedad en el hombre. *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp. y *Balamuthia mandrillaris* son AVL que ocasionalmente provocan patología en el hombre. *N. fowleri* produce meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), una enfermedad del sistema nervioso adquirida después de la exposición a aguas contaminadas de piletas de natación, ríos y lagos. El curso clínico es agudo y frecuentemente mortal. *Acanthamoeba* spp. y *B. mandrillaris*, pueden causar encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) crónica, en pacientes inmunológicamente comprometidos (Scaglia, 1997). *Acanthamoeba* spp puede producir queratitis severa, principalmente en usuarios de lentes de contacto y ha sido asociada a lesiones cutáneas y sinusitis en pacientes inmunocomprometidos (Dunand *et al.*, 1997). En el presente trabajo se realizó un estudio descriptivo sobre la presencia de AVL, en piscinas públicas cubiertas de la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina, durante el año 2007.

Se estudiaron 6 piscinas cubiertas durante la estación invernal. En cada pileta se tomaron cuatro muestras en frascos estériles: fondo, superficie, raspado de pared y para análisis bacteriológico. Se registró la temperatura del agua, del ambiente, el pH y el cloro. Las muestras se analizaron por observación directa y por cultivo en agar no nutritivo (ANNE) (Page, 1976) a 37°C y a 42°C. La muestra fue considerada negativa cuando no hubo crecimiento después de 15 días de incubación. Cuando existió desarrollo se procedió a estudiar las características morfológicas de los trofozoitos y los quistes. La identificación genérica se realizó según Page (1976) y para

identificar *Naegleria* se procedió a la prueba de transformación ameboflagelar (Molet & Kremer, 1976). Los resultados se muestran en la Tabla 1, donde se aislaron AVL en el 50% de las piscinas. Hubo crecimiento a 37°C y no a 42°C. El examen directo fue negativo en todos los casos. La más contaminada fue la piscina 5 que mostró desarrollo en los tres sitios de recolección. El recuento de bacterias fue más alto en las piletas positivas. Todos los aislamientos correspondieron morfológicamente al género *Acanthamoeba*.

Tabla 1: Datos fisicoquímicos y biológicos obtenidos durante el muestreo y aislamiento de Amebas de Vida Libre en piscinas cubiertas de Bahía Blanca.

Piscina N°	Cloro (ppm)	T Amb (°C)	T Agua (°C)	pH	Bacteriológico RHP (UFC/ml)	Aislamiento				Determinación taxonómica
						Muestra			TAF	
						Fondo	Sup	Pared		
1	1	25	31	6,5	100	+	-	-	-	<i>Acanthamoeba</i> spp.
2	1,5	23	31,5	6,5	65	-	-	-	-	-
3	1	29	31,6	7,2	65	-	-	-	-	-
4	1,5	27	40	7	450	-	-	+	-	<i>Acanthamoeba</i> spp.
5	1	28	30	7,5	400	+	+	+	-	<i>Acanthamoeba</i> spp.
6	1,5	29	34	6,5	2	-	-	-	-	-

T. Amb: Temperatura Ambiental T. Agua: Temperatura del Agua RHP: Recuento de Heterótrofas en Placa TAF: Transformación Ameboflagelar

Como conclusión, y en comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL se destacan por su amplia distribución, extrema virulencia y falta de tratamiento efectivo. La importancia epidemiológica de las piscinas como fuente no natural de AVL, consiste en el riesgo potencial de actuar como vehículos para su transmisión al hombre. Considerando que en el 50% de los natatorios se encontró *Acanthamoeba* spp., género que comprende AVL identificadas como patógenos oportunistas, y asociada a recuentos bacterianos más altos que en las piletas negativas, se recomienda un mantenimiento más efectivo de las piscinas que minimice los riesgos de transmisión. Estos estudios continuarán durante el año 2008 y 2009.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dunand, V. A., S. M. Hammer, R. Rossi, M. Poulin, M. A. Albrecht, J. P. Doweiko, P. C. DeGirolami, E. Coakley, E. Piessens, and C. A. Wanke. 1997. Parasitic sinusitis and otitis in patients infected with human immunodeficiency virus: report of five cases and review. *Clin. Infect. Dis.* 25:267-272.
2. Marciano-Cabral F. and Cabral G., 2003. *Acanthamoeba* spp. as Agents of Disease in Humans. *Clin Microbiol Rev.* 16 (2): 273–307
3. Molet B. and Kremer M. 1976. Techniques d'études et criteres morphologiques pour l'identification des amibes libres. *Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp. Lyon*; 78: 215-24.
4. Page W C. 1976. An illustrated key to freshwater and soil amoebae, with notes on cultivation and ecology. *Fresh Boil Ass Sci Publ*; 34: 1-155.
5. Scaglia M. 1997. Human pathology caused by free-living amoebae *Ann Ist Super Sanita.* 33 (4): 551-66.

BIBLIOGRAFIA

Abd El Al AM, Bayoumy AM and Abou Salem EA. 1997. A study on *Demodex folliculorum* in rosacea. J Egypt Soc Parasitol. 27(1):183-195.

Abramovich BL, Gili MI, Carrera HE, Lurá MC, Nepote A, Gómez PA, Vaira S, Contini L. 2001. *Cryptosporidium* y *Giardia* en aguas superficiales. Rev. Arg. Microbiol. 33:23-36.

Aceña C. 1994. Parasitología: *Ascaris lumbricoides*. Rev San Mil Arg. Vol. XCIV (2):190-206.

Acta bioquímica Clínica Latinoamericana. 1980. Curso Pre-Congreso. Congreso Latinoamericano de Parasitología. Buenos Aires, Argentina.

Añe M S, Añe B V, Morales Landrove A, Ávila J P. 1997. Infección por VIH e isosporosis. Presentación de un caso. Rev Cubana Med Trop; 49(2): 142-4.

Añe M S, Nuñez Fernández F A, Avila J P, Bringuez M B, Viamontes B V. 2000. Emergencia de un nuevo patógeno: *Cyclospora cayetanensis* en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. Rev Cubana Med Trop;52(1): 66-9

Arcavi M et al. 1997. J. Clin. Microbiol. 35(6):1449-1954..

Arcay L, Bruzual E .1993. *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela. Encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia. Parasitol Al Día. 17:11-18.

Archelli S, Radman N, Guardis M, Fonrouge R. 1997. Toxocariasis: Síndrome de Larva Migrans. Rev Univ LP; 1:2-5.

Arenas H, Costamagna SR y Yazzi J. Tratamiento de la Hidatidosis hepatopulmonar. de *Echinococcus granulossus*. XIX International Congress of Hidatidology. Bariloche (Argentina), setiembre de 1999. Arch Int de la Hidat.

Armstrong M. 2000. The pathogenesis of human *Acanthamoeba* infection. Infect. Dis. Rev. 2(2):65-73.

Ashford, B. y Atkinson, E. 1992. Epidemiology of *Blastocystis hominis* infection in Papua New Guinea: age-prevalence and associations with other parasites. Ann. Trop. Med. Parasitol. 86 : 129-136.

Atías A y Lorca M. 1993. La patogenia de la amebiasis: nuevas luces para un viejo problema. Paraitol. Al Día. 17(1):3-4.

Atías A y Neghme A. Parasitología Clínica. 3ra Ed. Editorial Mediterráneo. Santiago. Chile. 1992.

Averbach, S y col. 1977. Toxoplasmosis: Importancia de un diagnóstico oportuno. Buenos Aires. Argentina.

Ayadi, A. y Bahri, I.1999. *Dientamoeba fragilis*: flagelle pathogene?

Barriga O.O., Al-Khalidi N. W., Martin S. and Wyman M. 1992. Evidence of immunosuppression by *Demodex canis*. Veterinary Immunology and Immunopathology. 32:37-46.

Basualdo J, Pezzani B, De Luca M, Córdoba A, Apezteguía M .2000. Screening of the municipal water system of La Plata, Argentina, for human intestinal parasites. Int. J. Hyg. Environ. Health. 203: 177-182.

Baylac JP.: Eje de Desarrollo, 2da parte, "Cruz del Sur " ICPS-INDEB. Capital Federal, Argentina; 1999.

Berenguer Gállego J. Manual de Parasitología. 1ra Ed. Edicions Universitat de Barcelona. 1998.

Boaz A., Grunwald M., Avinoach I. and Halevy S. 1992. Granulomatous rosacea associated with *Demodex folliculorum*. Int. J. Dermatol. 31(10):718-719.

Bolpe J, Caminoa R. Triquinosis humana, incremento de la casuística registrada en el período 1975-1997 en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. 2do Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina; 1998. Libro de Resúmenes, pp. 184-185.

- Bonanno A, Fittipaldi T, Severini C, Blanco G. 2000. Control inmunoserológico en embarazadas. *Rev AMBB*. 10(1):57-58.
- Bonnar E., Ophth M. C., Eustace P., Ophth F. C. and Powell F. C. 1993. The *Demodex* mite population in rosacea. *J. Am. Acad. Dermatol.* 28(3):443-448.
- Borda E, Rea M, Rosa J, Maidana C. 1996. Parasitismo intestinal en San Cayetano, Corrientes, Argentina. *Bol Oficina Sanit Panam.* 120(2):110-116.
- Botero D y Restrepo M. *Parasitosis Humanas*. 3ra Ed. Corporación para investigaciones biológicas, Medellín, Colombia. 1998.
- Budzko, DB et al. 1989. Fc receptors on the surface of *T. Gondii* trophozoites: a confounding factor in testing for anti-Toxoplasma antibodies by indirect immunofluorescent. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 27. Nro 5: 959-961.
- Bukva V. 1991. Structural reduction and topological retrieval: problems in taxonomy of demodecidae. *Modern Acarology*. 1:293-300.
- Burrows RB, Swerdlow MA. 1956. *E. vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. *Am. J. Trop. Med.* 5. 258.
- Burrows RB, Swerdlow MA, Frost JK y Leeper CK. 1954. Pathology of *Dientamoeba fragilis* infections of the appendix. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 3: 1033-1039.
- Capelli A, Campo A. La transición climática en el Sudoeste bonaerense. SIGEO, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca (Argentina), 1994. Monografía Nro. 5.
- Carignano F, Gáspari C, Bykaluk J, Fiorini D. 2000. Hidatidosis hepática: informe sobre 56 pacientes operados. *Rev AMBB*. 10 (supl 1):25.
- Ceruzzi O. Tratamiento de la Toxoplasmosis: nuevas drogas. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:252-253.
- Clarck D., New insights into human cryptosporidiosis. 1999.*Clin. Microbiol. Rev.* 12(4):554-563.

Clark CG and Diamond LS. 1994. Patogenicity, virulence and *Entamoeba histolytica*. Parasitology today. 10(2):42.

Clark SM. 1999. El papel del *Demodex* en rosácea. Act Terap Dermatol. 22(1):67-68.

Costamagna SR y Caferri MI. 2002. Demodecidosis: comensalismo o parasitismo? Acta Bioquím. Clín. Latinoamericana. 35(2):263-268.

Costamagna SR y Caferri MI. Nuevos aportes al conocimiento de la Demodecidosis. Ier Congreso de la Salud de Bahía Blanca. 2 al 5 de octubre de 2000. Rev AMBB Vol. 10 Supl. 1:64.

Costamagna SR y col. *Echinococcus granulossus*, vacuna ovina: aportes morfométricos básicos. XIX International Congress of Hidatidology. Bariloche (Argentina), setiembre de 1999. Arch Int de la Hidat.

Costamagna SR y col. 1991. Investigación de entero y ectoparasitosis en el área periférica de Bahía Blanca (Argentina). Rev Asoc Méd BB. 2:21-27.

Costamagna SR y col. Epidemiología de las parasitosis en la ciudad de Bahía Blanca, Argentina. XVI Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Protozoología y Enfermedades Parasitarias. Carlos Paz (Córdoba), 1 al 3 de octubre de 1998.

Costamagna SR y col. Microanálisis de ganchos de protoescólices de *Echinococcus granulossus*. XIX International Congress of Hidatidology. Bariloche (Argentina), setiembre de 1999. Arch Int de la Hidat.

Costamagna SR y col. Validación de tres pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la trichomoniasis en mujeres. XI Congreso Latinoamericano de Parasitología. Lima (Perú). Noviembre de 1993.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. 2001. On the ultrastructure of *Trichomonas vaginalis*: cytoskeleton, endocytosis and hydrogenosomes. Parasitol al día. 25(3-4):100-108.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. 2001. Validación del examen en fresco, coloraciones de May-Grunwald Giemsa para el diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. Parasitol al día. 25(1-2):50-55.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. Receptores de membrana en *Trichomonas vaginalis*. XI Congreso Latinoamericano de Parasitología. Lima (Perú). Noviembre de 1993.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. *Trichomonas vaginalis*: citoesqueleto y endocitosis. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de octubre de 2000. Medicina Vol. 60. Supl. III-2000:100.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. *Trichomonas vaginalis*: metodología rápida para microscopía electrónica de barrido (SEM). XII Congreso Latinoamericano de Parasitología. Santiago de Chile, 1995.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. *Trichomonas vaginalis*: validación de pruebas diagnósticas de laboratorio. Ier Congreso de la Salud de Bahía Blanca. 2 al 5 de octubre de 2000. Rev AMBB Vol. 10 Supl. 1:64-65.

Costamagna SR y Prado Figueroa M. Ultraestructura de *Trichomonas vaginalis*. XII Congreso Latinoamericano de Parasitología. Santiago de Chile, 1995.

Costamagna SR y Torno Cafasso O. 1983. Un Caso de *Diphylidium caninum* en humano. Rev San Mil Arg. 1:8-14.

Costamagna SR, Caferra MI, Niizawa G y Forgue P. *Demodex spp.*: patógeno, oportunista o comensal? Vto Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. 21 al 25 de setiembre de 1997. Medicina vol 55 suppl III, 1997, pág 60-61.

Costamagna SR, Dupin J, Vaylet S, Pellegrino P, Sánchez E y Fernández L. Validación de fijador-colorante para el diagnóstico directo de *Trichomonas vaginalis*. II Congreso de la Salud de Bahía Blanca, Región y Sur Argentino. Bahía Blanca, 14 al 16 de agosto de 2002.

Costamagna SR, García S, Gutierrez M, Visciarelli E, Torno O, Prat MI. Investigación de entero y ectoparásitos en área periférica de Bahía Blanca (Prov. Bs As, Argentina). Parte II. Iras Jornadas Municipales sobre Medio Ambiente. Bahía Blanca, 7 al 9 de agosto de 1991.

Costamagna SR, García S, Visciarelli E y Casas N. 2002. Epidemiología de las parasitosis en la ciudad de Bahía Blanca (Argentina). Parasitología Latinoamericana 26:(3-4)

Costamagna SR, García S, Visciarelli E, Lucchi L y Oliva A. Dípteros Ciclorrafos de interés sanitario en Bahía Blanca. II Congreso de la Salud de Bahía Blanca, Región y Sur Argentino. Bahía Blanca, 14 al 16 de agosto de 2002.

Costamagna SR, Jouglard M, Dupin J, García S y Visciarelli E. 2000. Trichinellosis en Bahía Blanca (Argentina) 1998-1999. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de octubre de 2000. Medicina Vol. 60. Supl. III-:56-57.

Costamagna SR, López JL, Torno O, Visciarelli E, Sagua MD y Dasso P. 1988. Investigación de enteroparasitosis en área periférica de Bahía Blanca. (Argentina). Parte I. Rev Asoc Méd BB. 7:13-16.

Costamagna SR, Lucchi L, Visciarelli E, García S y Basualdo J. Parásitos de importancia sanitaria en aguas del Aroyo Napostá, Bahía Blanca, Argentina. II Congreso de la Salud de Bahía Blanca, Región y Sur Argentino. Bahía Blanca, 14 al 16 de agosto de 2002.

Costamagna SR, Niizawa G y Balogh G. 1999. *Trichomonas vaginalis* en medios de cultivo: consumo proteico. Rev Asoc Méd BB. 9(1):22-25.

Costamagna SR, Niizawa G y Balogh G. Comparación de fracciones proteicas de medios de cultivos líquidos con y sin *Trichomonas vaginalis*. Vto Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. 21 al 25 de setiembre de 1997. Medicina vol 55 suppl III, 1997, pág 71.

Costamagna SR, Prado Figueroa M, Soria O, Fuentes A y Ferreyra R. 2000. La coloración fluorescente y el PAP: validación de ambas técnicas para la detección de *Trichomonas vaginalis*. Parasitol al día. 24(3-4):112-114.

Costamagna SR, Prado Figueroa M, Soria O, Fuentes A y Ferreyra R. Utilidad del PAP para diagnosticar *Trichomonas vaginalis*. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de octubre de 2000. Medicina Vol. 60. Supl. III-2000:82-83.

Costamagna SR, Soria O, Vaylet S, Prat MI, Saint Pierre P y Martínez D. 1997. Algunas consideraciones sobre el examen en fresco en el diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. Parasitol al día. 21(1-2):66-68.

Costamagna SR, Sorrivas V y Prado Figueroa M. 1996. Processing *Trichomonas vaginalis* for scanning electron microscopy. *Microscopy Res and Techn.* Vol 35(4):357-358.

Costamagna SR, Torno O, García S, Visciarelli E, Osorio J, Santamaría B. 1999. Enteroparásitos en niños residentes en zona rural del Partido de Carmen de Patagones, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Parasitol al día*; 23(1-2):48-52.

Costamagna SR, Vaylet S, Prado Figueroa M, Soria O, Fuentes A, Ferreyra R y Mezquita L. Diagnóstico de laboratorio de la Trichomonosis. Ier Congreso de la Salud de Bahía Blanca. 2 al 5 de octubre de 2000. *Rev AMBB Vol. 10 Supl. 1*:65.

Costamagna SR, Vaylet S, Prado Figueroa S y Mezquita L. 1997. Trichomonosis: validación de tres pruebas para el diagnóstico por el laboratorio de análisis. *Parasitol al día.* 21(1-2):61-65.

Costamagna SR. 1984. El problema del inmunodiagnóstico en Parasitología. *Rev San Mil Arg.* 1:8-14.

Costamagna SR. Miasis humanas: redescubriendo un tema olvidado. VI Congreso Argentino de Entomología. Buenos Aires, marzo de 2002.

Costamagna SR. Toxoplasmosis. 1996. *Rev San Mil Arg.* Vol XCVI (1):9-23.

Costamagna SR. 2000. Trichinellosis: a propósito de un peritaje judicial. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de octubre de 2000. *Medicina Vol. 60. Supl. III*:84.

Costamagna, SR.; Luengo, C. y Prado Figueroa M. Calcio y Bomba de Calcio en membrana plasmática de *Trichomonas vaginalis*. XV Congreso Latinoamericano de Parasitología. Sao Paulo, Brasil, 7 al 10 de octubre de 2001. Resumen 229.

Cour Boveda, M y col. 1986. Un estudio sobre Toxoplasmosis en mujeres gestantes. Experiencia de 4 años. *Rev. Clin. Española.* Vol. 179. Nro 8:397-400.

Couto CA. Toxoplasmosis ocular: uveítis por toxoplasmosis. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:248-251.

Craig y Faust. Parasitología Clínica. Editorial Salvat. Barcelona-España. Primera Edición 1974.

Crotti D. y D'Annibale ML. 2001. *Dientamoeba fragilis* e *dientamoebosi*: Aspetti di parassitologia clinica e diagnostica di laboratorio. *Parassitologia* 43: 135-138.

Cuadernos de Parasitología Humana. Nro 3: Introducción a la Protozoología médica. Bahía Blanca, Argentina, 1994.

D'Agostino LE. 1994. Diagnóstico serológico de Toxoplasmosis. Actualización. *Acta Bioq Clin Latinoam*. Vol XXVIII, Nro 3:339-403.

Da Rocha LG, Dos Santos JA. 2002. *Isospora belli* en los pacientes con SIDA. *Natal/Brasil. Parasitología Latinoamericana* 57: 161-165.

De Carli GA. *Parasitología Clínica*. Editorial Atheneu. Sao Paulo, Brasil. 2001.

De Luca M, Pezzani B, Córdoba M, Basualdo J. 1997. Characterization and quantitation of parasites species in the effluents of Berisso main sewage channel, Buenos Aires, Argentina. *Zbl. Hyg. Umweltmed*. 200:349-357.

De Robertis EDP y De Robertis EMF. *Fundamentos de Biología Celular y Molecular*. 2da Ed. Librería «El Ateneo» Editorial. Buenos Aires, Argentina. 1989.

Denegri, M. 1998. "Blastocistosis" en *Parasitología Médica*, Ed. Mediterráneo, cap. 15, p. 161-163.

Desch C. E. and Nutting W. 1977. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarología*, XIX(3):421-462.

Despommier D, Gwadz R, Hotez P and Knirsch Ch. *Parasitic Diseases*. 4ta Ed. Apple Trees Productions, LLC, New York, EEUU. 2000.

Dobell, C. 1940. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life-history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. *Parasitol*. 32: 417-461.

Dupouy Camet J, Kociecka W, Bruschi F, Bolas Fernández F and Pozio E. 2002. Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert Opin Pharmacoter*. 3(8):1117-1130.

Eom K and Rim H. 1993. Morphologic descriptions of *Taenia asiatica* sp. n. *The Korean Journal of Parasitology*. 31(1):1-6.

- Faust E. ; Russell P. y Jung R. "Craig y Faust Parasitología Clínica". Ed: Salvat, Barcelona, España, 8º Edición, 1982. pp: 330-335
- Feldman R. 1987. Un "nuevo" parásito intestinal: *Blastocystis hominis*.
- Forton F. 1986. *Demodex* et inflammation périfolliculaire chez l'home: revue et observation de 69 biopsies. Ann. Dermatol. Venereol. 113:1047-1058.
- Forton F, Seys B. 1993. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control study standardized skin-surface biopsy. Brit J Dermatol., 128:650-659.
- Franco Huiza y Col. Técnicas Parasitológicas. Universidad Nacional de San Marcos. Instituto de Medicina Tropical "Daniel Carrión". Lima, Perú.1993.
- Freilij H. Toxoplasmosis congénita. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:244-246.
- Frenkel J K. Et al. 1975. Inmunosupresion and Toxoplasmic encephalitis. Human Path. Vol 6 Nro 97.
- Fripp PJ, Mason PR, Super H. 1975. A method for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* using acridine orange. J Parasitol. 61:966-967.
- Fulk G, Murphy B and Robins M. 1996. Pilocarpine gel for the treatment of demodicidosis. Optom. Vis. Sci. 73(12):742-745.
- Garaguso P, Olivieri F, Méndez O. 1979. Investigaciones entero-parasitológicas sobre niños. Rev Arg Parasitol. Vol I(1):61-69.
- García H and Del Brutto O. 2000. *Taenia solium* Cysticercosis. Infectious disease clinics of North America. 14 (1):97-119.
- García S, Visciarelli E, De Mena F, Gabbarini M, Pérez S, Lucchi L y Costamagna SR. Un caso de miasis humana por *Cochliomya hominivorax* (Coquerel, 1858) (Díptera: Calliphoridae) en Bahía Blanca, Buenos Aires. IIIer Congreso Argentino de Parasitología (Organizado por Sociedad Argentina de Parasitología). Libro de resúmenes Tomo II, pág 424. Mar del Plata, 1 al 4 de noviembre de 2000.

García, S.; Visciarelli, E.; Lucchi, L. Y Costamagna, SR. Un caso de Miasis Humana por *Phaenicia eximia* (Díptera: Calliphoridae) en Bahía Blanca, Argentina. XV Congreso Latinoamericano de Parasitología. Sao Paulo, Brasil, 7 al 10 de octubre de 2001. Resumen 174.

Garrido Aparicio. Toxoplasmosis. Editorial Marban 1978. Madrid. España.

Gentili A, Lejtman N, Gabbarini J, González M. 1994. Toxocariosis. Estudio epidemiológico clínico en humanos. Acta Bioquím. Clín. Lat. XXXVI(2):257-262.

Gentili A, Lejtman N, Gabbarini J, González M. 1994. Toxocariosis. Estudio epidemiológico clínico en humanos. Acta Bioquím Clín Latinoamericana; Vol. XXVIII, Nro. 2:257-262.

Giménez R, Caminoa R, Ledesma M, Maurizzi D, Barberio P. Aspectos epidemiológicos de la presentación de casos de Trichinellosis humana de origen comercial en la ciudad de Bahía Blanca (mayo-junio de 1997). 2do Congreso Argentino de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina; 1998. Libro de Resúmenes, pp. 188-189.

Gomori G. 1950. A rapid one-step trichrome stain. Amer J Clin Path. 20:661-663.

Greenway DF. Zooparasitos y Zooparasitosis humanas. Edición del autor. Córdoba, Argentina. 1961.

Gretch, David R et al. 1992. Performance characteristics of a commercial antibody-capture Enzyme Immunoassay for detection of Toxoplasma-specific IgM antibodies. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15:587-593.

Griemberg G, Arcavi M, Kaufer F y Corallini JC. 1999. Diagnóstico de Toxoplasmosis. Medicina. 59(supl. III):30-31.

Hakansson, E.G, 1936. Dientamoeba fragilis, a cause of illness. Report of a case. Am. J. Trop. Med. 16: 175

Hellereich U. And Metzelder M. 1991. Über die häufigkeit des kopfhautbefalls durch den ektoparasiten *Demodex folliculorum* Simon in pathologisch-anatomischen und rechtsmedizinischen obduktionsgut. Archiv für Kriminol. 194:111-118.

Heskovic P. Y Astorga B. 1985. Toxocariasis humana en Chile. Rev. Méd. Chile. 113:18-21.

- Hirt J. Toxoplasmosis y embarazo. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:240-241.
- Hirt, J y col. 1980. Patogenia e inmunología de la infección toxoplasmótica. Med. Del Atlant. Año XX.241.
- Ito Akira. 2002. Serologic and mplecular diagnosis of zoonotic larval cestode infections. Parasitology Int.
- Ivy P. S., Mackall C., Gore L., Gress R. And Hartley H. 1995. Demodicidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: an opportunistic infection occurring with immunosuppression. J. Pediatrics. 125 (5):751-754.
- Jaimovich L., 1996.Rosácea: cuadro clínico y tratamiento. Act Terap Dermatol. 19(6):429-443.
- Jepps, M.W. y Dobell, C. 1918. Dientamoeba fragilis n.g.,n.sp., a new intestinal amoeba of man. Parasitol.,10:352.
- Jian JB y He, JB. 1993. Taxonomic status of Blastocystis hominis.
- Shields JM, Olson BH. 2003. Cyclospora cayetanensis: a review of an emerging parasitic coccidian. International Journal for Parasitology 33: 371-379.
- Kaufner FJ, Hirt J, Carral L y Durlach R. Toxoplasmosis: diagnóstico. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:236-239.
- Lane S and Lloyd D. 2002.Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. Critical Reviews in Microbiology, 28(2):123-147.
- Leopairut J. ; Neafie R. ; Meyers W. and Marty A. "Enterobiasis" en Pathology of Infectious Disease Volume I Helminthiases. Ed: Meyers W. Armed Forces Institute of Pathology . American Registry of Pathology. Washington, DC, United State of America, 2000. pp: 433-446
- Luciani A. La otra cara de las mascotas. La Nueva Provincia, 12 de julio de 1998:12-13.
- Lujan HD, Mowalt MR and Nash TE. 1996.Lipid requirements and lipid uptake by *Giardia lamblia* trophozoites I culture. J Eukaryot Micriobiol. 43(3):237-242.

Lujan HD, Mowalt MR and Nash TE. 1997. Mechanisms of *Giardia lamblia* differentiation into cysts. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61(3):294-304.

Lujan HD, Mowalt MR, Byrd LG and Nash TE. 1996. Cholesterol starvation induces differentiation of the intestinal parasite *Giardia lamblia*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(15):7628-7633.

Lura MC, Gilli MI, Haye M, Carrera E, Nepote A, Abramovich B. 2000. Parásitos en aguas de recreación. Correlación con parámetros de calidad de aguas. *Medicina.* 60(supl. III):44-45.

Madore MS, Rose JB, Gerba Ch, Arrowood MJ, Sterling Ch .1987. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters. *J. Parasit.* 73: 702-705.

Markel y Voge. *Parasitología.* Editorial El Manual moderno. México, DF. 1981.

Marzochi MC. 1977. Estudo dos fatores envolvidos na disseminacao dos enteroparasitas II- Estudo da contaminacao de verduras e solo de hortas na cidade de ribeirao preto. Sao Paulo. Brasil. *Rev Inst Med Trop. Sao Paulo.* 19 (3): 148-155.

Master Internacional en enfermedades parasitarias. 9na Ed. Universitat de Valencia. España. 1995.

Maurizi D, Barberio P, Ferrer I, Ferrández E, Marcalain P. 2000. Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* y Rubéola en una población de Bahía Blanca. *Rev AMBB;* 10(1):59-60.

Méndez OC y Menghi C. 1997. *Blastocystis hominis*: un parásito de patogenicidad dudosa. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana,* vol. 3, nº3, 275-282.

Méndez OC. *Diagnostico microscópico de parásitos intestinales.* Editorial FABA. Buenos Aires, Argentina, 1992.

Méndez OC. *Lecciones prácticas sobre enteroparasitosis humanas.* Ed. Fed. Bioq. de Buenos Aires. 1998.

Mendoza M. XI Congreso Latinoamericano de Parasitología LIMA-PERÚ. 1993.

Morgan-Ryan U, Fall A, Ward L, Hijjawi N, Sulaiman I, Fayer R, Thompson A, Olson M, Lal A and Xiao L. 2002. *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. J. Eukariot. Microbiol. 49(6):433-440.

Municipalidad de Bahía Blanca (Argentina): Diagnóstico y escenarios territoriales, Análisis FODA; 1998.

Neva F. and Brown H. "Basic Clinical Parasitology". Ed: Prentice-Hall International Inc. United State of America, 6° Edición, 1994. pp: 135-139

Niño F. y colaboradores. Guía de trabajos prácticos de parasitología. López Libreros Editores SRL. Buenos Aires. Argentina, Tercera Edición, 1972.

Nutting WB. 1976. Hair follicle mites (*Demodex spp.*) of medical and veterinary concern. Cornell Vet. 66:214-231.

Oliva A, García S, Visciarelli E, Costamagna SR, Lucchi L, Oriani S, González L y Pizzorno M. Primer registro de Dípteros productores de miasis, en Bahía Blanca. VI Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de octubre de 2000. Medicina Vol. 60. Supl. III-2000:46.

Owen LN. 1972. Demodectic mange in dogs immunosuppressed with antilymphocyte serum. Transplantation. 13:616-617.

Owen M. 1843. Lectures on the comparative anatomy and physiology of the invertebrate animals. London I:250.

Payne R. 1982. Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) using antibody class capture for the detection of anti-toxoplasma IgM. J. Clin. Pathol. 35: 892-896.

Pessoa S. y Martins A. "Pessoa Parasitología Médica". Ed: Guanabara Koogan, 10° Edición, 1978. pp: 595-602.

Pezzani B. 2000. Contaminación parasitaria en agua de red de distribución y en suelos. Medicina. 60(supl. III):45-46.

Pezzani B. 1993. Toxocariosis humana. Rev Arg Infect; 6(5):45-48.

Piekarski G. Tablas de Parasitología Médica. 1ra Ed. Bayer, Leverkusen, Alemania. 1961.

Prado Figueroa M y Costamagna SR. Endocitosis mediada por receptores en el protozoario parásito *Trichomonas vaginalis*. XXXIV Reunión de la Sociedad Argentina de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular (SAIB). Mendoza, noviembre de 1998.

Redondo Mateo J, Soto Guzmán O, Fernández Rubio E and Domínguez Franjo F. 1993. *Demodex*-attributed rosacea-like lesions in AIDS. Acta Derm. Venereol. 73:437-438.

Rey, L. Parasitología. Segunda Edición. Editorial Guanabara Koogan. Río de Janeiro, Brasil, 1991.

Ritchie RS. 1948. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bull U S Army Med Dept; 8:326-327.

Rufli T. and Büchner S. 1984. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of *Demodex folliculorum*. Dermatologica. 169:1-5.

Salomón C, Tonelli R, Borremans G, Mana C. 2000. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* y *Toxocara canis* en una población de pobladores rurales. Medicina; 60 (Supl III):61-62.

Sandin R et al. 1991. comparison of the vitek inmunodiagnostic assay system with an indirect immunoassay (Toxostat-Test kit) for detection of IgG antibodies to *T. gondii* in clinical specimens. J. Clin, Microbiol. Vol 29 Nro. 12: 2763-2767.

Sandre Th. Et al. 1989. Etude comparative de la detection d' IgM anti-toxoplasmiques par deux methodes d' immunocapture- Feuillet de Biologie. Vol XXX. Nro. 166:31-34.

Sappero JJ, Lawless DK. 1953. The "MIF" stain-preservation technique for the identification of intestinal protozoa. Am J Trop Med Hyg; 2:613-619.

Schenone H, Rojas A, Galdanes M, Villaroel F, Hernández E, Cueva R, et al. 1981. Panorama de las Helminthiasis intestinales humanas transmitidas por el suelo en Chile (1970-1980). Bol Chileno Parasitol; 36:9-13.

- Schnoller A. y col . 1994. Toxoplasmosis. Clin. y Prod. Vet. Nro 16:25-31.
- Segundo simposio internacional de SIDA, Bahía Blanca, Argentina, 1993. Conferencia del Dr. J. HIRT.
- Semenas L .2000. Control de protozoos y helmintos en aguas residuales utilizadas para riego. Medicina. 60(supl. III):44-45.
- Senay H y Macpherson D. 1990. Blastocystis hominis: epidemiology and natural history. J. Infect. Dis., 162, 987-990.
- Servicio Meteorológico Nacional Argentino. Estadísticas climatológicas 1981-1990. Serie B. Nro 37. Primera Edición. Buenos Aires, Argentina. 1992. pp. 15-19.
- Shore-García- Ash. Diagnostico Parasitologico. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. Primera Ed. 1983.
- Silberman JD, Clark CG, Sogin ML. 1996. Dientamoeba fragilis shares a recent common evolutionary history with the trichomonads. Mol. Biochem. Parasitol. 76: 311-314.
- Skinner L et al. 1989. The use of an IgM injunosorbeth Agglutination assay to diagnose congenital toxoplasmosis. J. Med. Microbiol. 28: 125-128.
- Spickett SG. 1961. Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). Parasitology, 51:181-192.
- Takeyanagui O, Febronio L, Bergamini A, Okino M, Castro e Silva A, Santiago R, et al. 2000. Fiscalizacao de hortas produtoras de verduras do municipio de Riberao Preto, SP. Rev Soc Br Med Trop; 33(2):169-174.
- Taratuto AL and Venturiello SM. 1997.Trichinosis. Brain Pathol. 7:663-672.
- Tonelli R, Salomon C. 1997. Frecuencia de *Trichomonas vaginalis* y flora bacteriana asociada en flujo vaginal. Medicina; 55 (Supl III):58-59.
- Torno Cafasso O, Visciarelli E, Costamagna SR, Prat MI, García S. Estudio de la contaminación parasitaria de verduras en huertas de la zona suburbana de Bahía Blanca (Prov. Buenos Aires, Argentina) Iras Jornadas Municipales sobre Medio Ambiente. Bahía Blanca, 7 al 9 de agosto de 1991.

Valperga S, Ovejero G, Soria E, Enrico S, Zerdán A. 1987. Estudio comparativo de dos encuestas coproparasitológicas efectuadas con 19 años de diferencia en una escuela suburbana de San Miguel de Tucumán (Argentina). Rev Fac Med Tucumán; Vol XIX (3):17-27.

Vecchi C, Gertiser A, Alvarez S, Del Valle M, Rauschemberger B, Vasconsuelo A. 1997. Presentación de dos casos clínicos pediátricos de Neurocisticercosis en Bahía Blanca. Actas XVII Congreso Argentino de Neurología Infantil. Córdoba, Argentina. 5-6 de octubre de 1997, pág. 50.

Venturini L. Toxoplasmosis: aspectos parasitológicos. Actas IIIer Congreso Argentino de Parasitología. Mar del Plata, 1-4 de noviembre de 2000. Tomo I:231-233.

Visciarelli E, García S, Costamagna SR, Torno Cafasso O y Santamaría B. 2000. Contaminación parasitaria en Bahía Blanca. Ier Congreso de la Salud de Bahía Blanca. 2 al 5 de octubre de 2000. Rev AMBB Vol. 10 Supl. 1:65.

Vollmer RT. 1996. *Demodex* associated folliculitis. Am J Dermatopathol. 18(6):589-591.

Vulcan P, Diaconu J, Barsan M and Ganea A. 2000. *Demodex* participation in granulomatous lesions. JEADV. 14(Suppl. 1):107.

Weiss L et al. 1991. Polimerase chain reaction for the diagnosis of Toxoplasmosis acute. The Journal of infectious diseases, 23,4.

Wenrich DH. 1939. Studies on *Dientamoeba fragilis* (Protozoa). III Binary fission with special reference to nuclear division . J. Parasitol., 25: 43.

Willis H. 1921. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. Med J Australia; 1:375-376.

Wrenn WJ. 1996. Immune responses to mange mites and chiggers. In The immunology of host-ectoparasitic arthropod relationships. Edited by Stephen Wikel. CAB Int. Wallingford. U.K..

Yang J y Scholten TH. 1977. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis.

Yanovsky J. Y Averbach S. 1977. La reacción de aglutinación directa de Toxoplasmosis. Polymetron Buenos Aires. Argentina.

Yazyi J, Arenas H y Costamagna SR. 1997. Tratamiento de la Hidatidosis hepatopulmonar. Vto Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades parasitarias. 21 al 25 de setiembre de 1997. Medicina vol 55 suppl III:60.

Yazyi J, Arenas H, Costamagna SR. 1997. Tratamiento de la Hidatidosis hepatopulmonar. Medicina; 55 (supl III): 60-61.

Leopairut J. ; Neafie R. ; Meyers W. and Marty A. "Enterobiasis" en Pathology of Infectious Disease Volume I Helminthiases. Ed: Meyers W. Armed Forces Institute of Pathology . American Registry of Pathology. Washington, DC, United State of America, 2000. pp: 433-446.

Se terminó de imprimir en Mayo de 2008
en los talleres A3 Servicios Gráficos
Francia 743 - bahía Blanca - Argentina
Se imprimieron 200 ejemplares

