

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DPTO. DE MEDICINA PREVENTIVA,
SALUD PÚBLICA Y MICROBIOLOGÍA



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



CONTRIBUCIÓN A LA PREVENCIÓN DE ZONOSIS PARASITARIAS DERIVADAS DE LA INTRODUCCIÓN Y CRÍA DE AVESTRUCES Y OTRAS RATITES EN ESPAÑA

TESIS DOCTORAL

Blanca Teresa Simmons Diez

Madrid, 2008



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

El Dr. Rafael A. Martínez Díaz, del Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, y el Dr. Francisco Ponce Gordo, del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid,

HACEN CONSTAR:

Que la Licenciada en Biología Dña. **Blanca Teresa Simmons Díez** ha realizado en los citados Departamentos y bajo su dirección conjunta, el presente trabajo titulado "*Contribución a la prevención de zoonosis parasitarias derivadas de la introducción y cría de avestruces y otras ratites en España*", y autorizan la presentación de la memoria al cumplir con todos los requisitos exigidos para la exposición y defensa de la Tesis Doctoral que le permita aspirar al grado de Doctor.

En Madrid, a 1 de Septiembre de 2008

Fdo. Rafael A. Martínez Díaz

Fdo. Francisco Ponce Gordo

Son muchas las personas sin las cuales este trabajo no se habría llevado a cabo. A mis padres Eldon y Blanca Simmons por su continuo apoyo y persistencia (*las cosas que se empiezan, aunque por largo que dure, se terminan*); a mi madrina Maria Caridad Gomez Diez, por su continuo apoyo moral; a mis primos, sobre todo a Alex y Eva Henrich; a Carlos Gómez Diez, por sus buenas sugerencias en la redacción; a mi amiga Elena Casañas y su familia, por su apoyo y su ayuda; y sobre todo a mis hermanos Pat y Cristina, especialmente a ella, por su comprensión y paciencia conmigo a lo largo de todo este periodo. A todas ellas: mil gracias. Y para terminar, un *gracias* especial a mis dos directores de tesis, Rafael y Paco, por sus consejos, su paciencia y sobre todo por su amistad.

RESUMEN

Durante un periodo de 6 años más de 600 avestruces y casi una docena de ñandúes mayoritariamente nacidos y criados en España han sido analizados, identificándose 19 especies de protozoos, todos menos uno (*Toxoplasma*) de localización intestinal. De los organismos identificados en este estudio, solo el ciliado *Balantidium struthionis* ha sido previamente citado como específico de ratites. De entre los demás protozoos hallados, las formas compatibles con *Trichomonas gallinae* y las especies *Tetratrichomonas gallinarum*, *Chilomastix gallinarum*, *Spiroucleus meleagridis* y *Pleuromonas jaculans* han sido descritas por primera vez en ratites, mientras que los organismos identificados como *Entamoeba* sp. del grupo de las formadoras de quistes uninucleados y *Retortamonas* sp. han sido descritos por primera vez en aves. El resto de los organismos encontrados sólo se han podido identificar hasta género: *Cryptosporidium* sp., *Eimeria* sp., *Isospora* sp., *Entamoeba* sp. del grupo de las formadoras de quistes octonucleados, *Endolimax* sp., *Iodamoeba* sp., *Monocercomonas* sp., *Retortamonas* sp., *Giardia* sp., *Blastocystis* sp., y los euglenozoos, por lo que es necesario realizar futuros estudios para completar su identificación. En cualquier caso, los datos obtenidos permiten considerar que la cría y el consumo de avestruces no significa un riesgo especial para la salud humana en lo que a enfermedades producidas por protozoos se refiere, a falta de los datos que se obtengan con estudios más detallados de algunos de los organismos encontrados.

ABSTRACT

During a 6 year period, more that 600 ostriches and near a dozen of rheas, almost all of them born and raised in Spain have been analyzed. A total of 19 protozoan species have been found, all but one (*Toxoplasma*) in the gastrointestinal tract. From the organisms identified in this study only the ciliate *Balantidium struthionis* has been previously cited as ratite specific. Among the other protozoans found, *Trichomonas gallinae*-like organisms and the species *Tetratrichomonas gallinarum*, *Chilomastix gallinarum*, *Spiroucleus meleagridis* and *Pleuromonas jaculans* are described for the first time in ratites although having been previously cited in other birds, while *Entamoeba* sp. of the 1-nucleate mature cyst and *Retortamonas* sp., have been described for the first time in birds. Other organisms have been only identified to the genus level, as *Cryptosporidium* sp., *Eimeria* sp., *Isospora* sp., *Entamoeba* sp. of the 8-nucleate mature cyst group, *Endolimax* sp., *Iodamoeba* sp., *Monocercomonas* sp., *Retortamonas* sp., *Giardia* sp., *Blastocystis* sp., and the euglenozoa. Then, further studies are necessary in order to establish their taxonomical status. Anyway, the present data suggest that the farming and consumption of ostriches do not pose a significant risk for the human health in relation to parasitic protozoan diseases as yet to be confirmed by further studies on some of the organisms now found.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Las ratites	3
2.1.1. Taxonomía	3
2.1.2. Morfología	5
2.1.3. Biología	14
2.1.4. Distribución	19
2.1.5. Explotación industrial del avestruz	20
2.1.5.1. Historia	21
2.1.5.2. Instalaciones de cría	22
2.1.5.3. Instalaciones de sacrificio	24
2.1.5.4. Comercialización	25
2.2. Parásitos considerados en este estudio	26
2.2.1. Posición taxonómica	26
2.2.2. Amebas	36
2.2.2.1. Familia Entamoebidae	39
2.2.3. Flagelados	48
2.2.3.1. Familia Monocercomonadidae	55
2.2.3.2. Familia Trichomonadidae	64
2.2.3.3. Familia Cochlosomidae	75
2.2.3.4. Familia Retortamonadidae	79
2.2.3.5. Familia Hexamitidae	85
2.2.3.6. Familia Bodonidae	98
2.2.3.7. Euglenozoos	100

Índice

2.2.4. Apicomplejos	101
2.2.4.1. Familia Eimeriidae	110
2.2.4.2. Familia Isosporidae	114
2.2.4.3. Familia Sarcocystidae	117
2.2.4.4. Familia Cryptosporiidae	126
2.2.5. Ciliados	131
2.2.5.1. Familia Balantidiidae	139
2.2.6. <i>Blastocystis</i>	141
2.2.6.1. Familia Blastocystidae	147
3. MATERIAL Y MÉTODOS	151
3.1. Material Biológico	151
3.1.1. Muestras de granja	151
3.1.2. Muestras de matadero	152
3.2. Procesado de las muestras	155
3.2.1. Heces (bolos fecales)	155
3.2.2. Contenido de intestino delgado y ciego	156
3.2.3. Contenido de intestino grueso	156
3.2.4. Sangre	157
3.2.5. Tejidos y órganos	157
3.3. Parámetros considerados en el estudio de los protozoos	157
3.4. Descripción de técnicas	159
3.4.1. Examen directo	159
3.4.2. Métodos de concentración	160
3.4.3. Técnicas de tinción	161
3.4.4. Técnicas serológicas para el diagnóstico de la Toxoplasmosis	165

4. RESULTADOS	169
4.1. Relación de organismos encontrados, distribución y prevalencia	169
4.2. Parásitos de localización intestinal	173
4.2.1. Amebas	173
4.2.1.1. Género <i>Entamoeba</i>	173
4.2.1.2. Género <i>Iodamoeba</i>	181
4.2.1.3. Género <i>Endolimax</i>	183
4.2.2. Flagelados	186
4.2.2.1. Género <i>Monocercomonas</i>	186
4.2.2.2. Género <i>Histomonas</i>	188
4.2.2.3. Familia Trichomonadidae	189
4.2.2.4. Género <i>Retortamonas</i>	194
4.2.2.5. Género <i>Chilomastix</i>	196
4.2.2.6. Género <i>Spiroucleus</i>	200
4.2.2.7. Género <i>Giardia</i>	202
4.2.2.8. Género <i>Pleuromonas</i>	204
4.2.2.9. Euglenozoos	206
4.2.3. Apicomplejos	208
4.2.3.1. Géneros <i>Isospora/Eimeria</i>	208
4.2.3.2. Género <i>Cryptosporidium</i>	209
4.2.4. Ciliados	212
4.2.4.1. Género <i>Balantidium</i>	212
4.2.5. <i>Blastocystis</i>	216
4.3. Parásitos de localización tisular	218
4.3.1. Género <i>Toxoplasma</i>	218

5. DISCUSIÓN	219
5.1. Discusión sobre amebas	219
5.2. Discusión sobre flagelados	224
5.3. Discusión sobre apicomplejos	235
5.4. Discusión sobre ciliados	240
5.5. Discusión sobre <i>Blastocystis</i>	242
6. CONCLUSIONES	245
7. BIBLIOGRAFÍA	247

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

La cría de avestruces (*Struthio camelus*), y en menor medida de otras ratites (ñandú, emú), fuera de sus ámbitos geográficos originales ha cobrado importancia durante los últimos años, siendo destinados los animales, principalmente, a la industria cárnica y para la elaboración de productos de marroquinería. En España, la cría de avestruces se ha iniciado en la década de los noventa, habiéndose estabilizado en la actualidad con el asentamiento de numerosas granjas cuyos productos poco a poco van abriéndose paso, fundamentalmente en el terreno de la industria cárnica para el consumo humano.

Son muy pocos los datos disponibles sobre los parásitos y vectores que en nuestras latitudes pueden desarrollarse en las avestruces y cuya procedencia sea animales silvestres y/o domésticos, o incluso del hombre; y viceversa. Por este motivo, la existencia de instalaciones de cría, o la comercialización de productos de estas aves, puede suponer una potencial vía de paso de parásitos (y otras enfermedades) de ciclos silvestres a domésticos y al hombre (Wintherfield y Thacker, 1978; Shepherd y col., 1987; Orosz y col., 1992).

Es posible que algún parásito del avestruz llegue a significar un riesgo para los operadores de las salas de sacrificio, debido al íntimo contacto con el animal. Hay antecedentes, ya que se han dado varios casos de infección en Suráfrica por el virus Crimea-Congo (como el brote de 1996 con 16 afectados de entre los trabajadores de un matadero, uno de ellos fallecido), siendo el contagio muy probablemente debido al contacto con la sangre de los animales, o a las picaduras de las garrapatas localizadas en las avestruces sacrificadas y que ha sido documentado que pueden ser una fuente de infección (Shepherd y col., 1987).

Además, algunas especies de parásitos son muy frecuentes (p.e., malófagos en las plumas; Domínguez de Tena y col., 1976), por lo que la importación de ratites puede significar la aparición de parasitosis antes desconocidas en los países importadores (US.D.A., 1989a,b; Barton y Steward, 1993; Button y col., 1993;

Gajadhar, 1993; Hoberg y col., 1995). Así, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, basándose en un trabajo realizado por Mertins y Schlater (1991), ha regulado la entrada de avestruces en su país, debido a la presencia de diversas especies de ectoparásitos entre el plumaje.

Si bien hay numerosos estudios relativos a condiciones de cría y de producción de avestruces y otras ratites, son muy pocos los trabajos relativos a los parásitos que les pueden afectar; y prácticamente no hay ninguno relativo a protozoos, ni en España ni en el resto del mundo. Este vacío de conocimiento es el que se pretende cubrir con el presente estudio; los resultados que se obtengan tienen o pueden tener implicaciones tanto para el sector ganadero (por los posibles riesgos para trabajadores y para el ganado), como para la propia Administración (para implementar las correspondientes medidas de control, tanto veterinarias como sanitarias y ambientales), y también para la población en general (ante la creciente comercialización de productos de estas aves y su utilización en granjas-escuela y centros similares).

1.2. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, los objetivos que se pretenden alcanzar con el presente estudio son:

1. - Identificación y distribución (orgánica, geográfica y temporal) de las especies de protozoos parásitos que puedan encontrarse en las avestruces y otras ratites criadas en España, estableciendo en su caso la posible relación con las patologías que pueden darse en estas aves y otros hospedadores. Se pretende establecer el procedimiento más adecuado de muestreo (épocas, órganos) y de identificación (tinciones, claves de identificación), así como determinar la existencia de focos o de regiones de especial peligro.
2. - A partir de los datos obtenidos, determinar si los parásitos encontrados son importados y/o autóctonos y su forma de contagio y transmisión en las avestruces españolas, así como la posibilidad de que dichos parásitos puedan afectar a otras especies animales autóctonas o al hombre.

REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LAS RATITES

2.1.1. TAXONOMÍA

El término “ratites”, sin validez taxonómica, hace referencia a un grupo heterogéneo de aves corredoras y que han perdido la capacidad de volar. Como consecuencia, el esternón se encuentra desprovisto de quilla, las alas son atróficas en mayor o menor grado y el omóplato se encuentra soldado al coracoides; en general, los tarsos son robustos y rematados en tres dedos, las patas son fuertes y el pico corto. En este grupo de aves se incluyen avestruces, emúes, ñandúes, kiwis y casuarios. Parece indudable que estas aves evolucionaron a partir de diferentes antepasados y no a partir de un ancestro único. Se conocen dos grupos de aves, actualmente extinguidas, que permiten tener una idea más clara de lo que fue la evolución de las formas de grandes dimensiones, incapaces de volar, a partir de especies perfectamente dotadas para el vuelo. Dichos grupos son el de las Dinornitiformes (Dinortitiphormes), al que pertenecían las moas de Nueva Zelanda (figura 2.1), y las Epiornitiformes (Aepyornithiphormes), al que pertenecían la aves elefante o epiornites de Madagascar, que podían llegar a casi los 4 metros de altura (figura 2.2) (del Hoyo y col.,1992).

Figura 2.1: Moa



Figura 2.2: Ave elefante



La clasificación ornitológica más aceptada es la propuesta por Morony y col. (1975). En ella, las ratites quedan encuadradas bajo cuatro subórdenes dentro de un único orden, *Struthioniformes*. Sin embargo, en los años 90 se han propuesto varias clasificaciones basadas en técnicas moleculares, entre la que destaca la propuesta por Sibley y col. (1988), elaborada a partir de estudios de hibridación de ADN. Esta clasificación aparece extensamente recogida en textos de reciente edición (Sibley, 1990, 1993; Sibley y Monroe, 1993a,b; Rolf, 2002), pero se encuentra aún lejos de recibir una total aceptación dentro de los círculos ornitológicos. En ella, se reduce el número de subórdenes en el que se encuadran las ratites a dos, el número de familias se reduce a cuatro y se mantiene un único orden *Struthioniformes*.

Clasificación de Morony y col. (1975)

- Orden Struthioniformes
 - Suborden Struthioni
 - Familia *Struthionidae*
 - Suborden Rheae
 - Familia *Rheidae*
 - Suborden Casuarii
 - Familia *Cassuariidae*
 - Familia *Dromaiidae*
 - Suborden Apteryges
 - Familia *Apterigydae*

Clasificación de Sibley y Monroe (1993)

- Orden Struthioniformes
 - Suborden Struthioni
 - Familia *Struthionidae*
 - Familia *Rheidae*
 - Suborden Casuarii
 - Familia *Cassuariidae*
 - Familia *Apterigydae*

Sin entrar a valorar cual clasificación es más correcta, y considerando sólo la primera clasificación en tanto no se adopte una decisión unánime por los especialistas, las avestruces quedarían encuadradas en el suborden *Struthioni*. El suborden *Rheae* englobaría a los ñandúes, mientras que casuarios, emúes y kiwis estarían recogidos en los subórdenes *Casuarii*, los dos primeros, y *Apteryges*, el último. El único suborden que comprendería dos familias de aves actualmente vivas es *Casuarii*. A pesar de sus diferencias morfológicas, consecuencia de su adaptación a un ambiente diferente, desde el punto de vista anatómico existen unas indudables afinidades entre los casuarios y los emúes, representantes respectivos de las familias *Cassuariidae* y *Dromaiidae* (del Hoyo y col., 1999).

El encuadre de los géneros, especies y subespecies de ratites dentro del orden *Struthioniformes* se muestra a continuación:

SUBORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN	SUBESPECIE
<i>Struthioni</i>	<i>Struthionidae</i>	<i>Struthio</i>	<i>S. camelus</i>	Avestruz	<i>S. camelus camelus</i>
					<i>S. camelus massaicus</i>
					<i>S. camelus molybdophanes</i>
					<i>S. camelus australis</i>
<i>Rheae</i>	<i>Rheidae</i>	<i>Rhea</i>	<i>R. americana</i>	Ñandú común	<i>R. americana intermedia</i>
					<i>R. americana nobilis</i>
					<i>R. americana araneipes</i>
					<i>R. americana albescens</i>
		<i>Pterocnemia</i>	<i>P. pennata</i>	Ñandú de Darwin	<i>P. pennata garteppi</i>
					<i>P. pennata tarapacensis</i>
					<i>P. pennata pennata</i>
<i>Cassuarii</i>	<i>Casuariidae</i>	<i>Cassuarius</i>	<i>C. cassuarius</i>	Casuario común	
			<i>C. benetti</i>	Casuario menor	
			<i>C. unappendiculatus</i>	Casuario unicurunculado	
	<i>Dromaiidae</i>	<i>Dromaius</i>	<i>D. novaehollandiae</i>	Emú	
<i>Apteryges</i>	<i>Apterygidae</i>	<i>Apteryx</i>	<i>A. australis</i>	Kiwi común	<i>A. australis mantelli</i>
					<i>A. australis australis</i>
					<i>A. australis lawryi</i>
			<i>A. owenii</i>	Kiwi moteado menor	
		<i>A. haastii</i>	Kiwi moteado mayor		

2.1.2. MORFOLOGÍA

Las **avestruces** presentan dimorfismo sexual (figura 2.3). El plumaje del macho es de color negro uniforme, con los extremos de las plumas de las alas y cola de color blanco. Las hembras son de color pardo. El color de las plumas es consecuencia de la presencia o no de estrógenos. Los machos del este de África (*S. camelus camelus* y *S. camelus massaicus*) tienen una coloración rojiza en la

piel del cuello, siendo referidos como “especies de cuello rojo” (figura 2.4); las avestruces de más al sur (*S. camelus molybdophanes* y *S. camelus australis*), de piel ligeramente azulada, son las “especies de *cuello azul*”. Estas coloraciones dependen de la presencia de testosterona. *Struthio camelus camelus* posee la coronilla desplumada como carácter distintivo y plumas en forma de cerdas en la base del cuello. Presenta las dos mandíbulas de diferente color, roja la inferior y amarilla la superior. *Struthio camelus massaicus* puede presentar la coronilla parcialmente desplumada o emplumada. Posee la piel roja y el pico rojo brillante. En el cuello presenta un anillo blanco estrecho y plumas blancas en la cola. *Struthio camelus molybdophanes* posee un anillo de plumas blancas en el cuello y la coronilla desplumada. La mandíbula inferior blanca o rosa clara con la punta brillante, la superior rosa. Es la más alta entre las subespecies de avestruz. *Struthio camelus australis* presenta la coronilla emplumada y carece de anillo blanco en la base del cuello. El pico es rojo. Las plumas de la cola son rojizas.

Figura 2.3: Dimorfismo sexual en avestruces.



Figura 2.4: Avestruz y detalle de la cabeza.



El actual híbrido comercial (*Struthio camelus* var. *domesticus*), tiene como base la subespecie del sur de África (*Struthio camelus australis*) junto con otras subespecies (tabla 2.1), principalmente *Struthio camelus camelus*, aunque también *Struthio camelus syriacus*. Otros autores mencionan también *S. camelus massaicus* como subespecie que contribuye en su momento a la creación de la variedad doméstica. Este avestruz de granja, llamada de *cuello negro*, se desarrolló con el fin de facilitar su manejo y potenciar la producción de plumas de mejor calidad. En general, se diferencia del resto en que es más pequeña, de cuello y pico, en ocasiones, más corto. Las plumas presentan barbas más anchas, siendo más redondeadas en los extremos que en la punta (Perrins, 1985).

Tabla 2.1: Características de las diferentes subespecies de *Struthio camelus*.

TIPO	ÁFRICA DEL NORTE	MÁSSAI (cuello rojo)	SOMALIA	SUDÁFRICA (cuello azul)
NOMBRE	<i>S. camelus camelus</i>	<i>S. camelus massaicus</i>	<i>S. camelus molybdophanes</i>	<i>S. camelus australis</i>
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	Sahara	Kenia y Tanzania	Somalia, Etiopia y Kenia	Zimbawe, Sudáfrica, Namibia y Angola
PIEL	rosa	roja	azul oscura	gris azulado
CABEZA	calva	cubierta	calva, rodeada de un anillo de plumillas	cubierto de plumón
PICO	mandíbula superior amarilla e inferior roja	rojo brillante	superior rosa e inferior blanca o rosa clara con la punta brillante	rojo
TIPO DE ESCAMAS	rosa oscuro y acabadas en amarillo	negras en la parte inferior de la pata y resto rosa	rosa brillante	
CUELLO	anillo de plumas blancas en la base	anillo blanco estrecho	anillo blanco	anillo blanco ancho
PLUMAS	negras en cuerpo y blancas en cola	blancas en cola y de peor calidad	negras y blancas en cola y alas	negras, blancas en alas y rojizas en cola

Como el resto de las ratites, las avestruces carecen de quilla y de musculatura pectoral, por lo que las alas no son funcionales, aunque el animal puede utilizarlas como contrapeso durante sus desplazamientos, y para el cortejo. Las patas, sin embargo, están muy desarrolladas, preparadas tanto para la carrera como para la defensa (mediante patadas). Los pies han perdido dos dedos, quedando un dedo interno funcional (el más grande -tercer dedo- con una uña) y otro externo pequeño (el cuarto dedo sin uña evidente). La piel presenta callosidades o engrosamientos en aquellas regiones que se encuentran en contacto con el suelo (zona pectoral, región pubiana, articulación tibiotarso-metatarsiana); el engrosamiento pectoral también protege los órganos internos de los golpes que puedan darse los animales entre sí.

Los huevos del avestruz son de color blancuzco, con un peso de 1-1,5 Kg. El pollo recién nacido no llega a alcanzar el kilo, creciendo rápidamente hasta superar los 100 Kg al año de vida. Hacia los 16-18 meses alcanzan la altura definitiva de los adultos (2,1-2,7 metros los machos y 1,75-1,9 las hembras), aumentando paulatinamente en peso hasta alcanzar 100-150 Kg los machos y 90-110 Kg las hembras (tabla 2.2).

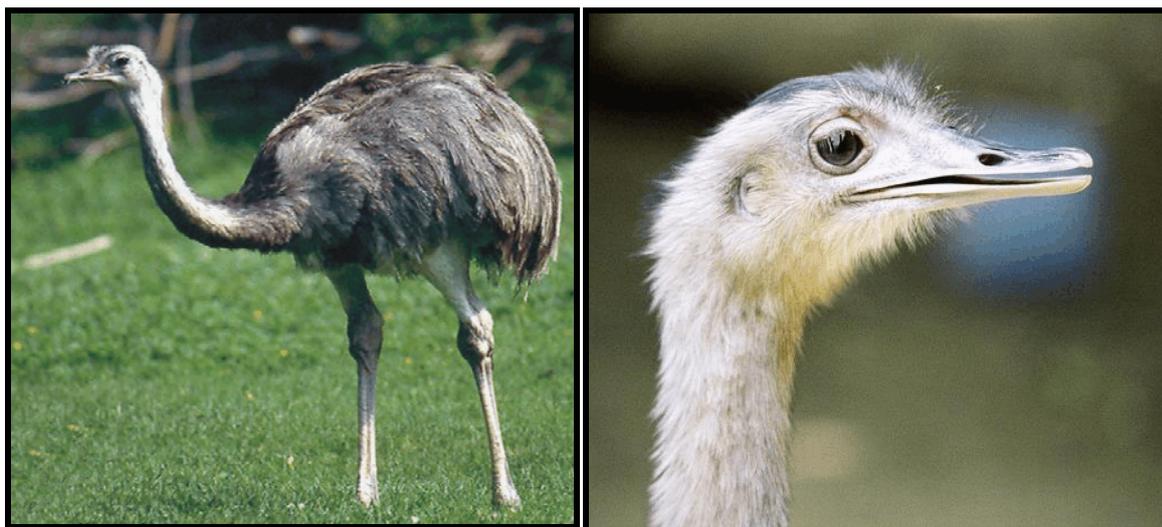
Tabla 2.2: Características cualitativas y cuantitativas de la especie *Struthio camelus*.

Ficha Técnica:	
<p>Nombre científico: <i>Struthio camelus</i>.</p> <p>Varietades: Existen distintas subespecies de avestruces, divididas en dos grupos:</p> <p style="padding-left: 20px;">Avestruces de cuello rojo:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Struthio camelus camelus</i> – <i>Struthio camelus massaicus</i> – <i>Struthio camelus syriacus</i> <p style="padding-left: 20px;">Avestruces de cuello azul:</p> <ul style="list-style-type: none"> – <i>Struthio camelus molybdophanes</i> – <i>Struthio camelus australis</i>. <p>El avestruz doméstico, <i>Struthio camelus</i> var. domesticus, técnicamente es una variedad y no una subespecie; genéticamente es un híbrido de distintas subespecies.</p> <p>Talla: Los animales adultos alcanzan alturas comprendidas entre 2,10 y 2,40 m. Los machos son más altos que las hembras. Algunos ejemplares sobrepasan los 2,50 m.</p> <p>Longevidad: Un avestruz puede vivir más de 80 años. El promedio de vida útil, es decir el periodo de tiempo en que el animal es productivo, se sitúa en 40-50 años.</p> <p>Madurez: Los machos alcanzan la madurez sexual a los 3-4 años de edad. Las hembras, a los 2,5-3 años.</p> <p>Producción de huevos anual: Cada hembra pone de 30 a 50 huevos como promedio durante la temporada de puesta. Algunos ejemplares han puesto más de 100 huevos en una temporada.</p> <p>Temporada de puesta: variable, normalmente se sitúa entre marzo y octubre.</p> <p>Periodo de incubación: 42-43 días (seis semanas aproximadamente).</p>	<p>Peso del huevo: 1.300-1.600 kg.</p> <p>Talla de los pollitos recién nacidos: Aprox. 25 cm.</p> <p>Peso de los pollitos recién nacidos: Aprox. 450-650 gr.</p> <p>Tasa de crecimiento: Aprox. 25-30 cm al mes, durante el primer año.</p> <p>Edad de sacrificio: 12-14 meses de edad.</p> <p>Rendimiento cárnico al sacrificio: 35-45 kg de carne (a los 12-14 meses)</p> <p>Clima: Muy adaptable.</p> <p>Valoración de los huevos:</p> <ul style="list-style-type: none"> – A los 10 días, si se es un experto. – A los 14-17 días, en caso de no serlo. <p>Superficie de cría necesaria: Una pareja de reproductores precisa de una superficie de aprox. 0,15-0,20 ha. Las avestruces requieren cierto ejercicio físico, por lo que los cercados deben tener un mínimo de 35-45 m de longitud.</p> <p>Unidad de producción: Pese a que pueden explotarse por parejas, la forma más habitual la constituye el “trío”, formado por un macho y dos hembras.</p> <p>Alojamientos: Los pollitos, desde su nacimiento hasta las 12 semanas de vida, se alojan en zonas protegidas, manteniendoles secos y en un ambiente controlado (calefacción). Los animales adultos viven al aire libre, disponiendo en los corrales algunos cobertizos para proteger la comida y a los propios animales de las inclemencias meteorológicas.</p> <p>Principales producciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> –Piel, plumas, carne. –Huevos infértiles destinados a decoración.

Los **ñandúes** son bastante parecidos al avestruz, aún cuando la especie más grande, el ñandú común (*Rhea americana*), no supere el 1,70 m de altura ni los 25 Kg de peso. Ambos sexos presentan una coloración muy parecida. Las alas de los ñandúes en estado de reposo recubren la parte anterior del cuerpo y están formada por plumas no aptas para el vuelo.

El género *Rhea* (ñandú común) mide 128 cm y pesa 20-25 Kg. Tienen las partes superiores de color gris, las inferiores blancas y la base del cuello negruzca. La cabeza es triangular con un pico corto, ancho y negro (figura 2.5). Los representantes del género *Pterocnemia* (ñandú de Darwin) son bastante más pequeños: 95 cm y 15-25 Kg. El plumaje posee manchas blanquecinas entre el colorido pardo de las partes inferiores.

Figura 2.5: Ñandú y detalle de la cabeza.



Los **emúes**, con 200 cm de altura y más de 50 kilogramos de peso, son las segundas aves del mundo por su tamaño, superadas sólo por el avestruz. Las plumas que revisten su cuerpo muestran un aspecto casi metálico y son “dobles”, pues el hiporraquis está tan desarrollado como el raquis. Las barbas carecen de ganchos y ni las plumas remeras ni las timoneras difieren en nada de las plumas restantes. Las estructuras óseas del ala son también reducidas: la mano consta de un único dedo, provisto de una larga uña. El plumaje, parduzco, es semejante en

ambos sexos (figura 2.6). Presentan el cuello emplumado. La cabeza es triangular con un pico corto, ancho y negro. Dada la extraordinaria reducción de las clavículas, los emús no poseen fúrcula e incluso tienen el coracoides fusionado con la escápula. Como en las demás ratites, falta en ellos la quilla del esternón y la glándula del uropigio. Los pies poseen tres dedos y carecen de pulgar.

Figura 2.6: Emú y detalle de la cabeza.



Los **casuarios** poseen un plumaje relativamente escaso, lacio y un tanto endeble, de color negro brillante en los adultos (figura 2.7). La cabeza y el cuello están desnudos en gran parte, aunque vistosamente coloreados y provistos de un casquete óseo y de diversas carúnculas, más o menos pronunciadas según las especies. Las alas están reducidas al cálamo de unas escasas remeras, prácticamente transformadas en unas estructuras en forma de acúleo que recuerdan mucho las espinas del puercoespín. El pico, corto y robusto, está comprimido lateralmente (figura 2.7). La cola carece de auténticas plumas timoneras, y las patas, pese a no ser excesivamente largas, son extraordinariamente robustas y terminan en tres dedos provistos de garras.

Hasta la revisión taxonómica de Mayr de 1940, existía gran confusión en el número de especies de casuarios. En la actualidad se considera que son tres las especies vivas. *Cassuarius cassuarius*, el casuario común, es de color negro. Posee las rémiges transformadas en grandes cerdas espinosas. El cuello es desnudo de color azulado, con dos grandes verrugas rojas en su parte anterior. Tiene un gran casquete córneo en la cabeza. Miden 130-170 cm, el macho pesa 29-34 Kg y la hembra 58 Kg. *Cassuarius benneti* es el casuario menor; mide 100-110 cm y pesa 17,5 Kg. También posee el casquete córneo en la cabeza pero es más pequeño y aplanado posteriormente. No presenta verrugas en el cuello. Por último, el casuario unicurunculado, *C. unappendiculatus*, mide 120-150 cm; posee el casquete aplanado posteriormente y una sola y pequeña verruga en el centro del cuello.

Figura 2.7: Casuario y detalle de la cabeza.



Los **kiwis** se encuentran en Nueva Zelanda. Las diferentes especies de kiwis miden entre 35 y 60 cm de longitud y su peso oscila entre 1,5 y 5 kilogramos. Las hembras son siempre de mayor tamaño que los machos. Posee el cuerpo rechoncho y redondeado, sin alas ni cola, patas cortas pero robustas, cuello ancho y cabeza pequeña, de la que arranca un pico fino y ligeramente curvado, con las

narinas abiertas (caso único entre las Aves) en el extremo anterior (figura 2.8). Su plumaje es también muy característico, distribuido de manera uniforme por todo el cuerpo, con las plumas desprovistas de hiporraquis, con escasas barbas y de contornos poco definidos, lo que provoca que su aspecto global sea más “peludo” que “plumoso”. La presencia de unos ojos muy pequeños indica un escaso sentido de la vista. Lo que está tremendamente desarrollado, junto con los sentidos del oído y el tacto, es el olfato.

El Kiwi común (*A. australis*) mide entre 50 a 65 cm. Los machos pesan 1,5 a 3 Kg y su pico mide 110-155 mm. Las hembras pesan 2-3,5 Kg y su pico mide 130-200 mm. Ambos sexos tienen el plumaje de un color pardo grisáceo. Las alas son rudimentarias y cubiertas de plumas sin diferenciación. Los tarsos son muy robustos y están rematados en tres dedos. El Kiwi moteado menor, *A. oweni*, mide 35-45 cm. El macho pesa 880 a 1.350 gr y su pico mide 63-72 mm. La hembra pesa de 1 a 2 Kg y su pico mide 75-94 mm. El plumaje de ambos sexos es salpicado. El Kiwi moteado mayor (*A. hastii*) mide 50-60 cm. La hembra pesa 1,5 a 3 Kg, mientras que el macho pesa 1,2 a 2,6 Kg, y su pico mide 125-135 mm, más largo que el del macho, que mide 90-100 mm. El plumaje es en ambas moteado.

Figura 2.8: Kiwi y detalle de la cabeza.



2.1.3. BIOLOGÍA

Los hábitos y la organización social de las **avestruces** varían según el ambiente frecuentado. Estas aves no sólo se encuentran en las zonas desérticas y arenosas, sino también en la sabana típica o en la parcialmente arbolada e incluso en el bosque árido, más o menos denso. Normalmente los grupos están compuestos por cinco o seis individuos, aunque no es raro encontrar avestruces solitarias, especialmente machos, o grupos compuestos por medio centenar de ejemplares, especialmente en la sabana donde abundan los mamíferos herbívoros. La unidad social fundamental es el núcleo familiar, del que es posible pasar a las llamadas "superfamilias", adultos y jóvenes de diferentes edades y orígenes; o directamente, a las grandes manadas, grupos constituidos específicamente para el acoplamiento. Impera un orden jerárquico bastante rígido, en el que dominan los machos y las hembras más viejas. Con todo, cada grupo controla una zona vital propia, que incluye los espacios para el pasto y los reservados al reposo o dormitorios.

Las avestruces son polígamas y normalmente el macho va acompañado de tres a cinco hembras. El nido consiste en un simple agujero excavado por el macho en terreno arenoso, en el que depositan sus huevos todas las hembras de un mismo harén, aunque por lo general sólo la hembra dominante permanece en las proximidades. Es ésta la única que puede, de vez en cuando, sustituir al macho, que es el encargado de la incubación y del cuidado de los polluelos, sobre todo durante la noche. En caso de peligro, el macho, y a veces las hembras, defienden tanto los huevos como sus crías. Cuando las condiciones alimentarias son favorables, las jóvenes avestruces pueden ser abandonadas antes, en cuyo caso quedan confiadas al cuidado de hembras solteras o hembras que han superado el periodo de la reproducción y, en ciertos casos, de hembras con algún hijo propio. La adopción constituye un fenómeno frecuente y es un componente esencial de la organización social de las avestruces. Este mecanismo contribuye entre otras cosas a reducir el grado de consanguinidad entre las parejas o los harenes.

El cortejo es muy variado y consiste esencialmente en diferentes danzas y evoluciones durante las cuales se exhibe, en abanico, el plumaje que integra la cola y las alas. Existen una serie de pases, ondulaciones y movimientos diversos que parecen realizados para sincronizar la actividad de la pareja y sin los cuales no sería posible el acoplamiento propiamente dicho. Las paradas nupciales corren a cargo del macho, acompañado de una hembra diferente en cada ocasión, aún cuando de vez en cuando tenga que defender el territorio y el harén frente a otros machos. El avestruz es, junto a las ánades, el único ave que posee un órgano

copulador que se proyecta fuera de la cloaca masculina para ser introducido en la femenina. Los acoplamientos son numerosos a lo largo del día, pero posiblemente con uno sólo la hembra tenga suficiente esperma para realizar las puestas de una semana.

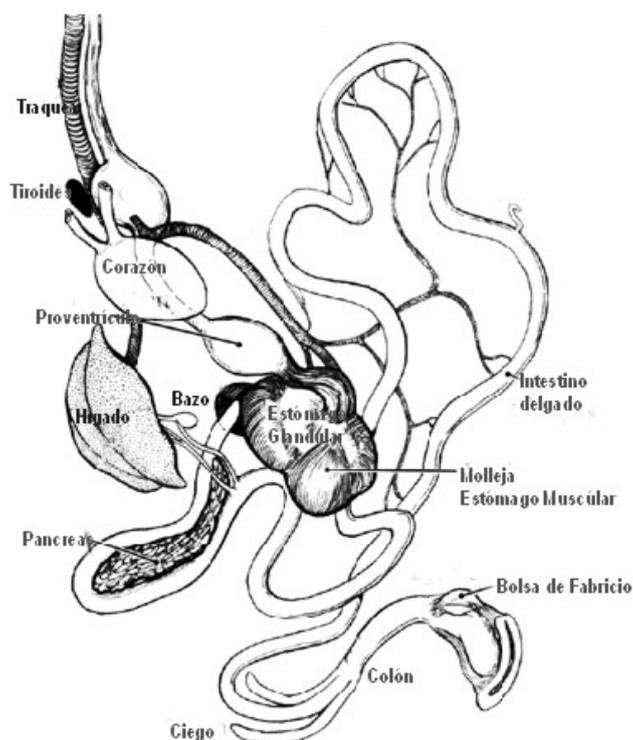
Las avestruces son animales de pasto, alimentándose de gran cantidad de plantas de pequeño porte (hierbas y arbustos), así como también de plantas suculentas, frutos y pequeños animales (insectos y lagartijas, fundamentalmente). En el tubo digestivo no hay buche ni vesícula biliar (Stevens y Hume, 1995; Kaiser, 2007). El esófago, largo, desciende desplazado hacia la derecha del cuello, desembocando en un proventrículo (o estómago glandular), que comunica con el ventrículo (o estómago muscular). A continuación se inicia un intestino muy largo (de hasta 24 metros en los adultos), con dos ciegos intestinales de aproximadamente un metro de longitud cada uno (figura 2.8 y tabla 2.3). El ciego desemboca al exterior en una cloaca, junto con el aparato excretor y reproductor. A lo largo del digestivo, se realizan dos tipos de digestión: enzimática-química y microbiana. La primera se realiza fundamentalmente en el proventrículo e intestino delgado, mientras que la bacteriana se realiza fundamentalmente en los ciegos y en el intestino grueso. Entre las características fisiológicas del sistema gastrointestinal hay un gran capacidad de fermentación de la fibra, hecho que se produce en el ciego y colon principalmente. Ello permite la absorción de ácidos grasos volátiles y agua. El tiempo de digestión es lento respecto a otras especies de ratites y el peristaltismo intestinal parece jugar un papel relevante dentro de los procesos digestivos.

Tabla 2.3: Dimensiones (en cm) del sistema digestivo del avestruz.

Aparato Digestivo	Pollo		Avestruz	
	18 meses	%	Adulto	%
Esófago	28	13,4	110	4,6
Proventrículo/molleja	10	4,8	35	1,5
Duodeno	20	9,5	150	6,3
Yeyuno/íleon	120	57,5	700	29,2
Ciegos *	20	9,5	200	8,4
Intestino grueso	11	5,3	1200	50
TOTAL	209	100	2395	100

* Ambos

Figura 2.8: Sistema gastrointestinal de las avestruces.



Los **ñandúes** son las ratites más parecidas a las avestruces. Compiten con ellas en su habilidad para la carrera y al igual que sus parientes africanos, se alimentan de vegetales (hojas, raíces, semillas, etc.) y de pequeños animales, especialmente saltamontes y pequeños reptiles. Viven en pequeños bandos que no suelen sobrepasar los 10-20 individuos, excepto en la época de celo y reproducción, en que se agrupan en número considerablemente mayor. Los machos viejos llevan en ocasiones una vida solitaria y a veces se vuelven agresivos.

Al iniciarse el periodo de incubación, los machos adultos expulsan a los más jóvenes y pelean entre sí para disputarse las hembras. Cada macho se exhibe ante tres a ocho hembras, oscilando el cuerpo hacia atrás y hacia adelante, deteniéndose ante ellas y abriendo las alas en abanico. En el curso de estas exhibiciones el macho emite sonidos ásperos mucho más elaborados que en el caso de las avestruces debido a un mayor desarrollo de la siringe. El macho

vencedor se hace cargo de un territorio, donde situará el nido, que suele comprender una región de terreno pantanoso o próximo a un río, o como mínimo una zona donde prevalece la vegetación de una cierta altura. En un lugar seco, y a ser posible abrigado por algunos matorrales, el macho cava un hoyo poco profundo añadiendo material para construir el nido. Tras su elaboración, conduce hasta él a las hembras, donde éstas depositarán los huevos en rápida sucesión. En realidad, no es en el nido donde depositarán los huevos, sino en sus proximidades, desde donde el macho los conducirá haciéndolos rodar con el pico. Se da también el caso de hembras que perteneciendo a otro harén ponen sus huevos en el nido de un macho de otro grupo. Cuando se acumulan un cierto número de huevos, el macho comienza a empollarlos e inicia la defensa. Las hembras que quieran seguir poniendo deben esperar a que el macho se aleje o dejarlos en las proximidades para que éste los coloque en el nido. El número de huevos que incubaba cada macho, es pues, variable, aunque en general oscila entre 13 y 30, si bien tampoco son raros los nidos con 80 huevos. Es evidente que el macho no consigue empollarlos todos y en consecuencia, es importante para las hembras ser una de las primeras en depositarlos. Por término medio, el huevo de ñandú mide 13 x 9 cm y pesa alrededor de 600 gramos. En el momento de la puesta tiene un tono amarillento, aunque muy pronto se vuelve blanquecino.

Cuando los ñandúes quieren escapar a algún peligro abren las alas, al igual que las avestruces, pero mantienen el cuerpo proyectado horizontalmente, al contrario de lo que hacen sus parientes africanas en tales circunstancias. Las crías, nacidas a los 35-40 días de la incubación, adoptan enseguida esta posición y se desarrollan rápidamente, hasta el punto de que a los cinco meses alcanzan las dimensiones del adulto. Sin embargo, no llegan a la madurez sexual hasta los dos años. No es infrecuente encontrar machos guiando a pollos de diversos tamaños. Esto sucede cuando por razones de peligro los pollos se dispersan para reunirse posteriormente con la primera pollada que encuentran, aunque sea de edad diferente.

Los **emúes** son aves nómadas, que fuera de la época reproductora se desplazan continuamente en busca de agua y alimento. Viven en pequeños grupos (excepto cuando encuentran comida abundante, época en la que se producen grandes concentraciones), en bosques de eucaliptos, tierras arboladas y en matorrales o zonas arenosas desiertas. Escasea en las áreas de desierto excepto en la época de fuertes lluvias, ya que éstas son inductoras del crecimiento de herbáceas, gramíneas y de la fructificación de numerosos arbustos.

En la época reproductora, los emúes se separan en parejas. La hembra emite una llamada sorda a la que contesta el macho. Cuando se reúnen, se sitúan uno al lado del otro y con la cabeza colgante balancean el cuello, tras lo cual, la hembra se tumba y el macho la cubre. Es la hembra la que construye el nido, en lugares particularmente escondidos, protegidos por matas o árboles, donde una o varias hembras ponen hasta dieciséis huevos, que incuba exclusivamente el macho por espacio de 58-61 días. Los polluelos nacen cubiertos de un plumón grisáceo con rayas longitudinales negras, y por espacio de unos dos meses siguen a su padre.

Mantienen una dieta casi exclusivamente vegetariana, que comprende varias frutas silvestres, entre ellas las procedentes de las diferentes especies de *Ficus*, *Casuarina*, *Podocarpus*, etc. En general, toman las partes de las plantas en las que los nutrientes están concentrados: semillas, frutos, flores y brotes jóvenes. También se alimentan de insectos y pequeños vertebrados cuando se pueden obtener con facilidad. Los emúes presentan dos adaptaciones a su forma de vida: cuando la comida abunda, acumula grandes cantidades de grasa, que pueden usar en épocas de escasez. Por otro lado, los emúes sólo se ven forzados a permanecer en un lugar cuando el macho está incubando. Durante este periodo, no come, bebe ni defeca, por lo que es independiente del estado de la fuente alimentaria local.

Los **casuarios** son aves solitarias, excepto en la época de cría. Dan pruebas de ser hábiles nadadores, pues atraviesan a diario amplios ríos para trasladarse desde la zona de reposo a la de pasto. El macho se encarga del cuidado de las crías y también de la incubación de los huevos, de cáscara granulosa y color verde, que pone la hembra en un nido fabricado con hojas. En el momento de nacer, los polluelos presentan el cuerpo revestido de un espeso plumón a listas claras y oscuras que les sirve de camuflaje en el sotobosque. Son vegetarianos mucho más estrictos que las otras ratites de la llanura, ya que en su alimentación prácticamente no hay artrópodos ni pequeños vertebrados.

Los **kiwis** son muy poco conocidos. Se trata de aves eminentemente nocturnas, que viven en parejas en lo más denso de la vegetación o incluso en madrigueras. Son las aves que ponen los huevos más grandes en relación con el tamaño corporal de la hembra. Se cree que ponen un único huevo aunque se sabe que la subespecie *A. australis mantelli* pone dos huevos que oculta en un agujero entre las raíces de los árboles. La hembra participa en la incubación, llevada a

término por el macho en unos 75 días. Los polluelos están cubiertos de un plumaje parecido al de los adultos y se mantienen en el nido, sin tomar alimento, durante los seis primeros días. Después, acompañados por el padre, comienzan a alimentarse por sí solos.

Su dieta pasa por dos ciclos bien definidos: durante la época de lluvias y cuando el suelo está húmedo, consumen sobre todo pequeños invertebrados, principalmente lombrices de tierra que localiza con el olfato y extrae con la punta del pico, además de los pequeños insectos de los troncos. Probablemente en esta función se sirve también del oído, al igual que hacen muchos escolopácidos, especialmente la chocha perdiz o arcea, que capta y localiza las vibraciones de las lombrices enterradas mediante su fino oído. Durante el verano, cuando el suelo está seco, los kiwis se alimentan de bayas, frutos caídos y hojas.

2.1.4. DISTRIBUCIÓN

Excepto *S. camelus syriacus*, hoy extinguida y antaño localizada en Asia, las **avestruces** se localizan de forma natural en el continente africano. *S. camelus camelus* se distribuye por una franja que abarca desde el Oeste y Sur del Sahara a Mauritania y Etiopía. *Struthio camelus massaicus* se encuentra en el Sur de Kenia y se extiende hasta Tanzania. *Struthio camelus molybdophanes* habita en Somalia, Etiopía y Kenia. Finalmente, *S. camelus australis* se encuentra principalmente en Sudáfrica aunque también es posible encontrarla en Namibia, Bostwana, Zimbawe y Angola (del Hoyo y col. 2004) (figura 2.9).

Los **ñandúes** se encuentran sólo en Suramérica. El ñandú común se encuentra desde el norte de Brasil hasta el centro de Argentina, mientras que el ñandú de Darwin frecuenta desde las antiplanicies andinas del Sur de Perú hasta la Patagonia (del Hoyo y col. 2004) (figura 2.9).

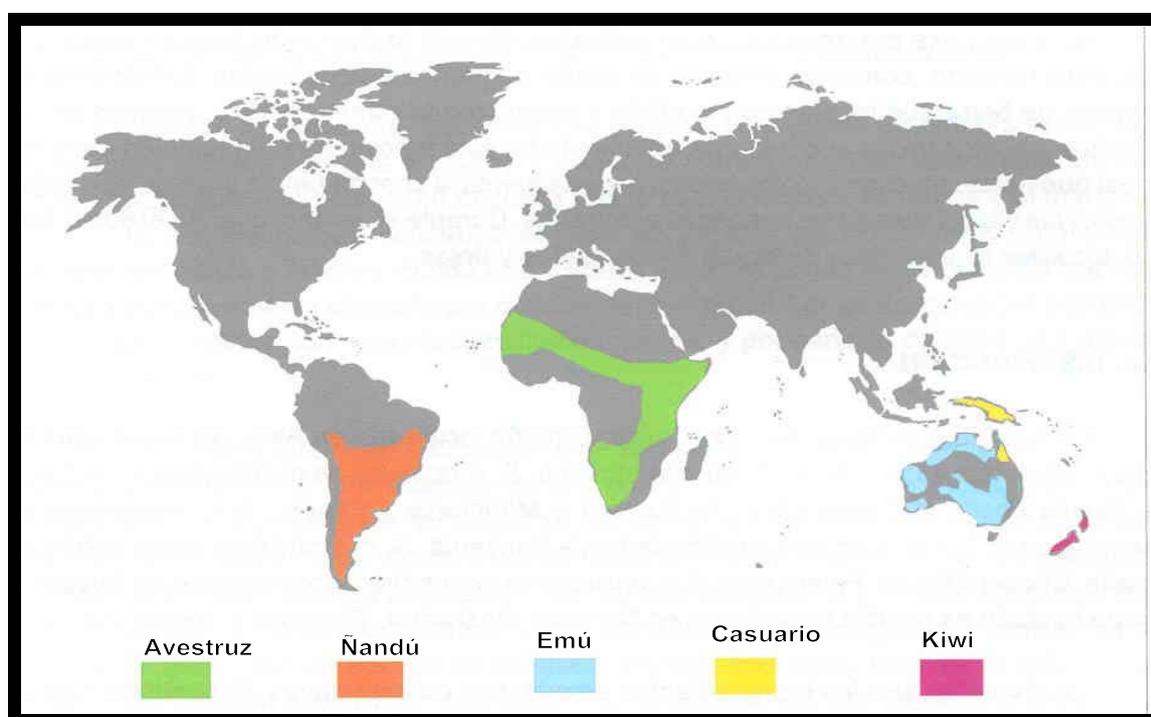
Los **emúes** están presentes en Oceanía. Las únicas formas que han sido exterminadas por los colonos han sido subespecies insulares que se hallaban presentes en Tasmania, en la isla del Rey (estrecho de Bass) y en la de los Canguros (Sur de Australia) (del Hoyo y col. 2004) (figura 2.9).

Los **casuarios** presentan una distribución restringida a algunas zonas de Oceanía (Nueva Guinea, Islas Aru, Ceram, Nueva Gales del Sur y costas

Nororientales de Australia). El casuario común se halla presente en Nueva Guinea, Cabo York, Ceram e isla de Aru. El casuario menor habita Nueva Guinea, Nueva Bretaña e isla de Yepen. El casuario unicurunculado se encuentra exclusivamente en Nueva Guinea (del Hoyo y col. 2004) (figura 2.9).

Por último, los **kiwis** se restringen a Nueva Zelanda. El kiwi común se encuentra presente en la zona septentrional con la subespecie *A. australis mantelli*, en la meridional con la subespecie *A. australis australis* y en la isla de Stewart con la subespecie *A. australis lawry* (del Hoyo y col. 2004) (figura 2.9).

Figura 2.9: Distribución mundial de las ratites.



2.1.5. EXPLOTACIÓN INDUSTRIAL DEL AVESTRUZ

El avestruz es, dentro del grupo de las ratites, el ave que ha tenido un mayor éxito para aprovechamiento comercial, por lo que en la actualidad aparece en lugares muy alejados de su distribución natural (Deeming 1994). En el caso de los ñandúes, sólo el común es criado actualmente, centrándose principalmente en América. Sus plumas son menos vaporosas que las del avestruz por lo que tienen

escaso valor comercial. A pesar de todo, en Sudamérica las rémiges de estas aves son empleadas como plumeros. Los emúes son criados para la obtención de un aceite con supuestas propiedades farmacológicas (además de la obtención de carne, plumas y piel), centrándose dicha actividad en Australia y EEUU, aunque también se encuentran granjas en Europa y Sudáfrica. En cuanto a los casuarios y kiwis, su explotación se realiza exclusivamente por las poblaciones nativas. En el caso de los casuarios, son mantenidos en cautividad por los pueblos de Nueva Guinea, que utilizan sus plumas con fines decorativos, sacrificando al animal en numerosos festejos. Los kiwis constituyen para los maoríes una fuente de alimento y plumas para la elaboración de sus mantos. Ambas ratites actualmente son criadas en cautividad en sus lugares de origen, aunque no para fines comerciales, sino en programas de conservación que buscan la supervivencia estas especies (Carbajo y col, 1997).

2.1.5.1. HISTORIA

La domesticación moderna del avestruz con fines productivos comienza en Sudáfrica, con la instalación de la primera granja en 1833. En la década de 1860, las plumas de avestruz se convirtieron en un popular objeto de decoración para sombreros en Francia, Italia e Inglaterra. Para dar satisfacción a esa demanda, apareció la cría de avestruces en el sur de África como una actividad prometedora, que terminó por convertirse en uno de los mayores negocios en Sudáfrica hacia finales de siglo. Con la introducción de las incubadoras artificiales, en la década de 1870, la cría se facilitó, permitiendo cubrir la creciente demanda de plumas. Hasta tal punto esta actividad se convirtió en un gran negocio, que a finales del siglo XIX los principales productos exportados por Sudáfrica eran, por este orden, oro, diamantes y plumas de avestruz (Osterhoff, 1979). Aprovechándose de la gran importancia del sector, a finales de siglo la cría salió de África, importándose animales a distintas granjas de EE.UU. y Australia (USDA-APHIS-VS, 1990; anónimo, 1999).

En el primer cuarto del siglo XX la demanda de este producto prácticamente desapareció, consecuencia básicamente de tres factores: la Primera Guerra Mundial, los automóviles (que, con su techo bajo, no permitían llevar sombreros grandes), y la desaprobación de la Reina María de Inglaterra a llevar plumas de avestruces, por considerarlas demasiado ostentosas; con lo que muchas granjas desaparecieron. En Australia, algunos animales fueron liberados en la zona desértica interior.

En los años 40, tras la Segunda Guerra Mundial, surge la oportunidad de revalorizar su piel. Esto supone un nuevo desarrollo de la crianza de este animal pese a las dificultades de conseguir progenitores, ya que en el año 1947 se impide el comercio de aves o huevos fuera de los límites de Sudáfrica. En la década de los 80 cesan estas limitaciones en otros países africanos (Namibia o Zimbawe) y es entonces cuando se empieza a oír hablar de su crianza fuera de Sudáfrica (Cooper, 1999).

Coincidiendo con la desaparición de las limitaciones a la exportación de avestruces vivas, en Europa es en la década de los 80 cuando empiezan a criarse estas aves en granja de manera generalizada. A principios de siglo, no obstante, existían unas pocas decenas de ejemplares en granjas de Alemania, Francia y Cerdeña, que desaparecieron con la Primera Guerra Mundial. Hoy en día hablar de censos de granjas es sumamente difícil pues la novedad del sector, el hecho de que muchas explotaciones no estén dadas de alta al no comercializar la carne y la inexistencia de censos oficiales fiables, sólo permiten indicar que existen unas 2.000-2.500 granjas. En España se instalan las primeras granjas de cría de avestruces a principios de la década de los 90, creciendo el número de instalaciones rápidamente en pocos años, hasta unas 200-300 granjas hacia 1997 (Medina y col., 2000). La gran mayoría son pequeños criadores, siendo pocas las granjas de grandes dimensiones (Carbajo y col., 1997). La evolución del negocio en España ha llevado a la desaparición de la mayoría de las granjas pequeñas, o a su asociación en cooperativas, quedando en torno a medio centenar de explotaciones de tamaño medio o grande.

2.1.5.2. INSTALACIONES DE CRÍA

Los posibles sistemas de crianza comprenden desde el régimen extensivo (grandes extensiones de terreno, incubación natural y complementada etc.), hasta el intensivo (confinamiento a densidades elevadas, incubación artificial, alimentación a base de concentrado y forraje etc.). Entre estos dos sistemas existe una gradación en función de la menor a mayor intensificación del mismo. En el momento actual de la cría de avestruces, las explotaciones de tipo semiintensivo son las más practicadas y recomendables fuera de Africa. Tanto las de tipo intensivo como las de tipo extensivo son poco adecuadas en nuestras latitudes debido a que las primeras precisan un alto grado de tecnificación que las hace poco rentables, mientras que las segundas requieren grandes superficies de

terreno que, junto a su menor productividad, las hace casi inviables en los países europeos. Así pues, las explotaciones de tipo semiintensivo contemplan una combinación de ambos sistemas en función de la fase productiva que se realice (Carbajo y col, 1997; Anderloni ,1998; Huchzermeyer, 1999).

En la crianza de los pollos (0-3 meses), se recomiendan los sistemas intensivos debido a la posibilidad de realizar un mejor control de los diversos parámetros productivos. Las instalaciones pueden ser fijas o móviles. Tanto en un caso como en el otro, se trata de casetas en cuyo interior se encuentran los animales, con aporte interior de agua y comida. Al lado de la caseta debe haber un patio cercado, para que los animales salgan durante las horas de más calor; o bien en la caseta debe existir la ventilación suficiente para evitar la muerte por asfixia y sobretemperatura de los animales.

Los pollos hasta los tres meses de edad deben mantenerse en este tipo de instalaciones, protegidos por la noche de las bajas temperaturas, y en cualquier caso de la lluvia. Las casetas y los patios deben ser lo suficientemente grandes como para permitir que los pollos se ejerciten.

Las instalaciones de los juveniles (3-12 meses) son similares, con la diferencia del tamaño (mucho más grandes). Ya no es necesario que la caseta sea totalmente cerrada. Existe un vallado perimetral, consistente en un cercado de 1,5-2 m. de altura de malla metálica. Puede haber un pequeño espacio entre el vallado y el suelo, para permitir un escape rápido de los empleados si son atacados por las aves (en general, este problema no es importante en los juveniles, pero sí en los machos adultos y, ocasionalmente, con algunas hembras).

El suelo puede ser de cualquier tipo, pero es recomendable que sea tierra natural (no cemento), con hierba y otras plantas. Debe haber pequeñas piedras que puedan ser ingeridas por el ave (son necesarias para la digestión gástrica).

La forma de mantener los animales adultos (reproductores) es en grandes corrales de aproximadamente 1000-1500 m². Cada corral alberga lo que se denominan las unidades de producción. La más común es la denominada triada, formada por un macho y dos hembras: ahorra el mantenimiento de un macho (espacio, alimento), lo que compensa la ligera baja de fertilidad que se da como consecuencia del mayor desgaste del macho. También puede haber cuatro hembras por macho o simplemente organizarse por parejas (más raro).

2.1.5.3. INSTALACIONES DE SACRIFICIO

La edad adecuada para el sacrificio de estos animales es entre los once y los catorce meses, con una media de 90% de peso vivo y un rendimiento aproximado en carne de 35 kilos.

El sacrificio de avestruces se realiza en mataderos autorizados aprovechando la línea de bovinos o bien en líneas de sacrificio independientes. En el primer caso, se debe modificar de forma que el desplumado se realice en un lugar aislado del resto de la cadena de producción, ya que esta operación se considera que puede repercutir en la higiene de las instalaciones y de la carne. El sacrificio en zonas de producción independientes tiene como ventaja que todas las instalaciones se acomodan a facilitar el manejo del avestruz y el faenado específico de este animal, al existir locales aislados para las distintas operaciones, garantizando de esta manera la producción higiénica de la carne (Carbajo y col., 1997; Culley 2008, <http://www.world-ostrich.org>).

El faenado de los animales en matadero pasa por las siguientes fases:

- Aturdimiento y sacrificio: el aturdimiento se realiza mediante descarga eléctrica de tres segundos con una corriente de 90 voltios y un amperio. Tras la insensibilización, el animal cae al suelo desde donde es izado para su sangrado. Este se realiza mediante una incisión entre la base del cuello y el inicio del esternón.

- Desplumado: La operación se realiza en seco. En esta sala deben existir contenedores adecuados para facilitar el aprovechamiento de las plumas útiles y el desecho higiénico de las que no los son.

- Desollado y evisceración: en el desollado se pretende obtener el máximo rendimiento de la piel y conservar las características de la carne. La piel ha de ser extraída con el máximo cuidado puesto que es, actualmente, el producto más valioso. A continuación, se procede al eviscerado, extrayendo todos los órganos torácicos y abdominales, excepto los riñones que se quedan en la canal.

2.1.5.4. COMERCIALIZACIÓN

En un principio la explotación de estas aves se orientó exclusivamente hacia la producción de plumas. Actualmente, las plumas pueden considerarse un subproducto, siendo las de mejor calidad las situadas en la cola y alas y utilizadas para la fabricación de abanicos, estolas o sombreros (Shanawany, 1996). Una aplicación que siempre ha estado presente, debido a que las plumas se cargan rápidamente de electricidad estática cuando se rozan, es la fabricación de plumeros. Este fenómeno hace que su demanda vaya en aumento con el fin de limpiar equipos de computación e instrumentos electrónicos de gran precisión.

Con la decadencia del sector se buscaron otras vías de comercialización siendo la producción de piel la que más valor y mejores perspectivas presenta. Es una piel muy dura que se emplea en la fabricación de cinturones, botas, maletas, monederos, correas, bolsos, portafolios, cazadoras, guantes y abrigos, entre otros. Sin embargo, el producto en el que están puestas las esperanzas a medio-largo plazo es, sin duda, la carne. Ha constituido una de las principales razones por la que la cría de avestruces ha adquirido cierto auge en nuestros días dado que sus características (bajo contenido calórico y de grasas, alto contenido en proteínas y aspecto rojizo) sugieren la posibilidad de que llegue a alcanzar cuotas aceptables en el mercado. En Europa, particularmente en Suiza, Bélgica y Alemania, es cada vez más frecuente encontrar la carne de avestruz en restaurantes y carnicerías. Estos países, junto con Japón, China, Holanda y Francia constituyen los máximos importadores de este tipo de carne.

Al margen de estos productos se comercializan otros como por ejemplo, los huevos y aceite. Los huevos de aquellas hembras que no han sido cubiertas por un macho o que están ligeramente dañados son muy apreciados en hostelería. No son aptos para incubar pero si lo son para el consumo humano. El contenido en grasa es menor que los de gallina, hecho que constituye una de las estrategias a esgrimir para introducirlos como un nuevo alimento. El aceite se utiliza como lubricante en la industria metalúrgica y para la elaboración de lociones, cremas y champúes. En EE.UU. se han realizado pruebas muy satisfactorias para la elaboración de alimentos para bebés (Carbajo y col, 1997; Huchzermeyer, 1999).

2.2. PARÁSITOS CONSIDERADOS EN ESTE ESTUDIO

Si bien los organismos citados como comensales y/o parásitos de ratites son pocos, debido a la escasez de estudios realizados hasta la fecha, sí son numerosos los parásitos identificados que afectan a las aves en general. Entre estos últimos, uno de los grupos más importantes por su interés médico es el de los protozoos. En el presente capítulo se hace una revisión de los grupos de protozoos a los que pertenecen los organismos hallados en este trabajo, citados hasta la fecha en aves y el hombre, atendiendo a su clasificación taxonómica.

La revisión bibliográfica está lo más actualizada posible salvo en lo que se refiere a los trabajos específicos de protozoos en ratites, cuya revisión está hecha hasta 1999, fecha de comienzo de este estudio. El motivo es que la gran mayoría, si no todos los trabajos de protozoos en estas aves publicados en los últimos 10 años han sido derivados del presente estudio, y han sido llevados a cabo, posteriormente a esta primera investigación, por otros miembros de nuestro grupo de trabajo. Estas publicaciones serán comentadas en el apartado discusión.

2.2.1. POSICIÓN TAXONÓMICA

El grupo de los Protozoos incluye organismos eucariotas unicelulares con uno o más núcleos, y con una gran variedad de mecanismos de movimiento, alimentación y reproducción. Este grupo engloba más de 70.000 especies conocidas. Tal es su abundancia en nuestro planeta que no hay ni un solo hábitat donde exista vida en el cual no haya algún tipo de protozoo.

Hasta el invento del microscopio, los seres vivos eran divididos en dos reinos, animales y vegetales, clasificación establecida por Aristóteles en 322 aC. En 1674, los primeros protozoos fueron vistos por Anthony Van Leeuwenhoek, quien por sus descripciones de los microorganismos ha sido considerado el padre de la Protozoología. Linneo, en su décima edición de *Systema Naturae*, en 1758, incluye dos especies de protozoos de vida libre. En 1773, Müller establece la

primera taxonomía de protozoos, para los que usó el término *animalia infusorium*, que incluía todos los protozoos conocidos, además de otras formas. El término *protozoo* (del griego, proto-primer y zoo-animal) fue utilizado por primera vez por Goldfuss en 1817, con el fin de designar a unos organismos que consideraba primitivos y origen de los animales.

Ehrenberg en 1838, y Mandle en 1839, recuperan el término infusorio pero sin definir claramente sus límites, incluyendo dentro del mismo grupo a organismos tan diferentes como amebas, flagelados, ciliados, algas, bacterias, celenterados y rotíferos. Dujardin, en 1841, excluye los celenterados y rotíferos, dejando sólo a los organismos unicelulares o de colonias simples; dividió la clase Infusoria en 4 ó 5 órdenes (depende del texto consultado), a los que no les asignó nombre, pero que a su vez estaban divididos cada uno en una o más familias (20 en total). Dujardin basó su clasificación en tres grupos mayores según los órganos locomotores: amebas, flagelados y ciliados.

En 1858, Owen creó el reino Protozoa para encuadrar a estos seres microscópicos. Sin embargo no fue universalmente aceptado hasta 1861, cuando Hogg, un biólogo escocés, les denominó Protoctista (seres ni animal ni planta). En 1866, Haeckel cambió el nombre de Protozoa a Protista. En 1885, Bütschli crea una clasificación añadiendo los Esporozoos como clase dentro del filo Protozoa (junto con Sarcodina, Mastigophora e Infusoria).

En 1886 Leuckart adoptó el término *protozoa* restringiéndolo sólo a lo que consideró como animales unicelulares, y que incluía tres clases; Rizópodos, Esporozoos e Infusorios (éstos divididos en dos órdenes, Flagelados y Ciliados, donde los ciliados se dividen a su vez en cuatro grupos denominados Holotrichia, Heterotrichia, Peretrichia e Hypotrichia).

En 1882 Kent publicó una clasificación en la cual las clases se basaban en el tipo de locomoción de los protozoos. Estos eran: Rizópodos, con pseudópodos lobulados o radiados; Flagelados, con flagelos; Ciliados, con cilios; y Tentaculifera con apéndices tentaculados. Para Kent las amebas tienen el puesto central, de donde surgen los otros grupos, en su árbol evolutivo.

En 1901 Doflein divide los protozoos en dos subfilos, Ciliophora y Plasmodroma, al reconocer grandes diferencias entre los ciliados y los demás representantes del filo. Entre las diferencias destaca los núcleos claramente distintos y una extensión de su organización cortical. El subfilo Ciliophora comprende solamente la Clase Ciliata, mientras que Plasmodroma engloba las clases Rhizopoda, Mastigophora y Sporozoa. En 1903, Lankester propone una división en 10 clases: Proteomyxa, Heliozoa, Mycetozoa, Lobosa, Radiolaria, Foraminífera, Mastigophora, Sporozoa, Ciliata y Acinetaria. En 1916 Doflein propone dividir los flagelados (clase Mastigophora) en dos subclases en base a su nutrición: holofítica, Phytomastigina; holozoica, Zoomastigina. Wenyon en 1926 aceptó esto, y añadió (entre otras modificaciones) la nueva clase Opalinata dentro del subfilo Ciliophora para acomodar a los parásitos del género *Opalina*. La clasificación de Wenyon permaneció en uso durante muchos años.

Grassé en 1952 propuso una clasificación distinta, adaptada a las teorías de los protozoólogos franceses. En su propuesta, Grassé une flagelados y amebas en un solo grupo, el subfilo Rhizoflagellata, el cual se divide en dos superclases: Flagellata y Rhizopoda. Separó las amebas que poseían axopodos en un subfilo distinto, Actinopoda. El resto de los subfilos eran Sporozoa, Cnidosporidia y Ciliata. Esta unión de flagelados y amebas también fue adoptada por Corliss en 1960, pero bajo el nombre de Mastigamoebaea, término posteriormente sustituido por Sarcomastigophora.

En 1963 Levine mantiene la propuesta sobre el subfilo Sarcomastigofora, e introduce los Apicomplexa. El orden Eucoccidiorida incluye a las familias Plasmodiidae, Toxoplasmatidae, Besnoitiidae y Sarcocystidae. La primera familia pertenecía al suborden Haemosporina, mientras que las tres últimas formaban el suborden Endodyococcidiorida. Esta clasificación presenta la innovación de separar los microsporidios y mixosporidios de los Esporozoos, y formar dos subfilos para ellos: Microspora y Myxospora. También reunió los piroplásmidos con los esporozoos, reteniéndolos en una clase separada, Piroplasmasida, cuyo ciclo de vida difiere considerablemente del de los típicos esporozoos (clase Sporozoasida). Utiliza el término Apicomplexa para el subfilo, con la reducción de Sporozoa a clase, dentro del mismo subfilo.

En la década de 1980, la Sociedad de Protozoólogos americana volvió a publicar una nueva revisión basada en datos obtenidos en el microscopio electrónico. Las principales características de esta clasificación son:

- Considerar Protozoa como un subreino del reino Protista, en el que se reconocen siete filios: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa y Ciliophora. La mayoría de los protozoos se encuentran en Sarcomastigophora (los antiguos Sarcodina más Mastigophora), Apicomplexa (esencialmente Sporozoa), Microspora y Myxozoa. Esta clasificación se basa en otros anteriores de Raabe: una de 1948, que propone tres “tipos”, Mastigina (con los subtipos Phytomastigina, Zoomastigina y Telosporidia), Sarcodina (con los subtipos Rhizopoda y Amoebosporidia = Neosporidia) y Ciliata; y otra de 1964, que divide el subreino Protozoa en tres filios: Mastigota (con los subfilios Flagellata y Telosporidia), Sarcodina (con los subfilios Rhizopoda, Actinopoda y Cnidosporidia) y Ciliata.
- Los tres subfilios del filo Sarcomastigophora quedan igual que en la clasificación de Raabe de 1964, con la excepción de cambiar el rango taxonómico de superclase a subfilio, al alterarse el rango de los sarcomastigóforos, que pasaron de subfilio a filio. El subfilio Mastigophora se divide en fitomastigóforos y zoomastigóforos, grupos con categoría de clase, dentro de las cuales aparecen básicamente los mismos órdenes que en la clasificación de Raabe en 1964. En el subfilio Sarcodina desaparecen los labirintúlidos (elevados a un filio distinto, Labyrinthomorpha) y los piroplasmas, quedando aquí solamente dos grandes grupos: Rhizopoda y Actinopoda.
- El filio Apicomplexa queda dividido en dos clases: Perkinsea y Sporozoea (con tres subclases: Gregarina, Coccidia y Piroplasmia). Los haplosporidios se separan de este filio y se integran en el filio Ascetospora.

- Desaparece el subfilo Cnidospora y las clases Myxosporidea y Microsporidea pasan a constituir los filios Microspora y Mixozoa.
- Del filo Ciliophora, con 15 órdenes en la clasificación de Raabe de 1964, se pasa a 22.

En 1993, Cox intenta unir dos teorías para elaborar su clasificación, la de Sleight de 1989 que sugiere un patrón de clasificación que vuelva a aceptar la existencia de los cuatro grupos mayores: flagelados, ciliados, amebas y esporozoos (pero que no detalla la relación entre estos grupos) y la de Lipscomb de 1993 que reconoce doce grupos filogenéticos dentro de los protozoos. Cox restaura los tradicionales cuatro grupos y divide a los protozoos en 10 filios. La clasificación acepta que los sarcomastigóforos constituyen un grupo polifilético dentro del cual hay cinco filios, se abandona la unión de los flagelados y amebas en Sarcomastigophora y también el taxón Mastigophora. Los ameboflagelados, tradicionalmente, habían sido clasificados con las amebas, pero mediante técnicas de biología molecular se ha visto que se encuentran más cerca de los flagelados. Sin embargo, Cox no se atrevió a crear un filo propio para estos organismos y los consideró *incertae sedis*. Mientras que en la clasificación de Sleight (1989), Acanthopodida (con *Acanthamoeba*) y Euamoebida están incluidas en la misma clase, Lobosea, Cox las separa, incluyendo las amebas parásitas intestinales en el filo Rhizopoda y dejando Acanthopodida como *incertae sedis*, dentro de las amebas. Los esporozoos originalmente contenían una colección heterogénea de organismos celulares formadores de esporas, incluyendo los mixosporidios y microsporidios, que ahora son clasificados en distintos filios coherentes y bien definidos. En la clasificación de Levine y col. (1980), el grupo fue dividido en dos clases, Sporozoa y Perkinsea, dentro del filo Apicomplexa; según Cox, hay evidencias de que el género *Perkinsus*, el único género en Perkinsea, sea probablemente un flagelado (Sleight, 1989), por lo tanto el grupo se reduce a una simple categoría, el filo Sporozoa, conteniendo tres clases: Gregarinea, Coccidea y Piroplasma. Ciliophora era ya considerada como un grupo distinto y coherente y la biología molecular no lo ha alterado; además todas las evidencias sugieren que es monofilético.

También, en 1993, Cavalier-Smith elabora una clasificación de los seres vivos, basada en los árboles de secuenciación de ADNr. Esta clasificación está formada por ocho reinos, de los cuales seis corresponden a eucariotas (imperio Eukaryota): Archezoa, Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi y Animalia. Los Archezoa están dentro de un superreino propio, Archezoa, y los demás reinos se encuentran en el superreino Metakaryota. Los protozoos tradicionales se reparten fundamentalmente entre Archezoa (que tiene tres filos), y Protozoa (con 18 filos), y hay también taxones dentro de Chromista, Mycetozoa y Fungi. Básicamente, los protozoos sin mitocondrias se encuadran en Archezoa, y los demás se ubican en los reinos del superreino Metakaryota..

Cavalier-Smith hizo una precisa delimitación y diagnóstico del reino Protozoa, definiendo protozoo como **“eucariota fagotrófico unicelular (principalmente), plasmoidal o colonial y sin pared en el estado trofozoito”**. Primitivamente, poseen mitocondrias y peroxisomas (distinto de Archezoa) pero cuando ambos se han perdido secundariamente (Parabasalía, Entamoebia, Lyromonadea y ciliados anaerobios) en su lugar están presentes hidrogenosomas y/o aparato de Golgi. Los cilios nunca son rígidos ni tubulares (distinto de la mayoría de los cromistas). Los cloroplastos cuando están presentes (algunos euglenoides y dinoflagelados) no contienen ni almidón, ni ficobilisomas (distinto de Plantae) y están localizados en el citosol, nunca dentro de una membrana lisa periplastidial, ni en el lumen del retículo endoplasmático rugoso, ni en una cuarta membrana (distinto de Chromista). Las pocas especies multicelulares tienen mínima diferenciación celular y les falta el tejido conectivo entre los dos distintos epitelios (distinto de Animalia).

Existen muchas críticas a esta clasificación. La gran polémica entre los protozoólogos actuales es si la falta de mitocondrias se considera un carácter evolucionado (simplificación o pérdida por adaptación a la anaerobiosis) o un carácter primitivo y los protistas sin mitocondrias serían así descendientes de los protistas anteriores a la adquisición, por simbiosis, de las mitocondrias.

En 1998, Cavalier-Smith reestructura su clasificación del 1993. Los filos en el Reino Protozoa quedan reducidos a 13. Los principales cambios son:

- Los microsporidios, parásitos intracelulares amitrocondriales, son añadidos al Reino Fungi debido a nuevas evidencias en la secuencia de sus proteínas.
- Los Myxozoa se consideran relacionados con los animales y se añaden al Reino Animalia.
- Se revisa el filo Rhizopoda, que se renombra a Cercozoa.
- Los filos Mycetozoa y Archeamoeba se agrupan en un nuevo subfilo Conosa dentro del filo Amoebozoa, al lado de Lobosa.
- Los Haplosporidia se transfieren al filo Sporozoa.
- Se añade un nuevo infrarrieno Discicristata recogiendo los filos Percolozoa y Euglenozoa.
- Por último, el subfilo Opalinata, con las Clases Opalineae, Proteromonadea, y Blastocystea, se traslada desde Protozoa al infrarrieno Heterokonta del reino Chromista, donde se agrupa con el subfilo Pseudofungi.

En 2003, Cavalier-Smith reestructura de nuevo su clasificación de 1998 y reduce los filos del reino Protozoa a 11. Los cambios se deben a una fusión complementaria de los genes de dos clados, los Unikonta y Bikonta.

En 2005 La Asociación de Protozoólogos americana propone un nuevo esquema de clasificación (Adl y col., 2005), basándose en datos ultraestructurales y filogenético-moleculares. Propone un sistema de clasificación sin definir categorías taxonómicas (sólo *rangos*), que reconoce seis grupos de eucariotas que representan a los reinos tradicionales. Los grupos de más alto rango están

divididos en 6 supergrupos, de acuerdo con las propuestas de Simpson y col. (20029 y Roger y Simpson (2004):

(1) Opisthokonta, que acoge a los animales, hongos, coanoflagelados y mesomycetozoos.

(2) Amoebozoa, que incluye a las amebas tradicionales, algunos ameboflagelados y varias especies sin mitocondria.

(3) Excavata, con los oxymonádidos, parabasálidos, diplomonádidos, jakóbidos y varios heterotrofo-flagelados, incluyendo Euglenozoa y Heterolobosea.

(4) Rhizaria, que incluye a los foraminíferos, radiolarios tradicionales, cercozoos con pseudópodos filosos, y varios amebo-flagelados.

(5) Archaeoplastida, con glaucofitas, algas rojas y verdes, y plantas.

(6) Chromalveolata, en el que se agrupan los Alveolata (que incluye a los ciliados, dinoflagelados y apicomplejos) y los Stramenopiles (que incluyen las algas marrones, diatomeas, muchos hongos zoospóricos y los opalínidos; también agrupa a los Haptophyta y las Cryptophyceae).

En esta propuesta se deja de reconocer el taxón Protista para distinguir los eucariotas unicelulares de los multicelulares, sin embargo el término protista se sigue usando para designar eucariotas unicelulares no formadores de tejidos. A continuación se muestra una tabla (tabla 2.3) comparando varias de las propuestas de clasificación más recientes.

TABLA 2.3. CLASIFICACIÓN DE LOS PROTOZOOS SEGÚN VARIOS AUTORES

LEVINE (1980)	CAVALIER-SMITH (2004)	ADL Y COL. (2005)	TAXONOMICON (2006): http://www.taxonomy.nl/ taxonomicon)
<p>REINO PROTISTA</p> <p>SUBREINO PROTOZOA</p> <p>FILO SARCOMASTIGOPHORA</p> <p>SUBFILO MASTIGOPHORA</p> <p>CLASE ZOOMASTIGOPHORA</p> <p>SUPERORDEN PARABASALIDEA</p> <p>ORDEN DIPLOMONADIDA</p> <p>Suborden DIPLOMONADINA</p> <p>Familia Hexamitidae</p> <p>Subfamilia Giardinae</p> <p>Subfamilia Hexamitinae</p> <p>ORDEN RETORTAMONADIDA</p> <p>Familia Retortamonadidae</p> <p>ORDEN TRICHOMONADIDA</p> <p>Familia Trichomonadidae</p> <p>Subfamilia Trichomonadinae</p> <p>Familia Monocercomonadidae</p> <p>Subfamilia Monocercomonadinae</p> <p>Subfamilia Protrichomonadinae</p> <p>ORDEN KINETOPLASTIDA</p> <p>Suborden BODONIDA</p> <p>Familia Bodonidae</p>	<p>IMPERIO EUKARIOTA</p> <p>SUPERREINO METAKARYOTA</p> <p>REINO PROTOZOA</p> <p>SUBREINO BICILIATA (ARCHEZOA)</p> <p>INFRARREINO EXCAVATA</p> <p>SUPERPHYLLUM EOZOA</p> <p>FILO METAMONADA</p> <p>SUBFILO TRICHOZOA</p> <p>SUPERCLASE EOPHARYNGIA</p> <p>CLASE TREPOMONADEA</p> <p>SUBCLASE DIPLOZOA</p> <p>ORDEN GIARDIIDA (DIPLOMONADIDA)</p> <p>Familia Giardidae</p> <p>ORDEN DISTOMATIDA</p> <p>CLASE RETORTAMONADEA</p> <p>ORDEN RETORTAMONADIDA</p> <p>Familia Retortamonadidae</p> <p>FILO TRICHOZOA</p> <p>SUPERCLASE PARABASALIA</p> <p>CLASE TRICHOMONADEA</p> <p>ORDEN TRICHOMONADIDA</p> <p>Familia Trichomonadidae</p> <p>Subfamilia Trichomonadinae</p> <p>Familia Monocercomonadidae</p> <p>Subfamilia Monocercomonadinae</p> <p>Subfamilia Protrichomonadinae</p> <p>SUBREINO NEOZOA</p> <p>INFRAREINO DISCICRISTATA</p> <p>FILO EUGLENOZOA</p> <p>SUBFILO SACCOSTOMA</p> <p>CLASE KINETOPLASTEIA</p> <p>ORDEN BODONIDA</p> <p>Familia Bodonidae</p>	<p>EUKARIOTA</p> <p>● EXCAVATA</p> <p>●●● PARABASALIA</p> <p>●●●● DIPLOMONADIDA</p> <p>●●●●● GIARGINAE</p> <p>●●●●● HEXAMITINAE</p> <p>●●●●● RETORTAMONADIDA</p> <p>●●●●● TRICHOMONADIDA</p> <p>●●●●● EUGLENOZOA</p> <p>●●●●● KINETOPLASTEIA</p>	<p>BIOTA</p> <p>DOMIÑO EUKARYOTA</p> <p>REINO PROTOZOA</p> <p>SUBREINO BICILIATA</p> <p>INFRAREINO EXCAVATA</p> <p>FILO METAMONADA</p> <p>SUBFILO TRICHOZOA</p> <p>SUPERCLASE EOPHARYNGIA</p> <p>CLASE TREPOMONADEA</p> <p>SUBCLASE DIPLOZOA</p> <p>ORDEN GIARDIIDA</p> <p>ORDEN DISTOMATIDA</p> <p>Familia Hexamitidae</p> <p>CLASE RETORTAMONADEA</p> <p>ORDEN RETORTAMONADIDA</p> <p>Familia Retortamonadidae</p> <p>SUPERCLASE PARABASALIA</p> <p>CLASE TRICHOMONADEA</p> <p>ORDEN TRICHOMONADIDA</p> <p>Familia Monocercomonadidae</p> <p>Subfamilia Trichomonadinae</p> <p>Subfamilia Monocercomonadinae</p> <p>Subfamilia Protrichomonadinae</p> <p>SUBFILO SACCOSTOMA</p> <p>CLASE KINETOPLASTEIA</p> <p>ORDEN BODONIDA</p> <p>Familia Bodonidae</p>

<p>CLASE PHYTOMASTIGOPHOREA ORDEN EUGLENIDA Suborden EUGLENINA</p> <p>SUBFILO SARCODINA SUPERCLASE RHIZOPODA CLASE LOBOSEA SUBCLASE GYMNAMOEBIDA ORDEN AMOEBIDA SUBORDEN TUBULINA Familia Entamoebidae</p> <p>FILO APICOMPLEXA</p> <p>CLASE SPOROZOEA SUBCLASE COCCIDIA ORDEN EUCCOCCIIDA SUBORDEN EIMERIIDA Familia Eimeriidae Familia Isosporidae Familia Sarcocystidae Familia Cryptosporiidae</p> <p>FILO CILIOPHORA</p> <p>CLASE KINETOFRAGMINOPHOREA SUBCLASE VESTIBULIFERIA</p> <p>ORDEN TRICHOSTOMATIDA SUBORDEN TRICHOSTOMATINA Familia Balantidiidae</p>	<p>SUBFILO PLICOSTOMA CLASE EUGLENOIDEA ORDEN EUGLENIDA</p> <p>SUBREINO SARCOMASTIGOPHOTA FILO AMOEBOTIA SUBFILO CONOSA INFRAFILO ARCHAMOEBAE CLASE ARCHAMOEBEA ORDEN PELOBIONTIDA (ENTAMOEBIDA) Familia Entamoebidae ORDEN MASTIGAMOEBIDA Familia Mastigamoebidae</p> <p>SUBREINO BICILIATA INFRARREINO ALVEOLATA FILO MIOZOA(sporozoa) SUBFILO APICOMPLEXA (coccidiomorpha) INFRAFILO SPOROZOA CLASE CONOIDASIDA (COCCIDIA) ORDEN EUCCOCCIORIDA Familia Eimeriidae Familia Sarcocystidae Familia Cryptosporidae</p> <p>SUPERFILO HETEROKARYOTA FILO CILIOPHORA</p> <p>CLASE LITOSTOMATEA</p> <p>ORDEN VESTIBULIFERIDA Familia Balantidiidae</p>	<p>EUGLENIDA</p> <p>● AMOEBOTIA ●● ENTAMOEBIDA</p> <p>●● MASTIGAMOEBIDAE</p> <p>● CHROMALVEOLATA</p> <p>● ALVEOLATA ●● APICOMPLEXA ●●● CONOIDASIDA</p> <p>●●● CILIOPHORA</p> <p>●●● INTRAMACRONUCLEATA ●●● LITOSTOMATEA ●●● TRICHOSTOMATINA</p> <p>● rango</p>	<p>CLASE EUGLENOIDES ORDEN EUGLENIDA</p> <p>SUBREINO SARCOMASTIGOTA FILO AMOEBAZOA SUBFILO CONOSA INFRAFILO ARCHAMOEBAE CLASE ARCHAMOEBAE ORDEN PELOBIONTIDA Familia Entamoeba ORDEN MASTIGAMOEBIDA Familia Mastigamoebidae</p> <p>SUBREINO BICILIATA INFRARREINO ALVEOLATA FILO MYZOZOA SUBFILO APICOMPLEXO CLASE CONOIDASIDA SUBCLASE COCCIDASINA ORDEN EUCCOCCIORINA SUBORDEN EIMERIORINA Familia Eimeriidae</p> <p>Familia Sarcocystidae Familia Cryptosporidae</p> <p>FILO CILIOPHORA SUBFILO INTRAMACRONUCLEATA</p> <p>SUBCLASE TRICHOSTOMATIDA ORDEN VESTIBULIFERIDA Familia Balantidiidae</p>
--	---	--	--

2.2.2. AMEBAS

Historia

En 1632, Anton van Leeuwenhoek, inventor del microscópico, fue el primero en ver amebas en charcos de agua. El los llamó animalículos, pequeños microorganismos. La primera descripción, sin embargo, fue realizada en 1755 por August Johann Rösel von Rosenhof, que describió la especie de vida libre *Amoeba proteus*.

Con posterioridad, se describieron una gran cantidad de organismos ameboides; en 1834, el biólogo francés Dujardin propuso que se llamara a este grupo de organismos unicelulares como Rhizopoda, que etimológicamente significa *pies con forma de raíz* (en referencia al aspecto de los seudópodos). Este nombre fue cambiado más tarde a Protozoa por Ehrenberg, quien consideró que estos organismos microscópicos eran organismos completos similares a los animales superiores. Este mismo autor también observó en los Foraminifera la existencia de una sustancia vital aparentemente sin forma, a la que denominó *sarcodio*, posteriormente renombrada a protoplasma por Hugo von Mohl en 1872. En 1882, Bütschli sustituyó el nombre de la clase Rhizopoda por el de Sarcodina (dentro del filo Protozoa), pero en 1901, Doflein renombró de nuevo a la clase como Rhizopoda. Durante la primera mitad del siglo XX, sólo unos pocos autores (Wenyon, Kudo, Pearse) retomaron la denominación de la clase como Sarcodina.

En 1952, Grassé propuso la unión de las amebas con seudópodos y los flagelados en un mismo grupo, el subfilo Rhizoflagellata, elevando el grupo de las amebas a superclase (Rhizopoda), mientras que las amebas que tenían axopodos las separó en un subfilo distinto, Actinopoda. Posteriormente, en 1962, Corliss denominó al subfilo Rhizoflagellata como Mastigamoebaea.

En 1964, Honigberg y colaboradores renombraron el subfilo Mastigamoebaea como Sarcomastigophora, un nombre que habían propuesto anteriormente y dentro del cual reúnen de nuevo a los actinópodos. En esta propuesta, las amebas estaban incluidas en la superclase Sarcodina, y un número

de ameboflagelados colocados convencionalmente como un grupo intermedio entre los flagelados y los sarcodinos fueron agrupados en el orden Rhizomastigida.

También en 1964, Raabe creó el filo Sarcodina, con los subfilos Actinopoda, Cnidosporidia y Rhizopoda (basada en una clasificación anterior de 1948 donde proponía el filo Sarcodina, con los subfilos Rhizopoda y Amoebosporidia). Sin embargo, en 1973, Levine, siguiendo las propuestas del Comité delegado de la Sociedad de Protozoólogos americana, volvió a renombrar el subfilo como Sarcomastigophora.

En la sistemática propuesta por Levine y colaboradores en 1980, Sarcomastigophora fue elevado a filo y Sarcodina quedó como subfilo, incluyendo ésta la superclase Rhizopoda, dentro de la cual se incluyeron las clases Lobosea, Filosea y Granuloreticulosea. Esta propuesta fue modificada por Margus y colaboradores en 1990, quienes incluyeron todos los géneros de las familias Entamoebidae y Mastigamoebidae en la clase Amebomastigota (filo Zoomastigina), al considerar que estas amebas se han originado de los ameboflagelados por pérdida de los flagelos.

Más recientemente, Cox, en 1993, separó las amebas de los flagelados y creó el filo Rhizopoda. Cavalier-Smith, basándose en técnicas de biología molecular, ha realizado varias propuestas sistemáticas de ordenación de los protozoos (1998, 2003, 2004), encuadrando las amebas parásitas en el filo Amoebozoa, y las amebas límax en los filos Amoebozoa (*Acanthamoeba* y *Balamuthia*) y Percolozoa (*Naegleria*).

Posición taxonómica

La clasificación propuesta por Levine en 1980 se basa en caracteres morfológicos y sigue siendo actualmente de amplia difusión, mientras que la clasificaciones de Cavalier-Smith (1981, 1983, 1993, 1997, 1998, 2003, 2004), si bien son más correctas desde un punto de vista filogenético, se basan en caracteres genéticos y han sido menos utilizada, especialmente en estudios de

Revisión bibliográfica

identificación morfológica. A continuación se muestra, según ambas clasificaciones, la posición taxonómica de los géneros de amebas parásitas encontrados hasta hoy en aves y en el hombre.

Levine y col. (1980)	Cavalier-Smith (2004)
<p>SUPERREINO EUKARYOTA Con núcleo.</p>	<p>IMPERIO EUCARIOTA Con núcleo.</p>
<p>REINO PROTISTA Unicelulares o coloniales, móviles.</p>	<p>REINO PROTOZOA Unicelulares, plasmodiales o coloniales.</p>
<p>SUBREINO PROTOZOA Muy primitivos, microscópicos.</p>	<p>SUBREINO SARCOMASTIGOTA Bicontos, secundariamente unicontos o sin flagelos. Mitocondrias con crestas tubulares, raramente planas. Sin alveolos corticales. Seudópodos, cuando existen, no eruptivos.</p>
<p>FILO SARCOMASTIGOPHORA Un único tipo de núcleo, excepto en los Foraminíferos. Si existe reproducción sexual normalmente es singámica. Desplazamiento por flagelos y/oseudópodos.</p>	<p>FILO AMOEBOZOA Organismos solitarios o agregativos, conseudópodos lobosos no eruptivos; algunos conseudópodos finos y puntiagudos. Mitocondrias con crestas tubulares, a veces sin mitocondrias.</p>
<p>SUBFILO SARCODINA Movimiento medianteseudópodos. Los flagelos, si existen, están asociados a estados de desarrollo temporal.</p>	<p>SUBFILO CONOSA Cinétidas cuando presentes con un cono de microtúbulos que se extienden hasta el núcleo. Aerobios, con mitocondrias los coloniales y sin mitocondrias los no coloniales.</p>
<p>SUPERCLASE RHIZOPODA Movimiento por lobópodos, filópodos o reticulópodos o mediante fluido protoplásmico sin la producción deseudópodos obvios.</p>	<p>INFRAFILO ARCHAMOEBA Sin dictiosomas.</p>
<p>CLASE LOBOSEA Seudópodos anchos, ocasionalmente con otros más o menos filiformes. Normalmente son uninucleados.</p>	<p>CLASE ARCHAMOEBA Secundariamente sin mitocondrias.</p>
<p>SUBCLASE GYMNAMEBIDA No contienen una testa.</p>	
<p>ORDEN AMOEBIDA Sin mitocondrias y sin estados con flagelo.</p>	<p>ORDEN PELOBIONTIDA Sin cilios, mitocondrias, peroxisomas ni hidrogenosomas. Con un centrosoma intranuclear presente sólo durante la profase.</p>
<p>SUBORDEN TUBULINA El cuerpo es ramificado o cilíndrico sin ramificación. No hay movimiento bidireccional del citoplasma. División nuclear mesomitótica.</p>	
<p>FAMILIA ENDAMOEBIDAE Género <i>Entamoeba</i> Género <i>Iodamoeba</i> Género <i>Endolimax</i></p>	<p>FAMILIA ENTAMOEBIDAE Género <i>Entamoeba</i> Género <i>Iodamoeba</i> Género <i>Endolimax</i></p>

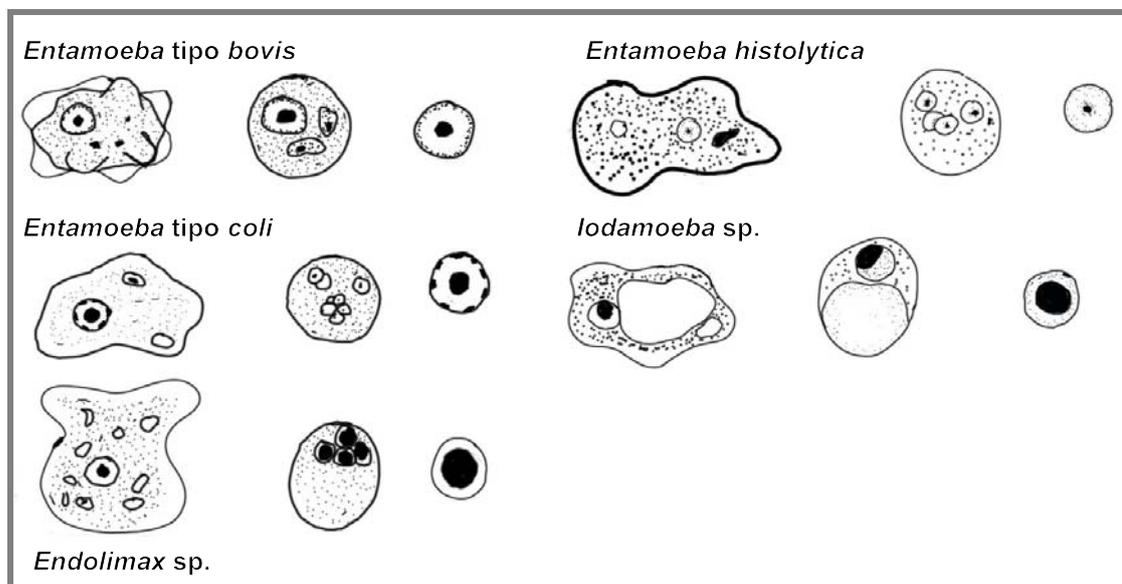
2.2.2.1. Familia Entamoebidae

Los miembros de esta familia son parásitos del tracto digestivo de vertebrados e invertebrados. Los géneros, y en ocasiones las especies, se distinguen según su estructura nuclear (figura 2.16). Hay tres géneros que contienen parásitos de animales domésticos y del hombre, con algunas especies que son patógenas. En su ciclo biológico hay dos formas biológicas, trofozoito y quiste (ausente en algunas especies).

Posición taxonómica

La Familia **Entamoebidae** fue originalmente creada en 1925 por Chatton para englobar las amebas intestinales de los géneros *Entamoeba*, *Endamoeba*, *Endolimax*, *Dientamoeba* e *Iodamoeba*. Mientras que las distintas especies de *Endamoeba* son exclusivamente parásitas de los invertebrados, los otros géneros suelen normalmente parasitar vertebrados. Basándose en la morfología (Camp y col., 1974) y las evidencias moleculares (Silberman y col., 1996), *Dientamoeba* es ahora reconocido como un flagelado aberrante. Con la excepción de algunas especies de *Entamoeba*, muchos miembros de Entamoebidae no están muy bien estudiados, debido a su poca importancia clínica y las dificultades asociadas con su cultivo en el laboratorio.

Figura 2.16: Caracteres diferenciales de los géneros de amebas de la familia Entamoebidae (en cada caso, de izquierda a derecha: trofozoito, quiste y núcleo).

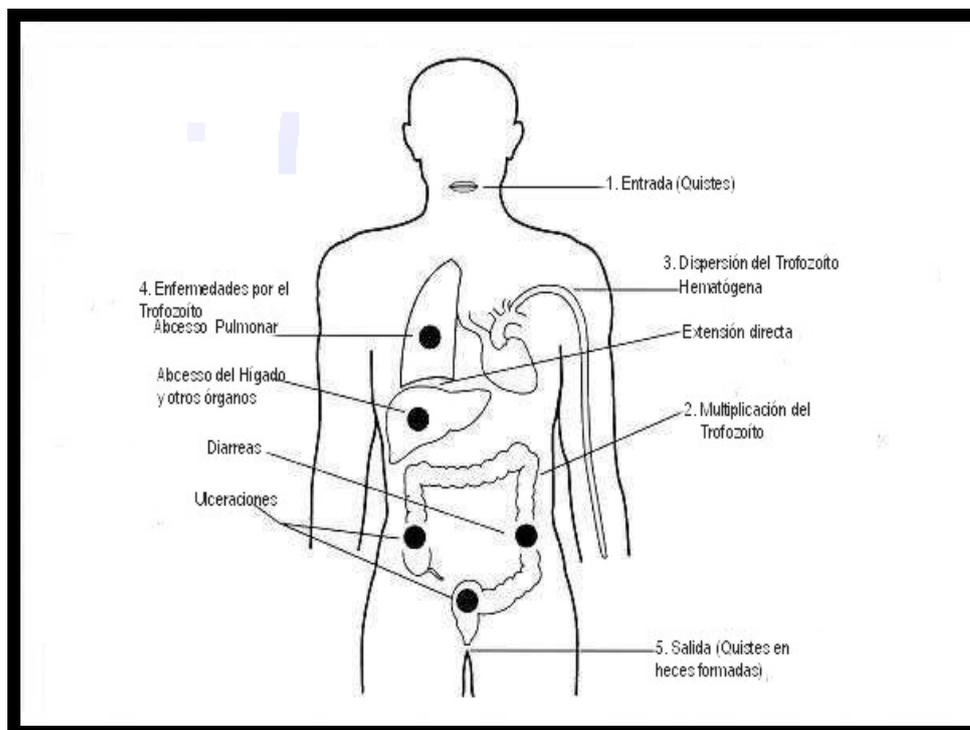


Características generales

El citoplasma está diferenciado generalmente en ectoplasma y endoplasma, sin embargo esta diferencia no siempre es constante. El ectoplasma, llamado también hialoplasma, es claro y sin orgánulos celulares, mientras que el endoplasma es granular y contiene los orgánulos típicos de otros protistas, aunque en un estado menos organizado. No poseen mitocondrias. El retículo endoplásmico liso está presente como vesículas discretas o puede formar parte del aparato de Golgi. Tienen vacuolas digestivas con bacterias en número variable.

La transmisión de las distintas especies de amebas intestinales es de tipo fecal-oral, pudiendo (las especies patógenas) tener localizaciones extraintestinales (figura 2.17); por tanto, la epidemiología de las infecciones amebianas está relacionada con un contacto previo con aguas o comida contaminada con quistes, y raramente con trofozoitos (Levine, 1985; Barr y col., 1990). Es posible que ciertos animales (moscas, cucarachas, etc.) puedan actuar como transmisores pasivos de las amebas (Martínez y Janitschken, 1979; Simitzis-Le Flohic y Chastel, 1982).

Figura 2.17: Posibles localizaciones de amebas intestinales patógenas.



Género *Entamoeba* Casagrandi y Barbagallo, 1895

En general, el núcleo es vesicular con un endosoma central o ligeramente excéntrico, a veces rodeado de gránulos periendosomales. Los trofozoitos presentan una diferenciación habitualmente marcada entre endo- y ectoplasma. Los quistes son de forma esférica (en ocasiones pueden ser esfero-ovoidales), y cuando son maduros contienen entre 1 y 8 núcleos, y pueden o no tener unas estructuras proteicas (cuerpos cromatoides) en el citoplasma; estos cuerpos, en cualquier caso, desaparecen al madurar el quiste.

Todas las especies de este género se han clasificado de manera informal en grupos caracterizados por la morfología de los quistes maduros. Aunque este sistema ha sido respaldado por análisis genéticos (Silberman y col 1999), Clark y col. (2006) describen una nueva especie (para la que recuperan el nombre *Entamoeba suis*, previamente considerado como sinónimo de *E. polecki*) cuyas características genéticas no concuerdan con su grupo morfológico "teórico" (especies de quistes maduros uninucleados). Más recientemente, Ponce y col. (2007) han demostrado que el agrupamiento morfológico no responde a la filogenia de las distintas especies. No obstante, esta clasificación morfológica se mantiene por su utilidad con fines descriptivos.

- **GRUPO *bovis***: los quistes maduros son uninucleados. En algunas especies hay barras cromatoides, cuya morfología es muy variable (esféricas o alargadas, con extremos redondeados o astillados). Todas las especies son de localización exclusivamente intestinal, y no se ha descrito ninguna especie como patógena.

Especies descritas en aves:

No se ha descrito (hasta el momento de inicio de los muestreos incluidos en esta tesis) ninguna especie en aves, pero sí se ha citado (como *Entamoeba* sp.) la presencia de quistes uninucleados en avestruces (Craig y Diamond, 1996; Carbajo y col., 1997; Huchzermeyer, 1999; Pennycott y Patterson, 2001; Sotiraki y col., 2001).

Especies citadas en el hombre:

- ***Entamoeba polecki*** von Prowazek, 1911

Sinónimo: *E. debliccki*, *E. suis* (Hartmann 1913, *in parte*)

Es parásito habitual del ciego y colon de los cerdos (Levine, 1985). Los trofozoitos tienen un tamaño muy variable, entre 5-25 μm . El núcleo posee un endosoma grande y central y un anillo homogéneo de cromatina periférica dentro de la membrana nuclear. No hay normalmente gránulos de cromatina entre el endosoma y el anillo periférico. El citoplasma es granuloso y vacuolado, con bacterias en dichas vacuolas. Los quistes son de 4-17 μm de diámetro, cada uno conteniendo un único núcleo. Los cuerpos cromatoides varían de forma desde varillas gruesas con las terminaciones redondeadas, a gránulos irregulares y de tamaños diferentes. Puede o no haber vacuolas de glucógeno. Los quistes sin cuerpos cromatoides ni vacuolas son comunes.

- ***Entamoeba chattoni*** Swellengrebel, 1914

Esta especie ha sido citada ocasionalmente en el hombre. Es una especie no patógena que ocurre en el intestino grueso de macacos y otros monos. Los trofozoitos tienen un rango de variación de 9-25 μm de longitud. El núcleo varía mucho en su estructura, con un pequeño endosoma central y una fila fina de gránulos periféricos. El endosoma puede ser grande o pequeño, central o excéntrico, compacto o difuso y compuesto de uno o más gránulos. La cromatina periférica puede ser fina o gruesa, uniforme o irregular y difusa; y puede o no haber gránulos de cromatina entre el endosoma y la cromatina periférica. Los quistes son casi siempre uninucleados cuando maduran, menos de 1% son binucleados y nunca son tetranucleados. Los cuerpos cromatoides son normalmente pequeños e irregulares, pero pueden ser como varillas con terminaciones en puntas o redondeadas. Puede o no estar presente una vacuola de glucógeno.

- **GRUPO *histolytica***: el núcleo es pequeño con un endosoma central, un anillo de gránulos periférico y algunos gránulos de cromatina dispersos entre ellos. Las especies de este grupo son todas de localización intestinal. Algunas de ellas son patógenas, localizándose secundariamente en otros órganos como hígado,

pulmón o cerebro. Los quistes tienen 4 núcleos cuando maduran y los cuerpos cromatoides tienen los extremos redondeados. Las vacuolas de glucógeno, cuando están presentes, son difusas y poco definidas.

Especies citadas en aves:

- ***Entamoeba anatis*** Fantham, 1924

Esta especie fue descrita en las heces de un pato que murió de enteritis en Suráfrica (Levine, 1985). Posee las características propias del género y de este grupo, pudiendo observarse en ocasiones los trofozoitos con hematíes ingeridos. Los quistes son esféricos o subesféricos, habitualmente de 13-14 µm de diámetro, conteniendo de 1 a 4 núcleos y cuerpos cromatoides delgados, con aspecto como de alfiler.

- ***Entamoeba* sp.**

Hay una cita de *Entamoeba* sp. en avestruces, identificada como con características que se asemejan a las de *E. histolytica* (Sotiraki y col., 2001). Los autores encuentran quistes de dos tamaños, los más grandes identificados como de *Entamoeba*, con un tamaño de 10 a 15 µm de diámetro, con una pared fina y refractiva, y con un único núcleo del tipo *histolytica*.

Especies citadas en el hombre:

- ***Entamoeba histolytica*** Schaudinn, 1903

Sinónimos: *Amoeba coli*, *A. dysenteriae*, *Endamoeba histolytica*, *E. caudara*, *E. dispar*, *E. dysenteriae*, *E. nuttalli*, *E. pitheci*, *E. tetragena*, *E. venaticum*.

Posee las características propias del género. Es una especie importante en sanidad humana, ya que provoca la enfermedad conocida como amebosis, amebiasis o disentería amebiana; no suele invadir los tejidos del hospedador, pero cuando se produce dicha invasión, en la fase crónica de la infección, la enfermedad es muy grave, en ocasiones mortal. Además de en el hombre se ha descrito también en primates del Viejo y Nuevo Mundo.

Los trofozoitos son grandes, normalmente entre 20-30 μm de longitud, con un núcleo conteniendo un endosoma pequeño y central y un anillo de cromatina perinuclear de aspecto homogéneo. Pueden encontrarse trofozoitos que hayan ingerido varios hematíes. Los quistes son de 10-20 μm de diámetro, con entre 1 y 4 núcleos y cuerpos cromatoides alargados y con terminaciones redondeadas.

- ***Entamoeba dispar*** Brumpt, 1925

Morfológicamente esta especie es idéntica a *E. histolytica* y se ha descrito en el mismo rango de hospedadores que ésta. Habitualmente, los hallazgos de trofozoitos/quistes compatibles se identifican como *E. histolytica*/*E. dispar*, siendo necesario recurrir a criterios no morfológicos (bioquímica, ADN, capacidad de desarrollo en cultivo, inducción de respuesta inmune en el hospedador, etc.) para realizar la identificación específica.

- ***Entamoeba hartmanni*** von Prowazek, 1912

Esta especie es considerada como no patógena, habiendo sido descrita en animales y el hombre. Hay que mencionar que en el pasado esta especie posiblemente se ha confundido con *Entamoeba histolytica*, al haber sido considerada como una forma más pequeña de esta especie. Los trofozoitos miden entre 3-11 μm de diámetro y tienden a hacerse esferoidales. El núcleo posee un endosoma puntiforme central y una cromatina periférica más o menos homogénea. Los quistes son pequeños, entre 4 - 8 μm , con cuerpos cromatoides alargados y de extremos redondeados. Las vacuolas de glucógeno, cuando están presentes, son mayoritariamente pequeñas.

- **GRUPO *coli***: presenta un núcleo grande, un endosoma céntrico y un anillo de cromatina periférica basto. Las distintas especies de este grupo se localizan mayoritariamente en el ciego y colon. Son todas ellas consideradas como no patógenas. Los quistes maduros presenta 8 núcleos, con un endosoma central pero ligeramente excéntrico; en el citoplasma hay cuerpos cromatoides, y las vacuolas de glucógeno, cuando están presentes, son de bodes bien definidos.

Especies citadas en aves:

- ***Entamoeba gallinarum*** Tyzzer, 1920

Esta especie se localiza en el ciego de gallinas, pavos y otras especies de aves domésticas. Los trofozoitos miden entre 9-25 μm de longitud, aunque el tamaño más habitual se encuentra entre 16-18 μm . El endoplasma está muy vacuolado, con numerosas vacuolas fagocíticas. El núcleo posee un endosoma excéntrico y con una fila de granulos rodeando la parte de afuera. Los quistes son de 12-15 μm de diámetro y contienen 8 núcleos cuando son maduros.

Especies citadas en el hombre:

- ***Entamoeba coli*** (Grassi, 1879) Casagrandi y Barbagallo, 1895

Sinónimos: *Amoeba coli*, *Councilmania lafleuri*, *Endamoeba hominis*, *Entamoeba cynocephalusae*.

Ésta es la especie de ameba más común en el hombre (Levine, 1985); ha sido encontrada también en otros primates, como chimpancés, gorilas, orangutanes y otras especies de monos, así como en cerdos y ciervos (Levine, 1985). Los trofozoitos se encuentran en el intestino, con un tamaño muy variable, entre 15-50 μm de longitud, aunque habitualmente son de 20-30 μm . El núcleo tiene un endosoma excéntrico y una cromatina periférica marcadamente irregular. Los quistes son 10-33 μm de diámetro, contienen 8 nucleolos cuando son maduros y presentan barras cromatoides con terminaciones de aspecto astillado. Los quistes jóvenes pueden tener una vacuola de glucógeno grande y bien definida que suele desaparecer al madurar el quiste.

- **GRUPO *gingivalis***: las principales características de las especies de este grupo son que no forman quistes y que su localización habitual es en la cavidad bucal del hospedador, entre los dientes, debajo de las encías y en el sarro. Los trofozoitos miden entre 5-35 μm de longitud. Dada su localización no intestinal, no hay especies de interés para el presente estudio.

Género *Iodamoeba* Dobell, 1919

En este género el núcleo es vesicular y con un gran endosoma abundante en cromatina. Dado su gran tamaño, entre el endosoma y la membrana nuclear hay un espacio periendosómico delgado. El citoplasma de los trofozoitos presenta un ectoplasma claro pero no bien separado del endoplasma, más granulado. Los quistes son de forma variable, esfero-ovoidal; son uninucleados y contienen de forma característica una gran vacuola de glucógeno que se tiñe de color pardo oscuro con iodo. El género sólo incluye una especie, *Iodamoeba butschlii*.

Especies citadas en aves:

- *Iodamoeba* sp.

Sotiraki y col. (2001), en avestruces criadas en Grecia, identifican un segundo tipo de quistes de amebas en heces, con un tamaño de 5 a 10 μm de diámetro y con un solo núcleo, que los autores consideran son similares a los de *Iodamoeba*.

Especies citadas en el hombre:

- *Iodamoeba butschlii* von Prowazek, 1912

Sinónimos: *Endolimax williamsi*, *E. kueneni*, *E. piloenucleatus*, *Entamoeba williamsi*, *I. suis*, *I. wenyoni*, *I. williamsi*.

Se encuentra en el ciego y colon del cerdo, hombre y otros primates. Los trofozoitos tienen normalmente una longitud de entre 9-14 μm de largo, aunque su rango máximo de variación es de 4-20 μm . Los quistes son normalmente de 8-10 μm de diámetro, pero pueden oscilar entre 5 - 14 μm ; contienen un único núcleo, en que los gránulos periendosomales suelen agregarse en grupo con forma de media luna al lado del endosoma, empujándolo hacia un lado. La característica masa compacta de glucógeno que se tiñe fuertemente con yodo desaparece al cabo de 8-10 días después de haber estado en las heces, y a su vez los quistes se desintegran y mueren. No hay cuerpos cromatoides en los quistes, pero hay pequeños gránulos de volutina que tiñen fuertemente. Este organismo se considera que es no patógeno para el hombre.

Género *Endolimax* Kuenen & Swellengrebel, 1913

Son amebas de pequeño tamaño, con un núcleo vesicular conteniendo un endosoma grande e irregular compuesto de gránulos de cromatina con extensiones (hilos) que conectan el endosoma a la membrana nuclear. Se mueven muy lentamente y presentan vacuolas grandes de glucógeno y vacuolas fagocíticas que pueden contener bacterias. Los quistes poseen 4 núcleos de pequeño tamaño cuando maduran. Todas las especies descritas son parásitas del intestino de vertebrados, salvo *Endolimax blattae* que parasita cucarachas. Se considera que son todas ellas especies comensales.

Especies citadas en aves:

- ***Endolimax gregariformis*** (Tyzzer, 1920) Hegner, 1929

Sinónimos: *E. janisae*, *E. numidae*, *Pygolimax gregariformes*.

Se localiza tanto en el ciego como en el colon del hospedador. Los trofozoitos son de 4-13 μm de largo, con una media de unas 9 μm . Presentan habitualmente una forma ovalada con un protuberancia posterior, y se mueven lentamente. El ectoplasma no está claramente separado del endoplasma. Las vacuolas de alimentación contienen bacterias y el núcleo tiende a tener un endosoma grande y una membrana nuclear aparente. Los quistes son de forma habitualmente ovalada a arriñonada, de unas 6-10 μm de longitud.

Especies citados en el hombre:

- ***Endolimax nana*** (Wenyon y O'Connor, 1917) Brug, 1918

Sinónimos: *Amoeba limax*, *Councilmania tenuis*, *Endolimax intestinalis* E. *cynomolgi*, *Entamoeba nana*, *E. suis*.

Se ha descrito en el cerdo, hombre y otros primates, capibaras y puercoespín. Se localiza tanto en el ciego como en el colon. Los trofozoitos miden entre 6-15 μm de longitud, aunque habitualmente no sobrepasan las 10 μm de diámetro. Los quistes son normalmente ovalados, irregulares y de pared fina, con un tamaño entre 5-14 μm (habitualmente entre 8-10 μm). El quiste maduro puede tener cuerpos de glucógeno poco definidos.

2.2.3. FLAGELADOS

Los flagelados poseen típicamente uno o varios flagelos en las formas activas (trofozoitos), a excepción de los Heterocariota Foraminiferida, que poseen flagelos, pseudópodos o ambos. La gran mayoría de estos organismos posee un núcleo y solamente unos pocos son multinucleados. La reproducción asexual se realiza normalmente por fisión longitudinal (simetrogonia), sin embargo en algunos organismos también se realiza la fisión múltiple y la gemación bajo ciertas condiciones. También se puede dar en algunos casos la formación de colonias, debida a una separación incompleta de los individuos hijos, y la reproducción sexual en algunas especies.

Dentro del grupo hay especies de vida libre y otras parásitas. Las especies de vida libre se encuentran en aguas dulces y saladas de cualquier región. Las especies parásitas se localizan en el tubo digestivo, en diversas cavidades corporales o en el sistema circulatorio del animal hospedador.

Historia

Alrededor de 1862, en los primeros trabajos de Leuckart, los flagelados (Monadina) y ciliados (Holotricha) se encontraban juntos en el grupo de los Infusorios. Más tarde, Leuckart dio la categoría de clase a Infusoria y la dividió en dos órdenes, Flagellata y Ciliata. En 1880, Kent elevó Flagellata a clase y la incluyó en el grupo Eustomata por tener especies con boca simple.

En 1883, Butschli colocó a los flagelados en la clase Mastigophora, y en 1901 Doflein la incluyó en el subfilo Plasmodroma. Inicialmente con una subclase, Flagellata, en 1909 la dividió en tres: Flagellata, Dinoflagellata y Cystoflagellata. En 1916 modificó la clasificación y dividió a la Clase Mastigophora en 2 subclases, según su nutrición: Phytomastigina (alimentación holofítica) y Zoomastigina (holozoica). Este esquema fue adoptado con pocos cambios en 1926 por Wenyon, en 1936 por Pearse y colaboradores, y en 1966 por Kudo.

Sin embargo, en 1952 Grassé propuso la unión de flagelados y sarcodinos en un solo grupo, el subfilo Rhizoflagellata, dividido en dos superclases: Flagellata y Rhizopoda. Esta unión fue también adoptada en 1962 por Corliss con el nombre de Mastigamoebaea, (más tarde Sarcomastigophora). Esta relación entre amebas y flagelados ya se indicaba en el dendrograma filogenético de Butschli de 1880.

En 1964, Honigberg y colaboradores recogieron la teoría de Grassé de unir las amebas y los flagelados en un subfilo, aunque sustituyendo el nombre Rhizoflagellata por el de Sarcomastigophora, propuesto el año anterior por Honigberg y Balamuth; y además transfirieron las opalinas del subfilo Ciliophora al subfilo Sarcomastigophora. Dividieron este subfilo en tres superclases: Mastigophora, Sarcodina y Opalinata, y a la superclase Mastigophora la dividieron en dos clases, Phytomastigophorea y Zoomastigophorea. En esta última se incluyen nueve órdenes, entre ellos Kinetoplastida (con el suborden Trypanosomatina, en el que se encontraría la familia Trypanosomatidae), Retortamonadida (con la familia Retortamonadidae), Diplomonadida (con la familia Hexamitidae) y Trichomonadida (con las familias Monocercomonadidae y Trichomonadidae). Esta propuesta de Honigberg y colaboradores sobre el subfilo Sarcomastigophora fue seguida en 1973 por Levine y en 1977 por Baker.

En la nueva clasificación de la Sociedad de Protozoólogos de 1980, realizada por Levine y colaboradores, Sarcomastigophora es elevado a filo, pero los tres subfilos son los mismos que en 1964, aunque han cambiado el rango taxonómico (de superclase a subfilo) al alterarse el de los sarcomastigóforos, que pasaron de subfilo a filo. El subfilo Mastigophora se divide en Phytomastigophorea y Zoomastigophorea, grupos a los que se les asigna la categoría de clase, y dentro de los cuales aparecen los mismos órdenes que en la clasificación de Honigberg y colaboradores de 1964, aunque desaparecen los órdenes Eбриida (cuyos representantes se consideran como dinoflagelados) y Coccolithophorida (cuyos miembros se incluyen en el orden Prymnessida) y aparece uno nuevo, Prasinomonadida, cuyos representantes (antes dispersos por otros órdenes) se pueden reconocer al microscopio electrónico por sus escamas. Los órdenes

Trichomonadida y Hypermastigida se agrupan en el superorden Parabasalidea, creado por Honigberg en 1973, para indicar el grado de interrelación entre dichos taxones.

En la clasificación de Margulis de 1990, los flagelados se encuadran en el filo Zoomastigina, dividido en 11 clases, entre ellas Diplomonadida, Kinetoplastida, Opalinata, Parabasalia y Retortamonadida.

Según Cox, en 1993, los flagelados no forman un grupo coherente sino que constituyen un grupo polifilético dentro del cual hay cuatro filos: Metamonada, Parabasalia, Kinetoplasta y Opalinata. Abandona la unión de los flagelados con las amebas en Sarcomastigophora y también elimina el taxón Mastigophora. La base de estos cambios es que los ameboflagelados habían sido clasificados tradicionalmente con las amebas, pero la aplicación de técnicas de biología molecular ha mostrado que se encuentran más cerca de los flagelados euglénidos, a su vez cercanos a los flagelados kinetoplástidos. Sin embargo, no se atrevió a crear un filo aparte y considera los ameboflagelados como *incertae sedis*.

En la clasificación de Cavalier-Smith (1993), los flagelados se distribuyen básicamente en dos grupos: dentro del reino Archezoa (en el que se incluyen los organismos con ribosomas 70S -como las bacterias- y no tienen mitocondrias, peroxisomas, hidrogenosomas, o aparato de Golgi bien desarrollado), o dentro del reino Protozoa (que incluye los organismos con ribosomas 80S, mitocondrias y peroxisomas). Dentro de este último reino se incluyen también los organismos con ribosomas 70S y que secundariamente han perdido las mitocondrias y peroxisomas y han sustituido estos orgánulos por hidrogenosomas y/o aparato de Golgi (clase Parabasalia).

Posición taxonómica

De acuerdo con las clasificaciones de Levine de 1980, y de Cavalier-Smith de 2004, los géneros de flagelados de interés en el presente estudio se encuentran encuadrados taxonómicamente de la siguiente manera:

Levine y col. (1980)	Cavalier-Smith (2004)
<p>SUPERREINO EUKARYOTA Con núcleo.</p> <p>REINO PROTISTA Unicelulares o coloniales, móviles.</p> <p>SUBREINO PROTOZOA Muy primitivos, microscópicos.</p> <p>FILO SARCOMASTIGOPHORA Un único tipo de núcleo, excepto en los Foraminíferos. Si existe reproducción sexual normalmente es singámica. Desplazamiento por flagelos y/o pseudópodos.</p> <p>SUBFILO MASTIGOPHORA Normalmente los trofozoitos poseen uno o más flagelos. La reproducción sexual normalmente se realiza por fisión binaria simetogénica. En algunos grupos existen reproducción sexual.</p> <p>CLASE ZOOMASTIGOPHOREA Cloroplastos ausentes. Con uno o más flagelos. En algunos grupos aparecen formas ameboides, con o sin flagelos. En muy pocos grupos se describe reproducción sexual. Es un grupo polifilético.</p>	<p>IMPERIO EUCARIOTA Con núcleo.</p> <p>REINO PROTOZOA Unicelulares, plasmodiales o coloniales.</p> <p>SUBREINO BICILIATA (ARCHEZOA) Las crestas mitocondriales son tubulares o discoidales. Son eucariotas unicelulares originalmente con dos flagelos, y con los genes de la dihidrofolato-reductasa y de la timidilato-sintasa unidos en un gen único.</p> <p>INFRAREINO EXCAVATA Grupo polifilético que incluye organismos de vida libre, formas simbióticas y especies parásitas. Sin mitocondrias, o con mitocondrias con crestas tubulares o discoidales. Con 2 a 4 o más flagelos. Hay un surco ventral con función alimenticia, con microtúbulos característicos; los organismos sin estas características morfológicas se colocan en la base del árbol filogenético.</p> <p>FILO METAMONADA Anaerobios; son simbioses o parásitos de animales. Amitocondriales con hidrogenosomas y mitosomas. Con varios flagelos y un núcleo asociado con los cuerpos basales formando una estructura cariomastigonte.</p> <p>SUBFILO TRICHOZOA Poseen habitualmente al menos cuatro flagelos (tres anteriores y uno posterior) con hidrogenosomas, y dictiosomas.</p> <p>SUPERCLASE PARABASALIA Los flagelos se organizan en uno o más grupos cerca del extremo anterior de la célula. Los cuerpos basales están unidos a las fibras parabasales que se asocian a dictiosomas (difiere en los distintos grupos) y dan lugar a un grupo de microtúbulos (el axostilo) que discurren por el centro de la célula, pudiendo sobresalir por el extremo posterior. Carecen de mitocondria y son anaerobios. Ribosomas de 70S.</p> <p>CLASE TRICHOMONADEA Con cuatro a seis flagelos en el extremo apical de la célula, uno recurrente formando una membrana undulante. Con axostilo, pelta, costa y cuerpos parabasales. No hay quistes.</p>

<p>SUPERORDEN PARABASALIDEA Flagelos distribuidos en patrones característicos asociados con filamentos radicales típicos de tricomonádidos. Con uno o más aparatos parabasales. División del huso extranuclear.</p> <p>ORDEN TRICHOMONADIDA Flagelados caracterizados por poseer de cuatro a seis flagelos, aunque puede haber un único flagelo o no existir. En los géneros típicos, uno de los flagelos es recurrente, con porción libre o no, y se encuentra adherido parcialmente al cuerpo formando una membrana ondulante. El resto de los flagelos son libres y presentan una distribución anterior. El cuerpo está atravesado por una estructura axial formada por microtúbulos, llamado axostilo. Hay pelta y axostilo no contráctil.</p> <p>Familia Monocercomonadidae Género <i>Monocercomonas</i> Género <i>Histomonas</i></p> <p>Familia Trichomonadidae Género <i>Trichomonas</i> Género <i>Tetratrichomonas</i></p>	<p>ORDEN TRICHOMONADIDA Poseen tres a cinco flagelos anteriores y uno recurrente libre o asociado con el cuerpo basal. Todos tienen un aparato parabasal compuesto de fibras asociadas a uno o dos dictiosomas, éstos suelen ser largos y pueden girar alrededor del axostilo. El complejo axostilo-pelta está localizado en eje central y sobresale del extremo posterior. El axostilo puede sobresalir posteriormente, mientras que la parte anterior se continúa con la pelta. Los hidrogenosomas pueden ser esféricos o con aspecto de gránulos baciliformes que se concentran alrededor del axostilo y por debajo de la costa (gránulos paracostales).</p> <p>Familia Monocercomonadinae Género <i>Monocercomonas</i> Género <i>Histomonas</i></p> <p>Familia Trichomonadidae Género <i>Trichomonas</i> Género <i>Tetratrichomonas</i></p>
<p>ORDEN RETORTAMONADIDA Trofozoitos con dos o cuatro flagelos, uno de ellos recurrente y asociado a un citostoma delimitado por microtúbulos. Sin mitocondrias ni aparato de Golgi. Quistes ovals con los orgánulos del trofozoito, salvo los flagelos</p> <p>Familia Retortamonadidae Género <i>Chilomastix</i>. Género <i>Retortamonas</i>.</p>	<p>SUPERCLASE EOPHARYNGIA Con surcos de alimentación o tubos citofaríngeos asociados a flagelos.</p> <p>CLASE RETORTAMONADEA Flagelados de pequeño tamaño que se localizan en el intestino de vertebrados e invertebrados; suelen ser comensales.</p> <p>ORDEN RETORTAMONADIDA Con 2 a 4 flagelos, uno de ellos recurrente y asociado a un citostoma. Carecen de mitocondria y aparato Golgi. Los quistes son ovals sin flagelos pero si con orgánulos del trofozoito.</p> <p>Familia Retortamonadidae Género <i>Chilomastix</i>. Género <i>Retortamonas</i>.</p> <p>CLASE TREPOMONADEA Son flagelados pequeños unicelulares y heterotróficos. Son anaerobios sin mitocondria o</p>

<p>ORDEN DIPLOMONADIDA Flagelados de pequeñas dimensiones con uno o dos núcleos, asociados cada uno de ellos con 1-4 flagelos (cariomastigontos). Las formas binucleados tienen simetría bilateral. Sin mitocondria ni aparato de Golgi. La mayoría de las especies conocidas parasitan a vertebrados e invertebrados, existiendo algunas de vida libre. Las formas parasitas forman quistes multinucleados.</p> <p>SUBORDEN DIPLOMONADINA Dos cariomastigontos. Cuerpos con simetría bilateral. Cada mastigonto con cuatro flagelos, uno de ellos recurrente. Con especies de vida libre o parásitas.</p> <p>Familia Hexamitidae Subfamilia Hexamitinae Género <i>Spironucleus</i>.</p> <p>Subfamilia Giardiinae Género <i>Giardia</i></p>	<p>aparato de Golgi. Poseen 4 flagelos, cuerpos basales y un núcleo formando el cariomastigonto. Un flagelo se localiza atrás y es asociados con el citostoma ventral.</p> <p>SUBCLASE DIPLOZOA Presentan simetría bilateral y dos cariomastigontos donde cada uno presentan 4 flagelos con uno recurrente.</p> <p>ORDEN DISTOMATIDA Con dos cariomastigontes dispuestos bilateralmente. Cuerpo piriforme con dos citofaringes, con cisternas del endoretículo rugoso.</p> <p>Familia Hexamitidae Género <i>Spironucleus</i>.</p> <p>ORDEN GIARDIIDA Con dos cariomastigontes a la altura de un disco ventral. Cuerpo algo piriforme, plano-convexo, con el lado plano con el disco ventral. Con cuatro pares de flagelos con los cuerpos basales entre los dos núcleos; todos los flagelos se dirigen hacia la parte posterior. Cuerpo terminado en forma aguzada, prolongado por dos flagelos caudales. Quistes con cuatro y con estructuras de microtúbulares.</p> <p>Familia Giardiidae Género <i>Giardia</i></p>
	<p>FILO EUGLENOZOA (EUGLENIDOPHYTA) Organismos con uno o dos flagelos que salen de un bolsillo flagelar, típicamente poseen una varilla paraxial paralela a los axonemas. Los cuerpos basales de los flagelos se insertan en o cerca de una única y gran mitocondria que se extiende a casi todo la longitud del cuerpo.</p>

<p>ORDEN KINETOPLASTIDA Se incluyen organismos con uno o dos flagelos que emergen de una depresión. Con una mitocondria única, no funcional en algunas ocasiones, en forma de tubo extendido a lo largo de toda la célula, ramificada o arqueada. Normalmente presentan kinetoplasto que se tiñe fuertemente, localizado cerca de los cinetosomas flagelares. El aparato de Golgi se sitúa en la depresión de la zona de los flagelados y no está relacionado ni con estos orgánulos ni con el cinetostoma. La mayoría de las especies son parásitas, aunque hay organismos de vida libre.</p> <p>SUBORDEN BODONIDA Dos flagelos, uno de mayor longitud. El kinetoplasto puede estar formando una estructura compacta (eukinetoplasto), dividido en diversos granulos (polikinetoplasto), o disperso a través de la mitocondria (pankinetoplasto). Hay especies de vida libre y parásita.</p> <p>Familia Bodonidae Género <i>Pleuromonas</i>.</p>	<p>SUBFILO SACCOSTOMA Presentan un citostoma subapical y una citofaringe reforzada por microtúbulos.</p> <p>CLASE KINETOPLASTEIA Poseen uno o dos flagelos y una mitocondria vesicular extendida por toda el cuerpo. El aparato de Golgi y un kinetoplasto (situado dentro de la mitocondria) están cerca de los flagelos. Son especies mayoritariamente parásitas.</p> <p>ORDEN BODONIDA Con dos flagelos, uno más largo que el otro. El kinetoplasto es compacto o está más o menos difuso por la mitocondria.</p> <p>Familia Bodonidae Género <i>Pleuromonas</i>.</p>
<p>CLASE PHYTOMASTIGOPHOREA (PHYTOMASTIGIA) Grupo diverso, con un cuerpo ovalado a lanceolado y normalmente con simetría helicoidal. Con dos flagelos, o sin flagelos. Cuerpo con filamentos subpeliculares con disposición helicoidal.</p> <p>ORDEN EUGLENOIDIDA Con o sin pigmentos verdes. Con un flagelo emergente móvil y otro no emergente. Sin aparato de ingestión, aunque poseen un estigma y una dilatación de la bolsa flagelar.</p>	<p>SUBFILO PLICOSTOMA Presentan tiras peliculares.</p> <p>CLASE EUGLENOIDEA Células con 2 flagelos (ocasionalmente, 1 ó más de 2). El aparato flagelar básico consta de dos cinetosomas y de tres grupos de microtúbulos asociados dispuestos asimétricamente. El movimiento flagelar se produce por giro del extremo anterior del flagelo anterior, y por movimiento en látigo del flagelo posterior.</p>

2.2.3.1. Familia Monocercomonadidae

Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer de tres a cinco flagelos anteriores y un flagelo recurrente libre en toda su longitud, o adherido a la membrana celular en su parte anterior por medio de un filamento accesorio. En algunos géneros puede aparecer una membrana ondulante muy rudimentaria. No tienen costa. El capítulo del axostilo se extiende en la parte anterior en una pelta y el tronco, grueso o delgado (este último más habitual) puede tener o no, anillos periaxostilares. El aparato parabasal posee forma de varilla, disco o V. Todos los miembros de esta familia son simbioses de vertebrados o invertebrados, salvo dos especies de vida libre: *Pseudotrichomonas keillini* y *Eutrichomastix coprocola* (Honigberg, 1963).

Posición taxonómica

La taxonomía de esta familia fue ampliamente revisada por Honigberg en 1963 y 1969. En el primer estudio realizado, queda dividida en tres subfamilias: *Monocercomonadinae*, *Chilomitinae* e *Hypotrichomonadinae*. En 1969, Honigberg y Kuldová establecen algunas modificaciones. Así, introducen una nueva subfamilia a la que denominan *Protrichomonadinae* y en la que incluyen los géneros *Histomonas* (antes considerado del orden *Amoebaeae*), *Protrichomonas* (situado hasta ese momento en la familia *Monocercomonadinae*) y *Parahistomonas* (género nuevo en el que introducen la especie *Parahistomonas wenrichi*). En la presente revisión no se consideran las subfamilias *Chilomitinae* e *Hypotrichomonadinae*, ya que no incluyen ninguna especie que haya sido citada en aves o en el hombre.

SUBFAMILIA MONOCERCOMONADINAE

Presenta los caracteres de la familia; no posee membrana ondulante, el cuerpo es elipsoidal u ovoide y la porción final del tronco axostilar se proyecta hacia el exterior de la célula. Dentro de ella se sitúan cuatro géneros: *Monocercomonas*,

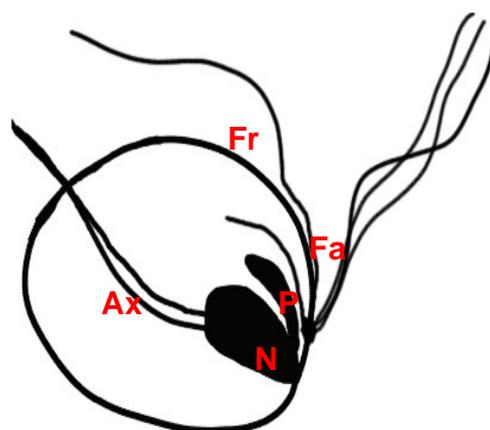
Tricercomitus, *Tetrachilomastix* y *Hexamastix*. En un principio el género *Protrichomonas* también quedaba incluido, aunque en la revisión de 1969 de Honigberg y Kuldová, éstos lo sitúan en una subfamilia de nueva creación, *Protrichomonadinae*. El único género que se considera en esta revisión es *Monocercomonas*, ya que en los otros tres géneros (*Tricercomitus*, *Tetrachilomastix* y *Hexamastix*) no se han descrito especies en aves o en el hombre.

Género *Monocercomonas* Grassi, 1879

Se trata de un organismo piriforme con el extremo anterior redondeado. Presenta cuatro flagelos, tres anteriores y uno recurrente, éste de igual o mayor longitud (sin llegar a doblar el tamaño) que los flagelos anteriores. En su parte proximal pueden estar adheridos a la superficie dorsal de la célula por un filamento accesorio. El capítulo puede continuarse, o no, en una pelta. El cuerpo del axostilo es fino en la mayoría de las ocasiones y es variable la presencia de anillos periaxostilares. El cuerpo basal tiene forma de V, de disco o de varilla (figura 2.18).

Figura 2.18: Esquema del trofozoito de *Monocercomonas* sp.

N: núcleo; Fa: flagelos anteriores; Fr: flagelo recurrente; P: pelta; Ax: axostilo.



La sistemática de este género ha sido objeto de numerosos cambios. Inicialmente, fue descrito como *Monocercomonas* por Grassi en 1881, y su nombre fue cambiado a *Trichomastix* por Blochmann en 1887. Sin embargo, este nombre fue desechado debido a que estaba ocupado (fue asignado a un insecto en 1878 por Vollehoevan), y en 1915, Kofoid y Swezy propusieron *Eutrichomastix*. Posteriormente, en 1951, Moskowitz, aplicando la regla de la prioridad, descartó este nombre en favor del término *Monocercomonas* propuesto por Grassi en 1881.

Se han citado especies pertenecientes a este género en mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, insectos y otros artrópodos.

Especies descritas en aves:

- ***Monocercomonas gallinarum*** (Martin y Robertson, 1911) Morgan y Hawkins, 1948.

Sinónimos: *Eutrichomastix gallinarum*, *Trichomastix gallinarum*.

Ha sido citado en el ciego de gallina y del pato doméstico, y es considerado como no patógeno (Levine, 1985). Posee las características propias del género. Piriforme, carente de costa y de pequeño tamaño, no llega a superar las 8 μm de largo y las 4 μm de ancho. Los tres flagelos anteriores son de menor tamaño que el recurrente. La descripción original menciona la presencia de un axostilo fino con un anillo cromático en el punto de emergencia de la célula. El núcleo, de morfología ovoide, posee densa cromatina. Sin embargo, la existencia de esta especie no está muy clara, ya que McDowell (1953) plantea la posibilidad de que se trate de una degeneración de *Tritrichomonas eberthi* (Levine, 1985).

No hay especies citadas en el hombre.

SUBFAMILIA PROTRICHOMONADINAE

Los organismos pertenecientes a esta familia se caracterizan por ser muy activos, poseer movimiento ameboide y 1-4 flagelos, axostilo fino sin proyección hacia el exterior de la célula y cuerpo parabasal en forma de V o varilla. Hay formas tisulares no flageladas en el género *Histomonas*.

Género *Protrichomonas* Alexeieff, 1912

Organismos con tres flagelos anteriores agrupados en un penacho y ningún flagelo recurrente. El capítulo del axostilo es relativamente ancho siendo el tronco fino. El cuerpo parabasal tiene forma de varilla. No posee formas tisulares no flageladas. Sólo existen dos especies incluidas en el género: *P. legeri* Alexeieff, 1911, descrita en un pez marino y considerada como especie tipo y, *P. anatis* Kotlán, 1923. En un principio se puso en duda que los individuos de estas especies no presentaran flagelos recurrentes; se consideró entonces que la no observación del mismo se debía al hecho de que ante factores ambientales adversos, los miembros del género *Monocercomonas* se vuelven muy plásticos y adquieren formas ameboides que dejan el flagelo recurrente adherido a la superficie del cuerpo dificultando su observación. Por todo ello, Grassé, en 1952, consideró este género de clasificación incierta, perteneciente a la subfamilia *Monocercomonadinae*. Sin embargo, como ya ha sido señalado, Honigberg, en 1969, creó esta nueva subfamilia en la que incluye a este género.

Especies citadas en aves:

- ***Protrichomonas anatis*** Kotlán, 1923.

Fue descrita a partir de contenido intestinal de pato. Ninguna de las dos especies que componen el género, ha sido estudiada con métodos modernos y sus descripciones no son suficientes para realizar un diagnóstico taxonómico certero. Kotlán relata una estructura fibrilar que

recorre el cuerpo y sobresale por la parte posterior. Wenyon, en 1926, supone que esta estructura se corresponde con un axostilo. Aunque en la descripción original no se menciona la existencia de cuerpo parabasal, Honigberg, en 1963, consideró que no se puede descartar que esté realmente presente en estos organismos.

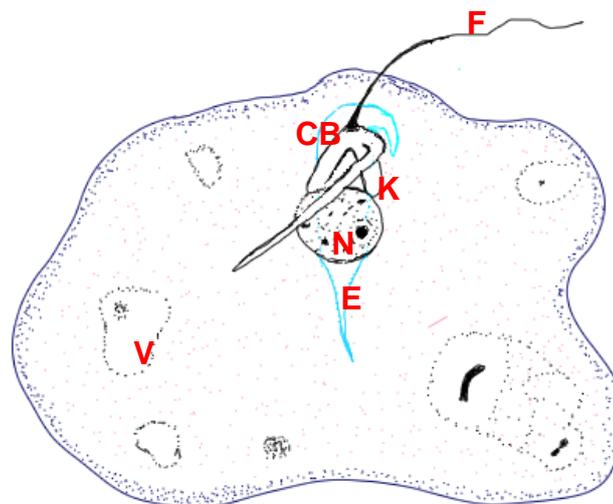
No hay especies citadas en el hombre.

Género *Histomonas* Tyzzer, 1920

Se caracteriza por la presencia de individuos con el número de flagelos variable según la localización y condiciones ambientales en la que se encuentren. Generalmente poseen un grueso flagelo, siendo las formas tisulares no flageladas. La pelta es pequeña y el axostilo se diferencia en capítulo y tronco de poca anchura. El aparato parabasal tiene forma de V (figura 2.19). Sólo contiene una especie reconocida, *Histomonas meleagridis*, cuyo hospedador son diversas aves.

Figura 2.19: Esquema del trofozoito de *Histomonas* sp.

N: núcleo con endosoma; F: flagelo; CB: cuerpo parabasal; K: complejo kinetosomal; V: vacuolas digestivas con células de sangre, bacterias o gránulos de almidón.



Especies citadas en aves:

- ***Histomonas meleagridis*** (Smith, 1895) Tyzzer, 1920.

Ha sido citada en pavos, faisanes, pollo, pavo real, perdiz de guinea, perdiz blanca, chocha perdiz, codorniz de Japón y otras aves gallináceas. Es una de las pocas especies citadas en avestruces asociadas a patología (Huchzermeyer, 1999). Se considera cosmopolita y tiene localización intestinal (ciego) y tisular (hígado) (Levine, 1985). La transmisión puede darse por la ingestión de trofozoítos, pero se considera que la manera más común de transmisión es a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinarum*, descubierta en 1920 por Smith y Graybill, y confirmada en numerosos trabajos posteriores (Ley y col., 1989; Norton y col., 1999).

Histomonas meleagridis es pleomórfica, presenta una morfología variable dependiendo de su localización, pudiendo provocar (especialmente en pavos) una enfermedad conocida como histomoniasis, que puede ser mortal para estas aves. En las formas tisulares no se distinguen flagelos, aunque aparece un gránulo basal cercano al núcleo. Presenta cuatro estados (Levine, 1985):

- invasivo: se encuentran en la parte anterior del ciego y en las lesiones hepáticas en la periferia de las lesiones más viejas. Es extracelular, de 8-17 μm , con un movimiento claramente ameboide, con pseudópodos activos. Presenta un citoplasma basófilo, con una zona más clara externa similar a ectoplasma y una zona más interna finamente granular similar a endoplasma. Contiene partículas digestivas, aunque no aparecen bacterias.
- el estado vegetativo se encuentra en el centro de la lesión. Es algo más grande, 12-21 x 12-15 μm . Es menos activo que el anterior y tiene pocas o ninguna inclusión citoplasmática. Su citoplasma es basófilo, claro y transparente. Las formas vegetativas están a menudo agrupadas causando interrupción en el tejido.

- el tercer estadio es el llamado forma de resistencia aunque, actualmente se sabe que no son más resistentes que los estados anteriores. Tiene 4-11 μm de diámetro, es compacto y parece estar incluido en una densa membrana. El citoplasma es acidófilo y relleno de pequeños gránulos. Las células pueden presentarse solas o empaquetadas de forma más irregular que el estadio anterior. Son formas extracelulares aunque pueden ser fagocitadas por fagocitos o células gigantes.
- la cuarta forma es flagelada, se encuentra en la luz del ciego, y es que se observa en los cultivos. Es ameboide, siendo su tamaño de 5-30 μm . El citoplasma está formado por una zona más clara externa y una más oscura granular e interna. Puede contener bacterias, granos de almidón y otras partículas alimenticias, incluyendo de forma ocasional eritrocitos. El núcleo es a menudo vesicular, con un único y denso cariosoma o como mucho 8 gránulos de cromatina (presumiblemente cromosomas). Cerca del núcleo se encuentra un gránulo basal o cinetosoma del cual emergen los flagelos. Normalmente se trata de un flagelo único y corto, aunque se han descrito hasta cuatro. El movimiento puede ser ameboide y rítmico o pulsátil con movimientos intracitoplasmáticos. El flagelo produce un movimiento similar al que se da en tricomonádidos como consecuencia de la membrana ondulante, aunque en *Histomonas* no está presente esta estructura. Los estudios a microscopía electrónica han revelado la presencia de un cuerpo parabasal que incluye fibras periódicas, vesículas del aparato de Golgi, pelta y axostilo microtubular.

No hay especies citadas en el hombre.

Género *Parahistomonas* Honigberg, 1969

Los trofozoitos poseen cuatro flagelos libres en toda su longitud, de los cuales tres se agrupan poco después de abandonar la célula y uno permanece separado. El axostilo se diferencia en un ancho capítulo y un tronco delgado. El aparato parabasal está constituido por un cuerpo en forma de varilla y un filamento grueso que se extiende hasta casi la mitad de la longitud de la célula. No hay formas tisulares.

Especies citadas en aves:

- *Parahistomonas wenrichi* Lund, 1963

Esta especie se considera no patógena para gallina, pavos y faisanes y no se ha encontrado nunca en tejidos. Sólo se ha hallado en el lumen intestinal (Levine, 1985).

Es bastante similar a *Histomonas meleagridis*, exceptuando el tamaño y número de flagelos. Mide 9-27 μm , con una media de 17 μm . El núcleo tiene un tamaño de 3,4-4,2 μm de largo por 2,5-3,4 de ancho, siendo de morfología elipsoidal, aunque en ocasiones, como en el caso de las formas observadas *in vivo*, aparece ovoide o esferoidal. Posee cuatro flagelos que emergen de gránulos basales a menudo situados en las proximidades del núcleo. Tres de ellos se agrupan en un penacho y el cuarto, que parece originarse de forma independiente, permanece libre en toda su longitud. El aparato parabasal está formado por cuerpo y filamento. El cuerpo parabasal tiene forma de varilla relativamente fina situada dorsalmente y a la derecha del núcleo. El filamento en ocasiones se separa del cuerpo recorriendo la célula hasta prácticamente la mitad de su longitud. La pelta se encuentra unida a la parte anterior del capítulo axostilar y aunque es relativamente corta, es muy ancha. El axostilo se divide en capítulo, situado en posición ventral al núcleo y a su izquierda, y en tronco axostilar de longitud variable pero sin extenderse hacia el exterior de la célula. El citoplasma se encuentra

repleto de vacuolas digestivas que contiene diversas partículas sólidas entre las que se encuentran bacterias (Honigberg y Kuldová, 1969).

No hay especies citado en el hombre.

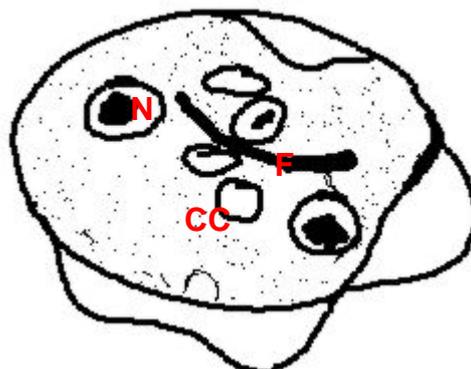
SUBFAMILIA DIENTAMOEBINAE

Género *Dientamoeba* Jepps y Dobell, 1918

Los organismos incluidos en este género fueron inicialmente considerados como amebas, pero hoy día se ha descubierto su relación con los tricomonádidos. Suelen tener 2 núcleos vesiculares con una membrana delicada y un endosoma constituido por varios gránulos de cromatina conectados a la membrana nuclear por fibras delgadas (figura 2.20). No se han escrito formas quísticas en la única especie incluida en el género, *Dientamoeba fragilis*.

Figura 2.20: Esquema del trofozoito de *Dientamoeba fragilis*.

N: núcleos con endosoma central; CC: cuerpos cromatoides; F: fibra.



No hay especies descritas en aves.

Especies descritas en el hombre:

- *Dientamoeba fragilis* Jepps y Dobell, 1918

Esta especie ocurre en el ciego y colon del hombre y en algunos monos, y rara vez en ovejas. Los trofozoitos miden 3-22 μm de diámetro, siendo normalmente de 6-12 μm . El ectoplasma es distinto del endoplasma, éste conteniendo vacuolas fagocíticas, bacterias, almidón y restos celulares. Contienen dos núcleos de tipo vesicular, compuestos cada uno por 4-8 granulos de cromatina; no hay cromatina periférica.

2.2.3.2. Familia Trichomonadidae

Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer un cuerpo piriforme, con la parte anterior redondeada y la posterior puntiaguda. El núcleo es único y se sitúa en la parte anterior de la célula. Por delante de él se sitúa el blefaroplasto, que no es más que el conjunto de cinetosomas de los que surgirán 3-5 flagelos anteriores y el flagelo recurrente. Este último se encuentra asociado a la membrana citoplasmática formando la membrana ondulante, que se extiende a lo largo del cuerpo, y que puede ir acompañada de un filamento accesorio o secundario. El flagelo recurrente puede extenderse, o no, más allá de los límites de esta membrana dando lugar una porción libre. La membrana ondulante va acompañada en su base por la costa, filamento procedente del cinetosoma cuya presencia va a caracterizar a esta familia frente a las otras pertenecientes al orden *Trichomonadida*. El cuerpo parabasal se sitúa posterior al blefaroplasto dando la impresión, a microscopia óptica, que surge de él. Puede estar o no asociado a filamentos parabasales. Del blefaroplasto surge también el axostilo que atraviesa el cuerpo por su eje central para emerger por el extremo posterior de la célula. Por su parte anterior se ensancha formando el capítulo y a su salida se encuentra un anillo cromático (figura 2.21). Justo anterior al blefaroplasto y situada a lo largo del margen anterior de la célula, aparece otra estructura denominada pelta. Asociado

al axostilo, costa o en otras localizaciones, aparecen diferentes gránulos observables al microscopio óptico (Levine, 1985).

Posición taxonómica

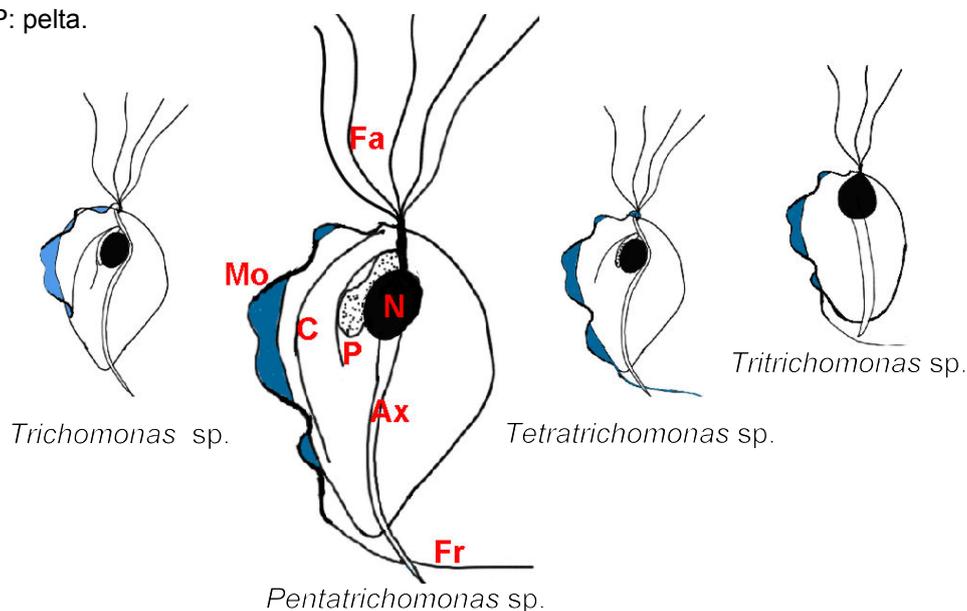
En 1963, Honigberg reconoce tres subfamilias dentro de la familia *Trichomonadidae*. Dos de ellas contienen especies citadas en aves: *Trichomonadinae* (Chalmers y Pekkola, 1818) Kirby, 1946 y *Tritrichomonadinae* Honigberg, 1963. La tercera subfamilia, *Pentatrichomonadinae* Honigberg, 1963, se encuentra exclusivamente en termitas.

SUBFAMILIA TRICHOMONADINAE

Poseen de 3 a 5 flagelos. La membrana ondulante es variable en longitud y grado de desarrollo. La costa es muy fina. El tronco del axostilo es hialino, con forma de varilla, normalmente delgado o de diámetro moderado, sin gránulos asociados y generalmente sin anillos periaxostilares; en la mayoría de las ocasiones sobresale de la célula en una punta axostilar. El capítulo presenta una complejidad variable. El aparato parabasal es variable en estructura y tamaño. Esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Trichomonas*, *Trichomitus*, *Tetratrichomonas* y *Pentatrichomonas*.

Figura 2.21: Esquemas de los trofozoitos de diferentes tricomonádidos.

Fa: flagelo anterior; Fr: flagelo recurrente; Mo: membrana ondulante; C: costa; N: núcleo; Ax: axostilo; P: pelta.



Género *Trichomonas* Donné, 1837

Es el único en el que el flagelo recurrente no deja porción libre. La membrana ondulante suele ser más corta que la longitud de la célula. La costa es muy delgada y el capítulo, moderadamente ancho, se extiende por su parte anterior formando la pelta. El tronco del axostilo es de poco diámetro y el cuerpo parabaasal, asociado a filamentos, aparece con forma de varilla o V. Posee cuatro flagelos anteriores.

Especies descritas en aves:

- *Trichomonas gallinae* (Rivolta, 1878) Stabler, 1938

Sinónimos: *Cercomonas gallinae*, *C. hepaticum*, *T. columbae*, *T. diversa*, *T. halli*.

Su nomenclatura fue ampliamente revisada por Stabler en 1938 y 1941, llegando a la conclusión, actualmente aceptada, de que esta especie era idéntica a la descrita en 1878 por Rivolta, como *Cercomonas gallinae*.

Trichomonas gallinae se considera una especie cosmopolita. El hospedador más común es la paloma doméstica, pero se ha descrito en muchas otras especies de aves. Se transmite por vía oral, causando una enfermedad (trichomonosis) en el tracto superior del aparato digestivo que puede ser mortal (Cooper & Petty, 1988).

Los trofozoitos son de forma elipsoidal, con un cuerpo muy plástico por lo que las medidas varían según las condiciones de fijación y tinción. Se ha comprobado que el tamaño disminuye en los organismos fijados con Bouin o Hollande (media: 8,3 μm) (Abraham y Honigberg, 1964). Por término medio mide 12,5-20 μm de largo, con una media de 16,7 μm . Los cuatro flagelos anteriores se originan en el complejo cinetosomal. Al microscopio óptico no es posible discernir los cinetosomas de forma individual. Aunque no es lo normal, se han observado organismos con tres o cinco flagelos. Tanto en los organismos *in vivo* como en los ejemplares fijados y teñidos, se observa que los flagelos surgen muy próximos en la parte proximal para luego agruparse, en la mayoría de las ocasiones, en dos pares, uno ligeramente más largo que el otro (10,3 μm , con un rango de 8-13 μm). La membrana ondulante se encuentra bien desarrollada. Se encuentra delimitada en su parte exterior por el flagelo recurrente y en la interior por el filamento accesorio y por una delgada costa, ambos más cortos que el cuerpo. No existe porción libre del flagelo recurrente. Los gránulos paracostales son visibles tanto en los organismos vivos como en los teñidos con hematoxilina férrica. Se disponen en dos filas situadas a ambos lados de la costa. El axostilo aparece como una barra hialina con el capítulo aplanado y muy cercano al núcleo. El tronco, de pequeño diámetro, recorre todo el cuerpo cerca del eje anteroposterior de la célula para sobresalir por la parte posterior en un segmento de 1,5-7.5 μm , que adquiere apariencia fusiforme de manera gradual a partir de un punto perfectamente distinguible en las preparaciones teñidas. Tanto el tronco del axostilo como el capítulo son acompañados por gránulos periaxostilares (hidrogenosomas), de menor tamaño y con distribución menos uniforme que las inclusiones paracostales.

El segmento saliente axostilar no presenta ni gránulos axostilares ni anillo periaxostilar. El aparato parabasal se origina en el complejo cinetosomal y es perfectamente visible en las preparaciones teñidas con protargol. Consta de un cuerpo parabasal en forma de gancho, localizado cerca del núcleo, y de uno o varios filamentos parabasales que en el caso de aparecer en número mayor a uno son de pequeño tamaño y en el caso de ser único es robusto y de gran tamaño. El cuerpo parabasal se extiende de dos tercios a tres cuartos de la longitud del núcleo. El núcleo tiene forma oval o elipsoidal y se encuentra situado en la parte anterior del cuerpo. Mide 2,4 (2-3) x 1,3 (1-2) μm . En las preparaciones teñidas con hematoxilina se observa que contiene gránulos de cromatina distribuida de forma uniforme y un pequeño nucléolo rodeado de un halo hialino. En cultivos no axénicos la mayoría de los flagelados contienen bacterias en vacuolas digestivas (Honigberg, 1978)

Especies citadas en el hombre:

Hay dos especies que infectan al hombre, pero ninguna en localización intestinal: *Trichomonas tenax* se encuentra en la cavidad bucal, y *Trichomonas vaginalis* en los órganos sexuales.

Género *Trichomitus* Swezy, 1915

Posee tres flagelos anteriores. El cuerpo parabasal tiene forma de V, aunque a veces, puede aparecer redondeado. La membrana ondulante es de longitud variable. El flagelo posterior deja porción libre. La costa es relativamente delgada aunque aparece fuertemente desarrollada en algunas especies.

No se han citado especies en aves.

Especies citadas en el hombre:

- ***Trichomitus fecalis*** (Cleveland, 1928) Honigberg, 1963

Sinónimos: *Tritrichomonas fecalis*.

Este especie se ha encontrado en el ciego y colon del hombre. No es patógeno. Las características son las del género, con pocas diferencias. Presenta 3 flagelos muy largos, un axostilo largo y basto y una costa con dos filas de gránulos.

Género *Tetratrichomonas* Parisi, 1910

Posee cuatro flagelos anteriores. La membrana ondulante se extiende por toda la longitud del cuerpo dejando una porción libre del flagelo recurrente. La costa es de anchura variable, aunque normalmente no adquiere gran desarrollo. El capitulo del axostilo no se extiende en prolongaciones laterales, pero si en una estrecha pelta en su parte anterior. El tronco del axostilo presenta poco diámetro aunque en algunas especies puede alcanzar un grosor considerable. El cuerpo basal tiene forma de disco con gránulos centrales bien definidos y se encuentra asociado con uno o dos filamentos.

Especies citadas en aves:

- ***Tetratrichomonas gallinarum*** (Martin y Robertson, 1911) Honigberg, 1963

Sinónimos: *Trichomonas pollorum*, *Trichomonas gallinarum*.

Se encuentra en pavo, gallina, faisán, pintada, codorniz, gallo de guinea y perdiz (Gutiérrez Galindo, 1999). Un organismo de morfología similar ha sido citado en gansos y patos (Pecka, 1991a). Su localización habitual es el ciego. A principios del siglo XX se le asoció con daños hepáticos, pero la identificación de *H. meleagridis* como causante de patologías hepáticas ha llevado a considerar como errónea tal asociación.

Posee forma elipsoidal u ovoide, aunque varía de forma significativa en los ejemplares vivos. Las medidas del trofozoito oscilan entre 7-15 μm (8,2 μm de media) x 3-9,5 μm (5,8 μm de media). Los cuatro flagelos anteriores tienen tendencia a agruparse en dos pares, siendo ambos grupos prácticamente de la misma longitud. La membrana ondulante, bien desarrollada, recorre toda la longitud del cuerpo. El flagelo recurrente deja porción libre y se apoya en el filamento accesorio. La costa, de la misma longitud que la membrana ondulante, se engrosa en su parte media y es acompañada por una fila de gránulos paracostales. El capítulo del axostilo en forma de “cuchara” se encuentra unido a la pelta, esta última de considerable anchura. El tronco del axostilo varía en su grosor y es proyectado fuera de la célula por su polo posterior. No parecen existir gránulos axostilares, paraxostilares ni anillos periaxostilares. El cuerpo parabasal se apoya sobre un filamento parabasal, tiene forma discoidal y un fuerte margen argentófilo así como gránulos centrales. El núcleo es elipsoidal, ovoide o esférico (Honigberg, 1978).

- ***Tetratrichomonas anatis*** Kotlan, 1923

Sinónimos: *Trichomonas anatis*.

Se trata de un tricomonádido descrito en la parte posterior del tracto digestivo del pato doméstico. Sólo se ha citado en Europa (Levine, 1985). El cuerpo es oval, 13-27 x 8-18 μm , con cuatro flagelos anteriores, membrana ondulante a lo largo de toda la longitud de la célula y porción libre de flagelo recurrente. Presenta costa y axostilo fibrilar (Levine, 1985).

- ***Tetratrichomonas anseris*** (Hegner, 1929) Levine, 1973

Sinónimos: *Trichomonas anseris*.

Ha sido citado en ganso doméstico y pollos, aunque en estos últimos se trataba de infección experimental. En ambos se encontró en ciego (Levine, 1985). El cuerpo es oval, de 6-9 x 3-6,5 μm (media 8 x 5 μm). Presenta cuatro flagelos anteriores agrupados en pares, que surgen a partir de dos

blefaroplastos. La membrana ondulante se extiende prácticamente a lo largo de toda la célula. Están presentes tanto costa como porción libre del flagelo. El axostilo es ancho y de apariencia hialina, y se extiende a una distancia considerable por el exterior de la célula, no apareciendo anillos periaxostilares. El núcleo es muy característico: se encuentra repleto de pequeños gránulos de cromatina y de un único y gran cariosoma, normalmente situado en un margen del núcleo. Muchos ejemplares presentan bacterias en el citoplasma (Levine, 1985).

Friedhoff y col. (1990) proponen que dado el extremo polimorfismo de *Tetratrichomonas gallinarum* no sólo en forma, sino también en tamaño, así como en la disposición de los orgánulos, *T. anseris* y *T. anatis* deberían ser considerados como sinónimos de *T. gallinarum*; al menos, hasta que sean proporcionados criterios válidos que permitan la distinción de estas especies. Por el mismo motivo, los mismos autores consideran que debería ser comprobada la validez de las especies *Tetratrichomonas phasiani* Travis, 1932, *T. corvus* Richardson, 1934, y *T. otis* Tanabe, 1926.

No hay especies citadas en el hombre.

Género *Pentatrichomonas* Mesnil, 1914

Los organismos pertenecientes a este género poseen cinco flagelos anteriores, de los cuales cuatro están agrupados por la base, por lo que presentan un movimiento sincrónico, y el quinto es independiente. El cuerpo parabasal está compuesto de gránulos pequeños y se encuentra rodeado de una zona más clara en forma de área circular o elíptica. La membrana ondulante está muy desarrollada y se extiende por toda la longitud de la célula dejando una porción libre del flagelo recurrente. La costa también está bien desarrollada. El capítulo es ancho, presenta expansiones ventrolaterales y se extiende en su extremo anterior a modo de pelta. El tronco es de diámetro moderado.

Especies citada es aves:

- ***Pentatrichomonas* sp.**

Se trata de una identificación dudosa. En los dibujos originales en los que se describe el organismo, aislado de contenido intestinal e hígado de gallo, no se señala la presencia de flagelos anteriores en grupos de 4+1, rasgo distintivo de este género. Se ha considerado que la descripción en aves puede en realidad corresponder a *Tetratrachomonas gallinarum*, especie que puede tener cinco flagelos. Sin embargo, en 1953, McDowell establece que *T.gallinarum* posee cuatro flagelos anteriores y que las formas con cinco flagelos son extraordinariamente poco comunes. Allen (1936, 1941), Olsen y Allen (1943) y Walker (1948) llegaron a la conclusión de que este flagelado, encontrado en contenido intestinal y lesiones hepáticas en gallo, era responsable de enterohepatitis, recordando a *Histomonas meleagridis* en su capacidad de producir enfermedad. Sin embargo, no existen suficientes evidencias para considerar este tricomonádido como patógeno.

Especies citadas en el hombre:

- ***Pentatrachomonas hominis*** Darvaine, 1860

Sinónimos: *Cercomonas hominis*, *Monocercomonas homonis*, *P. ardin delteili*, *P. canis auri*, *P. felis*, *T. anthropopithecii*, *T. confusa*, *T. felis*, *Trichomonas intestinalis*, *T. parva*.

Es una especie encontrada en el ciego y colon del hombre y de otros mamíferos. Es de distribución mundial y relativamente común en algunas zonas. No es patógeno. Las características son las generales del género. El cuerpo es piriforme, de 8-20 x 3-14 µm. Suelen tener cinco flagelos anteriores, pero algunas células pueden tener 4 ó 3. Cuatro de los cinco flagelos están agrupados, el quinto está separado y dirigido posteriormente; un sexto flagelo forma la membrana ondulante (que se extiende a lo largo de todo el cuerpo celular) con una porción de flagelo libre. Presenta un

filamento accesorio, costa y granulos paracostales. El axostilo es hialino, grueso y con una punta aguda y afilada pero sin un anillo cromático en el punto de salida. El cuerpo parabasal es pequeño y elipsoidal.

SUBFAMILIA TRITRICHOMONADINAE

Poseen de tres a cuatro flagelos, generalmente de igual longitud. La parte proximal, o la longitud total, del flagelo recurrente se encuentra situada entre dos filamentos accesorios, normalmente situados en el margen de la membrana ondulante. Ésta se encuentra bien desarrollada y ocupa toda la longitud del cuerpo. La costa puede aparecer de grosor variable. El tronco del axostilo es de gran diámetro, con apariencia tubular. El segmento posterior adquiere forma de huso en un punto inmediatamente posterior a la salida de la célula o se alarga en una expansión bulbosa puntiaguda (de algo mayor diámetro, no tubular y, en algún género, con una proyección posterior). El capítulo es espatulado, a menudo con una o más extensiones anteriores y/o ventrolaterales. El aparato parabasal tiene forma variable: varilla, filamento, banda o judía, incluso con ramificaciones en algunas especies.

Existen tres géneros incluidos en esta subfamilia. Dos de ellos, *Trichomitopsis* Kofoid y Swezy, 1919 y *Pseudotrypanosoma* Grassi, 1917, se encuentran exclusivamente en termitas. El tercero, *Tritrichomonas* Kofoid, 1920, aparece citado en aves.

Género *Tritrichomonas* Kofoid, 1920

Las especies de este género se caracterizan por poseer tres flagelos anteriores (cuatro en alguna especie) y uno recurrente que excede o iguala al anterior en diámetro. Este flagelo recorre toda la longitud de la célula formando la membrana ondulante, que en este caso está bien desarrollada, y emerge por la parte posterior dejando una porción de flagelo libre. El tronco del axostilo es

grueso, con apariencia tubular formando una proyección cónica en su salida por el extremo final de la célula. Se encuentra rodeado por uno o varios anillos periaxostilares localizados cercanos al lugar de salida. El capítulo presenta a menudo extensiones anteriores y ventrolaterales. El cuerpo parabasal tiene forma de varilla o judía y se encuentra asociado a un filamento.

Especies citadas en aves:

- ***Tritrichomonas eberthi*** (Martin y Robertson, 1911) Kofoid, 1920

Sinónimos: *Trichomonas eberthi*.

Se ha citado en ciego de pollo y pavo (Honigberg, 1978). En 1923, Kotlan describe esta especie en pato, pero no ha sido confirmado. Presenta distribución mundial. El cuerpo tiene forma de pera alargada, de 8-14 x 4-7 µm, con el citoplasma muy vacuolado y con tres flagelos anteriores. La membrana ondulante se encuentra muy desarrollada y aparece sustentada por una costa gruesa que gradualmente adquiere forma de huso. Ambos orgánulos son ligeramente más cortos que el cuerpo. Esta doble naturaleza del margen externo de la membrana ondulante es muy evidente en algunos organismos. El flagelo recurrente, que constituye el componente externo de la membrana ondulante, deja porción libre de una longitud aproximadamente igual a la mitad de la longitud de la célula. El blefaroplasto se compone de cuatro gránulos equidistantes, aunque se suele teñir como uno único. Aparecen entre 5-12 (a veces más) gránulos subcostales. El axostilo es muy grueso, hialino. El capítulo presenta gránulos axostilares argentófilos que se extienden hacia la parte anterior del grueso tronco axostilar. También están presentes otros gránulos paraxostilares. En la parte posterior de la célula, en el punto donde sobresale el axostilo, aparecen gránulos cromáticos que rodean esta estructura. El cuerpo parabasal tiene forma lineal, en ocasiones grumoso, de longitud variable, aunque suele corresponder a un tercio de la longitud del cuerpo. El núcleo, alargado u ovoide, se encuentra muy cercano al capítulo y se sitúa a corta distancia del extremo anterior (Honigberg, 1978).

Algunos autores han relacionado esta especie con lesiones en la cavidad oral y región orbital de palomas. Sin embargo, hoy en día, esta patología se atribuye a *Trichomonas gallinae*, considerando *Tritrichomonas eberthi* como no patógena.

No hay especies citadas en el hombre.

2.2.3.3. Familia Cochlosomidae

Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer un disco adhesivo localizado ventralmente en la parte anterior de la célula. Este orgánulo de fijación se encuentra interrumpido en el lado izquierdo por una invaginación que sirve de entrada a un surco lateral que se sitúa perpendicular al eje longitudinal del cuerpo y se extiende, por el lado izquierdo, a través de toda la longitud de la célula. El disco se encuentra perfilado por una fibra, similar a la costa de los tricomonádidos, que se dispone en sentido contrario a las agujas del reloj. Se origina en el complejo cinetosomal, dobla hacia la superficie dorsal de la célula y acaba, adelgazando de manera progresiva, muy cerca de la entrada al surco lateral.

Posee seis flagelos que se originan de un único complejo cinetosomal, situado laterodorsalmente en la parte anterior y muy cercano a la entrada del surco lateral. Cinco flagelos son anteriores y uno de ellos es recurrente. De los cinco anteriores, cuatro emergen lateralmente batiendo por el lado izquierdo del cuerpo, el quinto discurre a lo largo del surco lateral. El flagelo recurrente se encuentra unido a uno de los bordes del surco lateral, con lo que discurre unido a él hasta el final del surco del que emerge dejando una pequeña porción libre. A lo largo de este recorrido es acompañado por una fibra marginal. Posee axostilo, de igual diámetro en toda su longitud que parte de la zona derecha del núcleo, y abandona la célula en su parte posterior dejando una pequeña protusión. La pelta, en forma de media luna, se extiende desde el lado izquierdo de la parte anterior del axostilo hasta la entrada del surco lateral. El núcleo se sitúa en el extremo anterior de la célula ocupando aproximadamente un tercio de su longitud. A su izquierda se sitúa

el cuerpo parabasal argentófilo, que se encuentra asociado a una delgada fibra parabasal originada en el complejo cinetosomal. Otra característica, que puede no estar presente en algunas ocasiones, es la presencia de orgánulos citoplasmáticos que se tiñen intensamente con hematoxilina (Lindsay y col., 1999).

En las preparaciones en fresco, se muestran con un marcado movimiento errático y espasmódico debido a que el extremo proximal de los flagelos se extiende para formar un único haz, mientras que el distal produce un movimiento a modo de látigo. Al mismo tiempo, la célula presenta un movimiento rotacional alrededor de su eje longitudinal (Watkins y col., 1989).

Posición taxonómica

Grassé, en 1952, emplazó esta familia dentro del orden Retortamonadida, aunque los coclosómidos no se encuentran relacionados con los retortamonádidos (Wenrich, 1932). El disco adhesivo que presentan los miembros de esta familia condujo a la idea de que podrían estar relacionados con el género *Giardia* y por lo tanto, incluidos dentro del orden Diplomonadida. Sin embargo, esta relación es superficial y parece que se trata de una convergencia evolutiva entre ambos géneros pertenecientes a grupos no relacionados, ya que no hay homología entre las estructuras celulares de Cochlosomidae y Hexamitidae. Algunos autores en 1923 como Kotlan, sugieren que aunque no se puede incluir esta familia dentro de los diplomonádidos, se puede considerar como un nexo de unión entre los órdenes Diplomonadida y Trichomonadida (Travis, 1938). A pesar de ello, no existen pruebas suficientes que sustenten esta idea y sí parece bastante aceptado que no existe relación entre Cochlosomidae y Hexamitidae (Kulda y Nohýnková, 1978).

Los coclosómidos muestran una considerable afinidad con el orden Trichomonadida. Ambos poseen un aparato parabasal compuesto por un cuerpo argentófilo y una fibra parabasal unida a un complejo cinetosomal. Además poseen pelta y axostilo. La fibra marginal del disco adhesivo podría tratarse de una estructura similar a una costa que emerge del complejo cinetosomal (Kirby, 1947).

Se trata pues, de una familia de taxonomía controvertida. Tan es así, que Levine (1985) modificó su clasificación de 1980, creando un nuevo orden (Cochlosomatorida) en el que sitúa a esta familia. Sin embargo, algunos autores siguen incluyendo estos organismos en el orden Retortamonadida (Watkins y col., 1989).

Esta familia comprende flagelados citados en aves, murciélagos y musarañas, pertenecientes a un único género: *Cochlosoma* Kotlan, 1923.

Género *Cochlosoma* Kotlan, 1923

Es el único género válido incluido en la familia Cochlosomidae. Aparecen como sinónimos, *Cyathosoma* y *Ptychostoma*, descritos en 1930 por Tyzzer. Se han citado varias especies, todas ellas en aves salvo *C. pipireli* Carini, 1939, hallada en murciélagos, y *Cochlosoma soricis* Watkins, O'Dell y Pinter, 1989, encontrada en musarañas. Los caracteres distintivos son la especie de hospedador, las medidas del cuerpo y del disco adhesivo, y la presencia o ausencia de orgánulos citoplasmáticos. El valor taxonómico de alguno de estos rasgos es algo dudoso, por lo que se considera que muchas especies podrían ser en realidad sinónimos.

Especies citadas en aves:

- ***Cochlosoma anatis*** Kotlan, 1923

Sinónimo: *C. rostratum*.

Se localiza en la cloaca e intestino de varias especies de patos, tanto domésticos como salvajes (Bollinger y Barker, 1996). También se ha observado en gansos (Pecka, 1991b), pinzones (Filippich y O'Donoghue, 1997), pollos, robínes americanos y pavos (Lindsay y col., 1999). Hasta ahora es en estos últimos donde algunos autores le asignaban un papel potencialmente patógeno (Levine, 1985; Cooper y col., 1995; Bollinger y

Barker, 1996). La morfología de esta especie es la típica del género. Mide 6-12 x 4-7 μm . El disco ocupa un tercio de la mitad de la longitud del cuerpo. Presentan un movimiento errático, rotando según su eje anteroposterior aunque no de forma tan exagerada como en el caso de *Giardia*. El cuerpo parabasal es alargado. Watkins y col. (1989) redescubren esta especie y en base a ello, el género. Estudios de microscopía electrónica de barrido, revelan que uno de los seis flagelos emerge de la superficie dorsal de la célula. Dada su posición, podría ser que el cuerpo basal se encontrara en la misma posición que los de los cuatro flagelos ventrolaterales, lo que explicaría el complejo blefaroplástico descrito por Kimura (1934). Además, sostienen que al contrario de lo que Kimura (1934) y Travis (1937) mantenían, es el disco adhesivo, y no el axostilo, el responsable del anclaje al epitelio intestinal del hospedador.

Además de *C. anatis* existen citadas otras cuatro especies pertenecientes a este género, aunque todas ellas vagamente descritas. Las dos primeras se consideran especies distintas en base al tamaño del cuerpo celular y ausencia/presencia de gránulos citoplasmáticos.

- ***Cochlosoma picae*** Travis, 1938, aislada en urracas americanas (*Pica pica hudsonia*).
- ***Cochlosoma turdi*** Travis, 1938, descrita en el robín americano (*Turdus migratorius*).
- ***Cochlosoma scolopacis*** Erhardová y Rysavý, 1952. Descrita en chocha perdiz o becada (*Scolopax rusticola*).
- ***Cochlosoma striatum*** Tyzzer, 1920. Descrita en perdiz blanca (*Bonasa umbellus*).

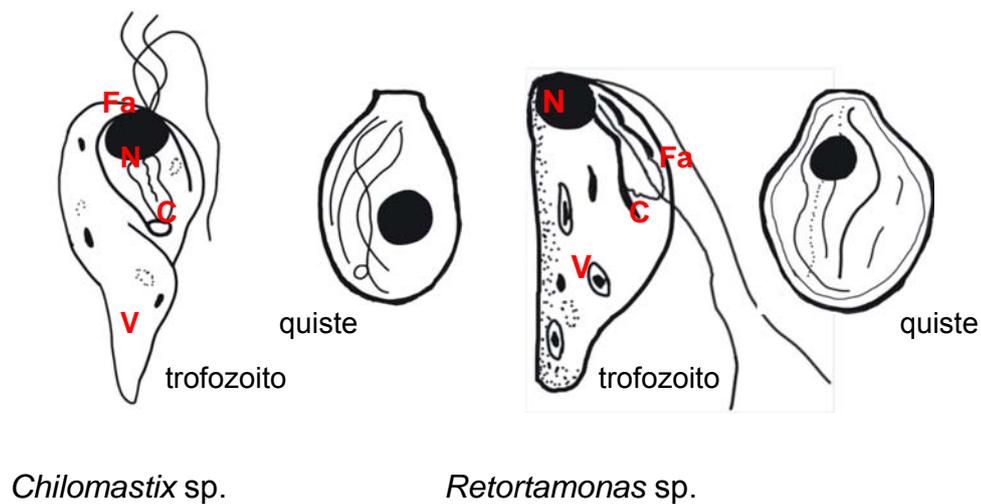
No hay especies citadas en el hombre.

2.2.3.4. Familia Retortamonadidae

Los miembros de esta familia son flagelados uninucleados con un citostoma visible situado ventralmente en la parte anterior de la célula. Poseen de dos a cuatro flagelos, siendo uno de ellos recurrente y asociado al citostoma. Todas las especies son parásitas.

Figura 2.22: Esquemas tipo del trofozoito (T) y quiste (Q) de los géneros de la familia Retortamonadidae.

N: núcleo; C: citostoma; Fa: flagelo anterior; V: vacuolas digestivas.



El ciclo de vida de estos parásitos comprende dos estados: trofozoito y quiste. El primero de ellos es la forma activa, dividiéndose en el intestino de su hospedador mediante fisión binaria. La forma del cuerpo celular es piriforme, redondeado en su extremo anterior, alargado en el posterior y aplanado dorsoventralmente. Los cinetosomas, el núcleo y el citostoma se encuentran en la parte anterior de la célula. El citostoma se encuentra formado por un surco soportado por estructuras fibrilares que incluyen microtúbulos, fibras estriadas y filamentos. A lo largo de este surco se encuentra la citofaringe, a través de la cual el movimiento del flagelo recurrente crea una corriente que favorece la entrada de partículas alimenticias. La forma y dimensiones del citostoma, así como el tipo y distribución de las fibras asociadas permite distinguir los diferentes géneros y

especies. Los cinetosomas o cuerpos basales, en número de cuatro, se encuentran agrupados en dos pares con disposición ortogonal (figura 2.22). En el citoplasma aparecen numerosas vacuolas alimenticias y gránulos de reserva de polisacáridos. En la periferia del núcleo se encuentran vesículas del retículo endoplásmico rugoso.

El quiste es la forma de resistencia y transmisión. En ambos géneros tienen aspecto piriforme, de limón u oval. En muestras frescas presentan cierta coloración amarillenta. Externa a la membrana plasmática aparece una pared quística compuesta de material filamentoso. No aparece ningún poro u opérculo. En el interior se conservan todos los orgánulos citoplasmáticos: axonemas flagelares, cinetosomas, fibras citostomales etc. (Levine, 1985).

Posición taxonómica

La familia Retortamonadidae es la única actualmente reconocida dentro del orden Retortamonadida. Sin embargo, Grassé (1952) incluyó en este orden a la familia Cochlosomidae. Como se ha indicado anteriormente, se considera en la actualidad que los flagelados coclosómidos no están relacionados con este grupo, ya que carecen de citostoma y poseen axostilo y cuerpo parabasal, estructuras ausentes en los retortamonádidos (Kulda y Nohýnková, 1978).

Dentro de esta familia se incluyen dos géneros, *Retortamonas* y *Chilomastix*. Según el esquema introducido por Blochman en 1885, en el cual los flagelados eran agrupados según el número de flagelos, el género *Retortamonas* era encuadrado en el orden Protomonadida junto con el resto de organismos biflagelados, mientras que *Chilomastix*, con cuatro, se encontraba incluido en el orden Polymastigida. Kudo (1966) dispone cada género en una familia distinta dentro de un orden diferente: *Retortamonas* en la familia Retortamonadidae Wenrich, 1932, orden Protomonadida; y *Chilomastix* en la familia Chilomastigidae Wenyon, 1926, orden Polymastigida.

Las relaciones entre *Chilomastix* y *Retortamonas* fueron reconocidas en 1912 por Alexeieff, en 1912 por Mackinnon, en 1915 por Wenrich, en 1932 por Kirby y en 1950 por Honigberg y confirmadas por estudios de ultraestructura por en 1973 & 1977 por Brugerolle. En 1917, Alexeieff unifica los dos géneros en una única familia a la que le da el nombre de Embadomonadidae. Más tarde, en 1932, Wenrich propone el nombre de Retortamonadidae, pero no es hasta 1952 cuando se acepta por el Comité Taxonómico de Protozoólogos la unificación de los dos géneros en una única familia. En ese mismo año, Grassé propone algunos órdenes nuevos, entre el que se encuentra Retortamonadida donde incluye *Chilomastix* y *Retortamonas* (Kulda y Nohýnková, 1978).

Género *Retortamonas* Grassi, 1879

Presenta cuatro cinetosomas, pero sólo dos flagelos, uno anterior y el otro recurrente asociado al citostoma. Éste es oval, y se encuentra delimitado por dos fibras de desigual longitud. La más larga se dispone en el lado derecho del citostoma, la más corta en el izquierdo. Especies de este género se han citado en el hombre, otros mamíferos, anfibios, reptiles y varios insectos (Kulda y Nohýnková, 1978).

No se ha citado en aves.

Especies citadas en el hombre:

- ***Retortamonas intestinalis*** (Wenyon y O'Connor, 1917) Wenrich, 1932
Sinónimos: *Embadomonas intestinalis*, *Waskia intestinalis*.

Se encuentra en el ciego del hombre, aunque no es común, y en los monos. No es patógeno. Los trofozoítos miden 4-9 x 3-4µm. Los quistes son uninucleados, piriformes, de 4.5-7 x 3-4.5 µm y con una pared gruesa.

Género *Chilomastix* Alexeieff, 1912

Las células poseen tres flagelos anteriores y uno recurrente asociado y confinado al citostoma. El área citostomal forma una larga hendidura soportada por dos fibras; una de ellas se encuentra asociada a la apertura derecha del citostoma y lo recorre en toda su longitud hasta curvarse en el extremo posterior, mientras que la segunda fibra, situada a la izquierda, es recta y más corta, recorriendo el citostoma hasta la parte final de la curvatura de la primera fibra. El núcleo se encuentra en la parte anterior, encontrándose asociado (en preparaciones teñidas) a varias placas basófilas.

Al microscopio electrónico se observan los cinetosomas agrupados en dos pares con disposición ortogonal e interconectados por filamentos. El flagelo recurrente tiene dos expansiones a modo de “aletas”. La fibra citostomal izquierda está formada por microtúbulos englobados en material filamentoso osmófilo. Una banda microtúbular similar se encuentra en la parte anterior del labio citostomal derecho, en el que también se observa una lámina paracristalina estriada. Esta banda es similar a la placa marginal que se encuentra en la pestaña contráctil ventrolateral de *Giardia*. Los componentes microtúbulares de los labios citostomales se extienden hasta el complejo cinetosomal. Un arco de material filamentoso conecta los labios citostomales cerca del extremo anterior del citostoma. Las fibrillas citostomales están conectadas con los microtúbulos subpeliculares (Kulda y Nohýnková, 1978).

Se han citado especies pertenecientes a este género en todas las clases de vertebrados y en unos pocos invertebrados (termitas y sanguijuelas). Los rasgos que las diferencian son el tamaño del cuerpo celular, el tamaño y forma del citostoma, la posición del núcleo y la longitud de los flagelos anteriores. La estructura del núcleo y el tamaño de los cuerpos basales han sido también usados como caracteres específicos por varios autores.

Especies citadas en aves:

- ***Chilomastix gallinarum*** Martin y Robertson, 1911

Sinónimos: *Tetrachilomastix gallinarum*.

Chilomastix gallinarum recibe el nombre en 1911, aunque fue en 1909 cuando Martin y Robertson describen este organismo mencionando la presencia de cuatro flagelos anteriores. Fonseca, en 1916, crea el subgénero *Tetrachilomastix*. Cuatro años más tarde eleva este rango taxonómico a la categoría de género y demuestra la existencia de un quinto flagelo recurrente asociado al citostoma. Sin embargo, cuando se comprobó que el flagelo citostomal de esta especie presentaba en numerosas ocasiones una inusual posición, fuera del citostoma, y en 1921 cuando Tyzzer, Fabyan y Foot y también en 1926 Boeck y Tanabe demostraron la existencia de tres flagelos anteriores únicos, el género dado por Fonseca se convirtió en un sinónimo de *Chilomastix*. En 1917, Sangiorgi emplazó en este género a *Tetrachilomastix intestinalis*, con cuatro flagelos anteriores, que observó en heces humanas aunque no hay evidencias de que no se tratase de *Trichomonas* (Wenyon, 1926).

Chilomastix gallinarum se encuentra en el tracto intestinal tanto de aves domésticas como salvajes (Honigberg, 1978; Friedhoff y col., 1990). Esta especie es considerada no patógena, aunque en ocasiones se ha asociado a cuadros diarreicos en varias especies de aves (Davis y col., 1964; Friedhoff y col., 1990).

Los trofozoítos tienen forma de pera, puntiagudos en su extremo posterior y anchos y redondeados en el anterior. El citostoma se localiza en la parte anteroventral, extendiéndose hasta la mitad o hasta los dos tercios de la longitud total del cuerpo, con una apariencia típica en forma de 8. Una característica que ayuda al diagnóstico de este organismo es la localización del núcleo, de 2-3 μm , ya que se encuentra pegado a la parte anterior de la célula, en posición dorsal y a la izquierda del citostoma. El rango de longitud

de este protozoo varía dependiendo del fijador utilizado. Con Petrunkevich la longitud es de 19,3-11,9 μm con una media de 15 μm y una variación en anchura de 11,9-5,1 μm (media 7 μm). Si se utiliza Schaudinn la longitud disminuye a 13,5 x 6 μm . En las muestras teñidas se observa de manera clara el flagelo citostomal. El citoplasma es muy vacuolado y es bastante frecuente la presencia de bacterias en el interior de estas vacuolas o dispersas en el citoplasma. Los tres flagelos anteriores miden 4-6 μm (McDowell, 1953).

Los quistes miden 8 μm de largo por 5,9 μm de ancho y presentan un único núcleo de 2 μm . La pared quística es de gran grosor. Aunque Martin y Robertson (1911) describen un área diferencial en la parte anterior, McDowell (1953) descarta la presencia de dicha característica. En general tienen forma de huevo con una constricción en la parte anterior. Como es típico del género, los orgánulos permanecen intactos en el interior con lo que es posible observar las fibras citostomales o los cinetosomas de los flagelos. El núcleo tiende a permanecer en la parte anterior del quiste aunque en ocasiones es posible su visualización en la parte media.

Especies citadas en el hombre:

- ***Chilomastix mesnili*** (Wenyon, 1910) Alexeieff, 1912

Sinónimos: *Chilomastix hominis*, *Macrostoma mesnili*, *Chilomastix suis*.

Se trata de un organismo no patógeno, muy común en algunas zonas en el ciego del hombre, cerdo y varias especies de primates y monos. Los trofozoitos, de 6-24 x 3-10 μm , son piriformes asimétricos, con una ranura espiral que atraviesa por la mitad del cuerpo. El citostoma es de 6-8 μm de largo y de 2 μm de ancho. Un complejo de 6 minúsculos gránulos basales se coloca anteriormente al núcleo; de ellos salen 3 flagelos anteriores (dos relativamente cortos y uno largo), el flagelo citostomal y las fibrillas citostomales. Los quistes tienen forma de limón, miden 6-10 μm de largo y contienen un único núcleo y las fibrillas del trofozoito.

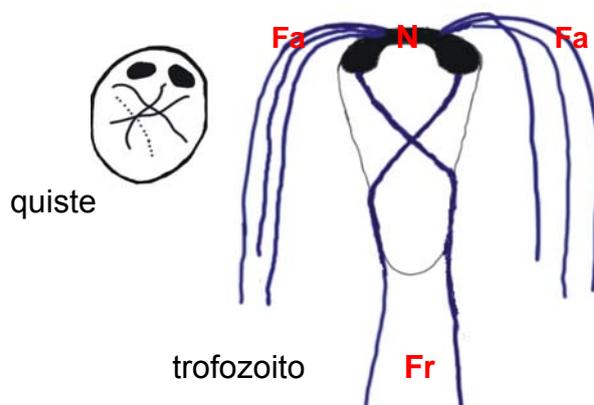
2.2.3.5. Familia Hexamitidae

Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer simetría axial, con dos núcleos, ocho flagelos y un juego doble de orgánulos accesorios. En el ciclo biológico aparecen dos estados: trofozoito y quiste.

Los trofozoitos son ovals, piriformes u ovoides. Poseen dos núcleos situados en la parte anterior y los dos juegos de orgánulos que los acompañan se encuentran localizados según un eje de simetría axial. Tienen ocho flagelos que se originan a partir de dos complejos cinetosomales opuestos y que van a presentar, generalmente, la misma distribución: seis son anteriores y los dos restantes dirigidos hacia atrás a través del cuerpo y saliendo por su parte posterior dejando una porción de flagelo libre. En su recorrido, estos flagelos recurrentes están acompañados por orgánulos accesorios de estructura compleja que incluye siempre una banda microtúbular (el funículo), una varilla fibrilar estriada modificada e invaginaciones tubulares de la membrana celular (figura 2.23). La diferencia en la estructura de estos orgánulos tiene carácter taxonómico.

Figura 2.23: Esquema general de hexamítido (*Spironucleus* sp.).

N: núcleos; Fa: flagelos anteriores; Fr: flagelos recurrentes.



Los cinetosomas o cuerpos basales se encuentran situados generalmente en una depresión cóncava de la membrana nuclear, cerca del polo anterior de los núcleos. La única excepción se encuentra en el género *Giardia*, en el que se sitúan en la línea media de los núcleos. En todos los casos, cada uno de los núcleos lleva asociado cuatro cinetosomas interconectados por filamentos y agrupados en dos pares. Del par anterior surgen los flagelos anteriores y del par posterior el tercer par de flagelos anteriores y los flagelos recurrentes cruzados.

Los citostomas son característicos de la subfamilia Hexamitinae. En los géneros *Hexamita* y *Spironucleus*, están formados por invaginaciones tubulares de la membrana citoplasmática que se dispone rodeando el flagelo recurrente. Se abren en el extremo posterior del cuerpo y se extienden anteriormente hacia la región nuclear. Cada tubo citostómico está rodeado de una lámina estriada en forma de U (fibras radiculares modificadas) y acompañado por bandas microtubulares del funículo. La endocitosis se produce en la parte apical del tubo citostómico que reviste la cara abierta de la lámina estriada en forma de U.

En el citoplasma se encuentran numerosas vacuolas digestivas. No hay aparato de Golgi, pero son abundantes las cisternas del retículo endoplásmico rugoso.

Los quistes son ovales, rodeados de una pared compuesta por finas capas de filamentos externos a la membrana celular y sin opérculos o poros. Todos los géneros de esta familia forman quistes. Los quistes maduros tienen, probablemente en todos los géneros, cuatro núcleos. Aunque el quiste más estudiado es sin duda el de *Giardia*, se ha visto que el interior de los formados por las especies de *Spironucleus* y *Hexamita* contiene la porción intracitoplasmática de los flagelos, los núcleos y gránulos polisacáridicos de reserva, probablemente constituidos por glucógeno (Kreier y col., 1995).

Posición taxonómica

La taxonomía y nomenclatura de esta familia siempre ha sido confusa, por lo que algunos autores propusieron usar un único nombre genérico para todos los flagelados del grupo excepto *Giardia* (Kulda y Nohýnková, 1978). Sin embargo, esta idea no fue aceptada por lo que se continuó dando un nombre diferente a cada miembro encontrado y encuadrado en esta familia.

Fue Lavier, en 1936, el primero en distinguir los géneros *Hexamita*, *Spironucleus* y *Octomitus*. Aunque sus descripciones fueron vagas, y algunas de ellas confusas, su esquema fue plenamente confirmado en investigaciones posteriores. Brugerolle, en 1975, propone la separación de la familia Hexamitidae en dos subfamilias en base a su ultraestructura y forma de alimentación. Así, define la subfamilia Hexamitinae Kent, 1980, que incluiría los géneros *Hexamita*, *Spironucleus*, *Trepomonas* y *Trigomonas*, y la subfamilia *Giardiinae* Kulda y Nohýnková, 1978, con los géneros *Giardia* y *Octomitus* (Kulda y Nohýnková, 1978).

SUBFAMILIA HEXAMITINAE

Los organismos pertenecientes a esta subfamilia se caracterizan por poseer dos citostomas que se acompañan de una banda microtubular de funículos y una varilla fibrilar laminar y estriada. Los flagelos recurrentes se encuentran limitados por la membrana celular y atraviesan cada citostoma para salir por la parte posterior. La endocitosis tiene lugar en la parte apical del citostoma. Comprende géneros de vida libre (*Trepomonas* y *Trigomonas*) y parásitos (*Hexamita* y *Spironucleus*). Existe una cierta confusión sobre la validez del género *Hexamita*, ya que para algunos sería un sinónimo de *Spironucleus*, mientras que para otros puede tener entidad propia, aunque las especies descritas en aves en la bibliografía son en realidad sinónimos de especies de *Spironucleus*.

Género *Spiroucleus* Lavier, 1936

La morfología al microscopio óptico fue estudiada en 1964 por Kulda y Lom. Los trofozoitos de este género poseen un cuerpo alargado que va disminuyendo en grosor hacia la parte posterior. Los dos núcleos están próximos y adyacentes, por lo que adquieren forma de herradura fácilmente visible en la parte anterior de la célula. Posee dos citostomas relativamente reducidos que recorren el cuerpo longitudinalmente cercanos a la superficie celular. Los flagelos recurrentes acompañan al citostoma y salen por la apertura de estos en la parte lateroposterior de la célula, continuando en una porción rastrera y larga. Son exclusivamente parásitos y la mayoría son patógenos o potencialmente patógenos. Las especies se pueden diferenciar por la forma y tamaño del cuerpo, núcleo, fibras supranucleares, apariencia del citostoma y posición de su apertura.

Especies citadas en aves:

- ***Spiroucleus meleagridis*** McNeil, Hinshaw y Kofoid, 1941

Sinónimos: *Hexamitus meleagridis*, *Hexamita meleagridis*, *Octomitus kotlani*.

Se trata de una especie de distribución cosmopolita que puede afectar a aves de cría doméstica (pavos, pollos, codornices, etc.), en ocasiones causando una enteritis catarral. En las aves enfermas hay flagelados en el intestino delgado, principalmente el duodeno, mientras que en las aves portadoras se localizan en ciego y bolsa de Fabricio.

En preparaciones en fresco es relativamente fácil de diferenciar de *Trichomonas*, *Giardia* y *Cochlosoma* por su pequeño tamaño, ausencia de membrana ondulante y disco adhesivo y por poseer mayor y más rápido desplazamiento.

El trofozoito tiene un cuerpo alargado que se estrecha en el extremo posterior. El tamaño oscila entre 6-12 x 2-5 μm (media 9x3 μm). Los dos núcleos son pequeños y se sitúan en el extremo anterior de la célula,

ensanchándose hacia la parte posterior formando un lóbulo donde se puede apreciar dos endosomas redondos de gran tamaño que van a ocupar dos tercios del núcleo. En la parte anterior de los núcleos se localizan un grupo de gránulos basales de los que surgen dos flagelos anteriores y sólo uno anterolateral. Justo por debajo de ellos, hay otro gránulo basal del que surge un flagelo caudal. Este flagelo recorre la longitud del cuerpo a través de una línea granular del citoplasma, emergiendo por la apertura del citostoma en el extremo cuerpo.

- ***Spironucleus columbae*** Nöller y Buttgereit, 1923

Sinónimos: *Hexamita columbae*, *Octomitus columbae*.

Se trata de una especie patógena de distribución cosmopolita, que causa enteritis catarral en individuos jóvenes de paloma. En las aves enfermas, se pueden encontrar flagelados desde el duodeno hasta el recto (Gutiérrez Galindo, 1999).

El trofozoito presenta un cuerpo alargado de 5-9 x 2-7 μm . Los núcleos son relativamente pequeños, extendiéndose a un quinto de la longitud del cuerpo. El endosoma no es visible. Las fibras supranucleares se extienden por encima del núcleo y sus extremos distales no son dilatados. A diferencia de otras especies del género, los cinetosomas están relativamente distantes unos de otros. El citostoma se abre en el quinto posterior del cuerpo (Levine, 1985). Se considera una especie diferente de *Spironucleus meleagridis* porque además de ser morfológicamente diferentes, los intentos realizados en 1941 por Mc Neil y col., de infectar pollos de pavos con *S. columbae* fracasaron, mientras que el grupo control de la misma edad fue susceptible a la infección por *S. meleagridis*.

No hay especies citadas en el hombre.

SUBFAMILIA GIARDIINAE

En los organismos pertenecientes a esta subfamilia los citostomas están ausentes. La endocitosis tiene lugar en cualquier punto de la membrana celular que se encuentre libre de componentes fibrilares. Los flagelos poseen porciones intracitoplasmáticas de axonemas desnudos que atraviesan la vaina de la membrana celular. Hay dos géneros, ambos parásitos: *Octomitus* y *Giardia*.

Género *Octomitus* Prowazek, 1904

Los organismos pertenecientes a este género tienen el cuerpo ancho y ovalado. Posee dos núcleos de forma arriñonada colindantes por su extremo anterior y localizados en el ápice de la célula. El endosoma, de gran tamaño y esférico, se sitúa en el lóbulo posterior de cada núcleo. Existe una columna axial que se proyecta por la parte posterior del cuerpo constituida por las estructuras que acompañan al axonema de los flagelos recurrentes, los cuales abandonan esta columna extendiéndose hacia el exterior de la célula.

Especies citadas en aves:

- *Octomitus avium* daCunha y Muniz, 1922
- *Octomitus acuminatus* daCunha y Muniz, 1925
- *Octomitus elongatus* daCunha y Muniz, 1925.

Las tres fueron descritas a partir de aislados de aves brasileñas, pero las descripciones son un poco confusas, y la tendencia general es la de considerarlas como posibles sinónimos de *Giardia* en tanto no se pueda confirmar su validez (Kulda y Nohýnková, 1978).

No hay especies citadas en el hombre.

Género *Giardia* Kunstler, 1882.

Se diferencian del resto de los diplomonádidos por la presencia de un disco adhesivo, órgano de fijación situado en la superficie ventral del cuerpo.

Los trofozoitos son redondeados en su extremo anterior y puntiagudos en el posterior, planos ventralmente y convexos dorsalmente. La mayor parte de la superficie ventral se encuentra modificada por el disco adhesivo que va a formar en esta cara de la célula una cámara cóncava. El margen posterior del disco se encuentra interrumpido por una profunda escisión formada por un surco poco profundo, en forma de cuña denominado surco ventrocaudal, que va a dividir la célula en dos porciones simétricas. Posee dos núcleos ovales, cada uno de ellos con un gran cariosoma Feulgen+, situados en la parte dorsal de la célula relativamente distantes entre sí y al extremo anterior del cuerpo. Los flagelos se originan en el complejo cinetosomal situado en la línea media de los núcleos. De los ocho flagelos, dos emergen ventralmente localizándose en el surco ventrocaudal, dos son anteriores, dos posteriores y dos caudales. Otra característica de este género son los cuerpos medios, situados en la parte dorsal de la célula y en el extremo posterior del disco adhesivo. Se tiñen intensamente con hematoxilina y su forma, así como su disposición, han sido considerados con carácter taxonómico, aunque su validez en este sentido es ahora discutida (Filice, 1952).

Los quistes son ovales, de 8-12 x 7-10 μm . El citoplasma es finamente granular y se observa claramente separado de la cubierta quística. Las formas inmaduras tienen dos núcleos. Cuando el quiste madura presenta cuatro núcleos situados en uno de los extremos y acompañados de estructuras dobles: varillas fibrilares correspondientes a los axonemas y fragmentos del disco adhesivo (Feely, 1988; Kreier, 1995).

Posición taxonómica

Existe un acuerdo general en aceptar que fue Leeuwenhoek, en 1681, el primero que observó este parásito en sus propias heces, aunque la primera descripción fue dada por Lambl en 1859, que describió la especie *Cercomonas intestinalis*. El género *Giardia* fue propuesto por Kunstler en 1882, a partir de protozoos encontrados en el intestino de renacuajos. Seis años más tarde, en 1888, Blanchard sugirió que el nombre genérico debería ser *Lambliia*, en honor a Lambl. Después, en 1921, Reuling y Rodenwatt propusieron que *Giardia* fuera usado para las especies encontradas en mamíferos y *Lambliia* para las especies de renacuajos. Sin embargo, la mayoría de los investigadores apoyaron la propuesta de Alexeieff, que en 1914 sugirió que *Lambliia* y *Giardia* fueran sinónimos, aceptando *Giardia* como el nombre genérico correcto. A pesar de todo, algunos investigadores de la antigua Unión Soviética y de Europa del Este siguen refiriéndose a *Giardia* como *Lambliia* (Thompson y col., 1990).

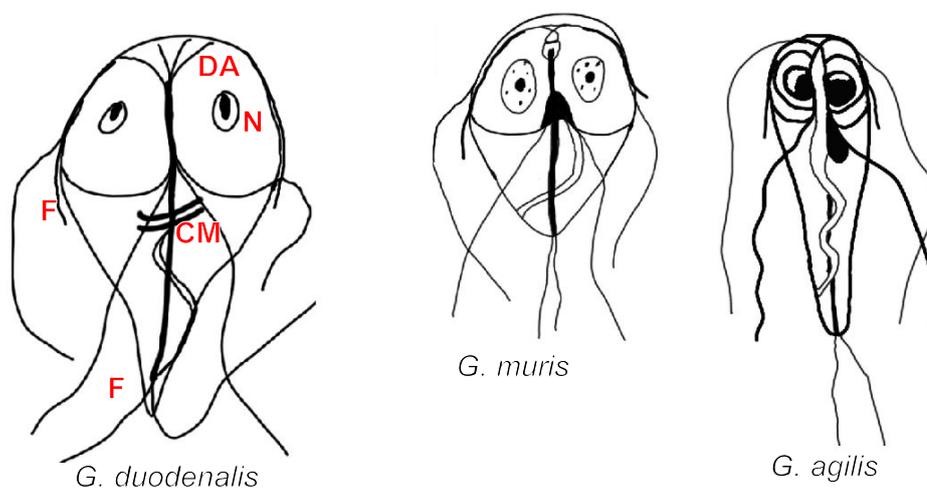
Han sido descritas más de 50 especies, la mayoría basadas en el hospedador y, en algunos casos, en características morfológicas. El número tan elevado de especies es debido a que la taxonomía de *Giardia* ha estado dominada por la creencia de que se trataba de un organismo muy rígido en la especificidad del hospedador. Así, numerosos autores (Upcroft y col., 1998; Van Keulen y col., 1998), aunque reconocían que las diferencias en las dimensiones de los trofozoítos y los quistes eran mínimas, propusieron más de 20 especies encontradas en mamíferos basándose únicamente en la especificidad del hospedador (Kulda y Nohýnková, 1978). Hoy en día, la mayoría de los autores consideran este concepto obsoleto y abogan por la existencia de un número limitado de especies (Thompson y col., 1990). Aunque los experimentos de transmisión cruzada entre diferentes especies, han sido a menudo criticados, la mayoría de los investigadores están de acuerdo en que algunas formas de *Giardia* son capaces de desarrollarse en más de una especie de mamífero (Grant y Woo, 1978; Meyer y Radulescu, 1979; Bemrick, 1984; Meyer, 1985; Kirkpatrick, 1987; Meloni y col., 1988, 1989; Thompson, 1998). Los estudios epidemiológicos de los últimos años también parecen indicar que en el caso de la giardiasis humana podría haber una transmisión a través de otras especies animales (Thompson y col., 1990).

Filice, en 1952, establece que las especies descritas dentro del género *Giardia* podrían ser encuadradas en tres grupos según la forma y posición de los cuerpos medios y a la forma y longitud del cuerpo (figura 2.24). Filice acepta que en esos tres grupos podría haber organismos morfológicamente similares que presentaran características fisiológicas diferentes, por lo que serían necesarios estudios más refinados para esclarecer la clasificación taxonómica. Algunos autores (Kulda y Nohýnková, 1978) critican esta división por ser demasiado extremista e incorrecta, pero aunque no reconocen la existencia de sólo tres especies dentro del género, se aceptaba la existencia de los grupos descritos (los grupos se identifican por la morfología de los trofozoitos, ya que en todos los casos los quistes son prácticamente idénticos):

- Grupo ***Giardia agilis***: presentan los cuerpos medios fusionados en una varilla en forma de mazo, situada en el tercio anterior del cuerpo, más o menos paralela al eje longitudinal del disco adhesivo. Los trofozoitos son estrechos (4-5 μm) y alargados (20-30 μm). Este grupo contiene los parásitos de anfibios. Viven en el intestino de los renacuajos y generalmente desaparecen tras su metamorfosis.
- Grupo ***Giardia muris***: los trofozoitos de este grupo presentan dos cuerpos medios pequeños y redondeados situados centralmente y paralelos al eje longitudinal del cuerpo. El cuerpo es relativamente corto (9-12 μm) y ancho (5-7 μm). El disco adhesivo ocupa más de la mitad del cuerpo. Contiene especies de roedores.
- Grupo ***Giardia duodenalis***: los cuerpos medios se sitúan aproximadamente en la mitad del cuerpo y adquieren forma de garra. El cuerpo es redondeado en su parte anterior y puntiagudo en la posterior y mide 12-15 μm de largo por 6-8 μm de ancho. El margen del cuerpo es piriforme en vista ventral. El disco adhesivo ocupa menos que la mitad del cuerpo. Contiene especies del hombre y otros mamíferos. Los quistes contienen un único trofozoito con 4 núcleos y carecen de disco ventral.

Figura 2.24: Esquemas de varios tipos morfológicos del genero *Giardia*.

N: núcleos; CM: cuerpos medios; DA: disco adhesivo; F: flagelos



Hay numerosas citas de *Giardia* en aves. En algunos casos, las formas encontradas podrían encuadrarse en alguno de los grupos morfológicos antes citados, aunque la mayoría no han sido formalmente adscritas a ninguno de ellos. Sin embargo, alguna de las especies de *Giardia* encontradas en aves podrían formar un grupo independiente (Erlandsen y Bemrick, 1987). En 1990, Thompson y col. recogen el encuadre de las especies de *Giardia* citadas en aves, dentro de los tres grupos morfológicos definidos por Filice. Debido a la posible transmisión a los seres humanos, las especies mejor estudiadas son las que se han incluido en el grupo morfológico de *G. duodenalis*. Así, se han propuesto otros dos grupos morfológicos (Thompson y Monis, 2004): el de *G. ardeae*, caracterizada por la existencia de un único flagelo caudal; y el de *G. psittaci*, que aunque en un principio fue descrita como una raza de *G. duodenalis* (Box, 1981), las características ultraestructurales del disco adhesivo permiten considerarla como grupo morfológico distinto (Erlandsen y Bemrick, 1987). La existencia de dos grupos distintos dentro de las especies que infectan aves no es compartida por todos los autores; así, p.e., Erlandsen y Bemrick (1987) consideran que la única especie de aves válida es *G. psittaci*, y que todas las demás son sinónimos de *G. ardeae* que a su vez es un sinónimo de *G. duodenalis*.

En la actualidad, a estos cuatro o cinco grupos (dependiendo de cómo consideren los distintos autores a las especies de aves) hay que sumar uno más, el de *G. microti*, caracterizado por la presencia de dos trofozoitos en el quiste maduro. Así, completando el esquema de Filice, habría tres grupos más:

- Grupo ***Giardia ardeae***: los cuerpos medios pueden ser de formas pequeñas redondeadas, situados en el centro del cuerpo, o en forma de garra y localizados en paralelo a un eje longitudinal. La forma del trofozoito es piriforme, con un tamaño medio de 10x6.5 µm. El disco ventrolateral es de una longitud de menos de la mitad del cuerpo, con una gran depresión en el extremo posterior. Sólo tiene un único flagelo caudal desarrollado.
- Grupo ***Giardia psittaci***: los cuerpos medios son en forma de garra, localizados transversalmente en el cuerpo. La forma del trofozoito es piriforme, de 14x6 µm. El disco ventrolateral es de una longitud de menos de la mitad del cuerpo, y presenta un reborde ventrolateral incompleto en el extremo posterior. Los flagelos caudales son completos y los núcleos son de forma ovalada.
- Grupo ***Giardia microti***: esta especie ha sido descrita por las peculiaridades del quiste, que contiene dos trofozoitos (Erlandsen y col., 1990); los análisis genéticos confirman que se trata de una especie distinta de las demás del género. Por el momento sólo se ha descrito una especie en este grupo en ratas almizcleras y topillos.

Especies citadas en aves:

- ***Giardia psittaci*** Erlandsen y Bemrich, 1987

Sinónimo: *Giardia duodeinalis* raza *psittaci*, *Giardia intestinalis* Kulda y Nohýnková 1995 *in parte*.

Se ha descrito en el intestino delgado de periquitos (Box, 1981) y de cacatúas (Upcroft y col., 1996). Se considera como especie independiente

basándose en características ultraestructurales del disco adhesivo (Erlandsen y Bemrick, 1987). Los cuerpos medios tienen forma de garra y están dispuestos transversalmente al cuerpo. La forma del trofozoito es piriforme. La longitud del disco succionario es menor a la mitad del cuerpo, y presenta un reborde incompleto que no rodea la zona anterolateral del disco, característica ésta que identifica a la especie (Upcroft y col., 1996). Los flagelos caudales son completos y los núcleos son ovalados. Presenta una patología de enteritis severa y la mortalidad es alta en los polluelos de periquitos (Levine 1985).

-***Giardia ardeae*** Erlandsen y col., 1990

Sinonimos: *Giardia sp.*

La especie se ha descrito en el intestino pequeño de la garza ceniza (*Ardea herodias*), y se ha encontrado también en otras aves del orden Ciconiiformes (Lymbery y Tibayrence, 1994; Kulda y Nohýnková, 1996). Posee cuerpos medios pequeños y redondeados, situados en el centro del cuerpo. La forma del trofozoito es piriforme, con un tamaño medio de 10x6,5 µm. El disco succionario es de una longitud de menos de la mitad del cuerpo, con una gran depresión en el extremo posterior. Sólo tiene un único flagelo caudal desarrollado.

- ***Giardia sp.***

Sinonimos: *Giardia muris* Filice, 1952 *in parte*.

Se han encontrado trofozoitos o quistes de *Giardia* sin identificar en aves de varios órdenes (Charadriiformes, Paseriformes y Piciformes). En algunos casos, se trató de identificaciones incompletas que, posteriormente, mediante la aplicación de otras técnicas (microscopía electrónica, biología molecular) permitieron la denuncia de nuevas especies. En otros casos, los autores no se han atrevido a hacer una identificación específica. El tamaño de los trofozoitos está dentro del rango de las especies válidas, y los caracteres morfológicos son, en algunos casos, compatibles con *G. ardeae*

(Forshaw y col., 1992), aunque a veces los resultados genéticos muestran que el aislado en estudio es una especie (o cepa, o variante) distinta (McRoberts y col., 1996).

Especies citadas en el hombre:

- ***Giardia duodenalis*** (Lambl, 1859) Davaine, 1875

Sinónimos: *Cercomonas intestinalis*, *Giardia enterica*, *G. intestinalis*, *G. lamblia*, *Lamblia intestinalis*, *Megastoma entericum*.

Los trofozoitos miden de 9-21 μm de longitud (normalmente 12-15 μm) y 5-15 μm de anchura, con un grosor de 2-4 μm . Los cuerpos medios son barras curvadas del tipo *duodenalis*. Los quistes son de 8-12 x 7-10 μm . Es un protozoo de distribución mundial, causante de cuadros diarreicos agudos en algunos individuos (Erlandsen y col., 1991) mientras que en otros las infecciones pueden ser a sintomáticas, y en otros casos la infección cursa como una diarrea crónica.

El nombre de esta especie ha sido y es objeto de confusión. Observado por vez primera por Leeuwenhoek en 1681, en sus propias heces, fue nombrado por Lambl en 1859 como *Cercomonas intestinalis*. Sin embargo, este nombre (de género y especie) estaba ocupado por la especie *Bodo intestinalis*, que fue transferida al género *Cercomonas* por Dujardin y Diesing en 1850; por tanto, los nombres genérico y de especie dados por Lambl son homonimias. En 1875, Davaine describió en conejos la especie *Hexamita duodenalis*, aunque las características morfológicas no correspondían con las del género *Hexamita*. Kunstler, en 1882, describió la especie *Giardia agilis*, estableciendo entonces el nombre válido del género, al que se transfirió la especie *Giardia* (=Hexamita) *duodenalis*. Al tratarse la descripción inicial de Lambl de una homonimia, el nombre *intestinalis* no es válido, y la primera denominación correcta es la de *duodenalis* de Davaine, por lo que este nombre tiene preferencia y por tanto la especie debe designarse como *Giardia duodenalis*. También en 1882, pero con

posterioridad a la propuesta de Kunstler, Blanchard mostró que el organismo descrito como *Cercomonas intestinalis* por Lambl no era un cercomonádido, y propuso un género nuevo, *Lambliia*, con la especie *Lambliia intestinalis*. Esta denominación fue posteriormente corregida por Stiles en 1902, cambiando el nombre a *Giardia duodenalis*. En propuestas posteriores, entre 1915 y 1920, Kofoid y Christiansen proponen renombar la especie primero a *Giardia lamblia* y después a *Giardia enterica* por Kofoid & Christiansen. Esta denominación se ha mantenido en parte de la literatura médica y también por investigadores de la antigua Unión Soviética; sin embargo, Filice, en 1952, considera que la denominación válida es *Giardia duodenalis*. Aunque éste es el nombre correcto, la interpretación del complejo código de nomenclatura ha hecho que según los autores se haya usado también de forma más o menos habitual el nombre *Giardia intestinalis*.

2.2.3.6. Familia Bodonidae

Esta familia incluye flagelados de vida libre y parásitos, que se caracterizan por la presencia de dos flagelos: uno anterior, responsable del movimiento de la célula, y otro posterior o recurrente, que aunque en ocasiones puede estar adherido a la membrana del organismo, no forma nunca membrana ondulante. Una de las características principales de este grupo es la posesión de un kinetoplasto, que es debido a la acumulación del ADNk en el extremo de la mitocondria próximo a la base de los flagelos, y que es de gran tamaño en el caso de los bodónidos (figura 2.25). El citostoma se abre en la parte anterior de la célula a muy poca distancia de la bolsa flagelar, en posición ventro-lateral. Las especies más conocidas son las que integran el género *Bodo*, por tratarse de organismos muy ubicuos en aguas ricas en bacterias, estancadas o suelos. Están muy bien caracterizados *Bodo saltans*, de pequeño tamaño, y *Bodo caudatus*. Existen otros muchos géneros similares a éste y conocidos con el término genérico de géneros u organismos “Bodo-like”. Entre ellos se encuentran *Pleuromonas*, *Phyllomitus*, *Cruzella*, *Heteromita*, *Amastigomonas*, *Colponema* y *Parabodo*.

Posición taxonómica

Levine (1985) incluyó esta familia en el suborden *Bodonina* (Hollande, 1952; Vickerman, 1976), el cual, junto con *Trypanosomatina* (Kent, 1880), integraban el orden *Kinetoplastida* (Honigberg, 1963; Vickerman, 1976). Años antes, Hollande (1952) planteó la creación de un orden nuevo, *Bodonida*, que quedaría constituido por una única familia, *Bodonidae*, y dos subfamilias: *Bodoninae* y *Cryptobiinae*. La primera de ellas estaría integrada por los géneros *Bodo*, *Rhynchomonas*, *Amastigomonas*, *Cruzella*, *Pleuromonas* y *Phyllomitius*, y en la segunda únicamente se encontrarían los géneros *Cryptobia* y *Phanerobia*. Sin embargo, hoy día se reconoce esta familia según el esquema introducido por Levine.

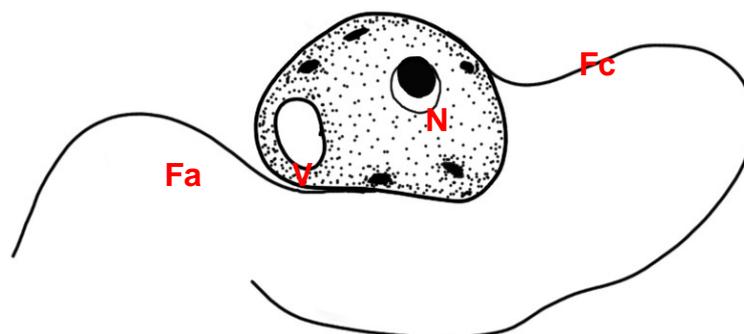
Entre los géneros conocidos como “Bodo-like”, Vickerman (1976) propone que *Heteromita* y *Cercobodo* deberían quedar excluidos del orden *Kinetoplastida* en base a características ultraestructurales, considerándolos como *Bodonidae* de clasificación incierta.

Género *Pleuromonas* Perty, 1852

Es el único género de esta familia que incluye especies citadas en aves. El cuerpo de estos organismos es ameboide. Posee dos flagelos que emergen del cuerpo de forma separada.

Figura 2.25: Esquema general del trofozoito de *Pleuromonas jaculans*.

N: núcleo; V: vacuola; Fa: flagelo anterior; Fc: flagelo caudal.



El flagelo anterior es muy corto y aparece en múltiples ocasiones formando un anillo, mientras que el recurrente es muy fino y de gran longitud, sobrepasando en dos o tres veces la longitud de la célula. Posee un único núcleo vesicular. Forma quistes esféricos de los que emergen cuatro u ocho nuevos individuos (Levine, 1985).

Especies citadas en aves:

- *Pleuromonas jaculans* Perty, 1852

Sólo se ha descrito una especie en este género, *Pleuromonas jaculans*. Se encuentra en aguas estancadas y ha sido citado en el ciego de pollos. Mide 6-10 x 5 μm .

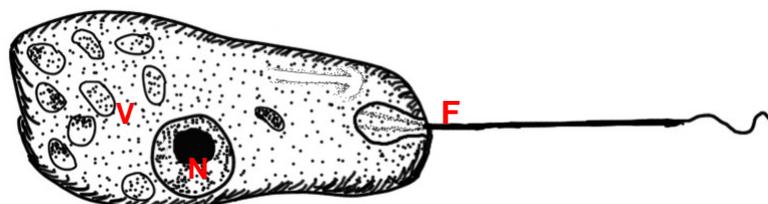
No hay especies citadas en el hombre.

2.2.3.7. Euglenozoos

Se trata de organismos con habitualmente dos flagelos (aunque puede haber sólo uno o más de dos, según la especie), insertados en una bolsa flagelar en posición apical o subapical (figura 2.26). En las especies de vida libre puede haber cloroplastos, ausentes en las especies parásitas (Walne & Kivic, 1989). El movimiento del flagelo anterior es característico: se mantiene recto hasta cerca del extremo, que es la parte que gira. No hay especies citadas en aves o en el hombre.

Figura 2.26: Esquema general de un euglenozoo.

N: núcleo; V: vacuola; F: flagelo;



2.2.4. APICOMPLEJOS

Este grupo comprende protozoos parásitos intracelulares obligados del intestino y tejidos internos de los hospedadores. El grupo recibe su nombre de la estructura que presentan los zoitos en el extremo anterior de la célula, el denominado complejo apical, constituido por elementos diferenciables a microscopía electrónica (anillos polares, conoide, roptrias y micronemas). En general, el ciclo biológico se caracteriza por la alternancia de generaciones, una sexual y una o varias asexuales, que se producen en el mismo o distintos hospedadores. En el ciclo asexual, la multiplicación es por procesos de gemación. Tras la fase sexual, a partir del cigoto se produce un proceso de formación de esporas (esporogonia) que da como resultado la formación de ooquistes (conteniendo esporozoitos), que son las formas infectantes que se diseminan por el ambiente. Según las especies, estos ooquistes son las formas infectantes para un nuevo hospedador definitivo (en las especies de ciclo directo), para un hospedador intermediario (en las de ciclo indirecto), o para ambos (en especies de ciclo facultativo directo/indirecto).

La locomoción de los zoitos es por flexión corporal o por deslizamiento sobre una superficie de contacto; sólo poseen flagelos los microgametos de algunos grupos, y los pseudópodos, cuando existen, se utilizan para la alimentación, no para la locomoción.

Historia

Fue Leeuwenhoek el primero en observar ooquistes (de la especie posteriormente identificada como *Eimeria stiedae*) en la bilis de un conejo, aunque sin hacer una identificación de las estructuras que encontró. En 1787, Cavolini, de forma accidental, fue el primero en observar, describir e ilustrar un esporozoo tipo gregarina (de la especie más tarde identificada como *Cephaloidophorus conformis*) del estómago de un cangrejo, donde encontró gamontes en sizigia y pensó que cada par era un gusano con dos segmentos. Sin embargo, realmente fue en 1828

cuando Leon Dufour descubrió el grupo en sentido científico. En un primer momento, Dufour estaba interesado en la anatomía de insectos, pero al estudiarlos encontró gregarinas y describió algunas especies; les dio el nombre genérico de Gregarina y pensó que eran un grupo peculiar de gusanos relacionados con los trematodos.

En 1845 y 1848, von Kolliker describió algunas especies de esporozoos y dijo por primera vez que las gregarinas eran unicelulares y por lo tanto protozoarios. Sin embargo, Henle, Bruch y Leydig seguían manteniendo que las gregarinas estaban, de alguna forma, conectadas con el estado embriológico de nematodos y más especialmente con las filarias.

En 1879 la clase Sporozoasida fue establecida por Leuckart dentro del subreino Protozoa, y en ella sólo incluyó a las gregarinas y a los coccidios. En 1882, Balbiani reconoció cinco órdenes en Sporozoasida: Gregarinidia, Coccidia, Sarcosporidia, Myxosporidia y Microsporidia, mientras que Butschli propuso una clasificación distinta, con tres subclases (Gregarinida, Myxosporidia y Sacrosporidia) en la clase Sporozoasida, estando los coccidios como una familia dentro de las gregarinas y los microsporidios como un apéndice dentro de los Sarcosporidia. En 1885, Lankester dividió la clase Sporozoasida en cuatro subclases: Coccidiidia, Gregarinidia, Myxosporidia y Sarcocystidia. La subclase Coccidiidia contenía tres órdenes, Monosporea (quistes formados por una simple espora) con *Eimeria* como único género, Oligosporea (quistes con un pequeño número de esporas) con *Coccidium* como único género, y Polysporea (quistes con un gran número de esporas, más de seis) con los géneros *Klossia* y *Drepanidium*.

En 1899, Labbe hizo una gran revisión de los esporozoos. Separó Sporozoasida en dos grupos: Cytosporidia (conteniendo los coccidios) y Myxosporidia, y colocó Sarcosporidia en los Sporozoa *incertae sedis*. Dividió Cytosporidia en cuatro órdenes: Coccidiida, Gregarinida, Gymnosporidiida y Haemosporidiida (con el género *Lankesterella* entre otros). Definió el orden Coccidiida como citosporidios esféricos u ovoides, nunca con estados adultos libres o móviles, ni fases ameboides ni flageladas, y siempre formando quistes

esporulados en los epitelios del hospedador. Dividió el orden en dos Subórdenes: Polyplastina y Oligoplastina. El primero contenía dos tribus, Digenica (los esporozoitos se formaban dentro de esporas) y Monogenica (los esporozoitos se formaban directamente de esporoblastos), incluyendo en éste al género *Eimeria*. El suborden Oligoplastina contenía tres tribus, según el número de esporas del ooquiste: Disporea (2 esporas), Trisporea (3 esporas) y Tetrasporea (4 esporas) (incluyendo aquí al género *Coccidium*). No usó familias.

En 1900, Leger pensó que los coccidios debían ser divididos en base al número de esporozoitos por ooquiste en vez de por el número de esporas. Estableció, entre otras, la familia Asporocystidae (con el género *Eimeria*), sin esporoquistes, y Tetrasporocystidae (*Coccidium*) con cuatro esporoquistes por ooquiste y con dos esporozoitos cada uno. Sin embargo, en el mismo año Schaudinn dividió la clase Sporozoasida en dos subclases: Telosporidia (con esporas al final del ciclo de la vida) incluyendo a las gregarinas, hemogregarinas y coccidios, y Neosporidia (las esporas se producen a lo largo de su ciclo de vida) con Actinomyxidia, Haplosporidia, Microsporidia, Myxosporidia y Sarcosporidia. En 1901, Doflein estableció la subclase Cnidosporidia para los tres primeros grupos de neosporidios porque tenían filamentos polares, y en el 1923 Hartmann estableció la subclase Acnidosporidia para los dos últimos grupos de neosporidios.

En 1903, considerando el código de nomenclatura, Minchin propuso que la familia Asporocystidae debía ser nombrada como Legerellidae y Tetrasporocystidae debía ser Eimeridae (o Coccididae). Más tarde, en 1913, Poche enmendó el nombre Eimeridae por el de Eimeriidae que es, hoy en día, el nombre aceptado de la familia. También dijo que el nombre genérico de *Eimeria* databa de 1875 y *Coccidium* de 1879 y por lo tanto el primero era el nombre válido, mientras que el segundo ha desaparecido de la literatura, aunque se mantiene como nombre común del grupo.

En 1926, Wenyon aumentó la división a subclases. Elevó Cnidosporidia y Telosporidia al rango de clase y relegó los órdenes Sarcosporidia y Haplosporidia a “parásitos de posición indeterminada”. Los órdenes Coccidiomorpha y

Gregarinida fueron elevados al rango de subclase (modificando el nombre de la última a Gregarinia). Los Coccidiomorpha fueron divididos en dos órdenes: Cociida (con los subórdenes Eimeriidea, Haemosporidiidea y Piroplasmidea) y Adeleida (con los subórdenes Adeleidea y Haemosgregarinidea).

En 1953, Grassé consideró Sporozoa como un subfilo que incluía las clases Gregarinomorpha, Coccidiomorpha y Sarcosporidia. Dividió Coccidiomorpha en dos subclases, Prococcidia y Eucoccidia, y esta última, a su vez, en los órdenes Adeleidea, Eimeriidea (con los subórdenes Holoeimeriidea y Haemosporidiidea) y Sarcosporidia. Puso la clase Haplosporidia en un apéndice de Sporozoa y consideró a los miembros de la superfamilia Babesioidea como Sporozoa *incertae sedis*, y a los géneros *Dactylosoma* y *Toxoplasma* como parásitos protistas *incertae sedis*.

En 1964, en la sistemática de la Sociedad de Protozoólogos realizada por Honigberg y colaboradores, se transfiere la clase Piroplasma de Sporozoa a Sarcodina, se separa el subfilo Cnidospora del subfilo Sporozoa, se divide Sporozoa en tres clases (Haplosporea, Telosporea y Toxoplasmea) y el subfilo Cnidospora se divide en dos clases (Microsporidea y Myxosporidea). Igualmente, se aceptan los tres órdenes de gregarinas propuestos por Grassé (Archigregarinida, Eugregarinida y Neogregarinida). En 1966, Kudo siguió las divisiones principales de Wenyon, proponiendo otro subfilo, Plasmodroma, con la clase Sporozoa.

En la clasificación del subfilo Sporozoa (Apicomplexa) de Levine de 1973 hay una considerable divergencia con las propuestas de la Sociedad de Protozoólogos. Separó los microsporidios y mixosporidios de los esporozoos y formó los subfilos Microspora y Myxospora. La clase Toxoplasmea fue reconocida como coccidio, y Haplospora fue considerada una clase del subfilo Microspora. Incluyó, en el orden Eucoccidiorida, a las familias Plasmodiidae, Toxoplasmatidae, Besnoitiidae y Sarcocystidae. La primera familia pertenecía al suborden Haemosporina, mientras que las tres últimas formaban el suborden Endodycoccidiorida. Reunió los piroplásmidos con los esporozoos en una clase

separada, Piroplasmida, cuyo ciclo de vida difiere considerablemente del de los típicos esporozoos. Introduce el nombre Apicomplexa para el subfilo que contenía estas dos clases.

En 1977, Baker realizó una clasificación basada en la de 1964 de la Asociación de Protozoólogos, en la que incorporó dos de las modificaciones propuesta por Levine: la separación de los esporozoos, mixosporidios y microsporidios en tres distintos subfilos, y la reunión de los piroplásmidos con los esporozoos en una clase separada. Este autor prefirió el nombre Sporozoa a Apicomplexa. En este esquema, *Toxoplasma* está unido a los tradicionales coccidios en el suborden Eimeriina.

Un poco después, en 1980, Levine y colaboradores producen una sistemática donde renombran el filo Sporozoa por Apicomplexa y lo dividen en dos clases: Perkinsea, con la única especie *Perkinsus marimus*, y Sporozoasida, con tres subclases: Gregarina, Coccidia y Piroplasmia. Los haplosporidios fueron separados de este filo e integrados en el filo Ascetospora, y los géneros de la antigua clase Toxoplasmea fueron incluidos en el orden Eucoccidiida, suborden Eimeriina. Con esta propuesta, al separar la clase Perkinsea como grupo distinto se hace posible denominar al resto de los organismos como esporozoos, nombre acuñado por Leuckart en 1879, reservándose para el total del filo el nombre de Apicomplexa del que Levine es autor. En esta sistemática se conservan los tres órdenes de gregarinas que creó Grassé en 1953, mientras que en la subclase Coccidia aparece un orden que antes no existía, Agamococcidiida, creado por Levine el año anterior para acomodar a la especie *Rhytidocystis opheliae*.

En 1990, Margulis y colaboradores dividen el filo Apicomplexa en tres clases, Gregarina, Coccidia y Hematozoa, ésta con los órdenes Haemosporida y Piroplasmida. Cox, en 1993, considera que debe modificarse la clasificación de Levine y colaboradores de 1980, en la que el filo Apicomplexa fue dividido en dos clases, Sporozoa y Perkinsea, ya que nuevas evidencias sugieren que el género *Perkinsus*, el único género en Perkinsea, sea probablemente un flagelado (Sleigh, 1989) y por lo tanto el grupo se reduce a una simple categoría, aquí recogida como el filo Sporozoa, conteniendo tres clases: Gregarina, Coccidia y Piroplasmia.

También en 1993, según Cavalier-Smith, los organismos del infrafilosporozoa se caracterizan por tener nueve centriolos simples, un complejo apical y en general (pero no universal) por producir esporoquistes y ooquistes, mientras que a los organismos del infrafilosporozoa (con las clases Haemosporea y Piroplasma) les faltan los esporoquistes, el complejo apical y poseen nueve centriolos triples y por tanto no pueden derivar de Coccidia como anteriormente se suponía. Estos dos infrafilos son agrupados juntos en el subfilo Gamontozoa. Gregarina y Coccidia son aquí tratadas como superclase y cada una se subdivide en dos clases: la primera, más primitiva, con parásitos extracelulares y sin merogonia, incluye Eogregarinea y Coelotrophea; y Coccidia, más evolucionada, con parásitos extracelulares y merogonia, incluye Neogregarinea y Eucoccidia. Para acomodar a los apicomplejos más primitivos (*Perkinsus* y *Colpodella*) se crea el subfilo Apicomonada. En la clasificación de 2005 de Adl y colaboradores, se reclasifica el grupo de los alveolados, proponiendo la unión de los alveolados de Cavalier-Smith (1991) junto con los cromistas de Cavalier-Smith (1998) en los cromalveolados (Chromoalveolata).

Posición taxonómica

Pertencientes a este grupo se han descrito organismos tanto en aves como en el hombre. La mayoría de los apicomplejos de interés sanitario y veterinario para el hombre pertenecen a la clase Sporozoa, y dentro de ésta, los coccidios son desde el punto de vista económico y sanitario, un grupo importante, tanto por los riesgos sanitarios como por las pérdidas económicas que ocasionan.

Las clasificaciones hasta nivel de familia según las propuestas de Levine de 1980 y Cavalier-Smith (2004) se muestran a continuación.

Revisión bibliográfica

<p>ORDEN EUCCOCCIIDA Se presenta merogonia en vertebrados y/o invertebrados.</p> <p>SUBORDEN EIMERIINA Los macrogametos se desarrollan independientes, carecen de sizigia, los microgamontes normalmente producen muchos microgametos. El cigoto no es móvil, los esporozoitos típicamente están encerrados en esporoquistes en el ooquiste. Pueden ser monoxenos o heteroxenos.</p> <p>Familia Eimeriidae Género <i>Eimeria</i> Familia Isosporidae Género <i>Isospora</i> Familia Sarcocystidae Género <i>Toxoplasma</i> Género <i>Sarcocystis</i> Familia Cryptosporidiidae Género <i>Cryptosporidium</i></p>	<p>directamente un ooquiste que se divide en esporoblastos; los esporozoitos normalmente están envueltos en una pared esporoquística que es distinta de la pared ooquística.</p> <p>ORDEN EUCCOCCIDIOORIDA Merogonia con fase trófica intracelular y formación de ooquistes.</p> <p>Familia Eimeriidae Género <i>Eimeria</i> Familia Isosporidae Género <i>Isospora</i> Familia Sarcocystidae Género <i>Toxoplasma</i> Género <i>Sarcocystis</i> Familia Cryptosporidiidae Género <i>Cryptosporidium</i></p>
--	--

Características generales

El complejo apical, estructura que da nombre al grupo, está situado en el extremo anterior de la célula y está formado, en su forma más compleja, por las siguientes partes (algunas se han perdido en algunos grupos):

- uno o más anillos polares electrodensos;
- unos microtúbulos dispuestos en espiral, el conoide, con forma de cono ahuecado y truncado, debajo de los anillos polares;
- las roptrias, orgánulos electrodensos, tubulares o con forma de saco, a menudo alargados en la parte posterior, extendiéndose hacia abajo desde la región anterior dentro del conoide, y cuya función es la de secretar enzimas para la penetración celular;

- los micronemas, orgánulos alargados, electrodensos y que se extienden longitudinalmente en la parte anterior del cuerpo, al lado de las roptrias;
- los microtúbulos subpeliculares, en número variable según el grupo de organismos, y que se extienden hacia la parte posterior de la célula desde el anillo polar anterior hasta el anillo polar posterior, con una función de soporte y locomoción.

Las células también poseen uno o más microporos, cuya función es la de ser los puntos por donde se produce la fagocitosis/pinocitosis de las sustancias que sirven de alimento.

Poseen un aparato de Golgi y mitocondrias, así como un retículo endoplásmico y unos gránulos y vacuolas en el citoplasma. El núcleo es vesicular y puede o no contener un nucléolo. Hay presente una estructura especial, el apicoplasto, que es un orgánulo membranoso considerado un plástido vestigial derivado de la endosimbiosis de una alga y posterior retención del plástido algal; el apicoplasto es esencial para la supervivencia del parásito, dado que entre sus funciones está la síntesis de lípidos (Roos y col., 2002).

Las células carecen de cilios y flagelos, excepto los microgametos, flagelados en algunos grupos. La mayoría de las especies forman esporas, que son estados de resistencia desarrollados después de la reproducción sexual.

El patrón básico de su reproducción es la alternancia de fases asexuales y sexual. Este patrón puede estar modificado en los diferentes grupos y en algunos les faltan ciertas fases. El cigoto se forma por la fisión de gametos (singamia) y a continuación se divide en un proceso de esporogonia para formar esporozoitos (llamados así porque tradicionalmente se pensaba que se formaban dentro de esporas, aunque actualmente se sabe que algunas especies sí forman y otras no). Estos esporozoitos están dentro de ooquistes, que son las formas infectantes de diseminación por el ambiente. En el interior de los hospedadores, las células se dividen asexualmente por procesos de gemación que según la forma en que se producen reciben distintos nombres endodiogenia, endopoligenia o esquizogonia

(en general, merogonias, siendo los merozoitos las células resultantes); finalmente, algunos merozoitos dan origen a macrogamontes y otros a microgamontes. El macrogamonte se transforma en el macrogameto mientras que el microgamonte se divide y origina dos o más microgametos. Un microgameto se fusiona con un macrogameto para formar un cigoto, y el ciclo se repite.

Los coccidios se encuentran en todos los vertebrados y en algunos invertebrados (Barr y col.,1990; Anderson y col.,2000). Tienen un alto grado de especificidad aunque hay excepciones. No solo están limitados en el rango de especies de hospedador sino que también tienen una cierta afinidad por ciertos sistemas, órganos, porciones de sistemas, tipo de célula específicas e incluso una localización específica dentro de la célula. La mayoría de las especies son estenoxenas, pudiéndose encontrar en un único género de hospedadores (y en algunos casos, sólo en especies determinadas). Hay también especies mesoxenas, capaces de infectar a las distintas especies de un mismo orden zoológico, y unas pocas son eurixenas, dándose en hospedadores de más de un orden o clase (Levine, 1962, 1985, 1988).

2.2.4.1. Familia Eimeriidae

Los géneros incluidos en esta familia se diferencian por el número de esporoquistes en el ooquiste y por el número de esporozoitos en cada esporoquiste. En general, sólo hay un hospedador (monoxenos). La esquizogonia y gametogonia se producen dentro de las células del hospedador y la esporogonia normalmente ocurre fuera del hospedador. El microgameto tiene dos o tres flagelos. El ooquiste puede contener ninguno o algunos esporoquistes, en este caso cada uno conteniendo uno o más esporozoitos. Se encuentran en vertebrados e invertebrados.

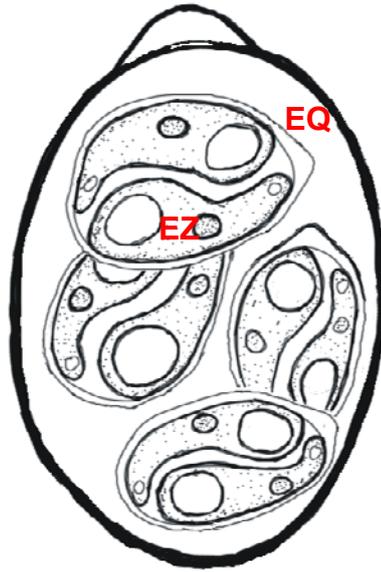
Género *Eimeria* Schneider, 1875

En 1838, Hake redescubría estructuras (posteriormente identificadas como ooquistes de coccidios) en heces de conejo (posiblemente correspondientes a *Eimeria stiedae*), aunque sin considerar que pertenecieran a un parásito. En 1865, Lindermann reconoció la naturaleza parasitaria de estos quistes y los llamó *Monocystis stiedae*. Eimer, en 1870, realizó un trabajo extenso sobre estos organismos, incluyéndolos en el género *Gregarina* y citando varias especies en diversos animales. En dicho trabajo, describió el ciclo endógeno de *Gregarina falciformis* en ratón. En 1875, Schneider consideró que había suficientes diferencias como para proponer un nuevo género para esta especie, proponiendo el género *Eimeria* (en honor de Eimer), en el que incluye a *Eimeria falciformis* (que es el tipo del nuevo género), cambiando así de género la especie descrita por Eimer en 1870. En 1878, Rivolta denominó *Psorospermium cuniculi* a la especie de conejo, pero trabajos posteriores demostraron que el organismo hallado en los conejos no podía incluirse en este género. Un año más tarde, en 1879, Leuckart propone el nombre de *Coccidium perforans* y *C. oviforme* para los organismos que encontró en conejos. En 1902, Stiles y Luhe consideraron que *Eimeria* y *Coccidium* eran sinónimos y que *Eimeria* tenía prioridad, aunque algunos autores todavía retuvieron el nombre de *Coccidium*. Finalmente, en 1907, se estableció el nombre correcto de *Eimeria stiedae* en el taxón Coccidiomorpha, propuesto en 1901 por Dolflein. Por tanto, los nombres *Psorospermium cuniculi* y *Coccidium oviforme* deben considerarse sinónimos de *Eimeria stiedae*.

Los ooquistes de *Eimeria* son muy parecidos entre las distintas especies. Tienen forma oval, con una cubierta habitualmente lisa y doble, y normalmente sin micrópilo; contienen un gránulo polar, sin residuo, y (en los ooquistes maduros) cuatro esporoquistes ovales con cuerpos de Stieda, en cada uno sin residuo y con dos esporozoitos (figura 2.27). Se encuentran en vertebrados y unos pocos invertebrados (Levine, 1960a).

Figura 2.27: Esquema del ooquiste de *Eimeria* sp.

EQ: esporoquistes; EZ: esporozoitos.



Existen más de un millar de especies descritas, de las cuales aproximadamente 500 han sido citadas en aves (tanto domésticas como silvestres) por todo el mundo. Las distintas especies se diferencian por características morfológicas de los ooquistes (fundamentalmente, el tamaño, que varía según la especie entre 10-42 x 6-30 μm) y por la especie de hospedador. En éste se localizan en el intestino delgado, produciendo una enfermedad llamada coccidiosis, cuya sintomatología varía de leve a muy grave (dependiendo de la especie y del individuo), o incluso mortal en algunos casos.

Especies citadas en aves:

Dado el elevado número de especies citadas en aves (unas 500), es inviable hacer una descripción siquiera somera de las mismas en este apartado, como viene siendo el patrón común de esta memoria. Es posible que existan muchas sinonimias, dado que la mayoría de las descripciones están basadas en criterios morfológicos poco definitorios y/o en la especie de hospedador, y en muy pocos casos hay datos genéticos.

Especies citadas en el hombre:**- *Eimeria butkai* Causey, 1926**

La descripción de la especie se hizo en muestras fecales de una mujer con síntomas de hemorragia en los muslos y dolor abdominal. La validez de la especie ha sido cuestionada, ya que las características de los esporoquistes hallados (no se encontraron ooquistes) podrían coincidir con los de *Eimeria stiedae*, y existe el antecedente de que la paciente solía ingerir hígado crudo de conejo. Además, las muestras fecales no fueron bien conservadas, y las imágenes de las estructuras descritas han llevado a Duszynski (1999) a considerar que pueden ser huevos degenerados de *Enterobius*; en cualquier caso, hay dudas que hacen que esta especie no se pueda aceptar como válida (por ser una parasitosis espúrea, o porque no se trata realmente de un coccidio).

- *Eimeria oxyspora* Dobell, 1919

Esta especie fue descrita en las heces de un paciente, pero en revisiones posteriores se ha mostrado que su morfología es la misma que la de *Eimeria sardinae*, habitualmente presente en anchoas y sardinas, por lo que se considera que el caso descrito correspondió en realidad a una parasitosis espúrea cuyo origen fue el pescado ingerido por el paciente.

- *Eimeria snijdersi* Dobell, 1920

Descrito en las heces de un paciente, la morfología de esta especie se corresponde con la de *Eimeria sardinae*, siendo actualmente considerada como un sinónimo cuya descripción correspondió a una parasitosis espúrea.

- *Eimeria wenyoni* Dobell, 1920

Al igual que las especies anteriores, se trata de un sinónimo, en este caso de *Eimeria clupearum*, especie parásita de arenques, anchoas, caballas y sardinas, y cuyo hallazgo en el hombre puede considerarse como una parasitosis espúrea.

2.2.4.2. Familia Isosporidae

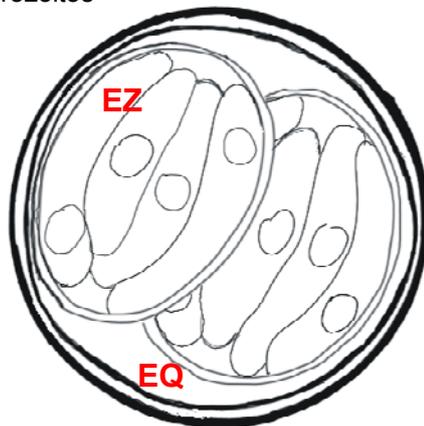
En esta familia, los ooquistes contienen esporoquistes en un número característico para cada género; los microgametos tienen 2 o 3 flagelos, y la esporogonia se completa fuera del hospedador.

Género *Isospora* Schneider, 1881

Los ooquistes contienen dos esporoquistes con o sin cuerpos de Stieda, cada uno de ellos con 4 esporozoitos (figura 2.28). Las especies en las que hay cuerpos de Stieda son generalmente monoxenas y limitadas a infecciones intestinales, mientras que las que carecen de cuerpos de Stieda pueden tener hospedadores paraténicos, pueden tener estados latentes en el hospedador, y pueden ser facultativamente heteroxenas (Levine, 1960b).

Figura 2.28: Esquema del ooquiste de *Isospora* sp.

EQ: esporoquistes; EZ: esporozoitos



Hay descritas numerosas especies en animales salvajes y domésticos, y también en el hombre; la mayoría de ellas han sido descritas a partir de ooquistes encontrados en las heces de los hospedadores, por lo que es posible que existan sinonimias dentro del género, ya que no están establecidos los ciclos de todas ellas. En el caso de las especies más importantes (por afectar al hombre o a animales domésticos), no hay cuerpos de Stieda en los esporoquistes. Se han propuesto los nombres genéricos de *Levinia* y de *Cystoisospora* para las especies que utilizan hospedadores paraténicos, pero estos nombres no han tenido suficiente aceptación.

Especies citadas en aves:

- ***Isospora gallinae*** Scholtyseck, 1954

Sinónimos: *Isospora anatis*.

Esta especie fue localizado en las heces de gallinas en Alemania, la India y Rusia. Los ooquistes son elipsoidales, de 19-27 x 15-23 μm , con esporoquistes piriformes y sin cuerpos de Stieda.

- ***Isospora heissini*** Svanbaev, 1955

Esta especie fue descrita en las heces de pavos en Rusia, pudiendo tratarse de un parásito espúreo (Levine, 1985). Los ooquistes son esféricos o ligeramente ovoides, de 25-33 μm en diámetro, con una pared lisa y gruesa, y con esporoquistes esféricos a ovoides y sin cuerpos de Stieda.

- ***Isospora mayuri*** Patnaik, 1966

Sinónimos: *Isospora pellerdyi*.

Descrita en galliformes en la India, Inglaterra y Alemania, podría ser un parásito espúreo (Levine, 1985). Los ooquistes son subesféricos o esféricos, de 20-27 x 18-24 μm , con una pared lisa y gruesa. Los esporoquistes son piriformes, con cuerpo de Stieda.

- *Isospora sp.* Anpilogova, 1965

Citada en las heces de patos y gansos en Rusia, es posible que se trate de un parásito espúreo de estos animales (Levine, 1985). Los ooquistes son esféricos o elipsoidales, de 25-31 x 23-31 μm . Los esporoquistes son ovales y con cuerpo de Stieda.

Especies citadas en el hombre:

- *Isospora belli* Wenyon, 1923

Esta especie es común y cosmopolita, localizándose en el intestino delgado del hombre. Los ooquistes son elipsoidales, de 20-33 x 10-19 μm , con una pared fina y lisa. Los esporoquistes son subesféricos a elipsoidales, de 9-14 x 7-12 μm , sin cuerpo de Stieda. Los esporozoitos son esbeltos y con forma algo aplanada. Aunque se considera como patógena, habitualmente no es especialmente grave, dando lugar a infecciones autolimitadas.

La especie fue nombrada por Wenyon, quien atribuyó a Virchow el mérito de haberla descrito por primera vez, en 1860, en las vellosidades intestinales de muestras de autopsia. En 1870, Eimer describió formas que posiblemente correspondían a *Isospora belli* en el material necrótico de dos casos comunicados en Berlín. Fue en la Primera Guerra Mundial cuando se convirtió en una especie más o menos conocida, al ser detectada con frecuencia en las heces de soldados.

- *Isospora natalensis* Elsdon-Dew, 1953

Esta especie ha sido descrita en casos humanos en África. Los ooquistes son subesféricos, de 25-30 x 21-24 μm , con una pared fina y lisa, con esporoquistes elipsoidales carentes de cuerpo de Stieda.

La descripción se hizo a partir de ooquistes hallados en las heces de un paciente de 21 años que padecía disentería amebiana y otras infecciones por protozoos y helmintos. Los ooquistes de *I. natalensis* fueron observados durante unos cuantos días seguidos tras tratar al paciente para la disentería; la infección fue autolimitada y no se han vuelto a describir casos debidos a este parásito desde entonces.

- ***Isospora hominis*** Fantham, 1917

Actualmente se considera que esta especie no es en realidad del género *Isospora*, sino de *Sarcocystis*, siendo un sinónimo de *Sarcocystis hominis* o de *S. suihominis*, que se adquieren por ingerir carne de ternera o de cerdo cruda o poco cocinada. En las primeras descripciones de casos humanos no se sabe si los autores están describiendo *Isospora belli* o *Sarcocystis sp.*

- ***Isospora chilensis*** Jarpa y Zuloaga, 1963

La especie fue descrita en unos pocos pacientes de Suramérica. Las características morfológicas corresponden a las de *Isospora hominis*, por lo que se considera que esta especie es en realidad un sinónimo de *Sarcocystis hominis* o de *S. suihominis*.

2.2.4.3. Familia Sarcocystidae

Esta familia se diferencia de Eimeriidae en que incluye especies que son siempre heteroxenas, siendo el hospedador intermediario un vertebrado en el cual se desarrollan quistes tisulares de tamaño variable, en ocasiones macroscópicos y de gran tamaño. El hospedador definitivo puede ser un mamífero, un ave o un reptil, dependiendo de la especie. Los ooquistes maduros contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno.

Género *Toxoplasma* Nicolle y Manceaux, 1909

Este género incluye una única especie, *Toxoplasma gondii* Nicolle y Manceaux, 1909, que fue descubierta en el hígado y bazo de un pequeño roedor africano denominado gondi, *Clenodactylus gondi*. El hallazgo fue hecho en los animales que se mantenían en el instituto Pasteur de Túnez. En un primer momento se consideró que el organismo era una especie de *Leishmania*, pero años después y tras varios estudios en mayor profundidad, fue reconocido como un parásito diferente para el que se creó un nuevo género.

Se ha citado en más de 200 especies dentro de este género en aves y mamíferos, incluido el hombre. Al principio, los nuevos hallazgos se describieron como nuevas especies según el hospedador en el que se describían (p.e., *T. alencari*, *T. bahiensis*, *T. brumpti*, *T. colubri*, *T. gondii*, *T. hammondi*, *T. pardalis*, *T. ranae* o *T. serpai*). Estudios posteriores demostraron que se trataba de una misma y única especie (*T. gondii*), o bien que la identificación era incorrecta y se trataba de un parásito que no correspondía a *Toxoplasma* (p.e., *T. hammondi* fue redescrito como *Hammondia hammondi*). Se trata, por tanto, de una especie universal tanto en su distribución geográfica como en el rango de hospedadores a los que puede infectar, pudiendo infectar aves y mamíferos.

Este parásito fue considerado como causante de patologías en el hombre por vez primera en 1923, observándose que tenía tropismo hacia los tejidos nerviosos. En 1939 se reconoció como causante de infecciones congénitas, y en 1965 Hutchinson descubrió su ciclo, al observar que cuando los gatos comían ratones infectados por *Toxoplasma* la infección podía volver a transmitirse al ratón a través de las heces del gato, incluso tras su conservación en agua durante 1 año o más. Los gatos son el hospedador definitivo, en los que puede desarrollar la fase intestinal, sexual, y la fase tisular, de multiplicación asexual. En los hospedadores intermediarios, el parásito sólo se desarrolla en la fase tisular. Las formas infectivas para los hospedadores (tanto definitivos como intermediarios) son los ooquistes liberados por los gatos, los quistes tisulares y las formas de desarrollo (pseudoquistes) presentes en los tejidos del hospedador correspondiente.

Los ooquistes de *Toxoplasma gondii* son de forma ovalada, de entre 11-14 µm de longitud, sin micropilo; cuando son eliminados en las heces son inmaduros, desarrollando, al cabo de 3-4 días, dos esporoquistes sin cuerpo de Stieda, con cuatro esporozoitos en cada uno y residuo; el ooquiste no tiene residuo ni gránulos polares. Una vez que son ingeridos, dan lugar a la fase de multiplicación asexual activa en los tejidos del hospedador, formándose taquizoitos que se multiplican activamente dentro de células del hospedador, formando pseudoquistes; en un momento dado, se desarrollan dando lugar a bradizoitos, que permanecen en los tejidos del hospedador formando quistes tisulares. Estos quistes son de forma esferoidal, pueden tener entre 10-200 µm de diámetro, y contienen hasta 3.000 bradizoitos; pueden localizarse en prácticamente cualquier célula nucleada del hospedador, pero son más frecuentes en tejido nervioso y muscular, y pueden ser viables durante años, e incluso probablemente durante toda la vida del hospedador. Los taquizoitos pueden dar lugar a infecciones transplacentarias (cuya consecuencia puede ser desde aborto o malformaciones en el recién nacido, a patologías de manifestación tardía, fundamentalmente relacionadas con los ojos), mientras que los quistes tisulares (con bradizoitos) y los ooquistes liberados por los gatos (con esporozoitos) son las formas habitualmente responsables de la infección de nuevos hospedadores. La reactivación de los quistes tisulares alojados en tejido nervioso es la causa de las encefalitis toxoplásmicas en los pacientes inmunocomprometidos (dando lugar a casos graves, incluso mortales).

Género *Sarcocystis* Lankester, 1882

La primera cita de este organismo fue hecha por Miescher en 1843, quien lo describió como un cuerpo blanco, opaco y de forma alargada, localizado en el músculo esquelético de ratones. Permaneció sin clasificar durante varios años, siendo durante ese tiempo identificado como “tubos (o túbulos) de Miescher”. En 1863, Kühn describió estructuras similares en cerdos, a las que denominó *Synchytrium miescherianum*. Sin embargo, el nombre de género ya estaba ocupado y la nueva especie no cuadraba dentro de la primera descripción del género, por lo que Lankester, en 1882, propuso el nombre *Sarcocystis*. Labbé, en

1899, cambió el nombre de *Synchytrium miescherianum* a *Sarcocystis miescheriana*, convirtiéndose en la especie tipo del género. Blanchard, en 1885, redescubrió el organismo original de Miescher, denominado *Sarcocystis muris* por Railliet en 1886.

Se han descrito numerosas especies basándose en el hospedador en el que se hayan hallado los correspondientes tubos de Miescher. En 1972, Heydorn y colaboradores describieron el ciclo biológico de la especie *Sarcocystis bovis*, descubriendo que esta denominación englobaba a tres especies distintas cuyas fases sexuales se producían en perros, en gatos o en humanos, proponiendo entonces la separación de la especie anterior en tres nuevas especies denominadas en función de los hospedadores implicados: *Sarcocystis bovicanis*, *S. bovifelis*, y *S. bovihominis*. Sin embargo, teniendo en cuenta la ley de prioridad, la especie *S. bovicanis*, que correspondería a la redescipción de *S. bovis*, no puede considerarse como válida y debe considerarse sinónimo de *S. bovis*. Por otro lado, y con mucha anterioridad a este descubrimiento, Railliet y Lucet en 1891 descubrieron unos ooquistes en las heces del hombre para los que propusieron la especie *Isospora hominis*. Estos ooquistes corresponden con la descripción de los ooquistes de la nueva especie *S. bovihominis*, por lo que de nuevo, y atendiendo a la ley de prioridad, *I. hominis* cambia de género y la denominación correcta de la especie es *Sarcocystis hominis*.

Todo esto pone de manifiesto el problema existente en la denominación de las especies de *Sarcocystis*, ya que en muchos casos las descripciones originales son deficientes o incompletas, habitualmente realizadas sólo sobre una fase (la tisular), o correspondiendo a ooquistes que han sido descritos como pertenecientes a especies incluidas en otros géneros. La consecuencia es que en muchos casos es imposible confirmar que el organismo originalmente descrito corresponda a la especie para la que se ha documentado el ciclo biológico. Esto ha llevado a algunos autores a proponer nuevos nombres (basándose en el sistema de usar combinaciones de los hospedadores implicados) para especies que quizá ya estén nombradas, mientras que otros autores consideran que lo único que hay que hacer es redescibir las especies, ya que los nombres de éstas siguen siendo válidos. El

resultado (unos autores proponen nombres nuevos y otros conservan los mismos nombres) ha causado una gran confusión en la taxonomía del género. Se han descrito en total cerca de un centenar de especies en aves y mamíferos, incluyendo el hombre (Levine y Tadros, 1980).

El ciclo del parásito se mantiene en un sistema predador-presa. El carnívoro es el hospedador definitivo, y en él, el parásito se desarrolla en las células del intestino, dando lugar a ooquistes que salen al exterior ya esporulados. La pared de los ooquistes es muy fina, por lo que habitualmente se rompe y lo que sale al exterior son los esporoquistes por separado. En el hospedador intermediario (la presa), el parásito se desarrolla formando quistes tisulares (los tubos de Miescher, también denominados sarcoquistes), fundamentalmente localizados en músculo estriado y cardíaco, y raramente en cerebro. Estos quistes están internamente divididos por tabiques, completos o no, delimitando cavidades en las que se encuentran los bradizoitos (las formas infectantes para el hospedador definitivo). Los quistes tisulares pueden tener un tamaño muy variable, desde microscópicos a varios centímetros de longitud.

Especies citadas en las aves como hospedador intermediario:

- ***Sarcocystis horvathi*** Ratz, 1908

Sinónimos: *Sarcocystis gallinarum*

El hospedador intermediario son las gallinas; el definitivo es desconocido. Los sarcoquistes tienen una pared estriada, se localizan en músculo y tienen un tamaño inferior a 1 mm. Provocan una miositis severa en los pollos.

- ***Sarcocystis rileyi*** (Stiles, 1893) Minchin, 1903

Sinónimos: *Balbiana rileyi*, *Sarcocystis anatina*

El hospedador intermediario son patos salvajes y domésticos (aunque es raro en éste), y el definitivo son mofetas, y quizá también zarigüeyas, perros y

gatos. Los sarcoquistes se encuentran en músculo y tienen un tamaño variable, hasta 12 mm, siendo considerados como no patógenos. Los esporoquistes son de 10-14 x 5-10 μm . Es posible que esta especie incluya en realidad más de una especie de *Sarcocystis*.

- ***Sarcocystis falcatula*** Stiles, 1893

El hospedador intermediario son gorriones, canarios y palomas, siendo el hospedador definitivo las zarigüeyas (Crawley y col., 1982). Los sarcoquistes tienen un tamaño de hasta unos 3 mm, con una pared gruesa. Es una especie patógena, capaz de provocar la muerte del hospedador debido, fundamentalmente, a insuficiencia respiratoria. Los esporoquistes tienen un tamaño de 9-12 x 6-8 μm .

- **Otras especies con ciclo no conocido:**

***S. ammodrami* (Splendore, 1907) Babudieri, 1932**

en fringílidos; sin más datos

***S. aramidis* Spendore, 1907**

en gruiformes; sin más datos

***S. colii* Fantham, 1913**

en colfes (pájaros-ratón); sarcoquistes hasta 2,5 mm

***S. jacarinae* Barreto, 1940**

en fringílidos; sin más datos

***S. kirmsei* Garnham y col., 1979**

en faisanes; sarcoquistes cerebrales de hasta 1,1 mm

***S. nontenella* (Eble, 1961) Levine y Tadros, 1980**

en gavilanes; sin más datos

***S. oliverioi* Pessoa, 1935**

en psitaciformes; sarcoquistes hasta 2,7 mm

***S. turdi* Brumpt, 1913**

en tordos; sin más datos

***S. setophagae* Crawley, 1914**

en paseriformes; sarcoquistes hasta 2,5 mm

***Sarcocystis* sp.**

en gallinas; varias descripciones

en águilas; sin más datos

Especies citadas en las aves como hospedador definitivo:

Sólo se ha podido determinar el papel de algunas rapaces como hospedador definitivo de unas pocas especies de *Sarcocystis*, siendo la infección producida por el consumo de pequeños mamíferos (principalmente roedores) infectados con sarcoquistes.

- *Sarcocystis rauschorum* Gajadhar y Brooks, 1984

El hospedador definitivo son búhos, y el intermediario son lemmings (Cawthorn y Brooks, 1985).

- *Sarcocystis scotti* Levine & Tadros, 1980

El hospedador definitivo son búhos y el intermediario, ratones.

- *Sarcocystis cernae* Levine, 1977

El hospedador definitivo son halcones, y el intermediario roedores.

- *Sarcocystis dispersa* Černá y col., 1978

El hospedador definitivo son lechuzas y búhos, y el intermediario ratones. Los ooquistes son de 17,5 x 13 μ m, y los esporoquistes de 12 x 9 μ m con una pared fina y cuerpo residual.

- *Sarcocystis sp.*

Descrito como tal en Lechuza Gavilana Maori (*Ninox novaeseelandiae*)

Se han descrito ooquistes de 12-14 x 15-19 μm con esporoquistes de 12-15 x 4-7 μm y 4 esporozoitos en lechuzas; y ooquistes en el intestino delgado de búhos con un tamaño de 13 x 10,8 μm y esporoquistes de 11.3 x 5,5 μm ; pero sin realizar ninguna propuesta de identificación específica. También, Marcus y col. (1985) consideran que los buitres son hospedadores definitivos para *Sarcocystis* de impalas, pero sin identificar la especie. Otros autores consideran que hay especies de *Sarcocystis* que pueden circular entre aves predatoras (azores, búhos, lechuzas, etc.) y pequeños roedores como hospedadores intermediarios; sin embargo, se desconocen realmente los detalles de sus ciclos (Dubey y col., 1989).

Especies citadas en el hombre como hospedador intermediario:

- *Sarcocystis lindemani* Rivolta, 1878

Esta denominación específica se ha asignado inicialmente a todos los sarcoquistes que se han encontrado en el músculo estriado del hombre, siendo en la mayoría de los casos hallazgos accidentales. Beaver y col. (1979) revisaron los casos humanos citados, concluyendo que en esta denominación se han incluido al menos siete tipos estructuralmente diferentes de sarcoquistes, por lo que esta especie no sería válida, sino que correspondería a una mezcla de especies (de las que no se conoce cuál es el origen de la infección humana); la estructura del sarcoquiste sugiere que otros primates pudieran ser los verdaderos hospedadores intermediarios (Dubey y col., 1989).

Especies citadas en el hombre como hospedador definitivo:**- *Sarcocystis hominis*** (Ralliet y Lucet, 1891) Dubey, 1976

Sinónimos: *Coccidium bigeminum* var. *hominis in parte*, *Miescheria cruzi in parte*, *Isospora hominis in parte*, *Lucetina hominis in parte*, *Sarcocystis fusiformis in parte*, *S. bovihominis*, *Endorimospora hominis*.

Es una especie de distribución mundial. El hospedador intermediario es la vaca y otros bóvidos, y el definitivo es el hombre y otros primates, en los que en principio se considera como poco patógeno, pudiendo provocar diarreas de corta duración. Los ooquistes son de pared fina y estriada; la forma es ovalada pero con una constricción más o menos marcada en la zona media, a nivel de la zona entre esporoquistes. Éstos son elipsoidales o ligeramente aplanados en uno de los lados, de 14-15 x 10-11 μm , sin cuerpo de Stieda y con residuo.

- *Sarcocystis suihominis* (Tadros y Laarman, 1976) Heydorn, 1977

Sinónimos: *Miescheria utriculosa in parte*, *Coccidium bigeminum* var. *hominis in parte*, *Isospora hominis in parte*, *Lucetina hominis in parte*, *Sarcocystis porcihominis*, *Endorimospora suihominis*.

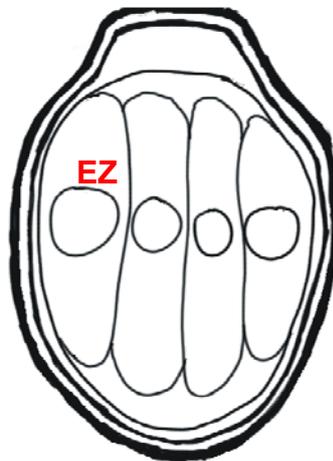
Es una especie cosmopolita, con el cerdo como hospedador intermediario y el hombre y otros primates como hospedadores definitivos. Se considera como una especie muy patógena tanto para el hombre como para el cerdo, causando diarreas importantes en el primero y dolores musculares, disnea, pérdida de peso, abortos e incluso muerte en los cerdos. Los ooquistes son de 18-20 x 12-15 μm , sin micropilo, gránulo polar ni residuo. Los esporoquistes son elipsoidales, de 11-14 x 10-11 μm , sin cuerpo de Stieda y con residuo.

2.2.4.4. Familia Cryptosporiidae

Este grupo de apicomplejos se caracteriza porque todas las fases intracelulares se desarrollan inmediatamente debajo de la membrana plasmática de la célula hospedadora, siendo considerados como parásitos intracelulares extracitoplásmicos. Además, los ooquistes carecen de esporoquistes, de modo que los esporozoitos (4) se desarrollan libres en interior del ooquiste (figura 2.29). Son dos los tipos de ooquistes que se pueden formar: unos tienen una pared gruesa y son eliminados al exterior, mientras que otros poseen una pared muy fina que se rompe dentro de la luz intestinal del hospedador, permitiendo autoinfecciones endógenas que dan lugar a que la infección se mantenga durante unas semanas en individuos inmunocompetentes, o incluso meses en inmunodeprimidos. Sólo hay un hospedador en el ciclo biológico del parásito (Fayer, 1997). La familia cuenta con un sólo género, *Cryptosporidium*.

Figura 2.29: Esquema del ooquiste de *Cryptosporidium* sp.

EZ: esporozoitos



Género *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907

En 1907, Tyzzer describe la primera especie de *Cryptosporidium*, *C. muris*, en las criptas gástricas de un ratón de laboratorio. Como todas las fases del parásito son de muy pequeño tamaño (unas 5 μm o menos), es probable que este

parásito haya pasado con frecuencia inadvertido. No fue objeto de mucha atención hasta que, tras la aparición del SIDA, se observó su papel como agente productor de diarreas en enfermos inmunodeprimidos. Desde entonces el género ha sido objeto de estudio por un gran número de investigadores, describiéndose inicialmente muchas especies empleando como criterio diferenciador la especie de hospedador. La reciente incorporación de estudios moleculares ha permitido revisar la taxonomía del género, identificando algunas sinonimias y redescubriendo especies crípticas; también se han identificado genotipos, pero sin asignarles un nombre específico.

Este género se han citado especies en todas las clases zoológicas de vertebrados (Barr y col., 1999; Anderson y col., 2000), causando desde infecciones inaparentes a diversas patologías intestinales, en ocasiones graves (p.e., diarreas profusas, prolapsos rectales).

Especies citadas en aves:

- ***Cryptosporidium baileyi*** Current, Upton & Haynes, 1986

Esta especie es común en el intestino grueso, la bolsa de Fabricio y la cloaca de las gallinas domésticas. Es de distribución mundial. Los ooquistes de pared gruesa son de 5,6-6,3 x 4,5-5,2 μm , con una media de 6,2 x 4,6 μm . Las infecciones se mantienen durante unos 20 días.

- ***Cryptosporidium galli*** Pavlásek, 1999

Esta especie es de distribución mundial, afectando principalmente a gallinas domésticas, en las que se desarrolla en las células epiteliales del proventrículo. Los ooquistes son de 8,0-8,5 x 6,2-6,4 μm , con una media de 8,25 x 6,3 μm . Esta especie está asociada a una mortalidad alta.

- ***Cryptosporidium meleagridis*** Salvin, 1955

Sinónimos: *C. anserinum*, *C. tyzzeri*

Ha sido descrita en varias galliformes, e incluso en loros, infectando el borde en cepillo del tracto gastrointestinal y respiratorio. Los ooquistes son más o menos esféricos, de hasta 5 µm de diámetro. Esta especie ha sido asociada a la producción de diarreas y enfermedades respiratorias en gallinas.

- ***Cryptosporidium sp.***

Hay varias publicaciones en las que se cita la presencia de *Cryptosporidium* en aves, sin identificar la especie del parásito (p.e., Whittington y Wilson, 1985; Sironi y col., 1991; Fujino y col., 1996, en galliformes; Zwart y col., 1987, en anátidas; Kaminjolo y col., 1988; Rodríguez y col., 1997, en columbiformes). En avestruces, *Cryptosporidium sp.* ha sido citado por varios autores (Gajadhar y col., 1993; Gajadhar, 1994; Bezuidenhout y col., 1993; Penrith y col., 1993; Sotiraki y col., 2001). Los ooquistes hallados tenían forma esférica a subesférica, de unas 4,6 x 4,0 µm de diámetro.

Especies citados en el hombre:

- ***Cryptosporidium muris*** Tyzzer, 1907

Sinónimos: *C. agni*, *C. cuniculi*, *C. garnhami*, *C. rhesi*.

Esta especie ocurre en el intestino delgado y grueso del ratón, hospedador tipo, y también ha sido citada en el hombre, mono, buey, cabra, oveja, ciervo, cerdo, cobaya, caballo, perro, gato, mapache, conejo y ardilla roja. Es una especie de distribución cosmopolita y bastante común. Los ooquistes son esféricos, de 1,5-5 µm en diámetro. Esta especie es moderadamente patógena, pudiendo producir diarreas en animales y en humanos.

- ***Cryptosporidium parvum*** Tyzzer, 1912

Se encuentra en el tracto intestinal del hombre, ratón, ganado doméstico, perros y gatos. Los ooquistes son de 4-5 μm de diámetro, pudiendo ser infectivos durante mucho tiempo en aguas naturales y salinas, pero no sobreviven situaciones de sequía (Anguish & Ghiorse, 1997). La patología depende de la cepa; en humanos, la infección puede pasar desapercibida o puede cursar con diarreas autolimitadas de 1-10 días de duración, con dolores abdominales. En personas inmunodeprimidas los síntomas son más graves, con diarreas importantes que pueden llegar a provocar la muerte por desequilibrio electrolítico.

Los análisis genéticos realizados con aislados inicialmente identificados como *C. parvum* han llevado a identificar otras especies crípticas.

- ***Cryptosporidium hominis*** Morgan-Ryan, Fall, Ward, Hijjawi, Sulaiman, Fayer, Thompson, Olson, Lal y Xiao, 2002

Sinónimos: *Cryptosporidium parvum in parte*

Esta especie está descrita infectando el tracto intestinal del hombre, y se considera no infectante para otros animales. Los ooquistes son morfológicamente idénticos a los de *C. parvum*; miden 4,6-5,4 x 3,8-4,7 μm , con una media de 4,2 μm y con una relación longitud/anchura de 1,15 a 1,21 (media, 1,19).

- ***Cryptosporidium meleagridis*** Salvin, 1955

Sinónimos: *C. anserinum*, *C. tyzzeri*

Especie propia de aves, ha sido también citada en el hombre (Morgan y col., 2000; Pedraza-Diez y col., 2000). Los ooquistes son indistinguibles de los de *C. parvum* (Lindsey y col., 1999). Los casos humanos descritos han correspondido a individuos inmunodeprimidos.

- ***Cryptosporidium felis*** Iseki, 1979

Se encuentra en el intestino delgado y grueso del gato, y también ha sido citado en el hombre, especialmente en inmunodeprimidos (Llorente y col., 2006; Raccurt 2007). Los ooquistes son esféricos, de 4,5 - 5,9 μm de diámetro. Se considera que esta especie es poco patógena para el hombre, aunque puede producirle diarreas.

- ***Cryptosporidium canis*** Fayer, Trout, Xiao, Morgan, Lal y Dubey, 2001
Sinónimos: *C. parvum* - genotipo de perros

Esta especie ocurre en el intestino delgado y grueso del perro (hospedador tipo), coyotes y zorros, pero también ha sido citado en el hombre (Fayer y col., 2001). Los ooquistes son morfológicamente indistinguibles de los de *C. parvum*, con tamaños entre 3,7-5,9 μm , con una media de 4,95 x 4,71 μm y una relación longitud/anchura de 1.04-1.06.

- ***Cryptosporidium suis*** Ryan, Monis, Enemark, Sulaiman, Samarasinghe, Read, Buddle, Robertson, Zhou, Thompson y Xiao, 2004
Sinónimos: *Cryptosporidium parvum* - genotipo de cerdos

Esta especie ocurre en el intestino delgado y grueso del cerdo, pero también se ha descrito en el hombre (Xiao y col., 2002). Los ooquistes son esféricos, de 4,4-5,9 x 4,0-4,3 μm con una media de 4,6 x 4,2 μm y una relación longitud/anchura de 1,1. Puede producir diarreas en humanos (Atwill y col., 1997).

- ***Cryptosporidium sp.***, genotipo de cérvidos

Este genotipo, descrito por Perz y Le Blanq (2001) en cérvidos del estado de Nueva York, fue identificado por Corinne y col. (2002) en muestras humanas de la Columbia Británica (Canadá). El estudio fue realizado con pacientes con síntomas consistentes con criptosporidiosis.

2.2.5. CILIADOS

Este grupo engloba protozoos cuya característica más distintiva es la presencia de cilios. Pueden encontrarse en una gran variedad de hábitats, lo que se refleja en la extraordinaria diversidad morfológica de estos microorganismos. Actualmente se han descrito aproximadamente unas 8.000 especies de ciliados, de las cuales unas 4.300 son de vida libre. Según algunos autores esta última cifra es menor, en torno a unos 3.000. La razón principal de esta diferencia en el número de especies ha sido la falta de una definición clara y concreta del concepto de especie en ciliados, así como la falta de un criterio claro a la hora de establecer los límites de las características morfológicas, las pocas células analizadas para describir especies, la falta de revisiones taxonómicas, o las variaciones según las técnicas de tinción utilizadas. Como resultado, todo ello ha generado un elevado número de sinónimos (Finley y col., 1996).

Historia

En los primeros trabajos de Leuckart (entre 1862-1886), el grupo Infusoria, ya establecido por Dujardin en 1841, estaba formado por dos subgrupos, Monadina (flagelados) y Holotricha (ciliados) por su manera de locomoción; más tarde Leuckart estableció la clase Infusoria, con los órdenes Flagellata y Ciliata; y ésta, a su vez, se dividió en cuatro grupos (sin definición taxonómica): Holotricha, Heterotricha, Peritricha e Hypotricha. En 1880, Kent elevó Ciliata a clase y la incluyó en el grupo Eustomata por tener especies de boca simple. Sin embargo, en el mismo año, Butschli seguía considerando a los ciliados en la clase Infusoria (en la que ya no estaban incluidos los flagelados), con dos subclases: Suctorina y Ciliata. A esta última clase la dividió en dos órdenes: Holotricha (con los subórdenes Astomata, Gymnostomata y Trichostomata) y Spirotricha (con los subórdenes Heterotricha, Hypotricha, Oligotricha y Peritricha).

En 1901, Doflein, reconociendo que los ciliados diferían de los otros miembros del grupo (por ejemplo, en la posesión de dos núcleos -uno vegetativo

y otro reproductor- y en la extensión de su organización cortical), dividió a los protozoos en dos: ciliados (subfilo Ciliophora, con la clase Ciliata) y el resto (subfilo Plasmodroma). En 1903, Lankester crea un grupo sin clasificar llamado “Infusoria o Corticata Heterokaryota”, para agrupar a las clases Ciliata y Acinetaria.

En 1926, Wenyon retoma el subfilo Ciliophora e introduce una nueva clase, Opalinata, para acomodar a las opalinas. Divide el subfilo en dos grupos:

- Grupo 1: Protociliata, con la clase Opalinata y el orden Opalinida.

- Grupo 2: Euciliata, con dos clases, Ciliata y Suctoria. La clase Ciliata a su vez se divide en dos subclases, Aspirigera y Spirigera con los órdenes Heterotrichida y Peritrichida.

En 1930, Kahl asignó a los dos grupos de Wenyon el rango de subclase, considerando una única clase (Ciliata) dentro del subfilo Ciliophora. Incluyó en la subclase Euciliata tres órdenes: Holotricha (con el suborden Trichostomata), Spirotricha (suborden Heterotricha) y Peritricha (suborden Mobila).

En 1936, Pearse y colaboradores, influenciados por Butschli y Doflein, consideraron al subfilo Ciliophora con dos clases: Ciliata y Suctoria. Sin embargo, en 1949, Jahn y Jahn lo agruparon en una única clase con cuatro órdenes: Holotrichida, Spirotrichida, Chonotrichida y Peritrichida.

Tradicionalmente los peritricos habían sido considerados un grupo separado de los otros ciliados por sus características (ciliatura dorsal y cuerpo desprovisto de ciliatura somática). Con la adquisición de nuevos datos y la reinterpretación de los viejos encontrados, en 1950 la escuela de Fauré-Fremiet concluyó que los ciliados peritricos debían ser considerados como otro orden dentro de los holotricos. La clase Ciliata quedaba así dividida en la subclase Holotricha (con los órdenes Trichostomatida y Peritrichida, entre otros) y la subclase Spirotricha (con el orden Heterotrichida, entre otros).

En 1964, en la sistemática de Honigberg y colaboradores, la clasificación de los ciliados fue completamente revisada. En ella se transfieren las opalinas del subfilo Ciliophora al subfilo Sarcomastigophora, y el subfilo Ciliophora (con una sola clase) se divide en cuatro subclases: Holotrichia (con el orden Trichostomatida, entre otros), Peritrichia (orden Peritrichida), Suctoria y Spirotrichia (con el orden Heterotrichida, entre otros); en total, 15 órdenes. Consideró que era más aconsejable separar los peritricos de los holotricos al nivel de subclase, pero colocó la subclase Peritrichia inmediatamente después de la Holotrichia, indicando la cercana afinidad entre los dos grupos, innegable en la clasificación convencional.

En 1974, en la clasificación francesa de Puytorac y colaboradores, los ciliados fueron elevados definitivamente a filo, basándose en la clasificación de 1964 de Raabe, donde ya se consideraba el filo Ciliata. El nuevo filo queda dividido en tres clases: Kinetophragminophorea, Oligohymenophorea y Polyhymenophorea, grupos que se encontraban ya en la clasificación de 1967 de Jankowski. En esta clasificación, la subclase Holotricha desaparece y todas las familias previamente asignadas a esta subclase son reasignadas al orden Trichostomatida, excepto la familia Buetschliidae que se encuadró en el orden Prostomatida. De esta forma, el orden Trichostomatida quedó incluido en la subclase Vestibulifera (clase Kinetophragminophorea); el orden Peritrichida en la subclase Peritricha (clase Oligohymenophorea); y el orden Heterotrichida en la subclase Spirotricha (clase Polyhymenophorea).

En el mismo año 1974, Corliss, a pesar de haber colaborado con Puytorac y los demás autores franceses en la citada clasificación, publicó casi simultáneamente una clasificación de los ciliados diferente (aunque parecida) de la francesa, posteriormente retocada varias veces, la última vez en 1979. Según Corliss, los cambios más significativos son el reconocimiento de tres clases en ciliados (antes solo había una), Polyhymenophorea, Kinetofragminophorea y Oligohymenophorea; La división en siete subclases; y la elevación al rango de filo.

Prácticamente todos los especialistas coinciden en la aceptación del filo Ciliophora, con independencia del resto de los protozoos. Sin embargo, en 1977,

Baker todavía consideró a Ciliophora como un subfilo, con la clase Ciliatea dividida en cuatro subclases: Holotrichia, Spirotrichia, Peritrichia y Suctorina.

En 1976, Small sugirió que el filo Ciliophora se dividiera en dos subfilos: Cyrtophora y Rhabdophora, por las distintas estructuras orales de los trofozoitos. En 1981, Small y Lynn afirmaron que las características del cortex y de los núcleos permiten definir un tercer subfilo, Postciliodematophora (un nombre propuesto en 1976 por Gerassimova y Seravin).

En 1980, en la sistemática de Levine y colaboradores, el filo Ciliophora pasó a tener 22 órdenes. El sistema es semejante al de la clasificación francesa de 1974 e indudablemente está inspirado en ella. La clase Oligohymenophorea se divide en dos subclases: Hymenostomatia (con tres órdenes) y Peritrichia (con un orden). De estos cuatro órdenes, solo hay uno que no se hallaba en la clasificación de 1974, el orden Scuticociliatida. En la clase Polyhymenophora, su única subclase Spirotrichia se ha visto reducida a cuatro de los seis órdenes de que se componía en la antigua clasificación, desapareciendo el orden Tintinnida y pasando el orden Entodiniomorphida a integrarse con los kinetofragminoforos.

En 1993, según Cox, Ciliophora es ya considerada como un grupo distinto y coherente y la biología molecular no ha alterado esto. Además, todas las evidencias sugieren que el filo es monofilético. Sin embargo, no existe un acuerdo general en la clasificación de los ciliados. Existen controversias respecto a la sistemática de algunos taxones, especialmente dentro de las dos clases (Prostomatea y Litostomatea) que se encuentran dentro del subfilo Rhabdophora (y que incluye la mayoría de los ciliados parasitológicamente importantes) (Small, 1976). Así, algunos autores elevan el orden Trichostomatida a subclase, con dos importantes órdenes: Vestibuliferida y Entodiniomorphida (Corliss, 1979; Small y Lynn, 1985; Margulis y col., 1989).

En 1993, en la clasificación de Cavalier-Smith, basada fundamentalmente en análisis genéticos, los ciliados siguen como filo único, Ciliophora, conteniendo 8 clases, entre ellas la clase Litostomatea, con la subclase Trichostomatida.

En definitiva, en el desarrollo de la clasificación de Ciliophora se pueden apreciar cuatro periodos principales (según Corliss, 1974):

1. El periodo de su descubrimiento: época de Butschli (1880-1930).
2. El periodo de su “explosión”: época de Kahl (1930-1950). Se describen un gran número de especies, basándose esencialmente en diferencias estructurales, distribución externa de los cilios y orgánulos ciliares. La principal diferencia con las sistemáticas anteriores es el mayor número de taxones debido al incremento del numero de especies conocidas.
3. El periodo de la infraciliatura: época de Fauré-Fremiet (1950-1970). Se emplean como caracteres para diferenciar especies las características de la infraciliatura, y se aplican nuevos conceptos de interrelaciones filogenéticas.
4. El periodo de la ultraestructura: época post-Fauré-Fremiet (desde 1970). Hay un gran incremento en el número de taxones debido al descubrimiento de muchísimas especies y a evidencias ultraestructurales, no detectadas en años anteriores.

Hoy día, la taxonomía de los ciliados depende de su estructura ciliar (posición y disposición de los cinetosomas) y la evolución de los patrones de distribución ciliar durante la división celular (Roberts y Janovy, 2005). El problema surge cuando las relaciones filogenéticas basadas en los criterios morfológicos no coinciden con la basadas en técnicas moleculares (Bernhard y col., 2001; Petroni y col., 2002).

Posición taxonómica

El único género de ciliados descrito hasta el momento con especies parásitas del hombre, y que también ha sido citado en avestruces, es *Balantidium*, y su encuadre taxonómico sería (según Levine y col., 1980, y Cavalier-Smith, 2004) el siguiente:

<p>derivados de las partes anteriores de las cinétidas somáticas, normales o reorganizados y guiados hacia el citostoma. Especies de vida libre o parásitas del tracto intestinal de vertebrados o invertebrados.</p> <p>ORDEN TRICHOSTOMATIDA No se presenta reorganización de los cinétidas somáticas al nivel del vestíbulo, salvo una alineación mas compacta de los cinetosomas o una adición de segmentos de los cinétidas. Muchas especies son endocomensales de vertebrados.</p> <p>SUBORDEN TRICHOSTOMATINA Se presentan con la ciliatura somática no reducida.</p> <p>Familia Balantidiidae Género <i>Balantidium</i></p>	<p>pared oral o al vestíbulo. Casi todas las especies son endosimbiontes en vertebrados.</p> <p>ORDEN VESTIBULIFERIDA Presenta la región oral en un surco y es densamente ciliado, sin policinétidas.</p> <p>Familia Balantidiidae Género <i>Balantidium</i></p>
---	---

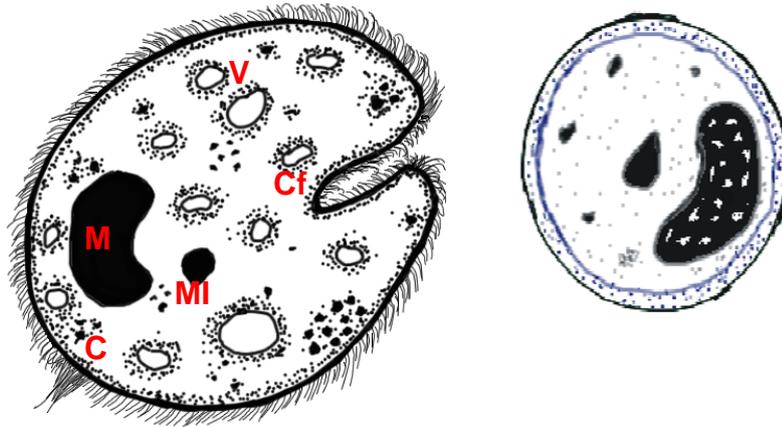
CARACTERES GENERALES

La mayoría de los ciliados son de vida libre y su tamaño oscila entre 4,5 μm y 110 μm . Las especies de vida libre tienen una gran variedad de nichos ecológicos, las formas simbióticas se encuentran tanto en vertebrados como en invertebrados, y relativamente pocos ciliados pueden ser considerados como verdaderos parásitos.

Como característica más distintiva, estos protozoos poseen cilios en al menos un estadio de su ciclo de vida, distribuidos en varias zonas del cuerpo y/o alrededor de su *boca* (citostoma). Dichos cilios tienen fundamentalmente una función locomotora y para la alimentación (generando corrientes que dirigen el alimento hacia el citostoma), y menos frecuentemente, pueden tener una función táctil.

Figura 2.30: Esquema de *Balantidium* sp., trofozoito (izquierda) y quiste (derecha).

M: macronúcleo; MI: micronúcleo; V: vacuolas; C: citopigio; CF: citofaringe.



El citostoma está asociado en algunos grupos a un atrio más o menos desarrollado, el vestíbulo o cavidad bucal, acompañado de una citofaringe. La nutrición es fagotrófica, ingiriendo los nutrientes a través del sistema citostoma-citofaringe. Después de la digestión, el residuo de las vacuolas digestivas es excretado a través del ano celular, que puede ser una estructura bien definida (citoprocto) o un área menos organizada (citopigio). También hay vacuolas contráctiles cuya función principal es regular el contenido en agua del citoplasma y la concentración de iones.

Con algunas excepciones, los ciliados poseen uno o más micronúcleos diploides y uno o más macronúcleos poliploides. El macronúcleo regula el metabolismo de la célula y el micronúcleo se encarga de la genética y recombinación sexual.

Habitualmente, durante el ciclo biológico las células se multiplican por fisión transversal binaria, denominada homotetogonia, con el plano de división perpendicular al eje anteroposterior del cuerpo. En algunas especies pueden darse también fisiones múltiples.

2.2.5.1. Familia Balantidiidae

Las características generales de este grupo son una citostoma localizado en la base anterior del vestíbulo, y una ciliatura somática uniforme.

Género *Balantidium* Claparède y Lachmann, 1858

El cuerpo es ovalado, elipsoidal a subcilíndrico, y con el macronúcleo alargado. Hay un solo micronúcleo y el citopigio y la vacuolas contráctiles se localizan en el extremo opuesto al del citostoma. Muchas especies de *Balantidium* han sido descritas según el hospedador en el que se han encontrado. Este criterio es discutible, y muchas de dichas especies son consideradas actualmente sinonimias.

Especies descritas en aves:

- *Balantidium struthionis* Hegner, 1934

Esta especie es un habitante normal de intestino del avestruz. Aunque en general se considera un comensal, algunos autores consideran que puede llegar a ser patógeno en ciertas condiciones (Huchzermeyer, 1999). La especie fue descrita a partir de trofozoitos encontrados en avestruces de un zoo de Estados Unidos, utilizando como criterios diferenciales la especie de hospedador y pequeñas diferencias morfológicas. Los trofozoitos son ovales, con un tamaño de 45-70 x 35-48 μm y con el citostoma subterminal. El macronúcleo es de forma de riñón, en ocasiones presentando una fuerte curvatura que le da un aspecto de V. Con frecuencia se observan vacuolas contráctiles en la zona posterior, y también vacuolas conteniendo gránulos de almidón y bacterias. La descripción inicial de la especie dada por Hegner (1934) no incluye las características de los quistes. En trabajos posteriores, estos quistes han sido citados con tamaños entre 40 y 52 μm de diámetro (Vera y col., 2004).

- ***Balantidium* sp.**

Algunos autores han descrito quistes compatibles con *Balantidium* en avestruces, pero sin realizar una identificación específica (Jansson y Christensson, 2000). Pennycoat y Patterson (2001) encuentran quistes de entre 49-51 μm , y Sotiraki y col. (2001) describen los quistes con un tamaño entre 45-65 μm de diámetro y un macronúcleo grande con una depresión en un lado.

Especies descritas en el hombre:

- ***Balantidium coli*** (Malmsten, 1857) Stein, 1862

Sinónimos: *B. aragoi*, *B. caviae*, *B. cunhamunizi*, *B. philippinensis*, *B. rhesum*, *B. simile*, *B. suis*, *B. wenrichi*.

La especie aparece por todo el mundo en el ciego de muchos animales, siendo más común en el cerdo y menos en el hombre. Los trofozoitos son ovals, con una gran variación de tamaños (30-150 x 25-120 μm) y con el citostoma subterminal. El macronúcleo tiene forma de riñón, a veces muy doblado. En el cerdo, *B. coli* es normalmente comensal en la luz del intestino grueso donde vive de almidón y bacterias, y por sí solo no puede invadir la mucosa intestinal. En el hombre puede ser comensal, pero también puede ser un invasor secundario que se aproveche de lesiones causadas por otras patologías; en tal caso, puede causar diarreas y, en los casos más graves, la muerte.

2.2.6. BLASTOCYSTIS

Historia

Desde sus primeras descripciones, la situación taxonómica de *Blastocystis* ha sido controvertida. A lo largo de la historia ha sido considerado sucesivamente como protozoo, hongo, forma degenerativa o quística de protozoos flagelados, o incluso un alga (Zierdt, 1991). También ha sido confundido en numerosas ocasiones con diversos artefactos, células degeneradas, células normales animales y vegetales, e incluso con levaduras (Zierdt, 1991).

Durante la epidemia de cólera que tuvo lugar en Europa entre los años 1847-1848, un médico llamado Brittan encontró unos corpúsculos en las heces de sus pacientes y los denominó cuerpos anulares. Casi al mismo tiempo, en 1849, Swayne describió unos cuerpos aplastados y transparentes cuya cubierta presentaba una gran refringencia y los denominó "células cólera". En 1867 Hallier, al observarlos en un estudio sobre hongos, concluye que son organismos pertenecientes al género *Urocystis*. En 1881 Grassi los encontró en el ciego intestinal de las gallinas. En ese mismo año, Perroncito considera a los organismos de este tipo encontrados en cobaya como quistes de *Trichomonas*, y autores como Hunstler en 1898, Prowazek en 1907, Benson en 1909 o James en 1914, apoyan esta opinión. En 1888 Cunningham encontró estos mismos organismos en heces de vertebrados de sangre caliente (vaca, caballo y el hombre) y los llamó células esporoides. En 1910 Wenyon interpreta que derivan de *Chilomastix*, y por su parte Mackie, en 1915, los relaciona con *Entamoeba intestinalis*. En 1911 Alexeieff estudia el contenido intestinal de tritones y concluye que los supuestos quistes de *Trichomonas* son hongos ascomicetos blastosporados parecidos a levaduras (basándose para esta afirmación en la estructura del núcleo) y crea el género *Blastocystis*, con la especie *B. enterocola*. En 1912 Brumpt considera que se trata de una levadura intestinal inofensiva y crea nuevas especies dentro del género: *B. hominis*, en el hombre; *B. cercophiteci*, en el mono (*Cercopithecus ruber*); *B. bufonis* en el sapo (*Bufo vulgaris*); y *B. sanguisugae* en la sanguijela (*Haemophis*

sanguisugae), considerando como criterio de diferenciación el tipo de hospedador. Posteriormente, en 1916, Wenyon sostiene que *Blastocystis* es un organismo vegetal, aunque apunta que también hay organismos flagelados o ameboides que en un estado degenerativo pueden desarrollar una vacuola central imitando la forma de los vegetales. Chatton, en 1917, considera que en *Blastocystis* terminan por formarse los flagelados. Seguía sin estar muy clara la naturaleza de *Blastocystis* pese los estudios de Alexeieff, cuando en el libro *Micología Parasita* de Sartory, publicado en 1921, se clasificó como “hongo dudoso” en el final del capítulo de Blastomicetes. Incluso Brumpt, en 1922, los consideró como hongos hifomicetos talosporídicos en la cuarta edición del libro *Precis de Parasitologie*. En ese mismo año, Aragao afirma que estos protozoos no se deben diferenciar según los animales que parasitan, sino en base a las diferentes formas evolutivas que presentan.

En 1936 Guevara Pozo descarta la posibilidad de que estos organismos sean de naturaleza vegetal. Concluye que son formas que adoptan los flagelados intestinales para protegerse de una variación osmótica del medio. En 1941, Lopez-Neyra, Guevara Pozo y Suárez Peregrin deducen que *Blastocystis* corresponde a formas de flagelados parecidas a *Enteromonas*, pudiendo incluirse entre los protozoos intestinales humanos.

En 1967, Zierdt y colaboradores ponen de manifestó que estos organismos poseen características mas afines a protozoos que a levaduras. Al observarlos en cultivo comprueban que son organismos extremadamente polimórficos y que pueden adoptar varias formas típicas (vacuolar, granular y ameboides). Posteriormente, el mismo Zierdt (1973) añade nuevas formas, especifica las descritas con anterioridad y resume algunas características estructurales que hacen válida su inclusión como protozoo.

En 1989, Johnson y colaboradores realizaron un análisis filogenético de *Blastocystis hominis* basándose en la comparación de la secuencia del RNA ribosómico de la subunidad pequeña y contrastaron cuatro hipótesis: que

Blastocystis es una levadura, un apicomplejo, un sarcodino o no está relacionado de cerca con ninguno de estos grupos. Las relaciones con todos los grupos fueron rechazadas según los datos obtenidos. A la vista de los resultados sugirieron que *Blastocystis* debería ser tratado como *incertae sedis*. Jiang y He (1993) discuten el estatus taxonómico de *B. hominis* y concluyen que no debería ser asignado al subfilo Sarcodina ni situado en los Apicomplejos; proponen un nuevo subfilo, Blastocysta, clase Blastocystea, orden Blastocystida, familia Blastocystidae y género *Blastocystis*, del que *B. hominis* sería la especie tipo. En 1994, basándose en análisis cladísticos, Hollebeke y Mayberry apuntan que *Blastocystis* debería permanecer como género de posición incierta dentro de los protozoos sarcodinos. Consideran que el propuesto subfilo Blastocysta no posee los criterios necesarios para esa categoría taxonómica.

En los esquemas actuales, Cavalier-Smith (1998, 2004) ha mostrado que poseen una semejanza filogénica hacia los cromistas, aunque éste no es un hecho universalmente aceptado en el mundo taxonómico. En la clasificación taxonómica de Adl y col. (2005), *Blastocystis* queda encuadrado en el supergrupo Chromoalveolata, primer rango Stramenopiles, segundo rango Opalinata y tercer rango *Blastocystis*.

Posición taxonómica

Después de varios intentos de clasificación cuya aceptación no fue duradera (Zierdt y Tan, 1976; Zierdt, 1988; Jiang y He, 1993), las últimas propuestas incluyen al género *Blastocystis* como único género dentro del orden Blastocystea, subfilo Opalinata, infrareino Heterokonta, subreino Chromobiota, reino Chromista (Tan, 2004). Para la clasificación de este organismo se ha manteniendo la tendencia de la base filogenética explicada por Cavalier-Smith (2004).

Levine y col. (1980)	Cavalier-Smith (2004)
<p>En la clasificación de 1980 se considera como un <i>incertae sedis</i> y no se incluye a <i>Blastocystis</i> en los Protistas, aunque posteriormente Levine (1985) lo clasifica de la siguiente manera:</p> <p>REINO PROTISTA SUBREINO PROTOZOA FILO SARCOMASTIGOPHORA SUBFILO SARCODINA SUPERCLASE RHIZOPODA CLASE LOBOSEA SUBCLASE GYMNAMEBA ORDEN AMOEBIDA SUBORDEN BLASTOCYSTINA Familia Blastocystidae <i>Blastocystis</i></p> <p>Esta clasificación nunca ha sido aceptada de forma general</p>	<p>REINO CHROMISTA</p> <p>Organismos predominantemente fotosintéticos que poseen los cloroplastos en el interior del retículo endoplásmico separados de la luz por una única membrana periplastidial lisa. Algunos grupos han perdido los cloroplastos</p> <p>SUBREINO CHROMOBIOTA</p> <p>Organismos unicelulares fundamentalmente biflagelados, con dos flagelos heterocontos situados en surcos o depresiones, aunque pueden aparecer formas aflageladas cocoides, filamentosas, palmeloides o amebóides. Generalmente fotosintéticos, aunque también hay formas heterótrofas: saprofiticas, parásitas, simbióticas y holozoicas.</p> <p>INFRARREINO HETEROKONTA</p> <p>Flagelos desiguales en tamaño o forma. Contienen típicamente clorofilas a y c aunque la mayoría de los heterocontos basales no están coloreados, lo que parece sugerir que la separación tuvo lugar antes de la aparición de cloroplastos en el grupo.</p> <p>FILO BIGYRA</p> <p>Organismos fagotrofos no-fotosintéticos ciliados, flagelados y mohos. Heterocontas ancestrales.</p> <p>SUBFILO OPALINATA</p> <p>Cilios cubriendo toda la superficie en filas oblicuas, pero falta la infraciliación típica de los auténticos ciliados. División binaria generalmente longitudinal. Reproducción sexual con singamia compleja y con gametos flagelados.</p> <p>CLASE BLASTOCYSTEIA</p> <p>Sin flagelos. Anaerobios. Carecen de citocromos. Poseen dos o más núcleos.</p>

	ORDEN BLASTOCYSTIDA Orden único dentro de la clase. Familia Blastocystidae <i>Blastocystis</i>
--	---

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Blastocystis es un organismo polimórfico, atravesando en su ciclo biológico por las formas vacuolar, granular, ameboide y quística. Menos frecuentes son las formas descritas como avacuolares, multivacuolares, o con inclusiones filamentosas (Stenzel y Boreham, 1996; Stenzel y col., 1994, 1996). A pesar de los numerosos estudios que hay sobre este parásito, existen pocos sobre el desarrollo del quiste a las formas vacuolares (Zaman y col., 1999; Chen y col., 1999; Moe y col., 1999). Precisamente, la forma encontrada habitualmente en muestras fecales y usada como referencia en el diagnóstico e identificación es la forma vacuolar, ya que es la forma más comúnmente encontrada en el hospedador. Las características de los distintos tipos morfológicos son las siguientes (figura 2.31):

Forma vacuolar: Puede variar de esférica a ovoide o elipsoidal, con un rango de tamaño entre 4 y 15 μm de diámetro en heces frescas y de 15 a 25 μm en cultivo (Stenzel y Boreham, 1996). No son móviles y poseen una capa superficial de una anchura variada que engloba el organismo. La membrana plasmática tiene pequeñas depresiones en la cubierta que parecen tener alguna función durante la endocitosis. La forma más habitual es esférica y se caracteriza por una gran vacuola central que puede ocupar el 90% del volumen celular, y contiene gránulos finos de material flocular que varía en densidad y con una posible función de almacenaje.

El gran tamaño de la vacuola relega el citoplasma a un fino anillo periférico en el que se localizan los núcleos y orgánulos como mitocondrias, aparato

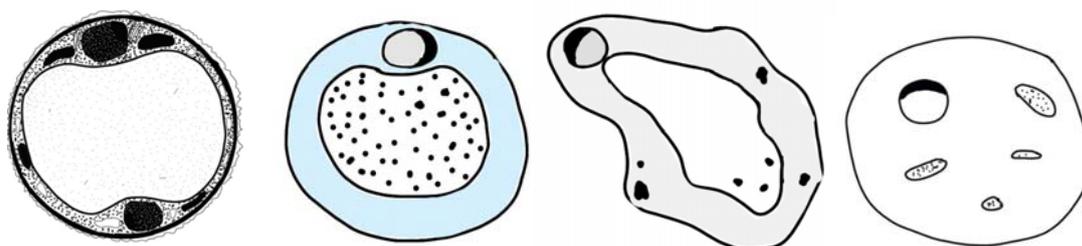
de Golgi y el retículo endoplásmico rugoso. Los orgánulos de mayor tamaño suelen estar agrupados en las porciones anchas del citoplasma, normalmente localizados en extremos opuestos de la célula. Pueden tener un único núcleo, pero puede haber hasta 2 ó 4, siempre localizados en el borde del citoplasma. En los organismos binucleados los núcleos suelen estar en extremos opuestos, y en los tetranucleados se encuentran más o menos equidistantes en la la periferia de la célula.

Forma granular: Se encuentra raramente en heces y es abundante en los cultivos. Morfológicamente es similar a la vacuolar, con la excepción de que se forman gránulos en el citoplasma y en la vacuola central (Dunn y col., 1989). Se distinguen tres tipos de gránulos catalogados como metabólicos, reproductivos y lipídicos.

Forma amoeboide: Está presente en los cultivos y en las heces frescas, fundamentalmente diarreicas. Se caracterizan por poseer uno o dos núcleos en posición central, emitir pseudópodos tróficos y carecer de vacuola central. Se pueden observar bacterias fagocitadas dentro de estructuras tipo lisosoma.

Forma quística: Estos quistes fecales suelen ser ovales y están protegidos por una pared quística de múltiples capas. Se rodea por una capa fibrilar que se pierde al madurar el quiste. En el interior se pueden apreciar de uno a cuatro núcleos, vacuolas múltiples y depósitos de glucógeno y lipídicos.

Figura 2.31 : Tipos morfológicos presentes en *Blastocystis*. De izquierda a derecha: formas vacuolar, granular, amoeboide y quística.



Por lo que respecta al ciclo biológico y a los modos de división, se han producido considerables desacuerdos entre los expertos. En 1996, Stenzel y Boreham demuestran que se produce división por fisión binaria. El quiste se trasmite vía fecal-oral, siendo ingerido por hombres o animales y desarrollándose la forma vacuolar en el intestino del hospedador. Allí, esta forma se reproduce por fisión binaria, y algunas enquistan (perdiendo su capa fibrilar mientras se produce la maduración del quiste). La transición a las fases ameboide y granular sigue siendo poco conocida, y se piensa que son las formas vacuolares las que se convierten en formas ameboides o granulares; pero se desconoce el cómo y el cuándo de esta transición (Singh y col., 1995; Tan, 2002, 2004; Noel y col., 2005).

2.2.6.1. Familia Blastocystidae

Como se ha mencionado antes, se ha creado una nueva clase, Blastocystea, en la que se ha incluido como género único a *Blastocystis*. Por tanto, esta familia tiene las características antes descritas.

Género *Blastocystis* (Alexeieff, 1911) Belova y Kostenko, 1990

Este parásito es extremadamente común, con una distribución mundial. Según citan Boreham y Stenzel (1993), *Blastocystis* está distribuido por todo el reino animal y es particularmente común en pollos, cerdos, monos y el hombre. Yamada y col. (1987) dan la primera cita de *Blastocystis* en aves, y Belova (1992) recoge varias especies de *Blastocystis* de hospedadores vertebrados e invertebrados y las relaciona con su distribución geográfica, además de discutir la especificidad por el hospedador (Belova, 1995). Se han propuesto nuevas especies dentro del género basadas puramente en aspectos morfológicos y de hospedador; *B. anatis* de pato, *B. anseri* de ganso, *B. meleagris*, de pato, *B. galli* de gallina, o *B. numidae* en gallos, pintadas, patos y gansos (Belova, 1991, 1992). La existencia de diferentes especies ha sido confirmada por técnicas biomoleculares por Abe y col. (2003).

Blastocystis sp. ha sido citado en cucarachas recogidas en cloacas en Singapur por Zaman y col. (1994), donde se encontraron quistes en heces y se sugirió como posible modo de transmisión a los humanos.

Aunque hay varias especies de *Blastocystis* descritas en diferentes hospedadores (con mayor o menor grado de aceptación entre los diversos autores), la especie tipo es *Blastocystis hominis*, y es ésta la más ampliamente citada y reconocida de modo general. Por su parte, *Blastocystis* sp. aparece citado de esta forma en muchos grupos zoológicos como son primates, suidos, bóvidos, anfibios, roedores, reptiles, insectos y también aves (Belova y Kontensko, 1990; Zaman y col., 1994; Chen y col., 1997, 1999; Lee y Stenzel, 1999; Yoshikawa y col., 2004).

Especies citadas en aves:

- *Blastocystis anatis* Belova, 1991
- *Blastocystis anseris* Belova, 1992
- *Blastocystis galli* Belova, 1992
- *Blastocystis meleagridis* Belova, 1992
- *Blastocystis numidae* Belova, 1992

Todas estas especies han sido citadas parasitando el tracto digestivo de diversas especies de aves (respectivamente, patos; gansos; gallos, pavos y pintadas; patos y gansos; y perdices). Sin embargo, los criterios empleados para la identificación suelen basarse en características morfológicas y rangos de hospedador, a veces dudosos. Por este motivo es probable que la mayoría, si no todas las designaciones, correspondan a sinonimias. La morfología, en todos los casos, se corresponde con los caracteres generales descritos anteriormente para el género y la familia.

- *Blastocystis* sp.

Bajo esta denominación, varios autores han descrito formas compatibles con este parásito en aves (Yamada y col., 1987; Stenzel y col., 1994; Sotiraki y col., 2001). En algunos de estos trabajos se considera que el organismo descrito podría ser una especie diferente, pero no se propone nombre (Stenzel y col., 1994).

Especies citadas en el hombre:**- *Blastocystis hominis* Brumpt, 1912**

Sinónimos: *Blastocystis enterocola*, *Blastocystis gemmagina*.

Las primeras descripciones, escritas pero no dibujadas, de un organismo que parece ser *B. hominis* fueron realizadas en 1899 por Perroncito. Alexieff en 1911 describió la especie *B. enterocola* considerando que era una levadura, y un año después Brumpt describió el mismo organismo en heces humanas, denominándolo *B. hominis*. Aunque la denominación *enterocola* es anterior a *hominis*, y por tanto debería ser con la que se identificara a la especie, se consideró en un primer momento que la descripción *hominis* debía prevalecer por haber sido hecha sobre un organismo encontrado en heces humanas. Este criterio, aunque no cumple con los requisitos actuales del Código de Nomenclatura, es el que ha permitido que la especie sea habitualmente conocida como *B. hominis*.

Esta especie es de distribución mundial y comúnmente citada en el tracto intestinal del hombre. En los últimos años está siendo foco de atención por su potencial patogenicidad, clara para unos autores y no demostrada para otros. Cada vez más de autores mencionan a *B. hominis* como agente causal de patologías, asociado o relacionado con la sintomatología clínica.

Revisión bibliográfica

Garavelli y col. (1992) se han referido a la enfermedad producida por *Blastocystis* como enfermedad de Zierdt-Garavelli. Las manifestaciones clínicas que se presentan con mayor frecuencia son las referidas al aparato digestivo, pero también se han descrito casos con sintomatología extraintestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Las muestras analizadas en este estudio tienen dos orígenes. Por un lado se han procesado bolos fecales recogidos directamente en las instalaciones de cría (muestras de granja) y por otro lado, órganos, sangre y contenidos intestinales procedentes de distintos niveles del tracto digestivo, recogidos inmediatamente después de la muerte del animal en instalaciones de sacrificio (muestras de matadero). En todos los casos, las muestras se han obtenido en el periodo 1997-2002.

3.1.1. MUESTRAS DE GRANJA

Muestras fecales

Los muestreos se han intentado realizar en granjas situadas en todo el territorio nacional. En cada granja se intenta muestrear al menos el 10% de los corrales con animales, mediante la recogida de bolos fecales seleccionados aleatoriamente e identificados por el corral en el que se han tomado. Consideramos como unidad de muestreo el corral, y no el individuo, debido a dos factores: primero, estas aves ingieren todo lo que se encuentra a su alcance, incluyendo bolos fecales propios o de otros individuos del corral; y segundo, los protozoos intestinales considerados en este estudio tienen todos un ciclo directo. En consecuencia, todos los individuos del mismo corral tendrán los mismos parásitos si llevan juntos el tiempo suficiente. De acuerdo con este supuesto, los corrales a muestrear deben cumplir los siguientes requisitos para considerar válida la toma de muestras mezcladas por corral:

- los animales deben llevar juntos el tiempo suficiente para que los parásitos que pudieran albergar se hayan transmitido a todas las aves del corral. Consideramos como tiempo mínimo de convivencia para asegurar este requisito, que los animales lleven juntos al menos un mes.

- no debe haberse realizado ningún tratamiento farmacológico en al menos un mes antes del muestreo, para asegurar que no hay resultados (o falta de resultados) debidos a dichos tratamientos.

Teniendo en cuenta estas condiciones, las muestras fecales se recogen agrupando como una muestra única las del mismo corral, y por tanto, al hablar de muestras granja, debe entenderse que cada muestra corresponde a un corral. Los distintos bolos fecales de cada corral se seleccionan al azar de entre los de reciente deposición. En la toma de las muestras se toma una parte de cada bolo, teniendo cuidado de que no esté contaminado con ácido úrico o con restos del suelo. Las muestras así tomadas se introducen en bolsas de plástico herméticamente cerradas, limpias y nuevas con el fin de evitar posibles contaminaciones. Dichas bolsas se rotulan convenientemente y se transportan al laboratorio entre 1 hora a 2 días desde su recogida; siempre que sea posible se transportan en refrigeración (4-8°C), y en cualquier caso siempre que el tiempo de llegada al laboratorio sobrepase las 12 horas post-recogida.

Ejemplares completos para necropsia

Ocasionalmente se tuvo acceso a ejemplares muertos por diversos motivos en las propias instalaciones de cría (enfermedades, sacrificio de animales con patologías físicas, muertes debidas a la fauna salvaje, etc.). Con dichos ejemplares se siguió el mismo protocolo descrito a continuación para animales sacrificados en matadero.

3.1.2. MUESTRAS DE MATADERO

En los muestreos realizados en matadero, debe entenderse que cada muestra corresponde a un individuo hospedador. El criterio para determinar el número de animales muestreados en cada tanda de sacrificio fue establecido *a priori*, teniendo en cuenta la procedencia de los avestruces sacrificados. Si todos

proceden de una misma granja, se toman muestras de cinco animales seleccionados al azar; si el número de granjas es superior a dos, se seleccionan aleatoriamente tres avestruces por cada una de ellas. Todas las muestras fueron obtenidas en las instalaciones del matadero Madrid Norte, situado en San Agustín de Guadalix (Madrid), siendo transportadas al laboratorio en un tiempo inferior a las 2 horas post-sacrificio.

Durante la toma de muestras se realizan una serie de observaciones *in situ* para detectar la presencia de parásitos, así como a la obtención de distintos tipos de muestras biológicas para su posterior análisis en el laboratorio. El protocolo seguido, según los órganos muestreados, es el siguiente:

Tráquea, esófago y proventrículo

Se realiza una apertura longitudinal de los mismos y se observan las paredes internas buscando la presencia de estructuras macroscópicas o de alteraciones que puedan indicar la presencia de parásitos.

Hígado , corazón y riñón

Se observan directamente tras su extirpación, y se realizan a continuación cortes buscando la presencia de estructuras macroscópicas o de alteraciones.

Músculo y cerebro

Se realiza la observación directa de las canales limpias, buscando la presencia de estructuras o alteraciones que puedan indicar la presencia de parásitos. También se toman muestras de tejido muscular de la zona del cuello.

Material y Métodos

Las muestras de tejido cerebral se obtienen mediante aspirado de parte de la masa encefálica a través del orificio occipital, con ayuda de una pequeña cánula.

Tanto las muestras de músculo como las de cerebro se introducen en botes de cierre hermético convenientemente etiquetados. Se recoge siempre material suficiente de cada tipo de muestras para posteriormente, en laboratorio, poder guardar una parte congelada a -20°C.

Sangre

Se recoge durante el sangrado del ave en el momento de su sacrificio. Se toman de cada animal dos muestras de 20-40 ml, en tubos de centrifuga de 50 ml con tapón de rosca: una con anticoagulante (5% EDTA) para el estudio de parásitos hemáticos, y otra sin él para la obtención de suero.

Intestino delgado

Se realiza su apertura longitudinal, recogiendo (mediante un ligero rascado) el contenido de las zonas correspondientes al duodeno y a la sección central del yeyuno y del ileon. Cada contenido se guarda en tubos de centrifuga de 50 ml con tapón de rosca, convenientemente etiquetados.

Ciegos

Se realiza la recogida del contenido de uno de los ciegos intestinales (seleccionado al azar), en tubos de centrifuga de 50 ml con tapón de rosca.

Intestino grueso

Se toma el contenido del tramo anterior (a unos 50 cm después de la unión intestino delgado - ciegos - grueso), de la sección central del tramo medio, y de los últimos 75 cm de la región posterior. El contenido del grueso posterior es recogido en frascos de toma de heces de boca ancha, y el resto de las muestras en tubos de centrifuga de 50 ml con tapón de rosca.

3.2. PROCESADO DE LAS MUESTRAS

3.2.1. HECES (bolos fecales)

Una vez en el laboratorio se realiza un examen en fresco de la muestra anotando sus características macroscópicas (consistencia, color, olor y presencia de organismos o estructuras parasitarias). A continuación, se homogeneiza el contenido de cada bolsa y se realiza el examen microscópico, constando éste de varias partes:

- Examen directo: observación entre porta y cubre de la muestra. En el caso de detectar formas móviles compatibles con protozoos, se describen las características del movimiento así como la densidad parasitaria y se procede a la realización de una extensión para tinción con Giemsa Suárez-Peregrín.
- Concentración de la muestra empleando el método de Bailenger. El resultado de la concentración se observa al microscopio directamente o con una gota de Lugol. Las muestras positivas se conservan en formol al 10%. Además, se realizan frotis para tinción al menos con Tricómico y Negro de Clorazol a partir de muestras frescas, en aquellos casos en los que aparezcan quistes en los concentrados. También a partir de muestras frescas se realizan tinciones con Zielh-Nielsen, buscando la presencia de ooquistes de apicomplejos.

- Rehidratación con agua destilada e incubación a 37°C durante un mínimo de un día y un máximo de cinco. Transcurrido este periodo se realiza una observación entre porta y cubre, procediendo de la manera descrita en el examen directo.

3.2.2. CONTENIDO DE INTESTINO DELGADO Y CIEGO

Se procede directamente al examen microscópico. En primer lugar se realiza una observación directa entre porta y cubre. En el caso de detectar formas móviles, compatibles con protozoos, se describen las características del movimiento así como la densidad parasitaria. Independientemente del resultado se lleva a cabo la elaboración de un frotis teñido con Giemsa Suárez-Peregrín de cada una de las muestras.

3.2.3. CONTENIDO DE INTESTINO GRUESO

El procedimiento varía dependiendo de la zona del intestino a analizar:

- zonas anterior y media del grueso: observación en fresco. En el caso de detectar formas móviles, compatibles con protozoos, se anotan las características del movimiento y la densidad parasitaria. En cualquier caso, y tras la observación en fresco, se realiza una extensión fina y posterior tinción con Giemsa según el método de Suárez-Peregrín.
- zona posterior: se lleva a cabo una concentración según el método de Bailenger. Las muestras positivas se conservan en formol 10%. Además, se realiza una tinción con Tricrómico y Negro de Clorazol a partir de las muestras frescas en cuyos concentrados aparecen quistes, y tinción de Ziehl-Nielsen buscando ooquistes de coccidios.

3.2.4. SANGRE

Las muestras de sangre sin anticoagulante son centrifugadas durante 10 minutos a 2000 rpm y se separa el suero, que es conservado hasta el momento de su procesado (en técnicas inmunológicas; ver apartado 3.4.4) a -20°C, en viales convenientemente etiquetados.

Las muestras de sangre con anticoagulante son sometidas a examen directo entre porta y cubre, y a la realización de un frotis para su tinción con Giemsa y posterior observación al microscopio (Dannemann y col., 1990).

3.2.5. TEJIDOS Y ÓRGANOS

Una parte de las muestras de cerebro y músculo es guardada a -20°C tras la llegada al laboratorio, mientras que el resto se guarda en formol 10% a temperatura ambiente hasta el momento de su procesado.

Las muestras de los órganos internos fueron diseccionadas y analizadas en estereomicroscopio con aumentos de 7,5x-64x.

3.3. PARÁMETROS CONSIDERADOS EN EL ESTUDIO DE LOS PROTOZOOS

El estudio de los protozoos se lleva a cabo desde un punto de vista morfológico y morfométrico de las células teñidas, así como por las características del movimiento (especialmente útiles para la identificación y caracterización de los flagelados). Los parámetros morfológicos cuantificados en cada tipo de organismo fueron:

Amebas

- en los trofozoitos:
 - longitud mayor del cuerpo celular
 - anchura mayor del cuerpo celular
 - tamaño del núcleo
 - presencia y características de las vacuolas
- en los quistes:
 - tamaño del quiste
 - número de núcleos
 - tamaño, forma y disposición del cariosoma
 - distribución de la cromatina periférica.

Flagelados intestinales

- en los trofozoitos:
 - longitud del cuerpo celular
 - anchura del cuerpo celular
 - longitud del/los flagelos anteriores
 - longitud del/los flagelos posteriores
 - longitud del flagelo recurrente
 - longitud de la proyección o punta axostilar
 - porción libre de membrana ondulante
 - tamaño del núcleo
- en los quistes:
 - tamaño del quiste
 - tamaño del/los núcleos.

Además, se atiende a la morfología y distribución de estructuras particulares como citostoma, gránulos paracostales, vacuolación, textura citoplasmática etc.

Coccidios

- tamaño y forma del ooquiste
- presencia/número de esporoquistes
- presencia/número de esporozoitos.

Ciliados

- en los trofozoitos:
 - dimensiones del cuerpo celular
 - morfología del cuerpo celular
 - tamaño y estructura del/los núcleo/s
 - disposición de la ciliatura
- en los quistes:
 - tamaño y forma del quiste
 - morfología nuclear.

Blastocystis

- longitud del cuerpo celular
- anchura del cuerpo celular
- forma y posición del vacuola central - invaginaciones
- forma y posición de los núcleos.

3.4. DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS

3.4.1. EXAMEN DIRECTO

Se coloca una gota de PBS (tampón de fosfato) en el centro de un porta limpio y con un aplicador de madera o de vidrio se toma una pequeña cantidad de heces de la muestra y se mezcla (sin extender) con la gota. Se coloca un cubreobjetos y se examina al microscopio utilizando objetivos de 10x y 40x. Como la distribución de los parásitos en las heces no es siempre homogénea, conviene picar con el aplicador varios lugares de la muestra. Si se quiere aumentar el contraste de ciertas estructuras parasitarias (principalmente quistes de protozoos), se puede realizar una tinción temporal con lugol, que consiste simplemente en añadir una gota de solución iodada a la preparación.

3.4.2. MÉTODOS DE CONCENTRACIÓN

Existen numerosas técnicas de concentración que nos permiten detectar la presencia de parásitos cuando la parasitación es leve o moderada. De todos ellos, en el presente trabajo se han empleado dos: uno difásico, como es el método de Bailenger, para la localización de quistes de protozoos; y una técnica de concentración por flotación como es el método de Sheather para la obtención de ooquistes de coccidios.

Técnica de Bailenger

La técnica de Bailenger es un método difásico que comprende dos etapas, una que separa los elementos voluminosos de la muestra de los elementos parasitarios, y otra que sedimenta quistes una vez separados.

- Se toma una pequeña porción de heces a ser posible de todos los bolos fecales que contenga la muestra y se diluyen en 10 veces su volumen en tampón aceto-acético.

Tampón aceto-acético pH 5.

acetato sódico:	15 g
ácido acético glacial	3,6 g
agua destilada	1000 ml

- Se deja reposar durante 50-60 segundos y se tamiza sobre un colador metálico recogiendo el filtrado sobre un tubo de centrifuga.
- Se añade un volumen igual de éter sulfúrico y se emulsiona perfectamente mediante agitación vigorosa.
- Se centrifuga durante 1 minuto a 1500 rpm; se recoge el sedimento al que se añade una pequeña cantidad de formol al 10%.

Método de Sheather

El método de flotación en sacarosa de Sheather es especialmente satisfactorio para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras frescas o fijadas con formol.

- Se homogeneizan las heces en Tween-H₂O (agua destilada con 0,01% Tween 20).
- Se filtra a través de una serie de tamices de acero inoxidable hasta un poro mínimo de 63 µm.
- Centrifugar a 1000 g durante 5 minutos.
- Resuspender el sedimento en Tween-H₂O.
- Aplicar 2 ml de la suspensión sobre 7 ml de solución de Sheather (500 g de sacarosa y 6,5 g de fenol en 320 ml de agua destilada -1,20 g/ml-).
- Centrifugar a 1000 g durante 10 minutos.
- Recoger la capa que contiene los ooquistes y lavar una vez con Tween-H₂O.
- Resuspender en agua destilada y conservar a 4°C o a -20°C.

3.4.3. TÉCNICAS DE TINCIÓN

Giemsa Suárez-Peregrín

Se trata de una modificación de la tinción con Giemsa en la que, como diferencia principal, se incorpora la utilización de suero al realizar la extensión. Esta técnica permite una mejor identificación de los flagelados ya que, mantiene la integridad de los trofozoitos a la vez que ofrece unos buenos resultados en la visualización de los flagelos.

- Se deposita una pequeña partícula de heces en el extremo de un portaobjetos. A continuación se añade una gota de suero o plasma. Se mezcla bien y se efectúa una extensión fina.
- Se deja secar a temperatura ambiente y se fija con metanol durante 15 minutos.

Material y Métodos

- Por último, se tiñe con una solución acuosa de Giemsa al 14% durante 25-30 minutos.

Colorante:

Giemsa solución madre	14 ml
Agua destilada	86 ml

- Se lava la preparación con agua corriente y se deja secar al aire.
- Se puede observar la preparación con objetivo de 100x sin necesidad de montarla con un cubreobjetos.

Negro de Clorazol

Se trata de una tinción permanente indicada especialmente para la observación de trofozoítos y quistes, ofreciendo mejores resultados en estos últimos.

- Se realiza un frotis fecal y sin secar se procede a la tinción.
- Se tiñe con la solución fijadora-colorante de 1 a 24 horas.

Solución de base:

alcohol etílico.....	170 ml
alcohol metílico.....	160 ml
ácido acético glacial.....	20 ml
fenol líquido.....	20 ml
ácido fosfotúngstico.....	12 ml
(solución acuosa al 1%)	
agua destilada.....	618 ml

Fijador colorante

colorante E de negro clorazol.....	5 g
solución base.....	1000 ml

Se deja madurar de 4 a 6 semanas, separándose un sedimento negro del líquido rojo que es el colorante. Se filtra antes de utilizarlo.

- Se lava con agua corriente.
- Se introduce en alcohol etílico de 96° durante 10 minutos.
- Se introduce en alcohol absoluto durante 5 minutos.
- Se aclara con xilol, 5 minutos.
- Se monta en bálsamo de Canadá, DPX o cualquier otro líquido de montaje, pues a diferencia del Giemsa Suárez-Peregrin, en este caso las preparaciones no se pueden visualizar antes de ser montadas..

Tricrómico

Es una técnica que fue creada inicialmente para el estudio de cortes histológicos y adaptada posteriormente para el estudio de los protozoos intestinales, siendo hoy día ampliamente utilizada para la tinción de dichos protozoos.

- Se prepara un frotis con la muestra y se fija con metanol durante 10 minutos.
- Se lava el frotis en alcohol de 70° durante 5 minutos.
- Se lava la preparación durante 5 minutos en alcohol de 70° yodado.
- Se lava en alcohol de 70° durante 5 minutos.
- Se tiñe con solución tricrómica durante 10 minutos.

Solución tricrómica:

cromotopo 2R	6 g
verde luz SF	3 g
ácido fosfotúngtico	7 g
ácido acético glacial	10 ml
agua destilada	1000 ml

Se mezclan los cuatro primeros componentes y se deja reposar la mezcla durante 30 minutos, tras lo cual se diluye en agua destilada.

Material y Métodos

- Se introduce en alcohol acético durante 2 segundos.
- Se aclara en alcohol de 96° repitiendo varias veces esta operación para eliminar el ácido.
- Se deshidrata en alcohol absoluto durante 30 segundos.
- Se aclara en xilol durante 30 segundos.
- Se monta en bálsamo de Canadá, Permout o similar.

Hematoxilina Férrica

Este método de tinción proporciona excelentes preparaciones, pero es considerablemente más complicado que las demás técnicas, por lo que solo se ha empleado en este trabajo en casos puntuales.

- Se prepara un frotis con las heces frescas.
- Antes de que la preparación realizada se seque se fija en solución de Schaudinn durante 30 min.
- Se lava el frotis en alcohol de 70° durante 5 min.
- Se lava la preparación durante 5 min en alcohol de 70° yodado.
- Se lava en alcohol de 70° por 5 min.
- Se lava en agua corriente durante 10 min.
- Se introduce la preparación en sulfato amónico férrico al 4% 5 min.
- Se lava en agua corriente durante 3 min.
- Se introduce en hematoxilina al 0,05% durante 3 min.
- Se lava en agua corriente por 5 min.
- Se introduce en ácido fosfotúngstico al 2% durante 3 min.
- Se lava en agua corriente durante 10 min.
- Se introduce en alcohol etílico de 70° durante 3 min.
- Se introduce en alcohol 96° durante 5 min.
- Se introduce sucesivamente en dos baños de alcohol etílico absoluto de 2 min cada uno.
- Se aclara en tolueno o xilol durante 3 min.
- La preparación se monta con bálsamo de Canadá, Permout o similar.

Ziehl-Nielsen modificado

Esta técnica, procedente de las tinciones ácido alcohol resistentes utilizadas en bacteriología, se emplea especialmente para la localización de coccidios y específicamente para detectar *Cryptosporidium*.

- Se prepara una porta con un a capa fina de heces.
- Se deja secar a temperatura ambiente.
- Fijar la extensión con metanol durante 2-5 min.
- Teñir con carbolfucsina concentrada durante 20-30 minutos, sin calentar (carbolfucsina concentrada: 1 g fucsina, 10 ml etanol y 90 ml fenol 5%).
- Lavar con agua corriente.
- Decolorar con ácido sulfúrico al 7% durante 20-60 segundos.
- Lavar con agua corriente.
- Contrateñir con verde malaquita al 5%, (5 g de verde malaquita en 100 ml de etanol al 10% durante) 5 minutos.
- Lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.
- Se examina bajo objetivo de inmersión (1.000x) para observar la presencia de ooquistes.

3.4.4. TÉCNICAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS

Material biológico

El material biológico sobre el que se han realizado las técnicas han sido los sueros obtenidos de las muestras de sangre recogidas en matadero. Las muestras de músculo y cerebro se han guardado en formol o congeladas, como material de reserva para realizar otros estudios si se considerase necesario.

Los tubos conteniendo la sangre sin anticoagulante se centrifugan durante 10 minutos a 2000 rpm y se separa el suero, que finalmente es conservado hasta

el momento de su procesado en congelador a -20°C , en viales convenientemente etiquetados.

Metodología

En base a la bibliografía existente al respecto y a la sensibilidad y aplicabilidad de los distintos procedimientos en uso, para el presente trabajo se decidió emplear, por un lado una técnica rápida y fiable como es la aglutinación en látex (LAT) (Frenkel, 1981), y por otro lado una prueba más elaborada como es la aglutinación directa modificada con 2-mercaptoetanol (MAT), que es la considerada como más sensible para estos estudios por parte de la mayoría de autores.

El test preliminar es por tanto una **aglutinación en látex**, empenado el kit comercial TOXO-Latex (Spinreact S.A., Girona, España). El reactivo (partículas de látex sensibilizado) ha sido ajustado de forma que se hace evidente una clara aglutinación de las partículas de látex cuando existe una concentración de anticuerpos en la muestra igual o superior a 4 UI/ml.

El desarrollo de la prueba consiste en dosificar 50 μl de suero muestra en el círculo negro de un porta de aglutinación y añadir 25 μl de la suspensión de látex con el antígeno. Se mezcla cuidadosamente y se agita durante 4 minutos. Transcurrido este tiempo se observa la aparición o ausencia de aglutinación: la presencia de anticuerpos se manifiesta por la aparición de agregados de gran tamaño; si no hay aglutinación no se forman agregados y se ve una suspensión uniforme sobre el fondo del porta.

Con el fin de evitar el fenómeno de zona (aparición de falsos negativos en sueros fuertemente positivos porque un exceso de anticuerpos impida la reacción), el ensayo se realizó con los sueros diluidos 1/2 en solución salina (NaCl 8,5 g/l). El hecho de emplear una dilución tan baja responde a tratar de evitar la falta de reacción en sueros con muy bajo nivel de anticuerpos (Dubey y col., 1995).

La segunda técnica empleada es una **aglutinación directa modificada**, para la que se empleó una suspensión comercial de taquizoitos de *T. gondii*, preparada por BioMérieux (Marcy l'Etoile, Francia) como antígeno para aglutinación directa (AD). Dicho antígeno es resuspendido a la concentración de 25×10^6 taquizoitos/ml en una solución alcalina (pH 8,7) conteniendo 7,012 g de ClNa, 3,092g de H_3BO_3 , 24 ml de NaOH 1N, 4 g de albúmina bovina, 1 g de azida sódica y 14 ml de 2-mercaptoetanol por 1 litro de agua destilada (Dubey y Desmonts, 1985 & 1987; Desmonts y Remington, 1980). Antes de realizar las pruebas se comprobó la capacidad antigénica de la suspensión enfrentándola a los mismos sueros control positivo y negativo empleados en el LAT empleando las siguientes condiciones:

- Suspensión de antígeno: se aplican 1.250.000 taquizoitos por pocillo en un volumen de 50 μ l de tampón alcalino con 2 mercaptoetanol.
- Se añaden 50 μ l del suero a ensayar.
- Tras agitar y sellar la placa, se incuba a 37°C durante toda la noche en cámara húmeda.
- Se observan los resultados en un espejo para lectura de placas.

Los resultados del ensayo preliminar permiten discriminar a la perfección los pocillos usados como control positivo (fondo homogéneo) de los empleados como control negativo (botón en el fondo). Es importante que la solución sea reciente (no más de un mes) y que se guarde en frasco oscuro a 4°C.

Los sueros empleados en MAT proceden del mismo stock que los empleados en la aglutinación en látex. En este caso se ensayan tres diluciones diferentes, concretamente 1/25, 1/50 y 1/500, de acuerdo con la mayor parte de los autores (Dubey, 1997; Dubey y col., 2000). Las diluciones se realizan en PBS (pH 7,2) inmediatamente antes de cada ensayo. Éstos se realizan en placas de microtitulación de 96 pocillos con fondo en U (preferibles a las de fondo en V pues en las primeras se obtiene una lectura más fácil con concentraciones más bajas de antígeno -Desmonts y Remington, 1980-). En cada pocillo se dispensa un volumen de 50 μ l de la solución de antígeno junto con 50 μ l del suero convenientemente

Material y Métodos

diluido. Se agitan las placas para asegurar una mezcla perfecta del contenido de los pocillos, se sellan con parafilm y se incuban a 37°C durante toda la noche, a ser posible en una cámara húmeda para evitar evaporaciones (Dubey y col., 2000). Transcurrido este tiempo se leen las placas sobre un fondo oscuro y con una luz lateral, o bien con un espejo para observación de microplacas. Si el suero es negativo, se observará un botón en el fondo del pocillo. Si el suero es positivo se apreciará una capa que cubrirá completamente el fondo del pocillo. Caso de resultar positivo, el suero se titulará como la inversa de la mayor dilución que ofrezca este resultado.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Los protozoos parásitos hallados han sido encontrados en intestino, ciego y muestras fecales; las demás muestras (sangre y los diversos órganos y tejidos) tuvieron resultados negativos. En total han sido identificadas dieciocho especies de protozoos parásitos intestinales, incluyendo flagelados, amebas, coccidios, ciliados y *Blastocystis*. Mediante análisis inmunológicos se ha detectado también la presencia de otro organismo, *Toxoplasma*. La mayor parte de los animales analizados en este estudio se encontraban aparentemente sanos, y en los pocos que presentaban algún tipo de patología, ésta estaba asociada a la presencia de helmintos (cestodos o nematodos de localización gastrointestinal), o (según los resultados comunicados por los veterinarios encargados de los animales) a infecciones bacterianas o a problemas de base alimentaria (fundamentalmente, carencia de algún nutriente en la alimentación).

4.1. RELACIÓN DE ORGANISMOS ENCONTRADOS, DISTRIBUCIÓN Y PREVALENCIA

El número de muestras analizadas correspondientes a corrales de granja ha sido de 613 (11 de ellas, de ñandúes), obtenidas de 109 instalaciones distribuidas por toda España (figura 4.1). El número de muestras correspondientes a animales sacrificados en matadero asciende a 192, de los cuales 176 han sido analizadas también mediante técnicas inmunológicas; estos animales han procedido en su mayoría de una misma granja localizada en la provincia de Ávila, y en menor medida, de granjas de Madrid, Toledo, Guadalajara, Cuenca y Ciudad Real. También se han analizado muestras obtenidas de 4 individuos muertos en las granjas de cría.

El listado de protozoos encontrados en este estudio, los hospedadores en los que han sido hallados (avestruces y/o ñandúes) y la procedencia geográfica (país de origen de los hospedadores) se indica en la tabla 4.1; el listado está ordenado de acuerdo con el orden en que se han citado los correspondientes

Resultados

grupos en el apartado de revisión. Las figuras 4.2 y 4.3 muestran la prevalencia (número de muestras positivas respecto al total) de cada taxon de protozoos en avestruces y el origen de la muestra (granja/matadero). Debido al bajo número de muestras de ñandú analizadas, los datos obtenidos de este hospedador (tanto en organismos identificados como en su prevalencia) deben considerarse como preliminares; dichos datos se indican, junto con los obtenidos de avestruz, en los siguientes apartados en los que se describen las distintas formas parasitarias encontradas. En las imágenes que acompañan dichas descripciones figura una barra de escala que, salvo que se indique lo contrario, equivale a una longitud de 10 μ m.

Figura 4.1: Distribución geográfica de las granjas de avestruces en las que se han obtenido muestras para el presente estudio. Las distintas granjas están codificadas según la provincia y el orden de muestreo.

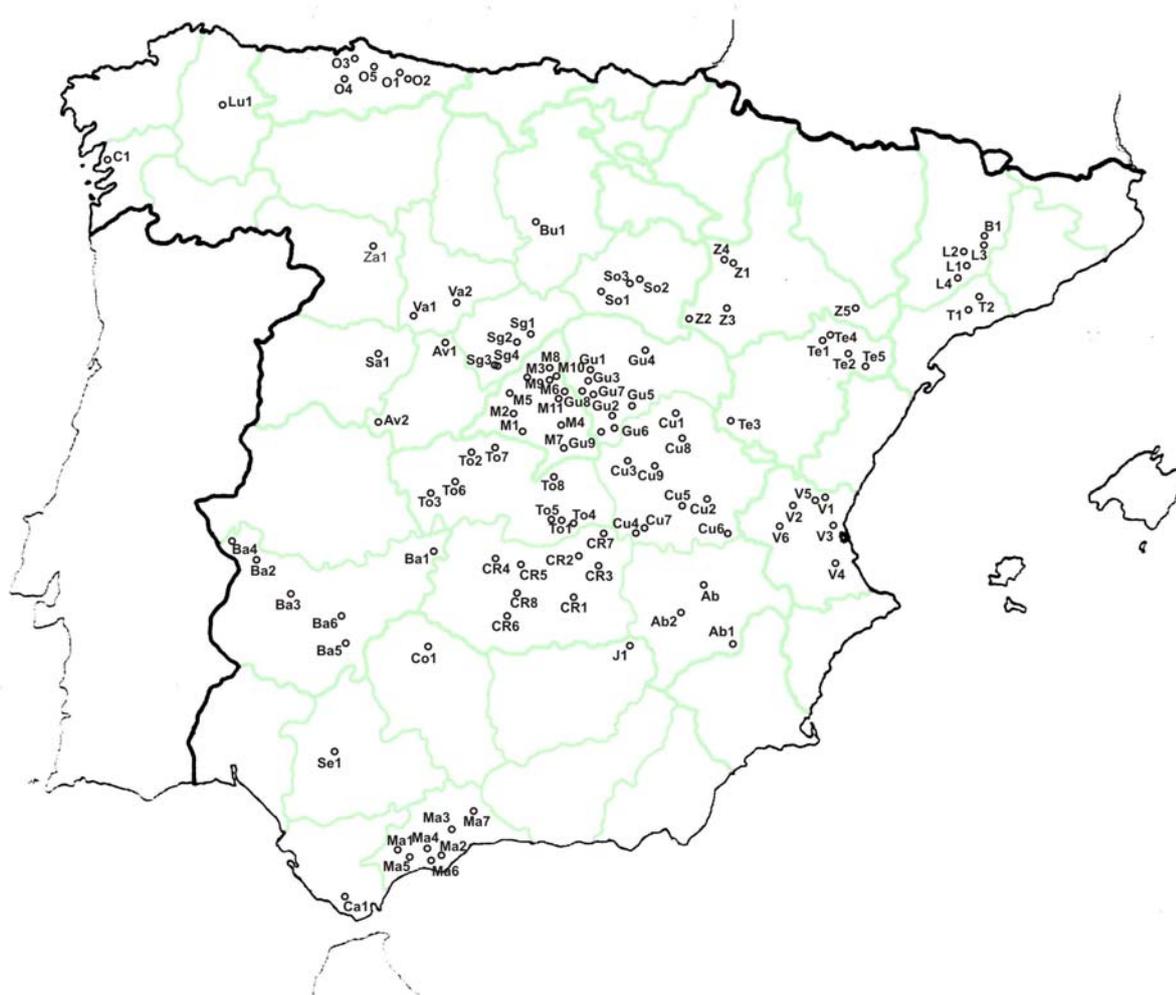


Figura 4.2: Prevalencia (porcentaje de muestras positivas para cada taxon) de los organismos formadores de quistes hallados en muestras de avestruces de granja.

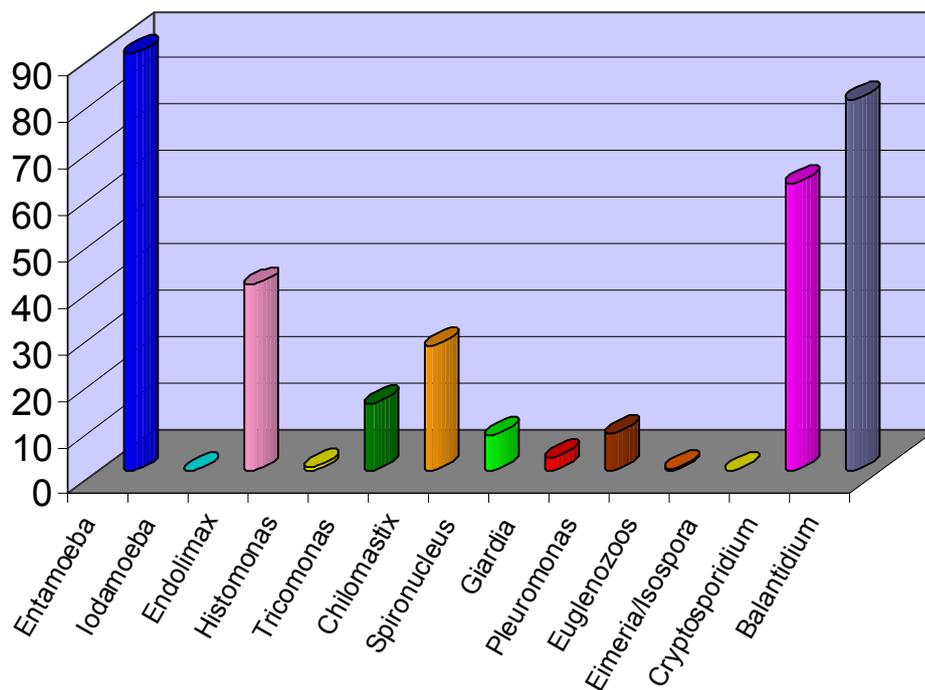
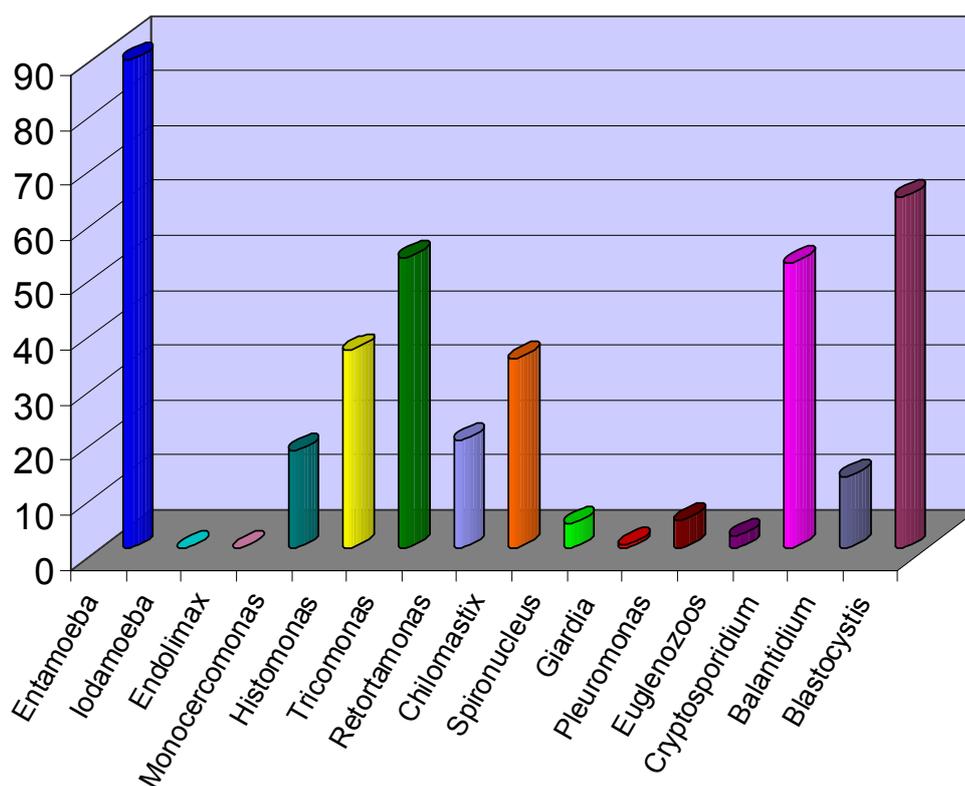


Figura 4.3: Prevalencia (porcentaje de muestras positivas para cada taxon) de los organismos hallados en muestras de avestruces sacrificadas en matadero.



Resultados

Tabla 4.1: Listado de parásitos hallados en este estudio en avestruces y ñandúes.

Parásito	Hospedador	Origen	Localización	Prevalencia (%)
AMEBAS				
<i>Entamoeba</i> sp.				
grupo <i>bovis</i>	Ñ/A	E/BFIHPS	C / IG	80
grupo <i>coli</i>	Ñ	E	n.d.	<1
<i>Iodamoeba</i> sp.	A	E/F	n.d.	<1
<i>Endolimax</i> sp.	Ñ/A	E/FPE	C / IG	40
FLAGELADOS				
<i>Monocercomonas</i> sp.	A	E	C / IG	15
<i>Histomonas meleagridis</i>	A	E	C / IG	35
<i>Trichomonas gallinae</i> (dudoso)	A/Ñ	E	C / IG	50 ^a
<i>Tetratrichomonas gallinarum</i>	A/Ñ	E	C / IG	50 ^a
<i>Chilomastix gallinarum</i>	A	EPHI	C / IG	35
<i>Retortamonas</i> sp.	A	E	C / IG	20
<i>Spironucleus meleagridis</i>	A	E	C / IG	5
<i>Giardia</i> sp.	A/Ñ	E	C	<1
<i>Pleuromonas jaculans</i>	A/Ñ	E	IG	5
euglenozoos	A	E	IG	<1
APICOMPLEJOS				
<i>Eimeria</i> sp. / <i>Isospora</i> sp.	A/Ñ	E	n.d.	<1
<i>Cryptosporidium</i> sp.	A/Ñ	EPFHIB/E	n.d.	60
<i>Toxoplasma gondii</i>	A	E	n.d.	<1
CILIADOS				
<i>Balantidium struthionis</i>	A/Ñ	EPFHIB/E	C / IG	80
<i>Blastocystis</i> sp.	A	E	IG	58

Abreviatura:

Hospedador: A, avestruz; Ñ, ñandú;

Origen: E, España; F, Francia; P, Portugal; B, Bélgica; H, Holanda; I, Inglaterra.

Localización: C, ciego; IG, intestino grueso; n.d., no determinada.

^a La identificación de estos dos organismos como diferentes especies no siempre ha sido posible, por lo que los datos sobre sus prevalencias se dan para ambas especies en conjunto.

4.2. PARÁSITOS DE LOCALIZACIÓN INTESTINAL

4.2.1. AMEBAS

Pertenecientes a este grupo se han localizado organismos de cuatro especies distintas, pero no se ha podido realizar la identificación específica completa, llegándose sólo al género.

4.2.1.1. Género *Entamoeba*

Entamoeba sp. del grupo *bovis*

Se han encontrado trofozoitos en muestras de contenido intestinal de avestruces sacrificadas en matadero, y quistes en muestras fecales de avestruces y ñandúes de granja. Los datos morfométricos se indican en la tabla 4.2. Los trofozoitos presentan un movimiento (CD anexo, video 1) cuyas características varían dependiendo de la consistencia y temperatura de la muestra: cuando son más activos, los trofozoitos muestran una proyección casi unidireccional de los pseudópodos con una rápida locomoción y un marcado movimiento de traslación; a bajas temperaturas o cuando existe poca cantidad de agua en el medio, presentan poca movilidad, y un aspecto más amorfo con emisión multidireccional de pseudópodos y tendencia a redondearse. En preparaciones teñidas (figura 4.4) los trofozoitos son por lo general grandes, con una longitud media cercana a las 20 μm , y con una clara diferenciación entre endoplasma (muy granular, con vacuolas conteniendo bacterias y levaduras) y ectoplasma. El núcleo teñido se observa grande y difuso, mientras que en fresco apenas se distingue como una estructura en forma de anillo. Los trofozoitos teñidos con negro de clorazol mostraron un núcleo poco definido, lo que dio lugar a importantes desviaciones a la hora de establecer medidas fiables del tamaño nuclear. Por esta razón, la única referencia anotada en las tinciones con negro de clorazol fue el diámetro celular. No hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre muestras de diferentes hospedadores ni entre muestras teñidas con diferentes técnicas (Giemsa y negro de clorazol).

Resultados

Los quistes (figuras 4.5 y 4.6) son grandes y casi siempre esféricos, raramente ovoides o alargados. Se han observado quistes binucleados con muy poca frecuencia (<1%). El endosoma es muy grande, generalmente irregular (ocasionalmente esférico) y usualmente excéntrico. La cromatina periférica a veces aparece como un anillo homogéneo sobre la membrana nuclear, pero en la mayor parte de los casos esta cromatina se dispone en gránulos de diferente tamaño, dando el aspecto de un anillo irregular. En ocasiones se distinguen pequeños gránulos de cromatina entre la membrana nuclear y el endosoma. Con baja frecuencia se observan en el citoplasma vacuolas y cuerpos cromatoidales, siendo estos últimos, cuando aparecen, muy grandes, alargados y con bordes redondeados. Las características morfométricas de los quistes se indican en la tabla 4.2.

Figura 4.4: *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*, trofozoito en tinción de Giemsa.

E: ectoplasma; V: vacuolas; N: núcleo.

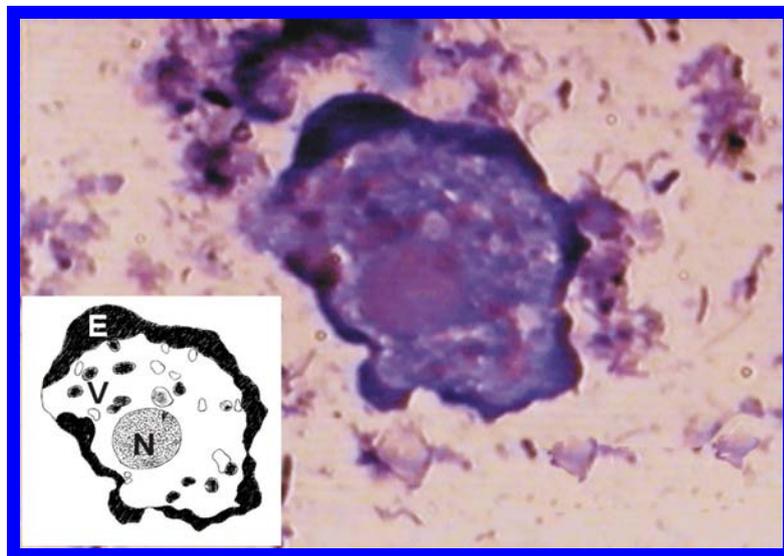


Figura 4.5: *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*, quiste en tinción con lugol.

BC: barras cromatoides; N: núcleo.

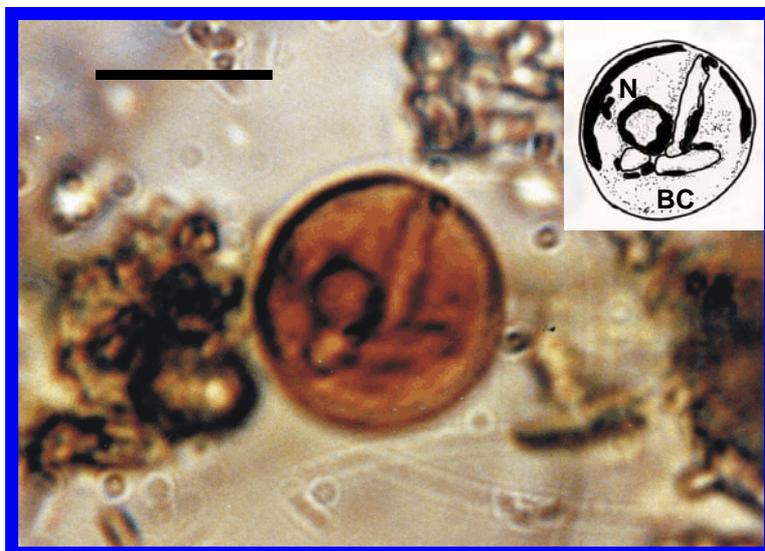
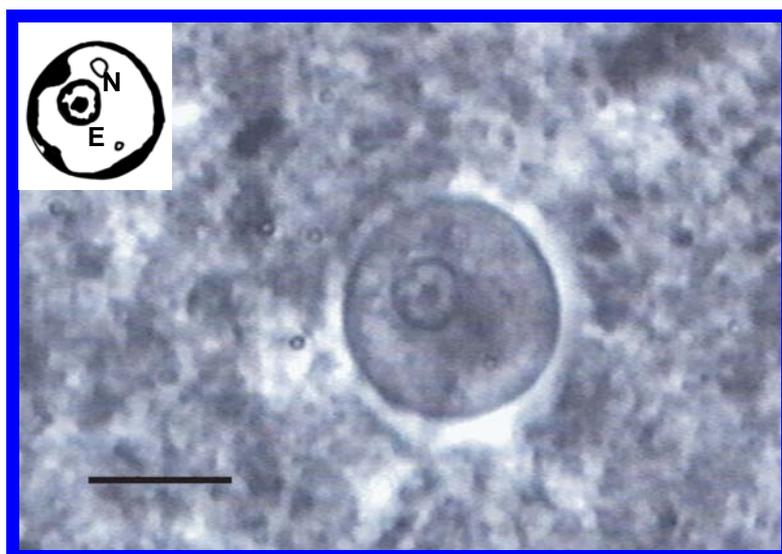


Figura 4.6: *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*, quiste en tinción con negro de clorazol.

N: núcleo; E: endosoma.



Resultados

Tabla 4.2: Características morfométricas de los trofozoitos y quistes de *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*. Las medidas se expresan en μm . nd: no determinado.

Trofozoitos	Negro de clorazol	Giemsa	Total
	n = 100	n = 100	n = 200
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	19,7 \pm 5,4	20,0 \pm 4,5	19,9 \pm 5,0
Rango de tamaño	8 - 35	8 - 32	8 - 35
Núcleo	n = 51	n = 51	n = 102
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	nd	5,2 \pm 0,7	5,2 \pm 0,7
Rango de tamaño	nd	4 - 7	4 - 7
Quistes	Negro de clorazol	Lugol	Total
	n = 176	n = 185	n = 361
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	13,5 \pm 2,0	12,7 \pm 2,1	13,1 \pm 2,1
Rango de tamaño	8 - 20	8 - 19	8 - 20
Núcleo	n = 171	n = 185	n = 361
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	4,4 \pm 0,9	4,0 \pm 0,8	4,2 \pm 0,9
Rango de tamaño	2 - 7	2 - 6	2 - 7
Endosoma	n = 167		
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	3	nd	
Rango de tamaño	1 - 3	nd	

Esta ameba aparece tanto en muestras de matadero como en granja, siendo en ambos casos muy frecuente (cerca del 90% de las muestras de ambos tipos fueron positivas) (tablas 4.3 y 4.4). Así mismo, ha sido encontrada en granjas distribuidas por toda España (figura 4.7). En las muestras de granja lo habitual es hallar formas quísticas en las heces. Por su parte, en muestras de animales sacrificados se encuentran prioritariamente quistes en el contenido del intestino grueso posterior, y trofozoitos en ciego y grueso anterior.

Tabla 4.3: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*. A: avestruz; Ñ: ñandú.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
321 (A)	308	95,9	18	18	100
11 (Ñ)	7	63,6	3	2	66

Tabla 4.4: Datos obtenidos del muestreo de avestruces en matadero: *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*. T: trofozoito; Q: quiste.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
177	158	89,2	T	T	Q

Figura 4.7: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Entamoeba* sp. del grupo *bovis*.



Entamoeba* sp. del grupo *coli

En dos muestras de ñandúes procedentes de una misma granja, obtenidas con un intervalo de un mes, se encontraron quistes de *Entamoeba* con ocho núcleos (figura 4.8). El tamaño de dichos quistes es de unas 20 μm (tabla 4.5). Los núcleos presentan un endosoma puntiforme y excéntrico, y la cromatina periférica está irregularmente distribuida por la membrana nuclear. El citoplasma del quiste es homogéneo y no muestra estructuras especiales.

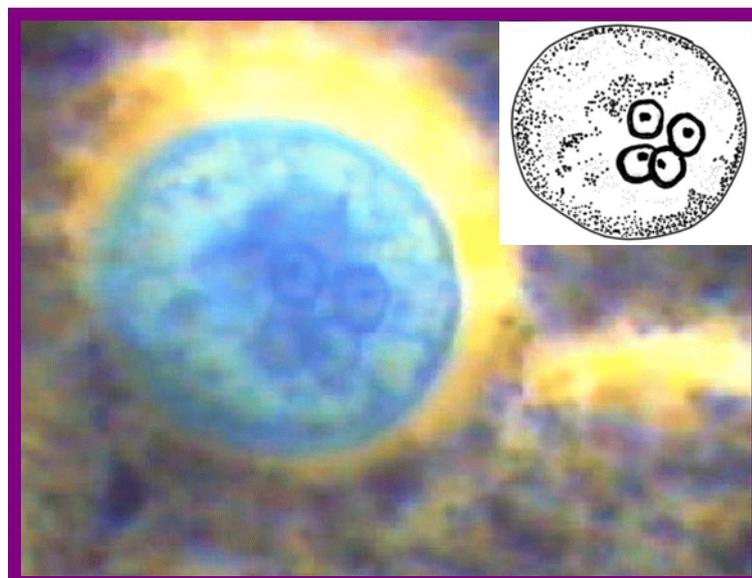
Tabla 4.5: Características morfométricas de los trofozoitos y quistes de *Entamoeba* sp. del grupo *coli*. Las medidas se expresan en μm . nd: no determinado.

Quistes	Negro de clorazol	Lugol	Total
	n = 22	n = 8	n = 30
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	19,5 \pm 3,0	20,9 \pm 3,6	19,8 \pm 3,2
Rango de tamaño	14 - 26	16 - 28	14 - 28
Núcleo	n = 26	n = 21	n=47
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	2,7 \pm 0,5	3,7 \pm 1,0	3,0 \pm 0,7
Rango de tamaño	2 - 5	3 - 6	2 - 6
Endosoma	n = 26		
Diámetro máximo (media \pm d.t.)	1,5 0,8 \pm 0,3	nd nd	
Rango de tamaño	0,5 - 1,5	nd	

Figura 4.8: *Entamoeba* sp. del grupo *coli*, quiste en tinción con lugol.



Figura 4.9: *Entamoeba* sp. del grupo *coli*, quiste en tinción con negro de clorazol (en el plano de enfoque de la imagen sólo se aprecian cuatro de los ocho núcleos).



4.2.1.2. Género *Iodamoeba*

Iodamoeba sp.

Se han encontrado quistes de tamaño y forma variable (10-20 μm de diámetro; elipsoidales a esféricos), con un sólo núcleo y una gran vacuola iodófila en tinciones con lugol (figura 4.10). En las preparaciones teñidas con negro de clorazol (figura 4.11), la vacuola iodófila está vacía; el núcleo no presenta cromatina periférica y posee un gran endosoma de contorno redondeado.

Figura 4.10: *Iodamoeba* sp., quiste en tinción con lugol.

N - núcleo; V - vacuola iodófila.

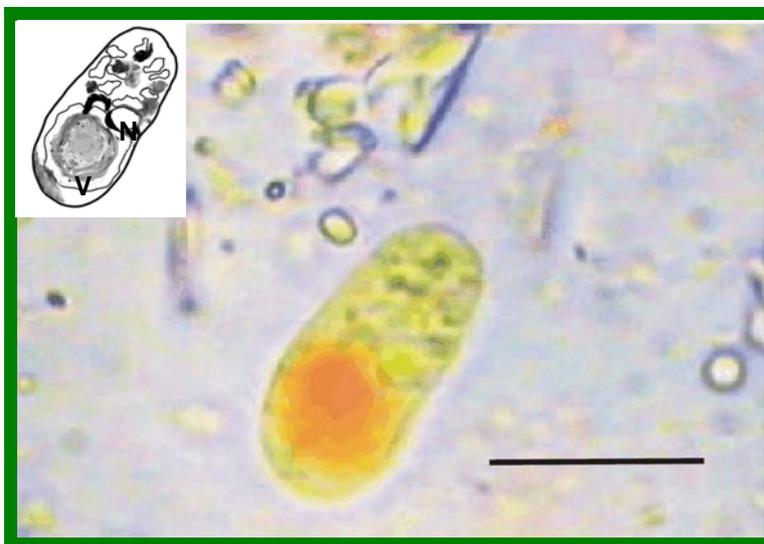


Figura 4.11: *Iodamoeba* sp., quiste en tinción con negro de clorazol.



Resultados

Las formas compatibles con *Iodamoeba* aparecen con poca frecuencia (tablas 4.6 y 4.7), tanto en muestras de avestruz de granja (figura 4.12) como de matadero.

Figura 4.12: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Iodamoeba* sp.



Tabla 4.6: Datos obtenidos del muestreo de granjas: *Iodamoeba* sp.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
361	9	2,5%	11	8	72%

Tabla 4.7: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Iodamoeba* sp. Q: quiste.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivos	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
361	4	1,1%			Q

4.2.1.3. Género *Endolimax*

Los trofozoitos son de pequeño tamaño (6-12 μm) y de morfología variable (alargados, redondeados, irregulares, ...); en las preparaciones teñidas con negro de clorazol (figura 4.13) muestran un núcleo sin cromatina periférica y con un gran endosoma de aspecto redondeado, así como un citoplasma homogéneo y densamente teñido. Los quistes (figura 4.14 y 4.15) son pequeños (6-10 μm de diámetro) y de forma por lo general esférica, aunque a veces aparecen ligeramente ovalados. En su interior se pueden apreciar 4 pequeños núcleos, distinguibles como una masa compacta de aspecto puntiforme.

Los quistes de *Endolimax* han sido encontrados con relativa frecuencia en muestras fecales de avestruz, y más raramente en muestras de ñandú (tablas 4.8 y 4.9). La distribución geográfica de las granjas de avestruces con corrales positivos se muestra en la figura 4.16. Los trofozoitos sólo se han hallado en contenidos intestinales de avestruces sacrificadas en matadero.

Figura 4.13: *Endolimax* sp., trofozoito en tinción con negro de clorazol.

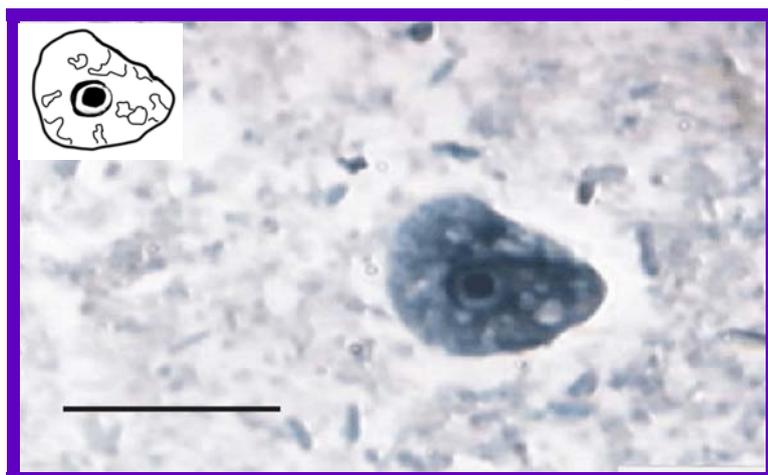


Figura 4.14: *Endolimax* sp., quiste en tinción con lugol.

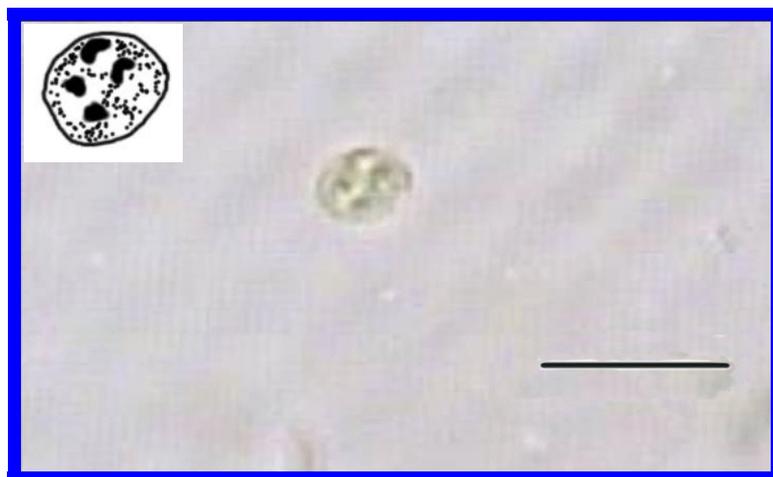


Figura 4.15: *Endolimax* sp., quiste en tinción con negro de clorazol. En el plano de enfoque se aprecian tres de los cuatro núcleos.

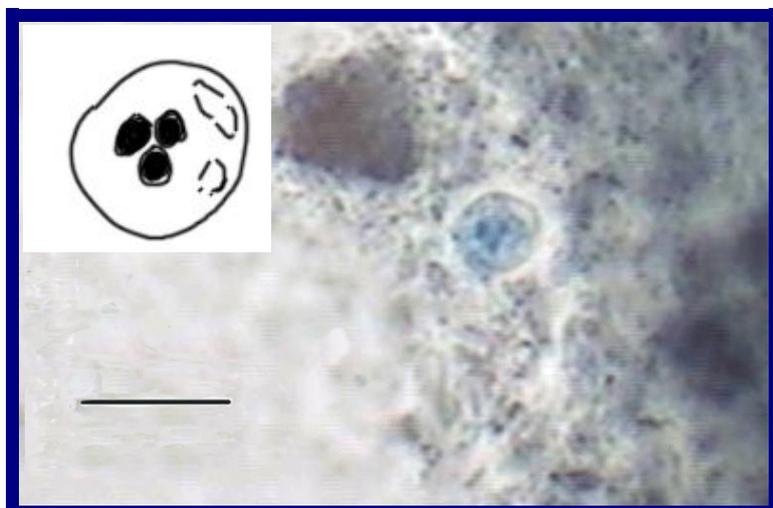


Figura 4.16: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Endolimax* sp.**Tabla 4.8:** Datos obtenidos del muestreo de granjas: *Endolimax* sp. A: avestruz; Ñ: ñandú.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
361 (A)	144	40%	18	15	83%
11 (Ñ)	2	18%	3	1	33%

Tabla 4.9: Datos obtenidos del muestreo de matadero: *Endolimax* sp. T: trofozoito; Q: quiste.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
362	7	1,9%	T	T	Q

4.2.2. FLAGELADOS

4.2.2.1. Género *Monocercomonas*

Los protozoos identificados como *Monocercomonas* sp. son de los más difíciles de identificar en fresco, ya que su forma y movimiento no presentan características especiales (video 2). Aún así, y aunque la densidad parasitaria de las muestras nunca ha sido elevada, por lo que podía quedar camuflado con organismos que aparecían en mayor número, se puede llegar a distinguir por presentar un movimiento similar al que poseen los tricomonádidos (con los que son similares en tamaño) pero sin movimiento de membrana ondulante. Además, en la mayoría de las ocasiones no es posible ver el axostilo, hecho que sí es frecuente en los tricomonádidos.

En las preparaciones teñidas con Giemsa (figura 4.17) , presenta apariencia piriforme u oval. El citoplasma se tiñe de manera uniforme, presentando en algunos ejemplares vacuolas digestivas o gránulos aislados, aunque en la mayor parte aparecen teñidos de manera homogénea. Los cinetosomas, situados en la parte anterior del cuerpo, originan tres flagelos anteriores y uno recurrente. Los flagelos son de desigual longitud, siendo uno más corto que el resto. El flagelo más corto es aproximadamente de la misma longitud que el cuerpo, mientras que los otros dos son algo mayores. Los tres flagelos normalmente se agrupan en un único haz. El flagelo recurrente es el más largo, aproximadamente 1,5 veces la longitud del cuerpo; en ocasiones puede estar fijado a la superficie antes de quedar libre. Es difícil observar la presencia o ausencia de pelta, debido a la intensa coloración que adquieren. No se observa filamento accesorio. El axostilo es fino e hialino; en la mayoría de los ejemplares no se visualiza y cuando es posible, se observa que sobresale en una pequeña porción por la parte posterior. No se observan gránulos endoaxostilares, ni anillo periaxostilar. El núcleo, relativamente grande, se sitúa en la parte anterior y presenta forma arriñonada, redondeada o alargada. Las características morfométricas de este parásito se recogen en la tabla 4.10. Sólo aparece en las muestras procedentes de animales sacrificados, siendo más abundante en el contenido de intestino grueso (tabla 4.11).

Figura 4.17: *Monocercomonas* sp., trofozoito en tinción con Giemsa

N: núcleo; P: pelta; A: axostilo; Fa: flagelo anterior; Fr: flagelo recurrente.

**Tabla 4.10:** Características morfométricas de los trofozoitos de *Monocercomonas* sp. en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	10,5 \pm 1,8	8 - 13	10
anchura	8,9 \pm 1,9	7 - 13	10
longitud de la punta axostilar	2,8 \pm 1,3	1 - 5	5
Núcleo			
diámetro	2,6 \pm 0,5	2 - 3,5	10
Flagelos			
Longitud de flagelos anteriores	12,8 \pm 2,9	7 - 16	10
Longitud de los flagelos unidos	9,7 \pm 1,3	7 - 12	9
Longitud del flagelo recurrente	13,1 \pm 2,9	12 - 20	10

Tabla 4.11: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Monocercomonas* sp. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
89	16	17,9	T	T	

4.2.2.2. Género *Histomonas*

Se ha identificado la especie *Histomonas meleagridis*. Este organismo se reconoce en las preparaciones en fresco (video 3) debido al movimiento de su membrana, que aún no siendo membrana ondulante, ya que no posee un flagelo recurrente que forme esta estructura, se asemeja a ésta en cuanto a las ondulaciones que aparecen en el organismo, recorriendo la total circunferencia de la célula. Esta característica se describe en los libros como movimiento rítmico y pulsátil debido a corrientes intracitoplasmáticas. En el caso de las formas flageladas, este movimiento es menos notorio, pero aún así permite realizar el diagnóstico diferencial con otros protozoos intestinales.

En las preparaciones teñidas con Giemsa (figura 4.18) las formas más abundantes son las flageladas, concretamente las que poseen un único flagelo. Es tremendamente pleomórfica, adquiriendo formas ameboides, redondeadas o elipsoidales. El citoplasma aparece intensamente teñido, con abundantes gránulos y vacuolas que contienen, en la mayoría de los casos, bacterias. Las formas no flageladas son mucho más compactas y parecen estar incluidas en una densa membrana. El citoplasma es acidófilo y se encuentra relleno de pequeños gránulos. Todas estas características han permitido identificar el organismo como *Histomonas meleagridis*. En la tabla 4.12 se indican sus características morfométricas. Esta especie está presente con relativa frecuencia en las muestras procedentes de avestruces sacrificadas en matadero (tabla 4.13). Sólo ha sido encontrada en dos muestras procedentes de dos granjas distintas (tabla 4.14).

Figura 4.18: *Histomonas meleagridis*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; V: vacuola.

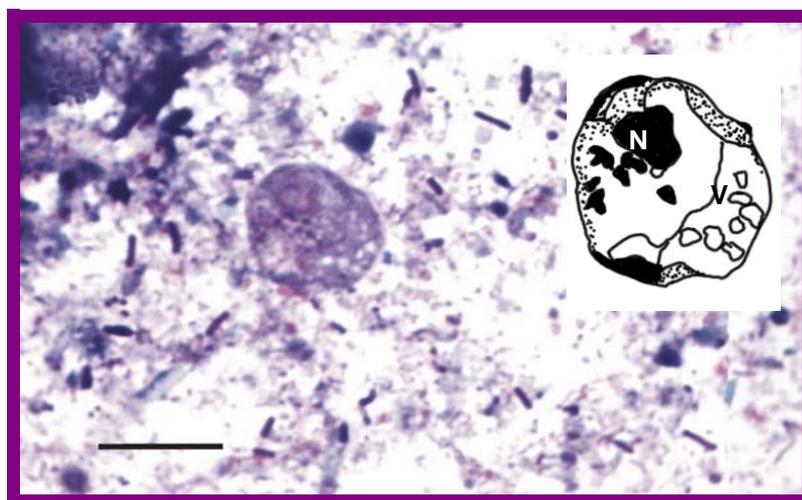


Tabla 4.12: Características morfométricas de los trofozoitos de *Histomonas meleagridis* en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se dan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	13,2 \pm 2,5	17-18	10
anchura	11,4 \pm 2,3	6,5-15,0	10
Núcleo			
diámetro	3,4 \pm 0,7	2,0-4,5	10
Flagelos			
longitud del los flagelos	14,2 \pm 2,9	7-11	5

Tabla 4.13: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Histomonas meleagridis*.

Nº muestras totales	Nº Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
278	2	0,7	27	2	7,4

Tabla 4.14: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Histomonas meleagridis*.
T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	49	36	T	T	

4.2.2.3. Familia Trichomonadidae

Se han encontrado dos organismos pertenecientes a esta familia, identificados como *Tetratrichomonas gallinarum* y *Trichomonas* sp. compatible con *T. gallinae*. Ambos constituyen los protozoos que con mayor frecuencia han sido

Resultados

observados, tanto en muestras de contenido intestinal de grueso y ciego de aves sacrificadas, como en muestras coprológicas recientes procedentes de granjas. Dada la similitud morfológica y el movimiento tan parecido que presentan en las observaciones en fresco (video 4), el diagnóstico en este tipo de muestras se realizó únicamente señalando la presencia de tricomonádidos, caracterizados por un movimiento lento, prácticamente sin desplazamiento, y de tipo oscilante debido a la agitación de los flagelos anteriores. En algunos casos en los que los protozoos permanecían en reposo era posible detectar la presencia de axostilo y membrana ondulante.

Debido a la difícil tinción de los tricomonádidos, no ha sido posible en todas las ocasiones hacer el diagnóstico diferencial entre ambos organismos, por lo que los datos de distribución y prevalencia han sido unificados para ambas especies. Estos organismos han aparecido, en conjunto, en aproximadamente la mitad de las muestras de matadero (tabla 4.15), y en menor cantidad (debido a que no forman quistes y por tanto su presencia sólo pudo detectarse en heces recientes) en muestras de granja (tabla 4.16, figura 4.19).

Tabla 4.15: Datos obtenidos del muestreo en granjas: tricomonádidos.

Nº Muestras totales	Nº Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
262	38	14,5	26	14	53,8

Tabla 4.16: Datos obtenidos del muestreo en matadero: tricomonádidos. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº Muestras positivas	% Positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
89	47	52,8	T	T	

Figura 4.19: Distribución geográfica de las granjas positivas a tricomonádidos.***Trichomonas* sp. compatible con *T. gallinae***

En preparaciones teñidas con Giemsa (figura 4.20) aparece generalmente con una morfología elipsoidal, aunque puede adoptar formas diversas. Los cuatro flagelos anteriores aparecen a menudo agrupados en un penacho, aunque también se observan agrupados en dos pares (aparentemente de desigual longitud) o completamente separados, siendo esto último lo menos frecuente. El flagelo recurrente se dispone formando una membrana ondulante bien desarrollada que no acompaña a la célula en toda su longitud sino que acaba al sobrepasar el ecuador de la misma. En ocasiones es posible observar un filamento que parece sustentar esta estructura. El núcleo se dispone en la parte anterior y se encuentra rodeado de gránulos basófilos, que pudieran corresponderse con gránulos

Resultados

paracostales, perfectamente distinguibles en este tipo de preparaciones. El axostilo, cuyo tronco adquiere forma de huso, sobresale por la parte posterior en una corta longitud y escaso grosor. No se observan gránulos axostilares ni anillo periaxostilar. El citoplasma aparece teñido intensamente, con numerosas inclusiones en su interior que en ocasiones contienen bacterias.

Figura 4.20: *Trichomonas* sp. compatible con *T. gallinae*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; P: pelta; A: axostilo; Fa: flagelo anterior; MO: membrana ondulante.



Tabla 4.17: Características morfométricas de los trofozoitos de *Trichomonas* sp. compatible con *T. gallinae* en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
Longitud	12,5 \pm 1,1	11 - 15	10
Anchura	9,6 \pm 0,7	8 - 11	10
Núcleo			
Diámetro	3,4 \pm 0,6	2 - 4	10
Flagelos			
longitud de los flagelos anteriores	11,2 \pm 2,9	9 - 17	10
longitud del membrana ondulante	7,4 \pm 1,9	5 - 11	10
longitud del proyección axostilar	3,7 \pm 1,3	1 - 6	10

Tetratrichomonas gallinarum

En las muestras teñidas con Giemsa aparece como una célula piriforme. Dos características permiten realizar el diagnóstico diferencial con *Trichomonas gallinae*: la membrana ondulante llega hasta la parte final de la célula y el flagelo recurrente deja porción libre. En general, aparece teñido de forma homogénea, sin inclusiones citoplasmáticas y los gránulos basófilos que acompañan al núcleo, en caso de aparecer, son menos patentes que en el caso anterior. El axostilo sobresale por la parte posterior sin que se observen anillos o gránulos periaxostilares. Los flagelos anteriores son prácticamente de la misma longitud y normalmente, aparecen agrupados en uno o dos penachos. El núcleo, como en todos los miembros de esta familia, se encuentra en el polo anterior de la célula y alcanza un tamaño considerable en comparación con el resto de la célula. La pelta, al ser más gruesa que la de las formas compatibles con *Trichomonas gallinae*, es fácilmente observable en alguno de los ejemplares teñidos.

Figura 4.21: *Tetratrichomonas gallinarum*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; P: pelta; A: axostilo; Fa: flagelo anterior; MO: membrana ondulante.



Resultados

Tabla 4.18: Características morfométricas de los trofozoitos de *Tetratrichomonas gallinarum* en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	11,4 \pm 1,4	9 - 13	10
anchura	8,2 \pm 2,1	6 - 13	10
Núcleo			
tamaño	3,1 \pm 0,5	2,5 - 4	10
Flagelos			
longitud de los flagelos anteriores	15,4 \pm 3,2	13 - 24	10
longitud de la porción libre del flagelo recurrente	5,2 \pm 1,6	3 - 7	10
longitud de la proyección axostilar	2,7 \pm 1,7	1 - 6	9

4.2.2.4. Género *Retortamonas*

Los organismos identificados como *Retortamonas* sp. son de pequeño tamaño, fáciles de identificar en fresco por su plasticidad y movimiento. La agitación de los dos flagelos, observables con el microscopio de contraste de fases, hace que el cuerpo se mueva en pequeñas sacudidas que no provocan gran desplazamiento (video 5).

En las preparaciones teñidas con Giemsa, las características morfológicas que definen el género son claramente visibles (figura 4.22). El cuerpo es piriforme, fusiforme o redondeado, lo que nos indica su gran plasticidad. Cercano al polo anterior de la célula aparece el citostoma y el núcleo de pequeño tamaño. Los flagelos, de desigual longitud, emergen de la zona situada entre el núcleo y el surco citostomal, siendo el recurrente asociado al citostoma más corto (tabla 4.19). El citoplasma aparece repleto de vacuolas digestivas y bacterias.

En casi todas las muestras positivas, era posible observar trofozoitos en división. En este proceso el cuerpo se redondea, crece y divide sus estructuras

empezando por los flagelos, con lo que la célula presenta cuatro flagelos, dos núcleos y dos citostomas claramente visibles.

Figura 4.22: *Retortamonas* sp., trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; C: citostoma; V: vacuola digestiva; Fa: flagelo anterior; Fr: flagelo recurrente.

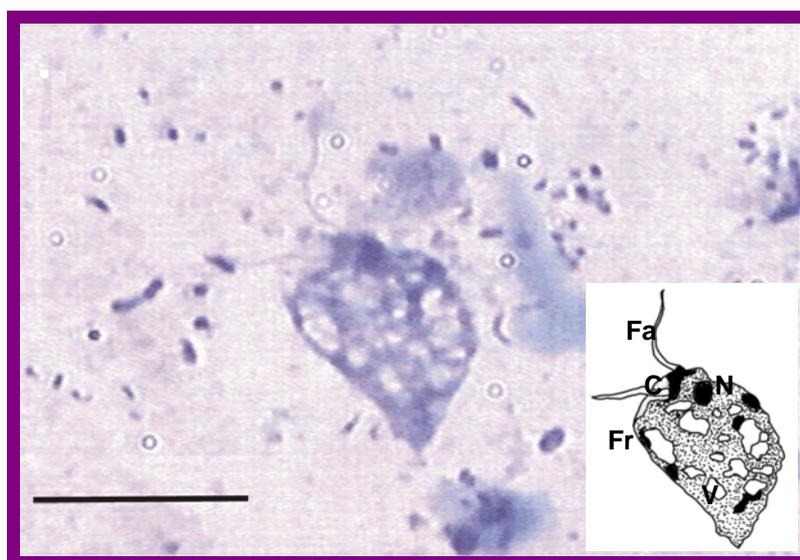


Tabla 4.19: Características morfométricas de los trofozoitos de *Retortamonas* sp., en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	10,3 \pm 2,1	6,5 - 14	10
anchura	7,7 \pm 2,1	5 - 13	10
Núcleo			
diámetro	1,8 \pm 0,8	1 - 4	10
Flagelos			
longitud del flagelo anterior	7,0 \pm 1,5	5 - 11	10
longitud del flagelo citostomal	5,4 \pm 1,2	4 - 9	10

Resultados

Sólo se ha encontrado en contenido intestinal de ciego y grueso, nunca en bolos fecales y por lo tanto nunca en las muestras procedentes de granjas, tan sólo en las de matadero (tabla 4.20). Ha aparecido en 27 hospedadores de 136 muestras analizadas, procedentes todas ellas de animales aparentemente sanos.

Tabla 4.20: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Retortamonas* sp. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% Positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	27	19,8	T	T	

4.2.2.5. Género *Chilomastix*

El organismo encontrado en avestruces es identificado como *Chilomastix gallinarum*. En fresco, los trofozoitos son fácilmente distinguibles por morfología y movimiento (video 6). Se trata de organismos piriformes, con tres flagelos anteriores y una pequeña “cola” en la parte posterior de la célula que en ocasiones se prolonga en un filamento de gran longitud (figura 4.23). Presentan un movimiento lento marcadamente unidireccional. Los quistes uninucleados son inconfundibles gracias a su forma de grano de uva (figura 4.24).

En las preparaciones teñidas con Giemsa el trofozoito es generalmente piriforme, aunque aparecen también formas redondeadas. Posee tres flagelos anteriores de igual longitud que emergen de la parte apical de la célula en un punto situado entre el núcleo y el citostoma. Este último tiene forma de ocho y aloja un cuarto flagelo que en ocasiones se desprende dando la sensación de que algunos ejemplares poseen cuatro flagelos en lugar de tres. El núcleo es de pequeño tamaño y sus proximidades tiñen de forma intensa. El rasgo más interesante es la prolongación caudal; en algunos organismos simplemente consiste en un estrechamiento de la célula cercano a su extremo posterior que se prolonga

durante una corta distancia, mientras que en otros esta prolongación se continúa en un fino filamento de hasta tres veces la longitud de la célula. Los quistes presentan el aspecto típico del género, con forma como de limón; internamente sólo se aprecia un núcleo situado en la mitad anterior, y vestigios del citostoma y de los flagelos. En las preparaciones teñidas tienden a deformarse, haciendo en ocasiones difícil su reconocimiento; por este motivo, las mediciones de los quistes se han hecho sólo en preparaciones teñidas con lugol. Las características morfométricas de trofozoitos y quistes se indican en la tabla 4.21.

Figura 4.23: *Chilomastix gallinarum*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; C: citostoma; V: vacuola digestiva; Fa: flagelo anterior.

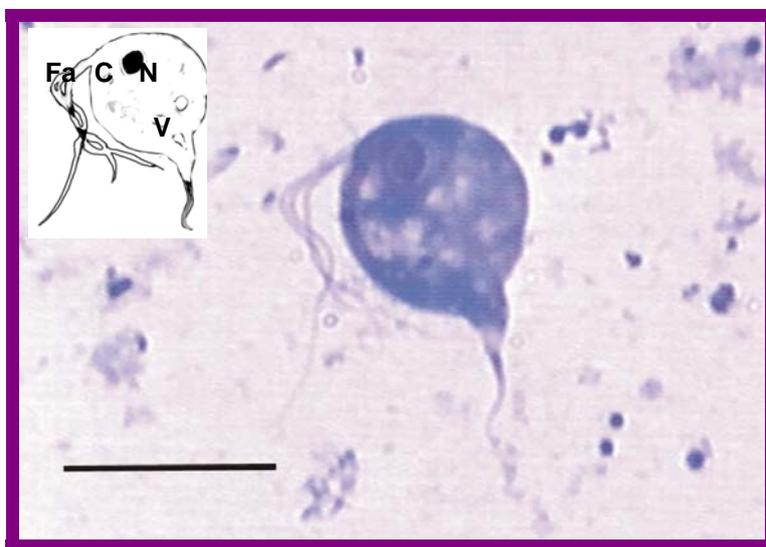


Figura 4.24: *Chilomastix gallinarum*, quiste en tinción con lugol.

N: núcleo.



Resultados

Tabla 4.21: Características morfométricas de los trofozoitos de *Chilomastix gallinarum* en preparaciones teñidas con Giemsa, y de quistes en preparaciones temporales con lugol. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	11,5 \pm 2,5	8 - 15	10
anchura	6,4 \pm 1,5	4,5 - 9	10
Núcleo			
diámetro	2,3 \pm 0,7	1 - 4	10
Flagelos			
longitud de los flagelos anteriores	7,6 \pm 2,1	5 - 14	10
longitud de la prolongación caudal	7,3 \pm 2,6	5 - 14	10
Quistes			
longitud	7,5 \pm 0,8	6 - 9	10
anchura	5,8 \pm 0,9	5 - 7	10
Núcleo			
diámetro	1,5 \pm 0,4	1,2 - 2	10

Aparece tanto en las muestras procedentes de granja como en el contenido de ciego y grueso de aves sacrificadas. En el primer caso resultaron positivas 71 muestras (figura 4.25), lo que supone un 27,1% de las analizadas (tabla 4.22). En el segundo caso apareció en 47 muestras, lo que supone un 34,5% de animales parasitados (tabla 4.23).

La densidad parasitaria y el estadio (trofozoito/quiste), varía dependiendo de la muestra. Así, como era de esperar, en las muestras de matadero es frecuente la observación de trofozoitos en los contenidos intestinales de ciego y grueso anterior, mientras que en el concentrado del contenido de la zona posterior del grueso se observan los quistes. En las heces procedentes de granjas, lo más habitual es la observación de quistes, aunque en ocasiones tras la incubación se observaron trofozoitos. En cualquiera de los casos, los animales no presentaban síntomas de enfermedad.

Figura 4.25: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Chilomastix gallinarum*.



Tabla 4.22: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Chilomastix gallinarum*.

Nº Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias muestreadas	Provincias positivas	% positivas
262	71	27,1	26	19	73,1

Tabla 4.23: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Chilomastix gallinarum*. T: trofozoito; Q: quiste.

Nº muestras totales	Nº Muestras positivas	% Positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	47	34,5	T	T	Q

4.2.2.6. Género *Spironucleus*

El organismo perteneciente a este género se ha identificado como *Spironucleus meleagridis*. Se trata de organismos muy fáciles de identificar en fresco debido a su particular movimiento (video 7). Los trofozoitos aparecen como organismos de pequeño tamaño, con el cuerpo piriforme ligeramente dilatado en su extremo anterior, y con gran capacidad de desplazamiento, normalmente unidireccional, siendo el más rápido de entre los protozoos encontrados.

En las extensiones teñidas con Giemsa (figura 4.26) aparece como un organismo de pequeño tamaño, con un ligero estrechamiento en su parte posterior. Tiñe de forma homogénea, no observándose vacuolas ni gránulos citoplasmáticos. Los flagelos aparecen a menudo entremezclados, siendo los recurrentes, que recorren la célula emergiendo por la apertura del citostoma, los que mejor se observan. Los flagelos anteriores son prácticamente de la misma longitud y aparecen a menudo dirigidos hacia la parte distal del organismo. Los núcleos, situados en la parte anterior, aparecen como una masa de apariencia arriñonada, intensamente teñida. Las características morfométricas de este organismo se muestran en la tabla 4.24.

Figura 4.26: *Spironucleus meleagridis*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; Fa: flagelo anterior; Fr: flagelo recurrente.

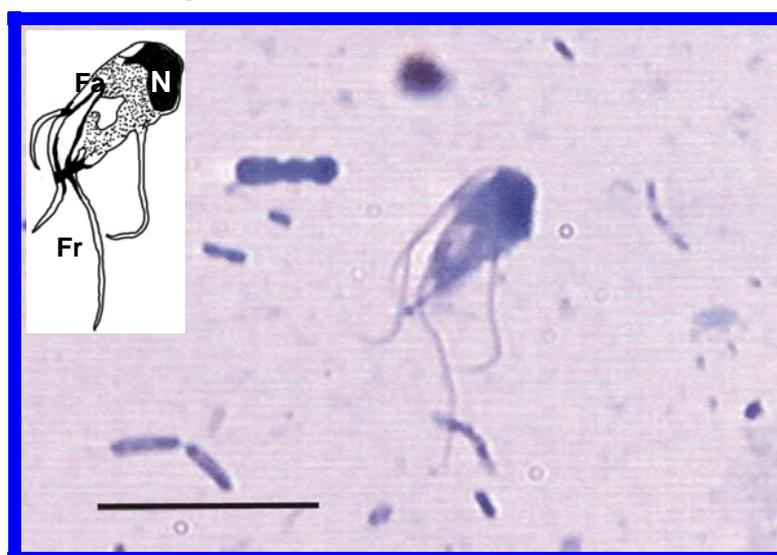


Tabla 4.24: Características morfométricas de los trofozoitos de *Spironucleus meleagridis*, en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	7,2 \pm 0,9	6 - 9	10
anchura	4,3 \pm 0,7	4,5 - 5	10
Flagelos			
longitud de los flagelos anteriores	10,8 \pm 1,5	9 - 13	5
longitud de los flagelos recurrentes	11,7 \pm 1,2	10 - 14	7

Se ha encontrado en 20 muestras de granjas, lo que supone un 7,6 % de muestras positivas (tabla 4.25); no obstante, estos resultados deben considerarse una infraestimación de los valores reales, dadas las características del método diagnóstico (rehidratación de bolos fecales). También ha aparecido en el 4,4% de las muestras procedentes de matadero, tanto en el contenido del intestino grueso como en el de los ciegos, siendo más abundante en el último (tabla 4.26).

Tabla 4.25: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Spironucleus meleagridis*.

Nº Muestras totales	Nº Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
262	20	7,6	26	11	42,3

Tabla 4.26: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Spironucleus meleagridis*. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% Positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	6	4,4	T	T	

4.2.2.7. Género *Giardia*

Los organismos identificados como *Giardia* sp. son fácilmente distinguibles en fresco debido a su peculiar movimiento. Aunque no es tan rápido como *Spironucleus*, el desplazamiento de *Giardia* se produce de forma ágil, girando sobre su eje en lo que se describe como movimiento semejante a la caída de una hoja (video 8).

En las muestras teñidas con Giemsa aparece con la morfología típica del género (figura 4.27): una célula redondeada en su extremo anterior y puntiaguda en el posterior, con un disco adhesivo en la parte anterior ocupando algo más de la mitad de la longitud total del cuerpo celular. Los cariosomas, localizados en la parte central de los núcleos, presentan forma de lágrima, aunque en ocasiones adquieren forma oval. Los flagelos caudales son de la misma longitud, aunque difieren de los flagelos anteriores y ventrocaudales siendo éstos algo más largos. En todos los trofozoitos encontrados, la zona donde se sitúan los cuerpos medios aparece intensamente teñida, por lo que no ha sido posible observar su morfología. Los datos morfométricos se indican en la tabla 4.27. A falta de estudios más exhaustivos que determinen la especie a la que pertenece este organismo, sólo indicamos que se trata, por morfología, de un parásito perteneciente al grupo *duodenalis* o *psittaci* según la clasificaciones de Filice (1952) y Thompson (2000).

Figura 4.27: *Giardia* sp., trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; CM: cuerpos medios; Fa: flagelos anteriores; Fc: flagelos caudales; FI: flagelos laterales.



Tabla 4.27: Características morfométricas de los trofozoitos de *Giardia* sp. en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	15,1 \pm 1,4	12 - 17	10
anchura	8 \pm 0,5	7 - 9	10
relación L/A	1,8 \pm 0,1	1,6 - 2,1	10
Núcleos			
tamaño	1,4 \pm 0,4	1 - 2	9
Flagelos			
long. de los flagelos anteriores	11,6 \pm 1,4	10 - 14	6
long. de los flagelos ventrocaudales	12,1 \pm 0,9	11 - 14	7
longitud de los flagelos caudales	8 \pm 1,2	6 - 10	9
longitud del disco adhesivo	8,5 \pm 0,8	7 - 10	8

Los trofozoitos de *Giardia* fueron detectados en una muestra de contenido de ciego, obtenida en matadero (tabla 4.28). En algunas muestras de granja se han observado (en preparaciones temporales teñidas con lugol) estructuras que podrían corresponder a quistes del parásito; sin embargo, en tinciones con negro de clorazol nunca se han identificado quistes, por lo que las citas de granjas deben considerarse como presuntas, sin confirmar.

Tabla 4.28: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Giardia* sp. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	1	0,7	T		

4.2.2.8. Género *Pleuromonas*

El organismo encontrado en avestruces es identificado morfológicamente como *Pleuromonas jaculans*, única especie de este género y que está descrita en aves. Esta especie presenta dos morfologías, una alargada y la otra redondeada, arrastrando en cualquiera de los casos un largo flagelo (al menos el doble que la longitud del cuerpo) que aparentemente no participa en el movimiento unidireccional de la célula (video 9).

En las preparaciones teñidas con Giemsa (figura 4.28) se pone de manifiesto lo que parece ser un corto flagelo que a menudo forma un bucle dando la impresión de estar unido a la célula. El segundo flagelo nace de la parte posterior de la célula, discurre pegado al cuerpo y emerge por la parte anterior en una longitud variable, superando en general la longitud del trofozoito, aunque a diferencia de lo observado en fresco no llega a superar el doble de la longitud del cuerpo (tabla 4.29).

Figura 4.29: *Pleuromonas jaculans*, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; Fp: flagelo posterior; Fr: flagelo recurrente.

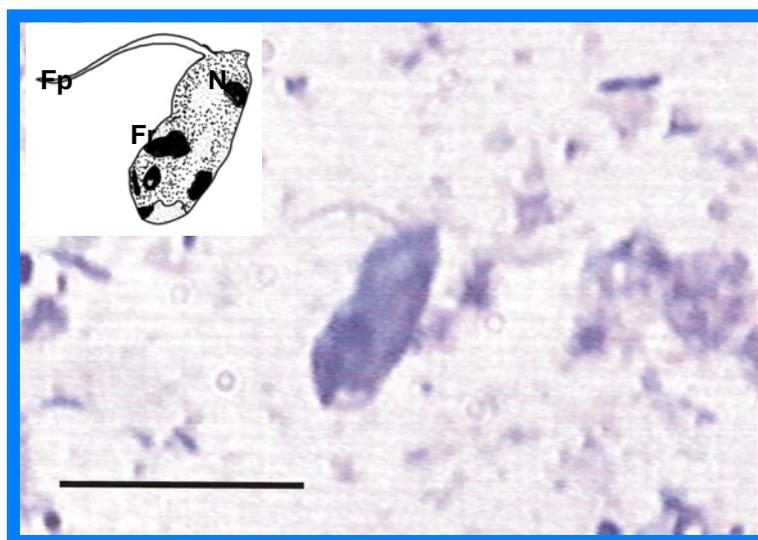


Tabla 4.29: Características morfométricas de los trofozoitos de *Pleuromonas jaculans*, en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	9 \pm 1,8	6 - 11	10
anchura	6,3 \pm 1,5	4 - 9	10
Núcleo			
diámetro	1,6 \pm 0,4	1 - 2	10
Flagelo libre			
longitud	11,1 \pm 4,3	7 - 22	10

Ha sido observado en 21 muestras de granja lo que supone que está presente en al menos el 8% de las muestras analizadas (tabla 4.30); estos datos deben considerarse como una infraestimación, dadas las características del método diagnóstico. En el caso de las muestras procedentes de animales sacrificados se ha encontrado en 7 ocasiones, estando siempre presente en contenido de intestino grueso (tabla 4.30). Hay que señalar que también se ha localizado en 1 de las 5 muestras de ñandúes.

Tabla 4.30: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Pleuromonas jaculans*.

Nº Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
262	21	8	26	14	53,8

Tabla 4.31: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Pleuromonas jaculans*. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	7	5,2		T	

4.2.2.9. Euglenozoos

Estos organismos son fácilmente reconocibles en fresco tanto por morfología como por las características del movimiento. Se trata de organismos ovalados con un grueso flagelo que sobresale de la célula por su parte posterior; este flagelo tiene un aspecto más o menos rectilíneo (ocasionalmente presenta un punto de doblez, volviendo de nuevo al aspecto rectilíneo) y con movimiento únicamente en su parte distal, que parece que gira como si fuera una hélice. Esto les proporciona un desplazamiento uniforme y unidireccional, único y típico de este tipo de organismos. Aunque hay especies dentro del grupo que poseen cloroplastos, otras (como la encontrada en el presente estudio) carecen de ellos, al estar adaptadas a una vida en medios con abundante materia orgánica.

En las preparaciones teñidas con Giemsa presentan apariencia ovalada con un ligero estrechamiento en su zona distal (figura 4.30). El citoplasma se tiñe intensamente aunque en ocasiones de manera desigual, adquiriendo entonces la parte anterior más coloración. Las estructuras internas no se diferencian. En organismos sometidos a una tinción más débil, la única forma distinguible en el interior del cuerpo es un núcleo voluminoso situado en la parte anterior de la célula y ligeramente desplazado hacia uno de los laterales. También en este tipo de tinciones es posible observar el recorrido del flagelo: aunque nace del extremo donde se localiza el núcleo, recorre la célula emergiendo por el extremo opuesto. Las características morfométricas de este organismo se indican en la tabla 4.32.

Figura 4.30: Euglenozoo, trofozoito en tinción con Giemsa.

N: núcleo; F: flagelo.

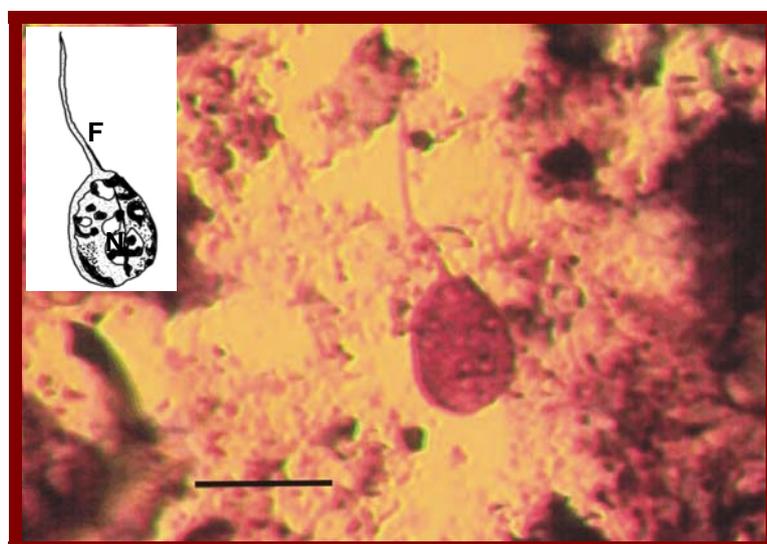


Tabla 4.32: Características morfométricas de los trofozoitos de euglenozoos, en preparaciones teñidas con Giemsa. Las medidas se expresan en μm .

Trofozoito	media \pm d.t.	rango	n
Cuerpo celular			
longitud	11,5 \pm 1,8	9 - 14	10
anchura	5,3 \pm 1,3	4 - 8	10
Flagelo			
longitud	9,3 \pm 2,9	6 - 16	10

Organismos pertenecientes a este grupo aparecen tanto en las muestras de granja como en las muestras de matadero, aunque no ha sido posible realizar su clasificación a nivel de familia, ni por tanto de género y especie. En el primer caso se detectaron tan solo en 1 de las 262 muestras analizadas, lo que supone tan sólo el 0,4% del total (tabla 4.33). En el caso de los animales sacrificados en matadero apareció en 3 de 136 muestras analizadas y siempre en contenido de intestino grueso (tabla 4.34).

Tabla 4.33: Datos obtenidos del muestreo en granjas: euglenozoos.

Nº Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
262	1	0,4	26	1	3,8

Tabla 4.34: Datos obtenidos del muestreo en matadero: euglenozoos. T: trofozoito.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
136	3	2,2		T	

4.2.3. APICOMPLEJOS

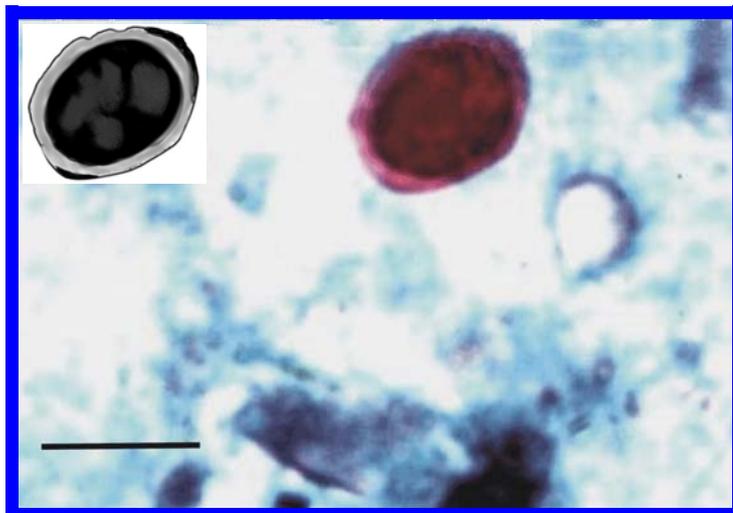
4.2.3.1. Géneros *Isospora* / *Eimeria*

Durante la realización de este estudio se hallaron en muestras fecales, y de forma ocasional, ooquistes no completamente esporulados, compatibles (dada su inmadurez) con ambos géneros. En la mayoría de los casos, estos ooquistes fueron observados en preparaciones temporales, y solo ocasionalmente en frotis teñidos. En fresco, trata de estructuras de forma esferoidal, con un diámetro de 15-20 μm y con dos esporoquistes en su interior (figura 4.31). No se puede determinar si los dos esporoquistes están todavía o no en proceso de división, por lo que no es posible hacer un diagnóstico diferencial entre *Isospora* (con ooquistes maduros conteniendo dos esporoquistes) y *Eimeria* (con ooquistes maduros conteniendo cuatro esporoquistes). En tinciones Ziehl-Nielsen de estas muestras, dichos organismos aparecen coloreados de rojo por la fucsina, debido a su cubierta ácido-alcohol resistente, pero siempre incluyen en su interior una única masa (esporonte) aún indiferenciada (figura 4.32).

Figura 4.31: *Isospora* sp./ *Eimeria* sp., ooquiste no completamente esporulado, en preparaciones en fresco con contraste de fases.



Figura 4.32: *Isospora* sp./ *Eimeria* sp., ooquiste sin esporular en tinción Ziehl Nielsen. Barra de escala: 15 μ m.



En nuestro estudio estos organismos han aparecido sólo de forma ocasional, habiéndose observado en total menos de una decena de ooquistes, tanto en muestras de granja como de matadero.

4.2.3.2. Género *Cryptosporidium*

En este estudio se han detectado ooquistes morfológicamente compatibles con *Cryptosporidium*, mediante tinciones de Ziehl-Nielsen. El aspecto ha sido en todos los casos similar: estructuras esféricas teñidas de color rosa más o menos intenso, con masas densas rojas en su interior, y con una cubierta patente. Se han encontrado ooquistes de dos tamaños: los más frecuentes son pequeños, con diámetros entre 3 - 5 μ m, mientras que los más grandes oscilan entre 6 - 8 μ m (figuras 4.33-4.34). La identificación específica no es posible a partir exclusivamente de datos morfológicos, y además aún no está determinada la especie o especies concretas de *Cryptosporidium* que infectan las ratites. Por este motivo, en el presente estudio se identifican como *Cryptosporidium* sp.1, o *Cryptosporidium* “pequeño”, y *Cryptosporidium* sp.2 o *Cryptosporidium* “grande”.

Resultados

Los ooquistes pequeños han aparecido tanto en muestras de avestruz como de ñandú, mientras que los grandes sólo en muestras de avestruz. Considerados conjuntamente, los ooquistes de *Cryptosporidium* han aparecido tanto en muestras procedentes de granjas (tabla 4.35 y figura 4.35) como en muestras del matadero (tabla 4.36), con una prevalencia por encima del 50% de los animales analizados, y con densidades parasitarias generalmente bajas salvo en algunos casos concretos.

Figura 4.33: *Cryptosporidium* sp.1, ooquistes pequeños, en tinción Ziehl-Nielsen.

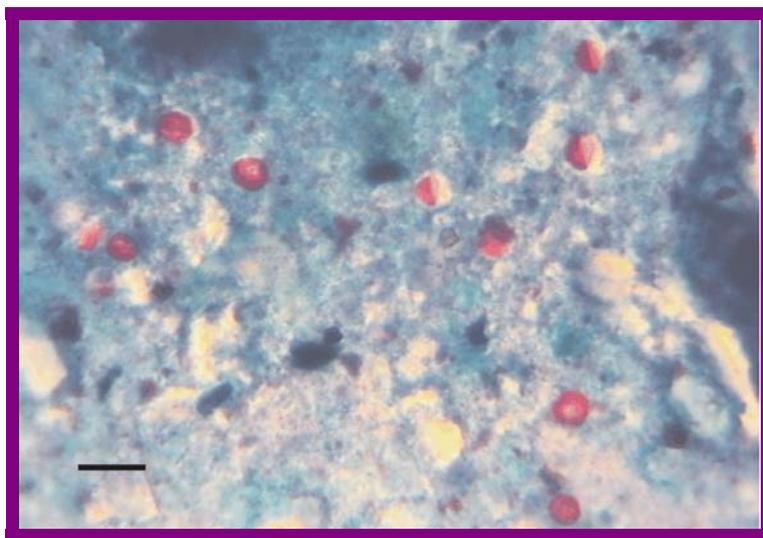


Figura 4.34: *Cryptosporidium* sp.2, ooquiste grande, en tinción Zielh-Nielsen.

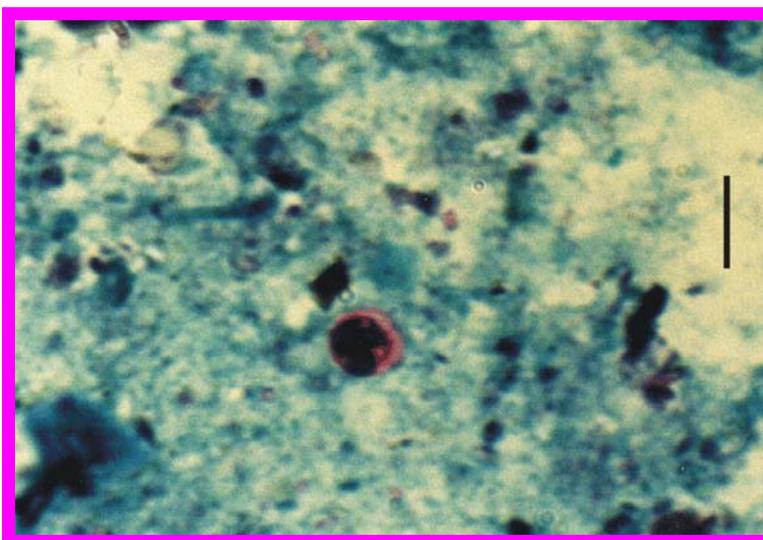


Figura 4.35: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Cryptosporidium* sp.**Tabla 4.35:** Datos obtenidos del muestreo de granjas: *Cryptosporidium* sp.

Muestras totales	Muestras positivas	% muestras positivas	Provincias muestreadas	Provincias positivas	% provincias positivas
221	134	60,6	20	19	90%

Tabla 4.36: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Cryptosporidium* sp. O: ooquiste.

Muestras totales	Muestras positivas	% muestras positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
170	88	51,7			O

4.2.4. CILIADOS

4.2.4.1. Género *Balantidium*

Los trofozoitos y quistes compatibles con *Balantidium* que han sido hallados en este trabajo han sido identificados como *Balantidium struthionis*, descrito por Hegner (1934) en avestruces de zoo. Tanto en muestras de heces de ñandú como de avestruz han sido hallados quistes morfológicamente indistinguibles. En las muestras de avestruces sacrificadas en matadero también aparecieron trofozoitos asociados a estos quistes. Mientras las formas de resistencia suelen aparecer con mayor abundancia en bolos fecales o en contenido de intestino grueso, las formas activas suelen encontrarse en ciego o grueso proximal. Tanto quistes como trofozoitos son perfectamente distinguibles en observaciones en fresco.

En fresco (figura 4.36), el trofozoito es ovalado, pudiendo apreciarse los cilios y la citofaringe. El movimiento es característico (video 10), rápido y con marcada traslación en línea recta.

En preparaciones temporales con lugol (figura 4.37) se pueden apreciar los cilios, así como la forma típica del núcleo, de aspecto arriñonado. En preparaciones teñidas con Giemsa (figura 4.38) se pueden apreciar bien las bandas ciliares, dispuestas de forma sensiblemente paralela al eje principal de la célula. En preparaciones teñidas con tricrómico (figura 4.39) se aprecia mejor la forma del núcleo, que puede variar desde casi recta hasta muy doblada, ocasionalmente con aspecto de tener una hendidura central, característica ésta que fue considerada por Hegner (1934) como diagnóstica (figuras 4.38 - 4.39). Las características morfométricas de los trofozoitos se muestran en la tabla 4.38.

Los quistes son esféricos, de entre 40-80 μm de diámetro y con una gruesa cubierta (figura 4.40). Aunque con menor facilidad que en los trofozoitos, es frecuente apreciar el macronúcleo arriñonado. Las características morfométricas de los quistes se muestran en la tabla 4.38.

Figura 4.36: *Balantidium struthionis*, trofozoito en fresco. Barra de escala: 50 μ m.

CF: citofaringe; CP: citopigio.

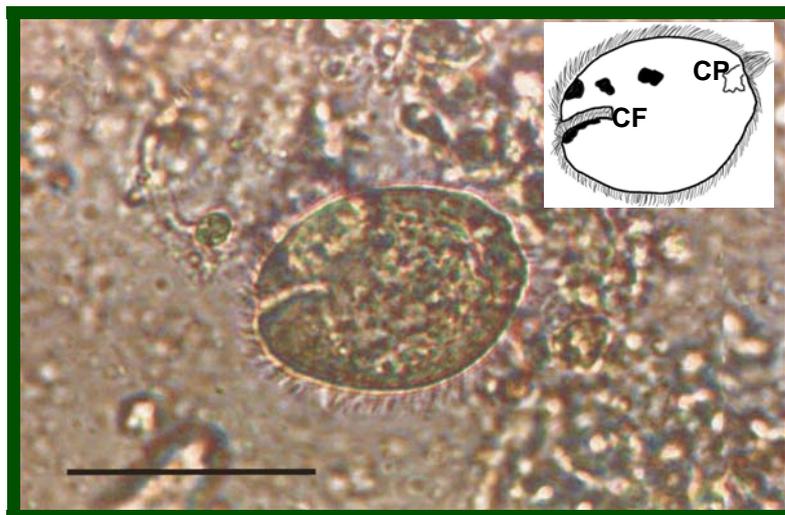


Figura 4.37: *Balantidium struthionis*, tinción con lugol. Barra de escala: 50 μ m.



Figura 4.38: *Balantidium struthionis*, tinción con Giemsa. Barra de escala: 50 μ m.

M: macronúcleo ; CF: citofaringe; V: vacuolas.

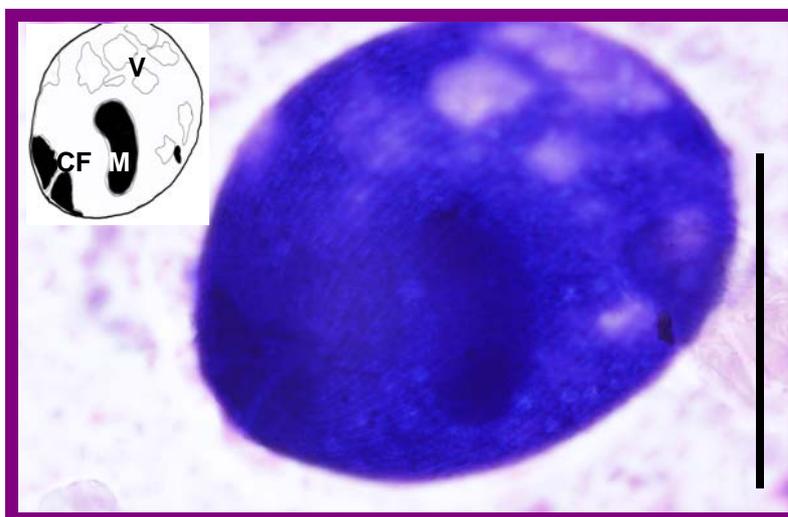


Figura 4.39: *Balantidium struthionis*, trofozoitos en tinción con tricrómico. Barra de escala: 50 μ m.

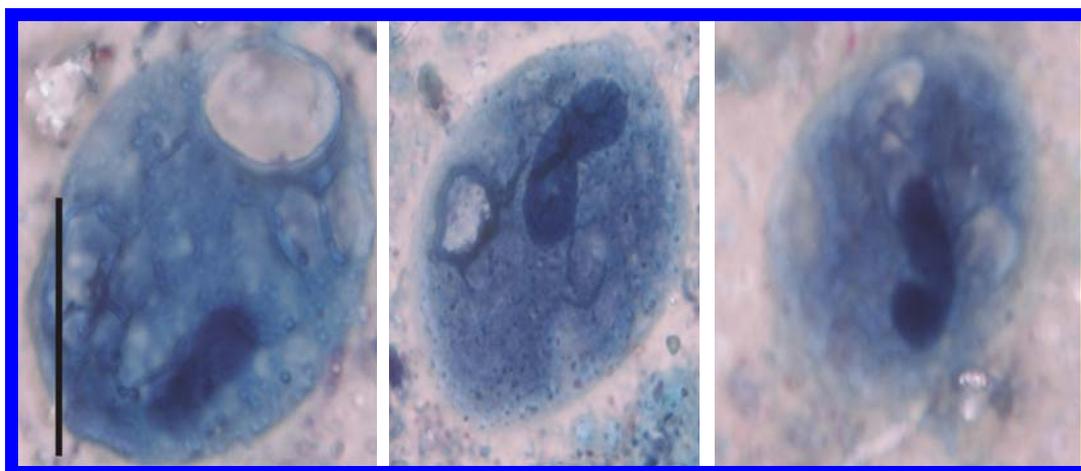
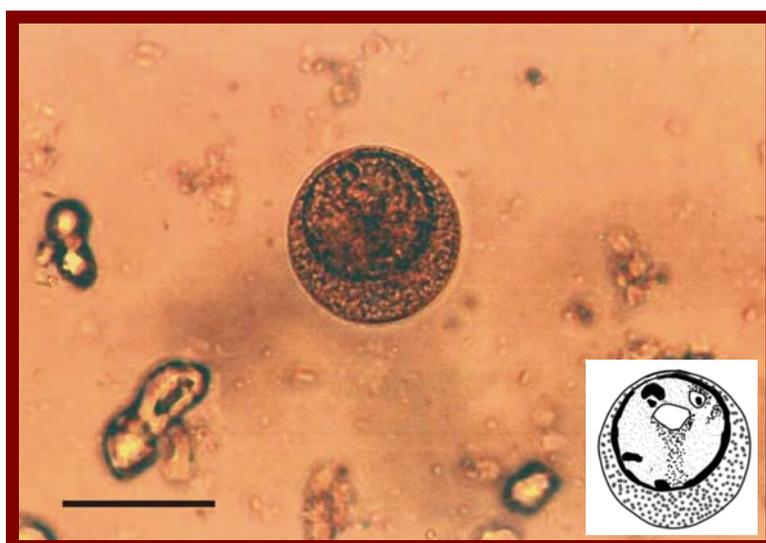


Figura 4.40: *Balantidium struthionis*, quiste en tinción con lugol. Escala: 50 μ m.



En el presente estudio aparece, en avestruces, tanto en muestras procedentes de granjas (tabla 4.38) como en muestras del matadero (tabla 4.39) con una prevalencia por encima del 80% de los animales analizados, y con densidades parasitarias generalmente altas en algunos casos concretos. Se han encontrado quistes en muestras procedentes de granjas de ñandúes, pero con una prevalencia mucho menor: sólo 2 de 11 individuos de distintas provincias (Alicante y Málaga). Estos quistes son morfológicamente indistinguibles de los de *B. struthionis*, por lo que se identifican como tal. En ningún caso (ni avestruz ni ñandú), la presencia de *Balantidium* estuvo asociada a cuadros patológicos (ni siquiera en parasitaciones intensas).

Tabla 4.38: Características morfométricas de los trofozoitos y quistes de *Balantidium struthionis*. Las medidas se expresan en μm . nd: no determinado.

Trofozoitos	Tricrómico	Giemsa	Total
	n = 15	n = 15	n = 30
Cuerpo celular			
Longitud máxima			
media \pm d.t.	55,9 \pm 7,3	58,0 \pm 8,3	57,0 \pm 7,8
rango	46 - 68	45 - 70	45 - 70
Anchura máxima			
media \pm d.t.	39,6 \pm 4,3	41,8 \pm 4,1	40,7 \pm 4,2
rango	34 - 47	35 - 48	34 - 48
Núcleo	n = 15	n = 15	n = 30
Longitud máxima			
media \pm d.t.	27,8 \pm 2,1	28,2 \pm 3,2	28,0 \pm 2,7
rango	24 - 31	24 - 31	24 - 31
Anchura máxima			
media \pm d.t.	11,7 \pm 1,0	11,1 \pm 0,8	11,6 \pm 0,9
rango	10 - 13	10 - 13	10 - 13
Quistes	Lugol		
	n = 15		
Diámetro máximo			
media \pm d.t.	45,9 \pm 4,2		
rango	40 - 52		

Tabla 4.38: Datos obtenidos del muestreo en granjas: *Balantidium struthionis*.

Muestras totales	Muestras positivas	% positivas	Provincias totales	Provincias positivas	% positivas
533	460	87,4	19	19	100%

Tabla 4.39: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Balantidium struthionis*. T: trofozoito; Q: quiste.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivas	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
362	247	68,2	T		Q

Figura 4.41: Distribución geográfica de las granjas positivas a *Balantidium struthionis*.



4.2.5. BLASTOCYSTIS

Este organismo es fácil de detectar por su forma vacuolada tan inusual y su pequeño tamaño, especialmente el trofozoito, presentando este último unas características morfológicas muy peculiares. En el presente estudio han sido halladas con frecuencia fomas vacuoladas típicas del género *Blastocystis*, pero no se ha establecido todavía la especie que puede estar presente en avestruces (Tan, 2004), por lo que son clasificados como *Blastocystis* sp.

La morfología de las formas encontradas ha sido relativamente constante; se trata de estructuras de aspecto redondeado, de 6-12 μm , con una vacuola central fuertemente teñida y con uno o varios núcleos también muy teñidos, distribuidos en la periferia (figura 4.42).

Solo se ha hecho seguimiento de *Blastocystis* en muestras de matadero (donde aparece con una prevalencia del 63,8%), ya que son las únicas que se teñían de forma rutinaria (tabla 4.40). Por tanto, no hay datos recogidos sobre este parásito en las muestras procedentes de granja.

Figura 4.42: *Blastocystis* sp., trofozoito en forma vacuolada en tinción con Giemsa. N: núcleo; V: vacuola.

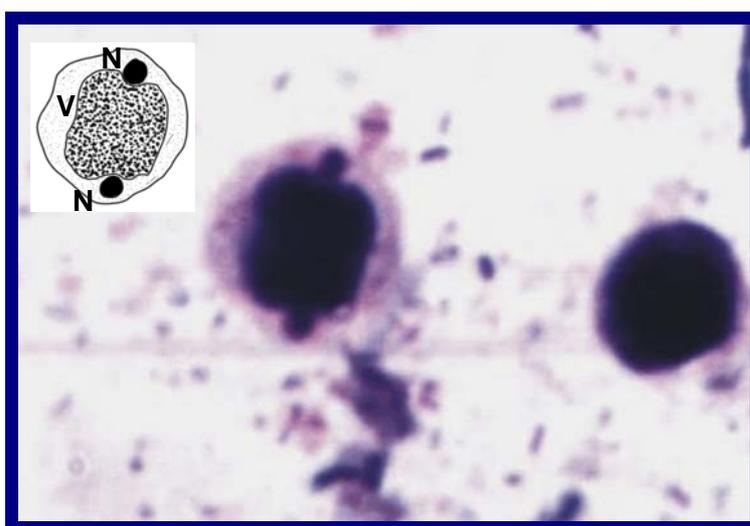


Tabla 4.40: Datos obtenidos del muestreo en matadero: *Blastocystis* sp. FV: forma vacuolada.

Nº muestras totales	Nº muestras positivas	% positivos	Localización		
			Ciego	Grueso anterior	Grueso posterior
105	67	63,8	FV		FV

4.3. PARÁSITOS DE LOCALIZACIÓN TISULAR

4.3.1. GÉNERO *TOXOPLASMA*

Todos los sueros se mostraron negativos en el test de aglutinación en látex (empleando diluciones 1:2 con el fin de evitar el efecto zona). Este resultado era esperable en función de trabajos previos en los que sueros dados como positivos mediante otras técnicas, resultan negativos empleando LAT (Dubey y col., 1993a,b). Es decir, el LAT es una técnica reconocidamente menos sensible que otras, como por ejemplo el MAT (Hughes y col., 1982; Lindsey y col., 1994; Quist y col., 1995; Lindsay y Blagburn, 1999).

Las pruebas de aglutinación modificada con 2 ME se realizaron en cuatro placas a razón de unos 30 sueros en cada una de ellas, ensayando diluciones de 1:25, 1:50 y 1:500, y con los correspondientes controles positivos y negativos. De los 117 sueros estudiados solamente uno (0,9% del total) resultó positivo a una dilución de 1:25. Este suero corresponde a un individuo joven (12-15 meses de edad), sacrificado en enero de 1998 y procedente de una granja situada en la provincia de Ávila. En el resto de muestras examinadas de este animal, al margen de los protozoos flagelados que comúnmente aparecen en el contenido intestinal de las avestruces sacrificadas, destaca el hallazgo de cuatro ejemplares adultos del cestodo *Houttuynia struthionis*.

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

En general, son pocos los estudios realizados con el fin de determinar qué organismos comensales y/o parásitos existen en las ratites criadas fuera de África, y sólo se han publicado artículos en esta temática, en España, por los miembros del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral. En general, en dichos estudios tampoco se ha considerado la posible importancia sanitaria para el hombre derivada de la importación y cría de estas aves; pero cuando se ha hecho (p.e., USDA, 1989a,b; Mertins y Slater, 1991) se ha visto que puede haber un riesgo de transmisión de patógenos. Mientras que los helmintos y artrópodos que parasitan las avestruces y ñandúes están relativamente estudiados, los protozoos son los “grandes desconocidos” y por tanto este trabajo significa una gran contribución a la identificación de estos organismos y sienta las primeras bases para futuros estudios diagnósticos y epidemiológicos más completos.

5.1. DISCUSIÓN SOBRE AMEBAS

Son pocos los trabajos en los que se cita la presencia de amebas en ratites; en las revisiones de Craig y Diamond (1996), Carbajo y col. (1997) y Huchzermeyer (1999) se menciona la presencia de amebas, de forma genérica y dando pocos datos. En trabajos específicos es cuando se identifican fundamentalmente como pertenecientes al género *Entamoeba* (Jansson y Christensson, 2000; Sotiraki y col., 2001; Pennycott y Patterson, 2001; Yaman y Durgut, 2005), pero sin aportar datos morfológicos. En general, el vacío de conocimientos sobre este grupo de organismos en ratites es muy grande.

Con anterioridad al comienzo de este trabajo no se había descrito ninguna especie de *Entamoeba* en avestruces. Todos nuestros hallazgos en avestruces, y (salvo dos excepciones) en ñandúes, corresponden inequívocamente a una especie de *Entamoeba* del grupo *bovis* (formadoras de quistes uninucleados), siendo hasta el momento la única especie de este grupo citada en aves; todas las

demás especies del grupo *bovis* han sido citadas en mamíferos. Sí se han descrito en aves amebas de los grupos *coli* (*E. gallinarum* se encuentra en el ciego de gallinas, pavos y perdices; Levine, 1985; Cordero del Campillo y col., 1994) y *histolytica* (*E. anatis* se ha descrito en aves, específicamente patos; Levine 1985; Silvanose y col., 1998).

Dentro de las especies del grupo *bovis*, las especies consideradas válidas hasta el momento son *E. ovis*, *E. bovis*, *E. dilimani*, *E. bubalis*, *E. chattoni* y *E. polecki*; a esta lista hay que añadir la especie *E. suis*, “resucitada” por Clark y col. (2006) mediante análisis genéticos. En general, los criterios empleados han sido la morfología y la especie de hospedador, criterios que han sido cuestionados como válidos (Wenrich, 1941; Neal, 1966, Levine, 1980), por lo que es posible que existan sinónimos entre las especies mencionadas.

La morfología de los trofozoitos y quistes de la ameba uninucleada presente en avestruces es compatible con la de las demás especies de *Entamoeba* del grupo *bovis*, excepto *E. dilimani* (que tiene un endosoma más pequeño) y *E. bubalus* (cuyo endosoma tiene el aspecto de un grupo de cuatro gránulos; Levine, 1985). En relación con el tamaño, tanto los trofozoitos como los quistes hallados en avestruces son más grandes que los de las demás especies del grupo *bovis*. Es bien conocido que el tamaño del trofozoito puede verse afectado por las características ambientales, mientras que el tamaño de los quistes es relativamente independiente de dichos factores (Neal, 1966). *In vivo*, las características nutricionales del contenido intestinal pueden ser debidas a la especie de hospedador, por lo que el mayor tamaño que se ha observado en los trofozoitos *in vivo* puede no ser un carácter diferencial válido; en consecuencia, sólo es posible considerar el tamaño de los quistes como criterio comparativo, y en tal caso sólo *E. polecki*, *E. chattoni* y la resucitada *E. suis* tienen tamaños comparables a los hallados en avestruces.

La validez como especie diferente del organismo encontrado en avestruces no puede establecerse a partir de los datos morfológicos y de hospedador

obtenidos en este estudio; su morfología y tamaño se parece a los de algunas de las especies descritas, pero no son totalmente coincidentes, y además es la única cita en aves, por lo que es necesario aplicar criterios bioquímicos y genéticos para establecer su estatus taxonómico. Esta circunstancia es la que ha llevado a otros miembros del grupo de trabajo en el que se ha realizado la presente tesis, a realizar dichos estudios genéticos, dando como resultado la denuncia de una nueva especie, *E. struthionis* (Ponce-Gordo y col., 2004). Esta propuesta se realizó tras analizar la secuencia del gen que codifica para la subunidad pequeña del ARNr y compararla con las secuencias disponibles de otras especies del género. En la comparación con los resultados publicados por otros autores, Ponce-Gordo y col. (2004) indican que algunas de las secuencias no identificadas de *Entamoeba* del grupo *bovis* aisladas de casos humanos (Verweij y col., 2001) corresponden a esta misma especie, por lo que se sugiere la posibilidad de que esta ameba pueda afectar también al hombre, aunque sin descartar que se trate de parasitosis espúreas. Recientemente se ha discutido la validez de *E. struthionis* como especie propia: Clark y col. (2006) consideran que dado que encontraron un aislado de cerdo cuya secuencia corresponde a *E. struthionis*, entienden que por estar también en cerdos este organismo debe considerarse como *E. polecki*, y por tanto *E. struthionis* es un sinónimo. Esta argumentación ha sido contestada por Ponce-Gordo y Martínez-Díaz (2007), y de la respuesta de Clark y col. (2007), la única aportación nueva de interés referente a este organismo es que confirman los datos de Verweij y col. (2001) sobre que los aislados humanos de *E. struthionis* no pueden considerarse como parasitosis espúreas. Por tanto, y teniendo en cuenta lo publicado por otros autores, la especie de *Entamoeba* uninucleada de avestruces sería infectante para el hombre, por lo que las avestruces deben en tal caso considerarse como un reservorio de esta ameba. En este sentido, es de destacar la alta prevalencia de este organismo tanto en avestruces como en ñandúes, siendo muy común e identificado en animales de tan sólo 2-3 semanas de edad. Al tratarse de una especie del grupo *bovis*, y dada la ausencia de relación con patologías tanto en avestruces como en los casos humanos publicados (Verweij y col., 2001), puede considerarse como un organismo poco o no patógeno para el hombre.

Respecto a la otra especie del género encontrada en ñandúes, perteneciente al grupo *coli*, es de destacar su bajísima prevalencia. Esta es la primera cita de una ameba de este grupo en ratites, no pudiéndose considerar como una parasitosis espúrea dado que fue aislada en muestras de animales distintos tomadas en muestreos distintos. Los pollos de avestruces criados en esta misma granja dieron negativo para este parásito. No fue posible hallar trofozoitos ya que las muestras no eran diarreicas y no se pudo analizar el contenido intestinal de los animales infectados. La comparación morfológica de los quistes hallados con los de *E. gallinarum* muestra que los quistes obtenidos de ñandú son un poco más grandes, pero están dentro del rango descrito para *E. coli* (10-33 μm) y *E. muris* (9-20 μm) (Levine, 1985). Teniendo en cuenta la posibilidad (confirmada para la especie del grupo *bovis* encontrada en avestruces) de que una especie de aves esté presente en mamíferos (y consecuentemente, también viceversa), no puede proponerse una identificación específica sin hacer antes estudios genéticos que permitan confirmar su estatus taxonómico. Actualmente, este estudio forma parte de una línea de investigación dentro del equipo de trabajo en el que se ha realizado esta tesis. En cualquier caso, los datos disponibles permiten suponer que tanto si es una especie nueva como una especie ya descrita en aves o mamíferos, es un organismo comensal. Además, su baja prevalencia hace que el riesgo de transmisión a otros posibles hospedadores sea muy bajo.

En relación al género *Iodamoeba*, la única especie descrita es *I. butschlii*, distribuida mundialmente en mamíferos. Aunque se considera que es habitualmente no patógena, se ha mencionado la posibilidad de que en algunos casos sí lo sea para el hombre (Levine, 1985). Además de en las avestruces españolas, Sotiraki y col. (2001) también han indicado la presencia de quistes de tipo *Iodamoeba* en avestruces griegas. Aunque los quistes se identifican muy fácilmente en tinciones temporales con yodo, debido a la gran masa de glicógeno que contienen, esta masa desaparece después de unos días (8-10, en el caso de *I. butschlii*), y a su vez el quiste muere y empieza a desintegrarse. Esta corta viabilidad de los quistes podría, al menos en parte, explicar la baja frecuencia con

que este organismo ha sido identificado en muestras de granja de avestruces (en nuestro caso, en torno al 1%), así como la escasez de citas por otros autores.

Los datos disponibles no permiten establecer si la especie encontrada en avestruces es la misma de mamíferos, o si es otra diferente, por lo que es necesario realizar estudios genéticos para realizar esta identificación. En el supuesto de que se tratase de la misma especie de mamíferos, entonces podría existir un cierto riesgo de transmisión al hombre. Sin embargo, aún en tal supuesto, la corta viabilidad de los quistes harían que el riesgo de transmisión a otros hospedadores fuese bajo. Además, dado que este organismo es considerado como no patógeno, su hipotética transmisión no tendría consecuencias para la salud humana.

No hay citas previas de la presencia de *Endolimax* en avestruces o ñandúes. El organismo ahora encontrado presenta características compatibles con la única especie de este género descrita en aves, *Endolimax gregariformis* (Tyzzer, 1920; Hegner, 1929). Sin embargo, los caracteres morfológicos no permiten confirmar que se trata de dicha especie, ya que los tamaños de las distintas especies de *Endolimax* son muy similares entre sí (entre 4-15 μm), y la especie de hospedador podría no ser un criterio válido. Además, no hay tampoco evidencia de que las especies *E. gregariformis* y *E. nana* sean realmente especies distintas, ya que no se han hecho estudios genéticos ni de infecciones cruzadas que comparen ambas especies. Por tanto, la especie encontrada en avestruces puede ser una de las mencionadas (que, incluso, podrían ser sinónimos), o una especie diferente. Es necesario realizar estudios genéticos para poder confirmar su estatus taxonómico. En cualquier caso, y desde un punto de vista práctico, aún en el supuesto de que fuese transmisible al hombre, y aunque la prevalencia de *Endolimax* en avestruces es relativamente alta (en torno al 40%), su carácter de no patógena hace que no signifique un riesgo para la salud humana.

5.2. DISCUSIÓN SOBRE FLAGELADOS

Son muy pocos los estudios preliminares acerca de las parasitosis por flagelados en ratites, y más concretamente en avestruces, aún cuando hay especies con potencial patógeno para estas aves. La revisión más reciente fue llevada a cabo por Huchzermeyer (1999) en la que se señala como habitantes del tracto intestinal de estas aves a flagelados como *Histomonas meleagridis*, *Trichomonas* sp. *Hexamita* y *Giardia* sp.

En nuestro caso hemos encontrado y estudiado no sólo estos protozoos, sino otros que aunque aparecen citados en aves nunca han sido hallados en avestruces como *Monocercomonas*, *Chilomastix* y *Pleuromonas* y algunos nunca descritos antes en aves, como *Retortamonas* y flagelados euglenozoos. Además, identificamos las especies *Spironucleus meleagridis*, *Trichomonas* compatible con *T. gallinae*, y *Tetratrachomonas gallinarum*, que otros autores citan genéricamente como flagelados tipo *Hexamita* o *Trichomonas* sp.

El género *Monocercomonas* engloba numerosas especies de protozoos parásitos no patógenos, citados en mamíferos, reptiles, anfibios, peces, artrópodos y aves, pero no en avestruces, ñandúes o emúes. La única especie descrita en aves es *Monocercomonas gallinarum*, descrita a partir de aislados de gallina y pato. Se trata de una especie controvertida ya que algunos autores consideran la posibilidad de que en realidad se trata de formas degeneradas de *Trichomonas eberthi* (McDowell, 1953; Levine, 1985) o incluso *T. gallinarum* (Mcdowell, 1953). El protozoo que por morfología atribuimos al género *Monocercomonas* presenta las características descriptivas del mismo (cuerpo piriforme, tres flagelos anteriores y uno recurrente de igual o mayor longitud, un axostilo fino e hialino que en ocasiones sobresale por la parte posterior de la célula), pero los datos morfológicos y morfométricos indican que no es posible identificarlo como *M. gallinarum* ya que el organismo hallado en nuestro estudio presenta mayor tamaño y unas características de tinción que no concuerdan entre las dos especies. En cuanto a la posibilidad de que se trate de formas degeneradas de otros organismos,

nuestros datos parecen desmentir esta hipótesis ya que el proceso de generación de *T. gallinarum* desemboca en una reducción del tamaño acompañada de una intensa granulación y oscurecimiento del citoplasma, mientras que *Monocercomonas* aislada en avestruces tiñe de forma clara y homogénea. Además, McDowell (1953) refiere la pérdida de la membrana ondulante y el flagelo recurrente con lo que la forma resultante tendría cuatro flagelos anteriores de mayor longitud que el cuerpo mientras que *Monocercomonas* de avestruz posee tres flagelos anteriores de igual longitud y un flagelo recurrente mas largo, característica que comparte con *M. gallinarum*. Por ultimo, el proceso de degeneración se ve acompañado de la desaparición del núcleo, estructura patente en el organismo encontrado en avestruces. En el caso de *T. eberthi* también se produce una degeneración con reducción del citoplasma y pérdida de la membrana ondulante, por lo que aunque la forma resultante tendría tres flagelos anteriores y uno recurrente (liberado de la membrana ondulante), el tamaño, las características del axostilo (de mayor grosor en el género *Trichomonas*) y sobre todo, la no existencia de flagelados de esta especie (*T. eberthi*) en las muestras estudiadas, nos lleva a ratificar la idea de que el organismo encontrado es *Monocercomonas*.

Dado que los organismos de esta familia no forman quistes y teniendo en cuenta su aparente labilidad, demostrada por el hecho de que sólo aparece en muestras de contenido intestinal procedentes de matadero, la única forma de transmisión posible es a través de la ingesta del trofozoito en heces recién emitidas por algún animal infectado.

Histomonas meleagridis es uno de los pocos flagelados citados en ratites como agente etiológico directo de enfermedad, la tifohepatitis necrótica. Apareció en hígado en dos avestruces jóvenes de Holanda (Borst y Lamberas, 1985) mientras que en ñandúes ha sido hallado en hígado y ciegos (McMillan y Zellen, 1991) o únicamente en ciegos asociados a tiflitis necrótica con núcleos fibrinosos (Gylstorff y Grimm, 1987). En nuestro caso, en aquellas ocasiones en las que ha aparecido, lo ha hecho en animales aparentemente sanos. Las formas encontradas con mas frecuencia son las uniflageladas o las no flageladas. En los dos casos la

morfología coincide con la descrita por Levine (1985). El trofozoito es ameboide con un tamaño variable que coincide con las formas descritas como invasivas y supuestamente localizadas en el ciego anterior, aunque en nuestro caso aparecen también en la porción anterior del intestino grueso. En ocasiones hemos observado formas semejantes a *Histomonas* con un tamaño superior a 20 μm que pueden corresponderse con la forma intestinal de este organismo. La única diferencia significativa es la longitud del flagelo, ya que en nuestro caso no se trata de un flagelo corto sino que en muchas ocasiones alcanza la longitud de la célula. Dada la alta prevalencia de tricomonádidos podrían plantearse ciertas dudas acerca de una posible confusión con formas de estos protozoos que se encontraran en proceso de degeneración; Sin embargo, el movimiento que presenta *H. meleagridis* en las preparaciones en fresco es tan característico que hace imposible dicha confusión.

Aunque el mecanismo de transmisión considerado más importante para este protozoo es a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinarum*, no hemos encontrado casos de infección por este helminto, por lo que hemos de considerar otras formas de transmisión. Podría ocurrir que se tratara de transmisión directa a partir de alimentos y/o bebida contaminada; sin embargo, dada la costumbre de estas aves de picotear todo lo que se encuentra alrededor, lo más probable es que suceda a través de la ingesta de heces contaminadas con trofozoitos. Si así fuera, *Histomonas meleagridis* debería atravesar la barrera gástrica y resistir cierto tiempo fuera del hospedador. Se ha comprobado que aunque en los huevos de *Heterakis* sobrevive alrededor de un año, en las heces es capaz de sobrevivir varias semanas si se mantienen con suficiente humedad (Gutiérrez Galindo, 1999). Otra posibilidad que explicaría la aparición de este organismo en las avestruces sería que existieran otros organismos implicados en la transmisión. Así, Norton y col. (1999) proponen *Ascaridia dissimilis* como vehículo de transmisión, y Gutiérrez Galindo (1999) indica que la lombriz de tierra supone un excelente hospedador paraténico para *Heterakis gallinarum*, con lo que su ingestión también podría suponer una fuente de infección. Sea cual sea el modo, el hecho de haber encontrado este organismo en tan sólo 2 de las 278 muestras de granja analizadas, frente a algo más de un tercio de las

muestras de matadero, indica que aunque el protozoo no es muy resistente, sí podría sobrevivir el tiempo necesario para ser ingerido por estas aves.

En relación con los tricomonádidos, en ratites se han citado casos de tricomoniasis en el tracto digestivo superior en pollos de avestruces de ocho meses de edad, formando lesiones pseudomembranosas que apuntan a la posible patogeneidad de estos organismos (Massi y col., 1995; Clipsham, 1995; Huchzermeyer, 1999). Estas lesiones coinciden con las producidas en palomas por *Trichomonas gallinae*.

La relación tricomonádidos-hospedador fue descrita por Stabler (1954); en colúmbidos, *T. gallinae* es transmitida de forma oral, desde los progenitores infectados a los pichones en la época de cría. Los adultos, machos y hembras, transmiten el parásito a la descendencia a través de la secreción del buche que producen las palomas reproductoras (“leche” de paloma) y que utilizan para nutrirlos poco después de la rotura del cascarón. La infección también puede producirse a través de agua contaminada con secreciones bucales, y a veces nasales y conjuntivales, de individuos infectados. Una vez adquirida, la infección puede persistir hasta dos años. En las gallináceas, parece ser que las principales vías de transmisión son el agua y el alimento contaminado por palomas silvestres (Gutiérrez Galindo, 1999). En cuanto a los halcones, águilas y azores, la principal fuente de infección es la ingestión de palomas infectadas; en este sentido cabe destacar que el desarrollo de la enfermedad está en relación directa con el número y edad de las palomas ingeridas (Real y col, 2000).

Aunque la mayoría de las cepas de *T. gallinae* son apatógenas o moderadamente patógenas, existen cepas muy virulentas que causan lesiones en el tracto digestivo superior y, en ocasiones, otras regiones del cuerpo. Entre tales cepas, se encuentran aquellas que invaden los senos frontales y a partir de ahí penetran en cerebro y región ocular. Existen además cepas que se establecen desde el inicio de la infección en órganos de la cavidad torácica y abdominal, tales como pulmones, corazón, hígado y páncreas. También han sido hallados parásitos

en líquido ascítico o en sangre, por lo que se piensa que alcanzan el hígado vía circulación sanguínea (Levine, 1985). Sin embargo, no se ha descrito hasta el momento causando infecciones intestinales. En contraste con los tricomonádidos que infectan el tracto digestivo superior, aquellos hallados en el intestino habitualmente no son patógenos.

Nosotros hemos identificado tricomonádidos tetraflagelados con membrana ondulante sin porción libre que son morfológicamente compatibles con *T. gallinae*; los cuales han sido encontrados tanto en muestras procedentes de matadero como de granja, pero siempre en localización intestinal y en animales aparentemente sanos. En los organismos ahora encontrados, la longitud del trofozoito es algo menor que la descrita por Kulda y Nohýnková (1978) para *T. gallinae*, lo que podría ser explicado por el hecho de que el tamaño de este organismo parece variar en función del fijador empleado (Abraham y Honigberg, 1964). No obstante, las dos circunstancias mencionadas (localización y relación con patologías) obligan a considerar la identificación de estas formas como tentativa, siendo necesarios estudios más detallados (de biología molecular, de desarrollo en cultivos, etc.) para confirmar la identificación. En cualquier caso, y dado que aparece en heces en un alto porcentaje, podemos concluir que aunque estos organismos no formen quistes que les permitan sobrevivir largos periodos de tiempo fuera de su hospedador, sí son capaces de resistir el tiempo suficiente como para asegurar su transmisión vía heces.

Otro tricomonádido frecuente en avestruces y ñandúes es *Tetratrichomonas gallinarum*, encontrado siempre en animales aparentemente sanos. Está descrito como habitante habitual del tracto digestivo de avestruces, ñandúes y emúes (Carbajo, 1997; Huchzermeyer, 1999). Las características morfológicas de los ejemplares encontrados no plantean duda acerca de la adscripción de estos organismos a la especie citada. Aunque existen diferencias de tamaño, consideramos este hecho atribuible a los diferentes métodos de fijación y tinción, así como a la plasticidad de estos organismos.

Cabe destacar, en relación a los tricomonádidos y respecto a la salud humana, que ninguno de ellos pueden considerarse como transmisibles al hombre, por lo que no plantearían riesgos de salud.

Respecto al organismo identificado como perteneciente al género *Retortamonas*, se trata de protozoos cuya transmisión se realiza a través de quistes; sin embargo, en nuestro estudio no hemos detectados estas formas del ciclo, bien por su escasez o bien porque nuestro método de muestreo no era el adecuado. No obstante, la identificación de las distintas especies se basa en los trofozoitos, cuyas características morfológicas son similares entre sí; en todas ellas se hace hincapié en la elevada plasticidad del trofozoito, aunque habitualmente se describe como un organismo piriforme, fusiforme o redondeado, con un citostoma anterior y con dos flagelos, uno anterior y otro recurrente dentro del citostoma. Se han citado especies de este género en insectos, anfibios, reptiles y mamíferos (Grassé, 1952; Grassi, 1954; Kudo, 1972; Kulda y Nohýnková, 1978; Lee y col., 1985; Levine, 1985), pero no en aves. No está del todo claro si todas las especies descritas son válidas, ya que sus características morfológicas son indistinguibles y su clasificación se ha basado fundamentalmente en la especie de hospedador; la ausencia de estudios de transmisión cruzada, bioquímicos o genéticos inducen a pensar que muchas de estas especies descritas son en realidad sinónimos. Estos mismos estudios son necesarios para determinar si el nuevo organismo encontrado en avestruces es una nueva especie o si se trata en realidad de una de las especies ya descritas en otros hospedadores. En cualquier caso, se trata de la primera cita de este género en aves. En el supuesto de que se tratara de una especie compartida con otros hospedadores, y en concreto con el hombre (es decir, se tratara de *Retortamonas intestinalis*), las avestruces podrían ser un nuevo reservorio; sin embargo, la baja prevalencia hallada en nuestro estudio (en torno a un 20%) y la no patogenicidad de este organismo sugieren que no plantea situaciones de riesgo para la salud humana.

Un protozoo habitual y ampliamente distribuido entre los avestruces españoles es *Chilomastix*. Las características morfológicas de los organismos

encontrados en nuestro estudio (tanto trozofitos como quistes) coinciden prácticamente en su totalidad con las que se describen en la especie *C. gallinarum*. Las diferencias en cuanto a tamaño de los trofozoitos podrían explicarse por variaciones poblacionales y por las diferentes formas en las que se encuentra la célula, observándose formas casi esféricas en algunas preparaciones. Una de las características morfológicas que mejor definen la especie es la posesión de un citostoma en forma de 8, hecho que queda patente en las preparaciones teñidas de estos organismos. Llama la atención una prolongación caudal que presentan algunos ejemplares, en ocasiones de gran longitud. En la bibliografía hay descripciones que hablan de una “cola puntiaguda” en el extremo distal de la célula, término que parece aludir más a la torsión del cuerpo celular en esa zona que a una prolongación filamentosa. De hecho, en algunos trabajos en los que se presentan esquemas de *Chilomastix* (p.e., Friedhoff, 1991), se menciona el estrechamiento posterior de la célula, pero no se describe ni se dibuja la citada prolongación.

Este organismo está ampliamente distribuido entre las avestruces españolas, habiéndose encontrado en granjas de la mayoría de las provincias muestreadas. En la literatura, *C. gallinarum* aparece citada tanto en aves domésticas como en aves silvestres, habiéndose aislado de gallinas, pavos, faisanes, codornices, perdices, patos, gansos, cisnes, y fochas comunes. Puede que las avestruces sean también hospedadores habituales de esta especie en su hábitat original (aunque hasta la fecha no se halla descrito), o bien puede haberse convertido en un hospedador habitual en cautividad por contaminación de su hábitat con quistes (o en menor medida trofozoitos en heces) eliminados por alguna de estas aves. Aunque en las ratites no parece causar ningún tipo de patología, sí que parece estar asociada a enfermedad diarreica en codornices, gansos, cisnes y fochas.

En cuanto a los organismos pertenecientes a la familia *Hexamitidae*, aparecen citados de forma vaga en pollos de avestruz y ñandú, siendo citados como flagelados “tipo *Hexamita*” (Shivaprasad y col., 1997; Huchzermeyer, 1999). En

aves, el único género citado de diplomonádidos, exceptuando *Giardia*, es *Spironucleus*, considerándose que los organismos previamente citados en estas aves bajo el término *Hexamita* son en realidad sinónimos de *Spironucleus* (Kulda y Nohýnková, 1978; Levine, 1985). En nuestra opinión, las características del movimiento y sobre todo la morfología de las células (en especial, la presencia de los núcleos dispuestos en forma de herradura, con los endosomas situados en los extremos), nos lleva a considerar que protozoos asimilables a la especie *Spironucleus meleagridis* están presentes de manera habitual en los exámenes en fresco de las muestras analizadas, aunque por las dificultades de tinción de estos organismos no aparezcan frecuentemente en las extensiones teñidas de contenido intestinal. Aunque se trata de un protozoo que forma quistes, se sabe poco de esta forma del ciclo biológico, y en este estudio no hemos encontrado dichas formas. Se ha señalado que aunque la fuente de transmisión teórica sea a través de agua o alimentos contaminados con quistes, la eliminación de trofozoitos en las heces puede ser la fuente principal de infección (Gutiérrez Galindo, 1999). Nuestras hallazgos confirman la presencia frecuente de trofozoitos en heces, lo que significaría también que las avestruces podrían convertirse en portador habitual de este organismo.

Aparentemente *Spironucleus meleagridis* no es una especie patógena para las ratites, pero sí está considerada como patógena para otros hospedadores, causando enteritis catarral (hexamitiasis) en pavos; en las aves enfermas, normalmente animales jóvenes, los flagelados se encuentran en el intestino delgado, principalmente en duodeno, mientras que en los adultos (aves portadoras) se localizan en ciego y bolsa de Fabricio. Se han citado infecciones naturales en codorniz, perdices, faisán de cuello anillado, faisán dorado y pato doméstico. Se supone que la transmisión ha tenido lugar de pavo a pollo, codorniz y pato doméstico y de faisán, codorniz y perdiz al pavo (Levine, 1985). En definitiva, las avestruces pueden significar una fuente posible de transmisión de hexamitiasis a otras aves, por lo que es importante la cría separada de tales especies para evitar contagios. Para el hombre, sin embargo, las avestruces no representan, en lo que respecta a este protozoo, ningún tipo de riesgo sanitario.

Otro género de la familia Hexamitidae es *Giardia*, que ha sido citado en avestruces y emúes en EE.UU, sin estar asociado a patología (Wade, 1992; Clubb y col., 1994; Clipsham, 1995). En nuestro estudio es el protozoo que menor prevalencia presenta, lo que podría explicarse por dos motivos principales: la labilidad de los trofozoitos, que implica la desaparición temprana de los mismos en las muestras, y/o por los métodos de toma de muestras y conservación incluidos en nuestro protocolo, que no fueron diseñados específicamente a la búsqueda de este organismo. Aun así, y considerando que es uno de los pocos protozoos citados en ratites, los resultados de las técnicas de concentración realizadas para la detección de quistes en este estudio, ratifican los datos obtenidos en el sentido de que *Giardia* no es frecuente en las avestruces españolas. Con los pocos datos de que disponemos no es posible adscribir el organismo encontrado a una de las especies citadas en aves, aunque sí se puede proponerse que pertenece al grupo *duodenalis* o *psittaci*. Los datos en los que nos basamos son exclusivamente morfométricos, ya que una de las características principales en la definición de estos grupos es la morfología de los cuerpos medios, y en nuestro caso estas estructuras aparecen ocultas por una intensa tinción en todos los organismos observados. En cualquier caso, es improbable que la especie presente en avestruces pertenezca al grupo *muris*, definido por Box (1981) como con un cociente longitud/anchura del trofozoito de aproximadamente 1,37; y no sería del grupo de *Giardia ardeae* ya que en este caso la característica principal es la asimetría de los flagelos caudales (siendo uno de tan sólo 1 µm), mientras que *Giardia* de avestruces posee sus flagelos caudales de la misma longitud.

En el supuesto de la pertenencia de la especie de *Giardia* de avestruz al grupo *duodenalis* o *psittaci*, cabría la posibilidad de la existencia de infecciones cruzadas entre aves y mamíferos, incluidos al hombre. En la bibliografía hay datos previos que apoyan esta observación. Upcroft y col. (1998) describen la existencia de infección en ratón a partir de una especie de *Giardia* aislada en cacatúas y asignada por morfología al grupo *duodenalis*. Asociada a patología (diarrea, debilidad y pérdida de peso) *Giardia* ha sido citada en cacatúas (*Cacatua galerita*) (Upcroft y col., 1996) y en periquitos (Box, 1981). En éstos últimos, la especie

implicada es *G. psittaci*, inicialmente descrita como una raza de *G. duodenalis* (Box, 1981), pero posteriormente considerada como una especie distinta por las características ultraestructurales del disco adhesivo (Erlandsen y Bemrick, 1987). En el caso de las cacatúas, en contra de lo que cabía esperar dado la cercanía filogenética de las dos especies hospedadoras, se atribuye la especie responsable de las infecciones descritas al grupo de *G. duodenalis* y no a *G. psittaci*, ya que estudios ultraestructurales del disco adhesivo demuestran la existencia de un flanco ventral rodeando la zona anterolateral del disco, cuya ausencia caracteriza a *G. psittaci* (Upcroft y col., 1996).

Otro punto de interés es que, aunque no hemos conseguido ejemplares teñidos de este protozoo en ñandúes, las características tan especiales del movimiento de este protozoo nos permiten realizar el diagnóstico en fresco. A la espera de confirmarlo por tinción podemos decir que es la primera cita de *Giardia* en este tipo de ratites. El no haber observado quistes en las muestras de granjas puede ser consecuencia de la eliminación discontinua e irregular de quistes que caracteriza a este protozoo.

En relación con *Pleuromonas jaculans*, se trata de una especie controvertida tanto por su nombre como por sus características morfológicas. Este bodónido se ha citado en el contenido intestinal de gallinas (Levine, 1985) como responsable de un cuadro de enteritis. La característica morfológica que lo define es la presencia de un flagelo anterior muy corto y poco visible, en la mayoría de los casos dando la presencia de estar adherido a la membrana de la célula. Esta característica tan peculiar, así como la coincidencia entre la longitud del flagelo recurrente y el tamaño del cuerpo, junto con la presencia de un kinetoplasto (a veces fragmentado) hace que consideramos este protozoo atribuible a este especie. Algunos autores (Lee y Patterson, 1999) consideran que en realidad esta especie es un sinónimo de *Bodo saltans*. Sin embargo, esta especie es mucho más pequeña (6,0 x 3,5 µm) y posee dos flagelos de considerable longitud, siendo más corto el anterior Hollande (1952), lo que parece indicar que morfológicamente son diferentes y por tanto deben considerarse como especies distintas.

Los organismos de la Familia Bodonidae habitan suelos ricos en materia orgánica, siendo a menudo coprozoicos, por lo que no es de extrañar que proliferen en los cultivos de heces. Vickerman (1990) considera que la presencia de estos organismos en heces puede ser debida a contaminación de las muestras, dado que no soportarían la temperatura corporal del hospedador. Este hecho podría aducirse para justificar su presencia en las muestras de granja (bolos fecales recogidos del suelo al aire libre); sin embargo, en este estudio este organismo no sólo ha sido hallado en dicho tipo de muestras, sino que también aparece en el contenido intestinal de animales recién sacrificados, en los que se han detectado individuos activos, algunos de ellos en proceso de división. Estas observaciones llevarían a considerar que este protozoo ha podido adaptarse a la vida en el interior del tracto digestivo de las avestruces; de hecho, en los coprocultivos realizados en el laboratorio a 37°C, estos protozoos no sólo sobreviven sino que proliferan, a veces en grandes cantidades, lo que invalidaría las afirmaciones de Vickerman.

En relación a los flagelados tipo euglenozoos, éstos se han encontrado tanto en muestras procedentes de granja como en muestras de matadero, lo que indica que aunque sea de forma muy ocasional, estos organismos pueden formar parte de la microbiota comensal de los avestruces españolas. Los euglenozoos son en su mayoría organismos autótrofos de vida libre, aunque se han descrito especies heterótrofos adaptadas a medios con alto contenido en materia orgánica, y algunas de ellas se han hallado en contenidos intestinales (Walne y Kivic, 1989). En un primer momento, el hecho de encontrar estos organismos por primera vez en bolos fecales procedentes de las instalaciones de cría nos hizo pensar que podría tratarse de una contaminación ocurrida durante la recogida de la muestra. Sin embargo, el hallazgo en el contenido intestinal de avestruces sacrificadas, siendo además numerosas las formas en división, nos ha permitido confirmar que se trata de organismos que aunque no sean parásitos estrictos, sí se han adaptado a la vida en el interior de estas aves.

El diagnóstico es inconfundible. Se trata de organismos sin cloroplastos con un movimiento muy característico: la célula avanza en sentido marcadamente

unidireccional, debido a la agitación de la parte distal del flagelado recurrente. En las preparaciones teñidas con Giemsa no hay ninguna estructura reseñable que nos permitiera una determinación más precisa. Aparece intensamente teñido, con un flagelo de gran grosor que emerge de la parte anterior de la célula y que, *in vivo*, aparentemente se encuentra dividido en su parte distal (como consecuencia del rápido batir de la parte final del flagelo). Dado que no está descrita la formación de quistes en estos organismos, la única forma de transmisión sería a través de la ingestión directa de trofozoitos.

5.3. DISCUSIÓN SOBRE APICOMPLEJOS

Los coccidios son, desde el punto de vista económico y sanitario, el grupo más importante de los protozoos en salud humana y animal. Para las aves, *Eimeria* es, por su patogenicidad, el género de mayor importancia, mientras que en salud humana son *Cryptosporidium* y *Toxoplasma* los más importantes.

El género *Eimeria* ha sido citado en avestruces por Sotiraki y col. (2001), pero no se ha descrito ninguna especie. Por su parte, *Isospora* ha sido también citada en avestruces (Jansson y Christianson, 2000; Korenkova y Pakandl, 2004). Yakimoff (1940) describió la especie *Isospora struthionis* en un avestruz de un zoológico ruso. Dado que la diferenciación entre ambos géneros se puede realizar por las características de los ooquistes maduros (número de esporoquistes y de esporozoitos), y como nosotros no hemos llegado a observar ooquistes maduros, no es posible determinar a qué género pueden pertenecer los ooquistes encontrados.

La identificación al menos hasta género es importante, ya que puede ayudar a determinar el posible grupo de riesgo. En caso de que los ooquistes encontrados correspondiesen a *Eimeria*, el grupo de riesgo serían otras aves, pero no el hombre; las especies descritas en el hombre por Dobell (1919) son en realidad parásitos espúreos, presentes en las heces de las personas que han ingerido el

hospedador real de dichas especies. Hay varias especies de *Eimeria* con gran importancia veterinaria, unas más patógenas que otras, y esta patogenicidad puede depender de factores como la cantidad de células infectadas por ooquiste, el número de generaciones del merozoitos y de merozoitos por generación, y la localización del parásito en el tejido del hospedador. En general, estos parásitos no constituyen un problema para poblaciones de animales salvajes, pero sí para los animales domésticos, habitualmente criados en condiciones de mayor concentración de individuos que favorece la transmisión rápida de infecciones entre ellos.

Si los quistes correspondiesen en realidad a *Isospora*, entonces sería necesario determinar la especie, ya que si podría haber riesgos de transmisión a otros mamíferos y al hombre (Lindsay y col., 1997), y quizá también a las aves; aunque en este caso, las especies citadas en éstas se describen por Levine (1985) como posiblemente seudoparasitos. En el hombre, sin embargo, está descrita la especie *Isospora belli*, que puede provocar fiebre, malestar y diarreas crónicas, y en los casos más graves (en individuos con SIDA), incluso la muerte.

La infección humana por coccidios es más frecuente en los climas templados que en los trópicos. Se adquiere por ingestión de alimentos o bebidas contaminados con heces que contienen ooquistes maduros. Se han comunicado casos de perros y otros mamíferos portadores de *I. belli*, pero no se han obtenido pruebas convincentes de que ningún animal sea un verdadero reservorio de *Isospora* humana. Esta circunstancia, y el hecho de la baja prevalencia (<1%) encontrada en avestruces, permiten considerar que las avestruces no plantearían situaciones de riesgo para el hombre respecto a este parásito.

En relación a *Cryptosporidium*, hay citas previas en avestruces (Gajadhar y col., 1993; Bezuidenhout y col., 1993; Penrith y Burger, 1993; Penrith y col., 1994; Jardine y col., 1994; Omar y col., 1998; Sotiraki y col., 2001), pero nunca en ñandúes. En avestruces, se ha relacionado con prolapso de cloaca y/o falo, produciendo altas mortandades (Allwright y Wessels, 1993; Bezuidenhout y col., 1993; Penrith y col., 1994; Jardine y Verwoerd, 1997). En Europa, los ooquistes de

Cryptosporidium se han encontrado en avestruces griegas (Sotiraki y col., 2001) y nuestros resultados indican que este organismo está ampliamente distribuido en las avestruces españolas; y en todos los casos, los hallazgos se han producido en animales aparentemente sanos, por lo que la relación con patologías no está clara y tal vez dependa del estado individual de las aves afectadas, o de sus condiciones de cría (hacinamiento, disponibilidad de agua y comida en condiciones, etc.). Además, el estatus específico de *Cryptosporidium* de avestruz está por determinar. Para algunos autores puede tratarse de una especie diferente de las ya descritas (de Graaf y col., 1999; Morgan y col., 2000; Meireles y col., 2006), o incluso puede haber más de una especie (nuevas o ya descritas) presente en avestruces (Santos y col., 2005). Nosotros hemos encontrado ooquistes de dos tipos: los grandes, de 6-8 μm , tienen un tamaño compatible con los de *C. baileyi*, hallado en avestruces en Chequia (Ryan y col., 2003); y los pequeños, de 3-5 μm , cuyo tamaño es compatible con especies como *C. meleagridis* (descrita en aves) y *C. parvum*. Hasta el momento, en los distintos estudios en los que se ha realizado una caracterización molecular de aislados de *Cryptosporidium* de avestruz, o bien el aislado ha correspondido a alguna especie de aves ya descrita (*C. baileyi*; Ryan y col., 2003) o han sido genotipos nuevos pero no se ha propuesto una nueva especie (Santos y col., 2005; Meireles y col., 2006). También podría ocurrir que las avestruces fueran susceptibles de ser infectados por varias especies de *Cryptosporidium*, bien de forma habitual o como consecuencia de situaciones de stress (hacinamiento, manejo, alimentación, clima, etc.). En definitiva, no es posible establecer la/s especie/s con los datos disponibles, y no puede descartarse que sean especies (nuevas o no) compartidas con otras aves y/o con mamíferos. Esta circunstancia (más de una especie como responsable de las infecciones en avestruces) podría ser la que explicara el porqué a veces se ha encontrado *Cryptosporidium* relacionado con patologías en estas aves, y no en otras ocasiones (como el presente estudio). De confirmarse esta posibilidad de compartir especies de *Cryptosporidium* con otros hospedadores, podrían plantearse situaciones de riesgo para la salud humana. Es importante destacar que en situaciones de inmunodepresión, la mayoría de las especies actualmente reconocidas que pueden dar lugar a infecciones humanas, son capaces de producir patología de moderada a severa, e incluso mortal (Morgan y col., 2000; Xiao y col., 2004).

En relación con *Toxoplasma*, las dos vías principales de infección humana son la ingestión de ooquistes eliminados por félidos y la ingestión de carne sin cocinar o poco cocinada de hospedadores intermediarios. Entre estos hospedadores intermediarios se encuentran gran número de animales que el hombre cría y emplea para su alimentación; a las especies ganaderas “tradicionales” se van sumando nuevas incorporaciones, en ocasiones de especies exóticas, no autóctonas y no siempre bien conocidas a todos los niveles. En el caso de las avestruces, hay dos trabajos que relacionan a estas aves con *Toxoplasma* (Dubey y col., 2000, en Canadá, y Hove y Mukaratirwa, 2005, en Zimbabwe). En el trabajo de Canadá, mediante MAT, se encuentran un 2,9% de sueros positivos a *T. gondii*, mientras que en el Zimbabwe, con la misma técnica, la seroprevalencia es del 48%. Además de en avestruces, los únicos antecedentes de *Toxoplasma* en otras ratites se han demostrado en dos casos de Winchester (Tennessee, EEUU) (Orosz y col., 1992). El primer caso es de un casuario, que en un análisis mediante MAT dió un título de 1024, que se considera una infección en curso. El segundo caso fue de un ñandú que presentaba un cuadro clínico de anorexia y disentería; mediante MAT se obtuvieron títulos de IgG de 4096 para *T. gondii*.

En términos generales, la prevalencia de la toxoplasmosis humana suele estar en relación directa con las prevalencia en las poblaciones de animales que sirven como alimento al hombre (además de otros factores como los hábitos gastronómicos, el contacto con gatos, etc). Diversos estudios realizados en España apoyan esta observación; por ejemplo, en estudios realizados en Córdoba sobre distintos tipos de ganado se obtienen unas prevalencia de toxoplasmosis del 41% en bovinos y del 39% en ovinos (Moreno y col., 1991a; Moreno y col., 1991b); mientras que otros trabajos ofrecen seroprevalencias de *T. gondii* en humanos en la misma zona del 41% (Moreno y col., 1983) o de entre el 40 y el 70% (Pérez-Rendon y col., 1992), en función de la técnica empleada. Sin embargo, estos datos no muestran tanta proporcionalidad en otros estudios realizados en zonas más urbanizadas; Mainar y col.(1996) encuentran seroprevalencias de cerca del 12% en rebaños de ovejas y cabras en la Comunidad de Madrid, y por su parte, en un estudio realizado sobre mujeres embarazadas en Madrid se alcanzan valores del

39% (Jaqueti y col., 1991). Probablemente en estos lugares el contacto con gatos es un factor de peso a añadir al consumo de carne (del Castillo y Herruzo, 1998).

Sea cual sea la región geográfica, existe una gran variabilidad en las seroprevalencias encontradas en los diversos estudios, hayan sido realizados bien sobre mamíferos, o bien sobre aves. Sin embargo, muchos autores mantienen que las aves son hospedadores menos favorables a la infección por *Toxoplasma* que los mamíferos (Dubey y col., 2000); incluso Dubey y Beattie (1988) afirman que el consumo de carne de ave no es una fuente importante de infección por *Toxoplasma* en el hombre.

Una observación más detenida de los datos presentados de varios trabajos nos muestra que, si bien, efectivamente las seroprevalencias muestran un rango de variación muy grande en ambos casos, también podemos apreciar que en aves hay una mayor proporción de trabajos con seroprevalencias bajas (<10%) que en mamíferos. Concretamente, casi la mitad de los estudios realizados sobre aves muestran seroprevalencias por debajo del 10%, mientras que en mamíferos solo la cuarta parte de los trabajos arrojan prevalencias por debajo de este 10%. Atendiendo a esta consideración podríamos apoyar la idea de los autores que opinan que las aves son hospedadores menos favorables que los mamíferos a la infección por *Toxoplasma*. De esta manera, la posibilidad de transmisión de la toxoplasmosis desde las aves al hombre sería menor que desde los mamíferos.

Por lo que respecta a ratites, la ausencia de datos es casi absoluta. Las dos referencias existentes en la bibliografía sobre *Toxoplasma* en avestruces (Dubey y col., 2000; Hove y Mukaratirwa, 2005) dan resultados muy dispares; en el trabajo de Dubey y col, la seroprevalencia es del 2,9% con un rango de títulos desde 1:25 a 1:500, mientras que Hove y Mukaratirwa obtienen una seroprevalencia del 48% con un rango de títulos desde 1:25 a 1:50. A la vista de estos datos, en el primer trabajo concluyen que el riesgo de adquirir toxoplasmosis a partir del consumo de carne de avestruz es bajo, mientras que aparentemente ese mismo riesgo de adquirir toxoplasmosis en Zimbabwe es alto. Los datos de nuestro estudio

coinciden con los de Dubey y col. (2000), lo que parece indicar que las avestruces españolas, al igual que las canadienses, no son portadores habituales del parásito. De cualquier manera, es necesario ampliar este estudio aumentando el número de muestras y de instalaciones a analizar, empleando otras técnicas además del MAT, e incluso tratar de localizar y aislar el parásito a partir de muestras de tejido.

5.4. DISCUSIÓN SOBRE CILIADOS

El único organismo encontrado es totalmente compatible con la descripción de *Balantidium struthionis*, especie descrita en avestruces de un zoo norteamericano en 1934. Desde entonces no se han publicado citas de este organismo hasta hace poco, coincidiendo con la creciente importancia que ha ido adquiriendo la cría de avestruces fuera de África. A pesar de ser la única especie descrita en estas aves (y en general, también la única descrita en aves), algunos autores se refieren a ella como *Balantidium* sp. (Jansson y Christenson, 2000; Sotiraki y col., 2001). En ñandúes se ha citado también la presencia de *Balantidium*, aunque los quistes hallados eran de mayor tamaño y se sugirió que podrían pertenecer a una especie distinta de la descrita en avestruces (Hanley y col., 1994).

En realidad, no se ha hecho ninguna revisión de la validez de *B. struthionis* como especie válida. Hegner (1934) propuso la especie aún a pesar de su gran similitud con *B. coli*; consideró que una pequeña diferencia morfológica (la forma del macronúcleo) y el hecho de encontrarse en un hospedador de una Clase diferente (aves frente a mamíferos) eran motivos suficientes para validar la propuesta. Sin embargo, el autor no describe los métodos de fijación y tinción empleados, que pueden afectar a la morfología de los organismos. Aunque estos criterios (morfología y especie de hospedador) son habitualmente empleados en los trabajos de revisión de la taxonomía de *Balantidium* (muchas de cuyas especies están descritas en peces y anfibios), su validez ha sido cuestionada, especialmente cuando se aplican a especies de mamíferos (Zaman, 1993).

La taxonomía de *Balantidium* de mamíferos fue materia de controversia durante la segunda mitad del siglo XIX y la primera mitad del siglo XX. *Balantidium coli* fue descrito como *Paramecium coli* por Malmsten en 1857 a partir de muestras de dos pacientes con una disentería severa, y cuatro años más tarde (1861) el parásito fue descrito en cerdos por Leuckart. Desde entonces, los casos humanos descritos siempre han sido en pacientes con síntomas, mientras que el parásito, común en cerdos, no ha sido asociado a enfermedad en estos animales. Podría ocurrir que las infecciones humanas fueran habitualmente asintomáticas, y que por tanto sólo en aquellos casos en los que hubiese algún tipo de “susceptibilidad” por parte del hospedador se manifestaran síntomas que llevaran finalmente a la búsqueda e identificación del agente causal. En cualquier caso, estas diferencias y los resultados negativos de varias infecciones experimentales de voluntarios humanos con quistes procedentes de cerdos, dieron lugar a que algunos autores consideraran el organismo encontrado en cerdos como una especie distinta de la presente en el hombre, y McDonald (1922) propuso la especie *B. suis* como una nueva especie en cerdos basándose en diferencias morfológicas de los trofozoitos. Esta especie fue después considerada un sinónimo de *B. coli*, ya que las distinciones morfológicas entre *B. suis* y *B. coli* se consideraron el resultado de variaciones individuales y sin valor diferencial. Este mismo criterio se aplicó a las otras 5 especies de *Balantidium* que Hegner (1934) describió de otros animales (mamíferos) del mismo zoo del avestruz con *B. struthionis*, y actualmente se considera que sólo hay una especie infectando mamíferos (Levine, 1985; Zaman, 1993). De hecho, cuando organismos morfológicamente compatibles con *B. coli* han sido encontrados en mamíferos, se han identificado como *B. coli* incluso si era la primera vez que se citaban en dicho hospedador (p.e., Muriuki, 1998; Nakauchi, 1999; Solaymani-Mohamadi y col., 2005; Ekanayake, 2006).

En el caso de *B. struthionis*, los parámetros morfológicos coinciden con *B. coli*, salvo una presunta hendidura en el macronúcleo que sería el carácter morfológico diferencial (Hegner, 1934). Sin embargo, en los dibujos de Hegner se aprecia una gran variabilidad morfológica en el macronúcleo, y también se pueden observar imágenes de macronúcleos de *B. coli* obtenidos de cerdos en los que

existe una hendidura. En realidad, *B. struthionis* se sigue manteniendo como especie distinta porque el hospedador es un ave. Recientemente, otros investigadores del grupo en el que se ha realizado esta tesis han llevado a cabo el análisis genético de *Balantidium* de avestruz y lo han comparado con *B. coli* obtenido de cerdos, y han encontrado que son genéticamente idénticos en los cuatro genes comparados (Ponce-Gordo y col., en prensa). Estos resultados (la similitud morfológica y la identidad genética) llevan a pensar que se trata de la misma especie en ambos casos, aún a pesar de que se trate de hospedadores pertenecientes a dos clases zoológicas distintas. Sin embargo, no se puede concluir definitivamente este punto en tanto no se confirme con los resultados de infecciones cruzadas. No obstante, la posibilidad existe y además hay también un antecedente, el ya comentado de *Entamoeba struthionis*, que puede causar infecciones en avestruces, cerdos y humanos. Dada la alta prevalencia encontrada en las granjas de avestruces (en torno al 80%), podría existir un elevado riesgo de transmisión de *Balantidium* al hombre, aunque sería similar al riesgo existente de transmisión desde los cerdos al hombre.

5.5. DISCUSIÓN SOBRE *BLASTOCYSTIS*

Por lo que respecta a *Blastocystis*, solo se ha hecho seguimiento de este parásito en muestras de matadero (donde aparece con unas prevalencias en torno al 60%), ya que son las únicas que de forma rutinaria eran procesadas para tinción con Giemsa. Por tanto, no hay datos recogidos sobre este parásito en las muestras procedentes de granja.

Este parásito es cosmopolita y extremadamente común. Según citan Boreham y Stenzel (1993, 1996), *Blastocystis* está distribuido por todo el reino animal y es particularmente común en pollos, cerdos, monos y el hombre. Desde la primera cita de *Blastocystis* en aves (Yamada, 1987) se han propuesto nuevas especies dentro del género basadas puramente en aspectos morfológicos y de hospedador; *B. anatis* de pato, *B. anseri* de ganso, *B. meleagris*, de pato, *B. galli* de gallina, o *B.*

numidae en gallos, pintadas, patos y gansos (Belova, 1991, 1992). La existencia de diferentes especies ha sido confirmada por técnicas de biología molecular (Abe y col., 2003). Todas estas especies han sido citadas parasitando el tracto digestivo de las diversas de aves que actúan como hospedador.

Sin embargo, los criterios empleados habitualmente para la identificación suelen basarse en características morfológicas y rangos de hospedador, a veces dudosos. Por este motivo es probable que algunas de las designaciones de *Blastocystis* a nivel de especie, correspondan a sinonimias. La morfología, en todos los casos, se corresponde con los caracteres generales descritos en la especie tipo, que es *Blastocystis hominis*, y es ésta la más ampliamente citada y reconocida de modo general. Por su parte, *Blastocystis* sp. aparece citado de esta forma en muchos grupos zoológicos como son primates, suidos, bóvidos, insectos, anfibios, reptiles, mamíferos, y también aves (Belova y Kontensko, 1990; Lee y Stenzel, 1999).

Blastocystis hominis es una especie de distribución mundial y comúnmente citada en el tracto intestinal del hombre. En los últimos años está siendo foco de atención por su potencial patogenicidad, clara para unos autores y no demostrada para otros. Cada vez más autores mencionan a *B. hominis* como agente causal de patologías, asociado o relacionado con la sintomatología clínica. Garavelli y col. (1992) se han referido a la enfermedad producida por *Blastocystis* como enfermedad de Zierdt-Garavelli. Las manifestaciones clínicas que se presentan con mayor frecuencia son las referidas al aparato digestivo, pero también se han descrito casos con sintomatología extraintestinal.

En el presente estudio han sido halladas con frecuencia fomas vacuoladas típicas del género *Blastocystis*, pero al no estar establecida todavía la especie que puede estar presente en avestruces (Carbajo y col., 1997; Huchzermeyer, 1999; Jansson y Christensson, 2000; Tan, 2004), son clasificados como *Blastocystis* sp. Para determinar su status taxonómico concreto será preciso realizar estudios de caracterización genética y de infecciones cruzadas. Hasta entonces no será

Discusión

posible determinar si las avestruces pueden constituir un reservorio de *Blastocystis* transmisible al hombre. Caso de tratarse de *B. hominis*, dada la alta prevalencia encontrada en avestruces y los cuadros patológicos que actualmente se asocian a este parásito, habría que considerarlo un aspecto de interés para la salud en el hombre.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. El presente trabajo demuestra la presencia de 18 especies de protozoos: 4 amebas, 10 flagelados, 4 apicomplejos, 1 ciliado y *Blastocystis*, en ratites criadas en España. En ningún caso se encuentra relación entre la presencia de estos microorganismos y cuadros patológicos en las aves estudiadas.

2. Se describe por primera vez *Entamoeba* sp. del tipo *bovis* en avestruces y ñandúes. En avestruces se encuentran además *Entamoeba* sp. del tipo *coli*, *Iodamoeba* sp. y *Endolimax* sp., no citadas previamente en ratites. En ninguno de los cuatro casos suponen riesgo sanitario para el hombre.

3. Las especies *Chilomastix gallinarum*, *Pleuromonas jaculans* y *Tetratrichomonas gallinarum*, así como *Monocercomonas* sp., *Retortamonas* sp. y los euglénidos, son nuevas citas de hospedador. Ninguno de estos organismos tiene interés en salud humana.

4. Formas citadas previamente en ratites de una manera vaga como tricomonádidos o como flagelados tipo *hexamita* son identificados a nivel de especie como *Tetratrichomonas gallinarum* y *Spiroucleus meleagridis*. También se identifican *Histomonas meleagridis* y formas morfológicamente compatibles con *Trichomonas gallinae*, aunque su localización intestinal y la ausencia de relación con patologías puede sugerir que esta última sea una especie diferente. En cualquier caso, ninguno de estos organismos significa un riesgo sanitario para el hombre.

5. *Histomonas meleagridis* y *Spiroucleus meleagridis* son, en nuestro país, parásitos habituales del tracto digestivo de avestruces, causando infecciones asintomáticas. En la literatura aparecen asociados a patologías en otras aves, por lo que la cría de avestruces puede significar un riesgo para otras ganaderías aviares.

6. *Giardia* sp., uno de los pocos flagelados citados previamente en estas aves, se encuentra también presente en ratites españolas, pero se hace necesaria la realización de estudios mas exhaustivos para determinar de forma concreta la especie y así poder establecer su posible riesgo sanitario.

7. *Cryptosporidium* tiene una alta prevalencia en las avestruces criadas en España. Son necesarios estudios moleculares y de infecciones cruzadas adicionales para determinar de manera concreta la/s especie/s, y con ello concluir si las avestruces pueden ser una fuente de criptosporidiosis humana.

8. Se confirma que *Toxoplasma gondii* puede estar presente en avestruz, aunque la baja prevalencia hallada hace pensar que en nuestro país el consumo de carne de estos animales no supone un riesgo alto de contraer el parásito, en comparación con la carne de otros animales destinados al consumo humano.

9. El único ciliado encontrado en ratites es *Balantidium struthionis*. Hay dudas razonables sobre la validez de esta especie, pudiendo tratarse de un sinónimo de *B. coli*. Son necesarios estudios moleculares y de infecciones cruzadas para validar su estatus taxonómico. En caso de ser un sinónimo de *B. coli*, y en virtud de las elevadas prevalencias encontradas, se trataría de un nuevo reservorio de balantidiasis humana.

10. *Blastocystis* sp. presenta una alta prevalencia en avestruces. Son necesarios estudios moleculares para determinar de manera concreta la especie presente en estas aves, y con ello concluir si las avestruces pueden ser una fuente de blastocistosis humana.

12. En virtud de los resultados obtenidos, se puede concluir que aunque existan diversos protozoos que potencialmente pueden ser compartidos por las ratites y el hombre, la introducción y el consumo de estos animales no supone un riesgo para la salud humana en lo que se refiere a infecciones protozoarias. En cualquier caso, es necesario completar los estudios iniciados para la caracterización completa de los organismos anteriormente indicados, con el fin de determinar si puede llegar a ser necesario adoptar algún tipo de medida preventiva para el control de potenciales patógenos como *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Balantidium* o *Blastocystis*.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

A

- Abe, N.**, Wu, Z. & Yoshikawa, H. (2003): Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from birds by PCR with diagnostic primers and restriction fragment length polymorphism analysis of the small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitol. Res.* **89**: 393-396.
- Abraham, R.** & Honigberg, B.M. (1964): The structure of *Trichomonas gallinae* (Rivolta). *Jour. Protozool.* **50**: 608-619.
- Adl, S.M.**, Simpson, A.G.B., Farmer, M.A., Anderson, R.A., Anderson, O.R., Barta, J.R., Bowser, S.S., Brugerolle, G., Fensome, R.A., Fredericq, S., James, T.Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C.E., Lewis, L.A., Lodge, J., Lynn, D.H., Mann, D.G., McCourt, R.M., Mendoza, L., Moestrup, Ø., Mozley-Standridge, S.E., Nerad, T.A., Shearer, C.A., Smirnov, A.V., Spiegel, F.W. & Taylor, M.F. (2005): The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *Jour. Eukaryot. Microbiol.* **52**: 399-451.
- Alexeiff, A.** (1912). Sur quelques noms de genres des Flagelles qui doivent disparaitre de la nomenclature pour cause de syndromie ou pour toute autre raison. Diagnoses de quelques genre recemment etudies. *Zool. Anz.* **39**: 674-680.
- Allwright, D.M.** & Wessels, J. (1993): Cryptosporidium species in Ostriches. *Vet. Rec.* **133**: 24.
- Anderloni, G.** (1998): *La cría de avestruz*. Edición. Mundi-prensa, Madrid, España., pags. 17-23.
- Anderson, R.A.**, Anderson, R.O., Banner, F.T., Barta, J.R. Boltovskoy, D., Bradbury, P., Brugerolle, G., Braselton, J.P., Canning, E.U., Cedhagen, T., Clopton, R.E., Debenay, J.P., Delvinkuier, J.L.B., Dodge, J.D., Dykstra, M.J., Faber, W., Febvre, C., Febvre, J., Foissner, I., Foissner, W., Gooday, A.J., Green, J., Haynes, J.R., Heywood, P., Hill, D.R.A., Keller, H.W., Kent, M.L., Kugrens, P., Leadbeater, B.S.C., Lee, J.J., Lee R.E., Leedale, G.F., Lynn, D.H., Mattson, S., Meisterdeld, R., Melkonian, M., Michaels, A., Mikrjukov, K.A, Moser, M., Nigrini, C., O'Kelly, C., Patterson, D.J., Pawlowski, J., Peirce, M.A., Perkins, F.O., Preisig, H.R., Rogerson, A., Schuster, F.L., Siemensma, F.J., Simpson, A., Small, E.B., Spielgel, F., Swanberg, N.R., Takahashi, K., Tendal, O., Thompsen, H.A., Vickerman, K., Upton, S.J., Vavra, J., Vørs, N. & Whittaker, J.E. (2000): *An Illustrative Guide to the Protozoa*. 2nd Ed. John J. Lee., Gordon F. Leedale & Phyllis Bradbury., Society of Protozoologists., Allen Press Inc., Publishing, Lawrence Kansas.
- Anguish, L.J.** & Ghiorse, W.C. (1997): Computer-assisted laser scanning and video microscopy for analysis of *Cryptosporidium parvum* oocysts in soil, sediment, and feces. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 724-733.
- Anonimo** (1999): Potential for appearance of transmissible diseases in farmed ratites in New Zealand. <http://www.maf.gov.nz/mvg/vol24-1/vol24-18.htm>. Accessed 05/02/99
- Anonimo** (2000): Ostriches <http://www.nda.agric.za/docs/Trends2000/ostriches.htm> Accessed 2/4/2008
- Anonimo** (2006): Will the real South African Ostrich please stand up. <http://www.roostercogburn.com/sablack/htm>. Accessed 26/2/2008.

Bibliografía

Atwill, E.R., Sweitzer, R.A., Perira, M., Gardiner, I., Van Vuren, D. & Boyce, W. (1997): Prevalence of and associated risk factors for shedding *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts within feral pig populations in California. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 3946–3949.

B

Barr, D.J.S., Blanton, R.L., Brugerolle, G., Buck, K.R., Cachon, J., Cachon, M., Canning, E.U., Cavender, J., Chapman-Andresen, C., Clayton, M.N., Corliss, J.O., Crawford, R.M., Desportes, I., Dick, M.W., Dyer, B.D., Dylewski, D.P., Estep, K.W., Febvre, J., Febvre-Chevalier, C., Floyd, L.G., Frederick, L., Fuller, M.S., Gabrielson, P.W., Garbarg, D.J., Gillott, M.A., Graham, L., Grant, M.C., Green, J.C., Heywood, P., Hibberd, D.J., Hoshaw, R.W., Kies, L., Kivie, P.A., Kremer, B.P., Kristiansen, J., Lee, J.J., Lom, J., Lynn, D.H., McCourt, R.M., Melkonian, M., Mignot, J.P., O'Kelly, C.J., Perch-Nielsen, K., Perkins, F.O., Porter, D., Round, F.E., Schuster, F.L., Small, E.B., Sommerfeld, M., Spiegel, F.W., Taylor, F.J.R., Tendal, O.S., Townsend, R.A., Tyler, P.L., Vickerman, K., Vivier, E., Walne, P.L., Wang, C.J., Westbroek, P., Whatley, J.M. & Whisler, H.C. (1990): *The Handbook of Protoctista: the structure, cultivation, habitats and life histories of the eukaryotic microorganisms and their descendants exclusive of animals, plants and fungi: A guide to the algae, ciliates, foraminifera, sporozoa, water molds and the other protoctistas.* EDITORS: Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M., Chapman, D.J., McKhann, H.I. Jones & Barlett Publishers, 20 Park Plaza., Boston, Mass.

Barton, N.J. & Steward, D.A. (1993): Detection of *Libyostrongylus douglassi* in ostriches in Australia. *Austral. Vet J.* **70**: 31-32.

Beaver, P.C., Jung, R.C. & Cupp, E.W. (1984): *Clinical parasitology*, 9th ed., Lea & Fibiger, Philadelphia, USA. pags., 35-157.

Belova, L.M. (1991): *Blastocystis anatis* sp. nov. (Protista: Lobosea) from *Anas platyrhynchos*. *Zoolog Zhur.* **1**: 5-10.

Belova, L.M. (1992): *Blastocystis anseri* (Protista: Rhizopoda) from hens and ducks. *Parazitol.* **26**: 80-82.

Belova, L.M. (1995): *Blastocystis* fauna. *Parazitol.* **29**: 208-213.

Belova, L.M. & Kostenko, L.A. (1990): *Blastocystis galli* sp.n. (Protista: Rhizopoda) from the intestines of domestic hens. *Parazitol.* **24**: 164-168.

Bemrick, W.J. (1984): *Some perspectives on the transmission of giardiasis.* In: *Giardia and Giardiasis.* Eds. Eelanderson, S.L & Meyer, E. A Plenum Press Publishing, New York., pags. 379-400.

Bernhard, D., Stechmann, A. Foissner, W., Ammermann, D. Hehn M. & Schlegel, L. (2001): Phylogenetic relationships within the class Spirotrichea (Ciliophora) inferred from small subunit rRNA gene sequences. *Mol. Phylogen. Evol.* **21**: 86-92.

Bezuidenhout, A.J. Penrith, M.L. & Burger, W.P. (1993): Prolase of the phallus and cloaca in the ostrich (*Struthio camelus*). *S. Jour. Afr. Vet. Assoc.* **64**: 156-158.

Bollinger, T.K. & Barker, I.K. (1996): Runting of ducklings associated with *Cochlosoma anatis* infection. *Avian Dis.* **40**: 181-185.

Borst, G.H. & Lambers G.M. (1985): Tephlohepatitis in ostriches (*Struthio camelus*) caused by *Histomonas* infection. *Tijd.Dierg.* **110**: 536.

- Boreham**, P.F.L. & Stenzel, D.J. (1993): *Blastocystis in humans and animals: morphology, biology and epizootiology*. In: Baker, J.R., Muller, R (Eds.), *Advances in Parasitology*, Vol.32. Academic Press, London,UK. pags. 1-70.
- Box**, E.D. (1981): Observations on *Giardia* of Budgerigars. *Jour. Protozool.* **28**: 491-494.
- Button**, C., Barton, N.J., Veale, P.I. & Overend, D.J. (1993): A survey of *Libyostrongylus douglasi* on ostrich farms in eastern Victoria. *Austral. Vet. J.* **70**: 76.

C

- Camp**, R.R., Mattern, C. & Honigberg, B.M. (1974): Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps & Dobell. I. Electronmicroscopic observations of the binucleate stages. II. Taxonomic position and revision of the genus. *Jour. Protozool.* **21**: 6982.
- Carbajo Garcia**, E., Castello Fontova, F., Castello Lobet, J.A., Gurri Lloveras, A., Marin, M., Mesía García, Juan., Sales, J. & Sarasqueta, D.V. (1997): *Cria de Avestruces, Emúes y Ñandúes*. 2ª Ed. Real Escuela de Avicultura. *Arenys de Mar, Barcelona.*, pags 231.
- Cavalier-Smith**, T. (1981): Eukaryote kingdoms: seven or nine? *Biosys.***14**: 461-481.
- Cavalier-Smith**, T. (1983): A 6-kingdom classification and a unified phylogeny. In *Endocytobiology II*, Edited by W.Schwemmler & H.E.A. Schenk. Berlin: de Gruyter., pags. 1027-1034.
- Cavalier-Smith**, T. (1993): Kingdom Protozoa and its 18 Phyla. *Micro. Rev.* **57**: 953-994.
- Cavalier-Smith**, T. (1997): Sagenista and Bigyra, two phyla of heterotrophic heterokont chromists. *Archiv. für Protis.* **148**: 253-267.
- Cavalier-Smith**, T. (1998): A Revised six - kingdom system of life. *Biol. Rev.* **73**: 203-266.
- Cavalier-Smith**, T. (2003): Protist phlogeny and the high-level classification of Protozoa. *Europ. J. Protistol.* **39**: 338-348.
- Cavalier-Smith**, T. (2004): Only six kingdoms. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **271**: 1251-1262.
- Caussey**, D. (1926): *Eimeria Butakai* n.sp., a new coccidian from man. *Calif. & West. Med.* **11**: 476-477.
- Cawthorn**, R.J. & Brooks, R.J. (1985): Light microscopical observations on sporogony of *Sarcocystis rauschorum* (Protozoa: Sarcocystidae) in snowy owls (*Nyctea scandiaca*). *Can. J. Zoo.* **63**: 1455.
- Chen**, X.Q., Singh, M., Ho, L.C. Tan, S.W., Ng, G.C., Moe, K.T. & Yap, E.H. (1997): Description of a *Blastocystis* species from *Rattus norvegicus*. *Parasitol. Res.* **83**: 313-318.
- Chen**, X.Q., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C. Tan, S.W. & Yap, E.H. (1999): In vitro encystation and excystation of *B. ratti*. *Parasitol.* **118**: 151-160.
- Clark**, C.G., Kaffashian, F., Tawari, B., Windsor, J.J., Twigg-Flesner A., Davies- Morel, M.C.G., Blessmann, J., Ebert, F., Peschel, B., LeVan, A., Jackson, C.J. Macfarlane, L. & Tannich, E. (2006): New insights into the phylogeny of *Entamoeba* species provided by analysis of four new small subunit rRNA genes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**: 2235-2239.

Bibliografía

- Clark**, C.G., Windsor, J.J. & Tannich, E. (2007): On the identification of some *Entamoeba* species response to Ponce-Gordo & Martinez-Diaz.. Comment *In: Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**: 1176.
- Clipsham**, R. (1995): Avian pathogenic flagellated enteric protozoa. Seminars in Avian and Exotic pet medicine. **4**: 112-125.
- Clubb**, S.L., Homer, B.L., Pisani, J. & Head, C. (1994): Outbreaks of bordetellosis in psittacines and ostriches. Association of Avian Veterinarians. 1994 Main conference proceedings, pags. 63-68.
- Cordero del Campillo**, M., Catañón, O.I. & Reguera, FA. (1994): *Indice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos, 2ª Edición*. Secretario de Publicaciones, *Universidad de León*. pags. 650.
- Cooper**, J.E. & Petty, S.J. (1988): Trichomoniasis in free-living goshawks (*Accipiter gentilis gentilis*) from Great Britain. *Avian Dis.* **39**: 183-190.
- Cooper**, J.E., Shivaprasad, H.L., Bickford, A.A., Nordhausen, R., Munn, R.J. & Jeffrey, J.S. (1995): Enteritis in turkeys associated with an unusual flagellated protozoan (*Cochlosoma anatis*). *Avian Dis.* **39**: 183-190.
- Cooper**, R.G. (1999): Ostrich meat, an important product of the ostrich industry: A southern African perspective. *Wrlds. Poul. Sci. J.* **55**: 389-402.
- Corinne**, S.L. Ong-Eisler, D.L., Alireza, A., Fung, V., Tomblin, J., Bowie, W. & Isacc-Renton, L. (2002): Novel *Cryptosporidium* Genotypes en Sporadic *Cryptosporidium* Cases: First report of Human Infections with a cervine Genotype. *Emerg. Infec. Dis.* **8**: 263-268.
- Corliss**, J.O. (1966): The establishment of an international collection of ciliata specimen-type at the University of Illinois. *Bull. Biol. Fr. Belg.* **100**: 576-70.
- Corliss**, J. O. (1974). The changing world of ciliate systematics: a historical analysis of past efforts and newly proposed phylogenetic scheme of classification for the protistan phylum Ciliophora. *Syst. Zool.* **23**: 91-138.
- Corliss**, J.O. (1979). *The Ciliated Protozoa. Characterization, Classification and Guide to the Literature* 2 Ed. Pergamon Press Ltd., Williams Clowes and Sons Limited, Beccles & London. pags. 3-7, 189-200, 218-220, 455.
- Crawley**, R. R., Ernst, J.V. & Milton, J.L. (1982): *Sarcocystis* in a bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). *Jour. Wild. Dis.* **18**: 253.
- Craig**, T.M. & Diamond, L.S. (1996): *Parasites of Ratites*. In: Tully, T.N., Shane, S.M. (Eds), *Ratite Management, Medicine and Surgery*. Krieger, *Malabar, Florida*., pags. 115-116.
- Culley**, C. (2008): *Ostriches*. <http://www.world-ostrich.org>. World Ostrich Association, 33 Eden Grange Little Corby, *Carlisle, UK*.

D

- Dannemann**, B.R., Vaughan, W.C., Thulliez, P. & Remington, J.S. (1990): Differential agglutination test for diagnosis of recently acquired infection with *T. gondii*. *Jour. Clin. Microbiol.* **28**: 1928-1933.

- Davis, E.D., Schwartz, L.D. & Jordan, H.E. (1964):** A case report: *Chilomastix sp.* Infection in pen-raised quail. *Avian Dis.* **8**: 465-470.
- Deeming, D.C. (1994):** Ostrich farming- A commercial enterprise? *M. Foc. Intern.* **3**: 298-303.
- del Castillo, F. & Herruzo, R. (1998):** Risk factors for toxoplasmosis in children. *Enferm. Infecc Micro. Clin.* **16**:224-229
- del Hoyo, J., Elliott, A. & Sargatal, J. (1992):** *Handbook of the birds of the world.* Vol. I. Ostrich to Ducks. Edicions Lynx, *Barcelona.*, pags 167.
- del Hoyo, J., Elliott, A. & Sargatal, J. (1999):** *Handbook of the birds of the world.* Vol. V. Barn-owls to Hummingbirds. Ediciones Lynx, *Barcelona.*, pags 228.
- del Hoyo, J., Elliott, A. & Christie, D. (2004):** *Handbook of the birds of the world.* Vol. IX. Cotingas to Pipits and Wagtails. 1ª Ed. Ediciones Lynx, *Barcelona.*, pags 132.
- Desmots, G. & Remington, J.S.(1980):** Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *Jour. Clin. Microbiol.* **11**: 562-568.
- Dominguez de Tena, M., Hernandez Rodriguez, S., Becerra Martell, C., Calero Carretero, R., Moreno Montanez, T. & Martinez Gomez, F. (1976):** *Struthiolipeurus nandu* 1950 (Malophaga: Philopteridae) parasito del avestruz *Struthio camelus* en el parque zoológico de cordoba. *Rev. Iber. Parasitol.* **36**: 167-173.
- Dubey, J.P. (1997):** Validation of the specificity of the modified agglutination test for *Toxoplasmosis* in Pigs. *Vet Parasitol.* **71**: 307-310.
- Dubey, J.P. & Desmots, R. (1985):** Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma Gondii* comparison of Sabin-Feldman dye test and other Agglutination tests. *Am. J. Vet. Res.* **46**: 1085-8.
- Dubey, J.P. & Desmots, R. (1987):** Serologic response of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Jour. Equine. Vet. Sci.* **19**: 337-339.
- Dubey, J.P. & Beattie, C.P. (1988):** *Toxoplasmosis of animals and man.* CRC Press inc., *Boca Raton Florida.*, pags. 220
- Dubey, J.P. & Ruff, O.C.H. (1993):** Experimental toxoplasmosis in Turkeys. *Jour. Parasitol.* **79**: 949-952.
- Dubey, J.P., Speer, C. A. & Fayer, R. (1989):** *Sarcocystosis of Animals and Man.* CR Press., *Boca Raton, Florida.*
- Dubey, J.P., Ruff, M.D., Kwok, O.C.K., Shen, S.K., Wilkins, G.C. & Thulliez, P. (1993a):** Experimental toxoplasmosis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *Jour. Parasitol.* **79**: 935-939.
- Dubey, J.P., Ruff, M.D., Carmago, M.E., Shen, S.K., Wilkins, G.L., Kwok, O.C.K. & Thulliez, P. (1993b):** Serologic and Parasitologic response of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am. J. Vet. Res.* **54**: 1668-1672.
- Dubey, J.P., Thulliez, P., Weigel, R.M., Andrews, C.D., Lind, P. & Powell, E.C. (1995):** Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infections in naturally infected sows. *Am. J. Vet. Res.* **56**: 1030-1036.
- Dubey, J.P., Scandrett, W.B., Kwok, O.C.H. & Gajadhr, A.A. (2000):** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Ostriches (*Struthio camerlus*). *Jour. Parasitol.* **86**: 623-624.

Bibliografía

Dunn, L.A., Boreham, P.F.L. & Stenzel, D.J. (1989): Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *Int. J. Parasitol.* **19**: 43-56.

Duszynski, D. W. (1999): Revisiting the code: clarifying name-bearing types for fotomicrographs of protozoa. *Jour. Parasitol.* **85**: 769-770.

E

Ekanayake, D.K., Arulkanthan, A., Horadagoda, N.U., Sanjeevani, G.K., Kieft, R., Gunatilake, S. & Dittus, W.P. (2006): Prevalence of *cryptosporidium* and other enteric parasites among wild non-human primates in Polonnaruwa, Sri Lanka. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **74**: 322-329.

Erlandsen, S.L. & Bemrick, W.J. (1987): SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *Jour. Parasitol.* **73**: 623-629.

Erlandsen, S. L. & Bemrick, W.J. (1988): Giardiasis– is it really a zoonosis? *Parasitol. Today.* **4**: 66-68.

Erlandsen, S. L., Sherlock, L. A., Januschka, M., Schupp, D. G., Schaefer, F.W. III., Jakubowski, W. & Bemrick, W.J. (1988): Cross-species transmission of *Giardia* spp.: Inoculation of beavers and muskrats with cysts of human, beaver, mouse, and muskrat origin. *Appl. & Environ. Microbiol.* **54**: 2777- 2785.

Erlandsen, S. L., Bemrick, W.J., Wells, C.L., Freely, D.L., Knudson, L., Campbell, S.R., Van Keulen, H. & Jarroll, E.L. (1990): Axenic culture and characterization of *Giardia ardeae* from the great blue Heron (*Ardea herodias*). *Jour. Parasitol.* **76**: 717- 724.

Erlandsen, S. L., Bemrick, W.J. & Jakubowski, W. (1991): Cross species transmission of avian and mammalian *Giardia* sp., inoculation of chicks, ducklings, budgerigars, mongolian gerbils and neonatal mice with *Giardia ardeae*, *Giardia duodenalis (lamblia)* *Giardia psittaci* and *Giardia muris*. *Int. J. Environ. H. Res.* **1**: 144-152.

F

Fauré-Fremiet, E. (1953): Morphology of protozoa. *Annu. Rev. Microbiol.* **7**: 1-18.

Fauré-Fremiet, E. (1957): Finer morphology of microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* **11**: 1-6.

Fayer, R. (1997): *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pages. 72.

Fayer, R., Trout, J.M., Xiao, L., Morgan, U.M., Lai, A.A. & Dubey, J.P. (2001): *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *Jour. Parasitol.* **87**: 1415-1422.

Feely, D.E. (1988): Morphology of the cyst of *Giardia microti* by light and electron microscopy. *Jour. Protozool.* **35**: 52-54.

Filice, F.P. (1952): Studies of the citology and life history of a *Giardia* from the laboratory rat. *Univer. Califor. Publ. Zool.* **57**: 53-154.

- Filippich**, L.J. & O'Donoghue, P.J. (1997): *Cochlosoma* infections in finches. *Aust. Vet.* **75**: 561-563.
- Finley**, B.J., Corliss, J.O., Estevan, G. & Fenchel T. (1996): Biodiversity at the microbial level: The number of free-living ciliates in the biosphere. *Quart. Rev. Biol.* **71**: 221-237.
- Forshaw**, D.D.G., Palmer, S.A., Halse, D.M., Hopkins, R. & Thompson, R.C. (1992): *Giardia* in straw necked ibis (*Threskionis spinicollis*) in Western Australia. *Vet. Recs.* **131**: 267-268.
- Friedhoff**, K.T., Kuhnigk, C. & Müller, I. (1990): Experimental infections in chickens with *Chilomastix gallinarum*, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Tritrichomonas eberthi*. *Parasitol Res.* **77**: 329-334.
- Frenkel**, J.K. (1981): False-negative Serologic test for *Toxoplasma gondii* in Birds. *Jour. Parasitol.* **67**: 952-953.
- Fuentes**, I., Rubio, J.M., Ramírez, C. & Alvar, J. (2001): Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *Jour. Clin. Microbiol.* **39**: 1566-1570.
- Fujino**, T., Matsui, T., Tsutsumi, Y., Saito, Y., Kobayashi, F. & Tsuji, M. (1996): Infectivity and immunogenicity to Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) of *Cryptosporidium* sp. Isolated from chickens in Japan. *Jap. J. Parasitol.* **45**: 139-143.

G

- Gajadhar**, A.A. (1993): *Cryptosporidium* species in imported ostriches and consideration of possible implications for birds in Canada. *Can. Vet. J.* **34**: 115-116.
- Gajadharr**, A.A. (1994): Host specificity studies and oocysts descriptions of a *cryptosporidium* sp. Isolates from ostriches. *Parasitol. Res.* **80**: 316-319.
- Garavelli**, P.L., Scaglione, L. Merighi, A. & Libanore, M. (1992): Endoscopy of blastocystosis (Zierdt-Garavelli disease). *Ital. J. Gastroenterol.* **24**: 206.
- Graff**, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H. & Peeters, J.E. (1999): A review of the importance of *cryptosporidium* in farm animals. *Int. J. Parasitol.*, **29**:1269-1287.
- Grant**, D.R. & Woo, P.T.K. (1978): Comparative studies of *Giargia* spp. In small mammals in southern Ontario. II. Hosts specificity and infectivity of stored cysts. *Can. J. Zool.* **56**: 802-805.
- Grassé**, P.P. (1952): *Traté de zoologie anatomie, systematique, biologie*. Tomo I. Ed Masson et Cie. Paris.
- Grassi**, G. B (1954): Giovanni Battista Grassi. *Trans. R. Soc. Med. Hyg.* **48**: 369-372.
- Gutiérrez-Galindo**, J.F. (1999) *Parasitología Veterinaria*. M. Cordero del Campillo – E.A. Rojo Vazquez (Ed.). *McGraw Hill Interamericana, Madrid.*, pags. 124-233.
- Gutiérrez-Galindo**, J. F. (1999): Flagelados In: *Parasitología Veterinaria*. M. Cordero del Campillo-E.A. Rojo Vasquez (Ed.):*McGraw-Hill-Interamericana, Madrid.*, pags. 774-779.
- Gylstorff**, I. & Grimm, F. (1987): *Vogelkrankheiten*. Eugen Ulmer Verlag. Stuttgart, pags. 243,293,297-308.

H

- Hegner, R.W.** (1929): The in vivo cultivation of intestinal protozoa in Parasite-Free chickens. *Science* 69: 432-434.
- Hegner, R.W.** (1934): Specificity in the genus *Blantidium* based on size and shape of body and macronucleus, with description of 6 new species. *Am. J. Hyg.* 19: 38-67.
- Hughes, H.P., Van Knapen, F., Atkinson, H.J., Balfour, A.H. & Lee, D.L.** (1982): A new soluble antigen preparation of *Toxoplasma gondii* and its use in serological diagnosis. *Clin Exp Immunol.* 49: 755-757.
- Ho-Yen, D.O. & Joss, A.W.L.** (1992): *Human Toxoplasmosis.* Oxford Press, New York, pages 265.
- Honigberg, B.M.** (1963): Evolutionary systematic relationships in the flagellate order *Trichomonadida* Kirby. *Jour. Protozool.* 10: 20-30.
- Honigberg, B.M.** (1978): Trichomonads of veterinary importance. *En: Parasitic Protozoa, Vol II.* Intestinal flagellates, histomonads, trichomonads amoeba, opalinids and ciliates. J.P. Kreier (Ed): *Academic-Press, New York.* Pags. 200-273.
- Honigberg, B.M. & Kuldová, J.** (1969): Structure of nonpathogenic Histomonad from the cecum of galliform birds and revision of the Trichomonads Family Monocercomonadidae Kirby. *Jour. Protozool.* 16: 526-535.
- Honberg, E.P., Lloyd, S. & Omar, H.** (1985): *Libyostrongylus dentatus* n.sp. (Nematodo: Trichostrongylidae) from ostriches in North America, with comments on the general *Libyostrongylus* and *Paralibyostrongylus*. *Jour. Parasitol.* 81: 85-93.
- Honberg, E.P., Cawthorn, R.J. & Hedstrom O.R.** (1993): Enteric coccidia (Apicomplexa) in a northern spotted owl (*Strix occidentalis caurina*). *Jour. Wild Dis.* 29: 495-7.
- Hove, T. & Mukaratiwa, S.** (2005): Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in farm-reared ostriches and wild game species from Zimbabwe. *Acta Trop.* 94: 49-53.
- Huchzermeyer, F.W.** (1999): *Patología de Avestruces y otras Ratites.* (Ed.): *Mundi-Prensa, Madrid.*

J

- Jansson, D.S. & Christensson, D.** (2000): Gastrointestinala parasiter hos strutsfåglar i Sverige. *Svensk Veterinär tidning Volym* 52: 12.
- Jardine, J.E. & Verwoerd, D.J.** (1997): Pacreatic cryptosporidiosis in ostriches. *Avian Pathol.* 3: 665-667.
- Jaqueti, J., Hernández-García R., Nicolas, D., Martínez-Hernández, D., Navarro-Gallar, F. & García-Esteban, R.J.** (1991): Serology against *Toxoplasma gondii* in pregnant women. *Rev. Clin. Esp.* 188: 278-80.
- Jiang, J.B. & He, J.G.** (1993): Taxonomic status of *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Today* 9:2-3.

K

- Kaiser**, G.W. (2007): *The Inner Bird: anatomy and evolution*. UCB Press, The University of British Columbia, Vancouver, BC., pags. 348.
- Korenkova**, G. & Pakandl, M. (2004): Early events in the life cycle of the mouse *Eimeria falciformes* (Eimer 1870) Schneider 1875 in native and immune hosts. *Parasitite*. **11**: 333-339.
- Kaminjolo**, J.S., Tikasingh, E.S. & Ferdinand, G.A. (1988): Parasites of the common pigeon (*Columba livia*) from the environs of Port of Spain, Trinidad. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*. **36**: 194-195.
- Kimura**, G.G. (1934): *Cochlosoma rostratum* sp. Nov., an intestinal flagellate of domesticated ducks. *Trans Amer. Micros. Soc.* **53**: 102-106.
- Kirby**, H. (1947): Flagellate and host relationships of trichomonad flagellates. *Jour Parasitol.* **33**: 214-228.
- Kirkpatrick**, C.E. (1987): Giardiasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **17**: 1377-1404.
- Kreier**, J.P., Baker, R.J., Greengard, P. & Griller, S.R. (1995): *Parasitic Protozoa*. (2nd Ed.): Academic Press, New York., pags. 123-166.
- Kudo**, R.R. (1966): *Protozoologia*. Charles C. Thomas Publisher., Campania (Ed): Continental, S.A., Calz. De Tlalpan Num, Mexico D.F., pags. 333.
- Kudo**, R.R. (1972): *Protozoologia*. Charles C. Thomas Publisher., Campania (Ed): Continental, S.A. Mexico., pags. 905.
- Kulda**, J. & Nohýnková, E. (1978): *Giardia* and Giardiasis, *In*: Kreier, J.P. (Ed.): *Parasitic Protozoa*. Academic Press, New York., pags. 69-138.
- Kulda**, J. & Nohýnková, E. (1996): *Giardia* in humans and animals. , *In*: Kreier, J.P. (Ed.): *Parasitic Protozoa*. Academic Press, New York., pags. 225-422.

L

- Lee**, J.J. (1985): Retortamonadida. *In*: J.J. Lee, S.H. Hunter, E.C. Bovee (eds), *An Illustrated Guide to the Protozoa*, Society of Protozoologists, Kansas., pags. 89-108.
- Lee**, W.J. & Patterson, D.J. (1998): Diversity and Geographic distribution of Free-Living Heterothrophic Flagellates Analysis by Primer: http://www.bio.usyd.edu.au/Protsvil/lee_pady.html.
- Lee**, M.G. & Stenzel, D.J. (1999): A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. *Parasitol Res.* **85**: 109-117.
- Levine**, N.D. (1962): Protozoan Parasites of Domestic Animals and Of Man. *Am Jour. Trop. Med. & Hyg.* **11**: 583-584.
- Levine**, N.D. (1977): Nomenclature of *Sarcocystis cernae* n.sp., replacement name for *Sarcocystis* sp., Cerná and Loucková, 1976. *Folia Parasitol.* Prague. **24**: 316.

Bibliografía

- Levine, N.D.** (1985): *Veterinary Protozoology*, Iowa State University Press, Madison, Iowa. pags. 109-129.
- Levine, N.D.** (1988): *The Protozoan Phylum Apicomplexa*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida., pags. 203.
- Levine, N.D. & Ivens, V.** (1960): *Eimeria* and *Tyzzeria* (Protozoa: Eimeriidae) from deermice (*Peromyscus* spp.) in Illinois. *Jour. Parasitol.* **46**:207-212.
- Levine, N.D. & Mohan, R.N.** (1960): *Isospora* sp. (Protozoa: Eimeridae) from cattle and its relationship to *I. lacazei* of the English sparrow. *Jour. Parasitol.* **46**:733-741.
- Levine, N.D. & Andersen, F.L.** (1973): Development and survival of *Trichostrongylus colubriformis* on pasture. *Jour. Parasitol.* **59**:147-165.
- Levine, N.D. & Tadros, W.** (1980): Named species and hosts of *Sarcocystis* (Protozoa: Apicomplexa:Sarcocystidae). *Syst Parasitol.* **2**: 42.
- Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E.G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, F.C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. & Wallace, F.G.** (1980): A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.* **27**: 37-58.
- Ley, D.H., Ficken, M.D., Coob, D.T. & Witter, R.L.** (1989): Histomoniasis and reticuloendotheliosis in a wild turkey (*Meleagris gallopavo*) in North Carolina. *Jour. Wild. Dis.* **25**: 262-265.
- Ley, E.C., Morishita, T.Y., Harr, B.S., Mohan, R. & Brisker, T.** (2000). Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibiotic pathogens. *Avian Dis.* **44**: 989-992.
- Lindsay, D.S. & Blagburn, B.L.** (1999): Prevalence of encysted Apicomplexans in muscle of raptors. *Vet. Parasitol.* **80**: 341-344.
- Lindsey, D.S., Smith, P.C. & Blagburn, B.L.** (1994): Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from wild turkeys in Alabama. *Jour. Helminthol. Soc. W.* **61**: 115-117.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. & Blagburn, B.L.** (1997): Biology of *Isospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**:19-34.
- Lindsay, D.S., Larsen, C.T., Zajac, A.M. & Pierson, F.W.** (1999): Experimental *Cochlosoma anatis* infections in poultry. *Vet. Parasitol.* **81**: 21-27.
- Llorente, M.T., Clavel, A., Vereá, M., Goni, P.M., Sahagun, J. & Olivera, S.** (2006): Cryptosporidium felis infection, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* **12**:1471-1472.
- Lopez- Medina, N., Jodra-Trillo, E. & Álvarez- Ramos, N.** (1987): Producción y Comercialización de carne de avestruz. *Sal. Pub. Vet.* **2**: 11-19.
- Lopez- Medina, N., Jorda Trillo, E. & Álvarez Ramos, N.** (1990): Produccion y comercialicion de carne de avestruz. *Sal. Pub. Vet.* **4**: 11-19.
- Lymbery, A.J. & Tibayrenc, M.** (1994): Discussants Report: Population Genetics and Systematics: How Many Species of Giardia Are There In Giardia: From Molecules to Diseases. Edited by RCA Thompson, JA Reynoldson and AJ Lymbery. Cab International, University Press, Cambridge UK., pags. 71-79.

M

- MacKenzie**, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., Gradus, M.S., Blair, K.A., Peterson, D.E., Kazmierczak, J.J., Addiss, D.A., Fox, K.R., Rose, J.R. & Davis, J.P. (1994): A massive outbreak of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N. Engl. J. Med.* **331**: 161–167.
- Mainar**, R.C., De la Cruz, C., Asensio, A., Domínguez, L. & Vázquez-Boland, J.A. (1996): Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid region, Spain and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. *Vet Res Commun.* **20**: 153-159.
- Marcus**, M.B., Mundy, P.J. & Daly, T.J.M. (1995): Vultures *Gyps spp.* As final hosts of Sarcocystis of the impala *Aepyceros melampus*. *S. Afr. J. Sci.* **81**: 43.
- Margulis**, L. y Schwartz, K.V. (1988): *Five kingdoms*. Freeman Publishing 2nd ed., New York City, New York, pags, 6-7.
- Martinez**, A.J. & Janitschke, K. (1979): Encephalitis due to *Naegleria* and *Acanthamoeba*. Comparison of organisms and diseases. *Immun. Infekt.* **7**: 5764.
- Massi**, P., Gelmetti, D., Sironi, G., Dottori, M., Lavazza, A. & Pascucci, S. (1995): Adenovirus-associated haemorrhagic disease in guinea fowl. *Avian Pathol.* **24**: 227-237.
- McDowell**, S.Jr. (1953): A Morphological and taxonomic study of the caecal protozoa of the common fowl, *Gallus gallus*. *Jour. Morphol.* **92**: 337-399.
- McMillan**, E.G. & Zellen, G. (1991): Ontario. Histomoniasis in a rhea. *Can. Vet. J.* **32**: 244.
- McRoberts**, K.M., Meloni, B.P., Morgan, U.M., Marano, R., Binz, N. & Erlandsen, S.L. (1996): Morphological and molecular characterization of *Giardia* isolated from the straw-necked ibis (*Threskiomis spinicollis*) in Western Australia. *Aus. Vet.* **75**: 711-718.
- Medina**, N.L., Trillo, E.J., & Ramos, N.Á (2000): Producción y Comercialización de Carne de Avestruz. *Sal. Pub. Vet.* **12**: 11-19.
- Meloni**, B.P., Lymbery, A.J. & Thompson, R.C.A. (1988): Isoenzyme electrophoresis of 30 isolates of *Giardia* from humans and felines. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **38**: 65-73.
- Meloni**, B.P., Lymbery, A.J. & Thompson, R.C.A. (1989): Characterization of *Giardia* isolates using a non-radiolabelled DNA probe and correlation with the results of isoenzyme analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **40**: 629-637.
- Meireles**, MV., Soares, R.M., dos Santos, M.M & Gennari, S.M. (2006): Biological studies and molecular characterization of a *Cryptosporidium* isolate from ostriches (*Struthio camelus*). *Jour. Parasitol.* **92**: 623-626.
- Mertins**, J.W. & Schlater, J.L. (1991): Exotic ectoparasites of ostriches recently imported into the United States. *Jour. Wildl. Dis.* **27**: 180-182.
- Meyer**, E.S. (1985): The epidemiology of giardiasis. *Parasitol. Today.* **1**: 101-105.
- Meyer**, E.A. (1994) *Giardia as an Organism*. In *Giardia: From Molecules to Diseases*. Edited by R.C.A. Thompson, J.A. Reynoldson and A.J. Lymbery. Cab International, University Press, Cambridge UK., pags. 3-13.
- Meyer**, E.A. & Radulescu, S. (1979): *Giardia* and Giardiasis. *Adv. Parasitol.* **277**: 301-302.

Bibliografía

- Moe**, K.T., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C., Tan, S.W., Chen, X.Q. & Yap, E.H. (1999): Development of *Blastocystis hominis* cysts into vacuolar forms in vitro. *Parasitol Res.* **85**: 103-108.
- Morgan**, U., Weber, R., Xiao, L., Sulaiman, I., Thompson, R.C.A., Ndiritu, W., Lal, A., Moore, A. & Deplazes, P. (2000): Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human immunodeficiency virus-infected individuals living in Switzerland, Kenya, and the United States. *J. Clin. Microbiol.* **38**:1180-1183.
- Morony**, J., Bock, J. & Farrand, J. (1975): *Reference List of the Birds of the World*. American Museum of Natural History, New York., pags. 207.
- Moreno** Montanez, T., Martinez Gomez, F. & Martinez Cruz, S. (1983): Estudio comparativo de la inmunofluorescencia indirecta y de la aglutinacion directas en el diagnostico de la toxoplasmosis. III Congreso Nacional de Parasitologia, Barcelona., pags. 27.
- Moreno**, T., Martínez-Gómez, F., Hernández-Rodríguez, S., Martínez-Cruz, M.S. & Martínez-Moreno, A. (1991a): The seroprevalence of ovine toxoplasmosis in Córdoba, Spain. *Ann Trop Med Parasitol.* **85**: 287-288.
- Moreno**, T., Martínez-Gómez, F & Becerra, C. (1991b): The seroprevalence of bovine toxoplasmosis in Córdoba, Spain. *Ann Trop Med Parasitol.* **85**: 285-286.
- Muriuki**, S.M., Murugu, R.K., Munene, E., Karere, G.M. & Chai, D.C. (1998): Some gastrointestinal parasites of zoonotic (public health) importance commonly observed in old world non-human primates in Kenya. *Acta Trop.* **71**: 73-82.

N

- Nakauchi**, K. (1999): The prevalence of *Balantidium coli* infection in fifty-six mammalian species. *Jour. Vet. Med. Sci.* **61**: 63-65.
- Neal**, R.A. (1966): Experimental studies on *Entamoeba* with reference to speciation. *Adv. Parasitol.* **4**: 1-51.
- Noël**, C., Dufernez, F., Gerbod, D., Edgcomb, V.P., Delgado-Viscogliosi, P., Ho, L.C., Singh, M., Wintjens, R., Sogin, M.L., Capron, M., Pierce, R., Zenner, L. & Viscogliosi, E. (2005): Molecular Phylogenies of *Blastocystis* Isolates from Different Hosts: Implications for Genetic Diversity, Identification of Species and Zoonosis. *Jour. Clin. Microbiol.* **43**: 348-355.
- Norton**, R.A., Clark, F.D. & Beasley, J.N. (1999): An outbreak of histomoniasis in turkeys infected with a moderate level of *Ascaridia dissimilis* but no *Heterakis gallinarum*. *Avian Dis.* **43**: 342-348.

O

- Ong**, C., Moorehead, W., Ross, A. & Isaac-Renton, J. (1996): Studies of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in two adjacent watersheds. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2798-2805.
- Osterhoff**, D.F. (1979): Ostrich farming in South Africa. *Wrld. Rev. Anim. Prod.* **15**: 19-30.

Orosz, S.E., Mullins, J.P. & Patton, S. (1992): Evidence for toxoplasmosis in two ratites. *Jour. Assoc. Avian Vet.* **6**: 219-222.

P

Page, F.C. (1988): A new key to freshwater and soil *Gymnamoeba*. Freshwater Biological Association, Ambleside Cumbria, U.K. pags. 122.

Page, C.D. & Haddad, K.B.A. (1995): Coccidial Infections in Birds. *Sem. Avian & Exot. Pet Med.* **4**:138-144.

Pecka, Z. (1991a): Pathogenicity of *Tetratrichomonas gallinarum*. *Vet. Med.* **36**: 183-188.

Pecka, Z. (1991b): Domestic geese (*Ansercati anser L.*) As a new host of *cochlosoma anatis* Koltan,1923. *Folia Parasitol.* **38**: 91-92.

Pedraza-Diez, J., Amar, C. & McLauchlin, J. (2001): The identification of characterization of an unusual genotype of cryptosporidium from human feaces as *Cryptosporidium meleagridis*. *FEMS microbiol.* **66**: 735-738.

Pedraza-Diez, J., Amar, C., Iversan, A.M., Stanley, P.J. & McLauchlin, J. (2001): Unusua l cryptosporidium species recovered from human feaces: first description of cryptosporidium felis and cryptosporidium "dog type" from patients in England. *Jour. Med. Microbiol.* **50**: 293-296

Pennycott, T. & Patterson, T. (2001): Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthio camelus*). *Vet. Rec.* **148**: 155-156.

Penrith, M.L. & Burger, W.P. (1993): A *Cryptosporidium sp.*, in an ostrich. *S. J. Afr. Vet. Assoc.* **64**: 60-61.

Penrith, M.L., Bezuindenhout, A.J., Burger, W.P., & Puterill, J.F. (1994): Evidence for cryptosporidium infection as a cause for prolase of the phallus and cloaca in ostrich chicks (*Struthio camelus*). *Onderstepoort J. Vet. Res.* **61**: 283-289.

Perez-Rendon, G., Moreno, M.T., Becerra, C. & Martín Cruz, M,S. (1992): The seroprevalence of human toxoplasmosis in Córdoba. *Rev. Sanid. Hig. Publica.* **66**: 83-91.

Perrins, C.M. (1985): *Ostriches and their relatives - the ratites*. In: The encyclopedia of birds. Editor., Alex L. A. Middleton, New York, Publishers Facts on File., pags. 18-27, & 480.

Perz, J.F. & LeBlanc, S.M. (2001): *Cryptosporidium parvum* infection involving novel genotypes in the wildlife from Lower New York State. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 1154-1162.

Petroni, G., Dini,F., Verni, F. & Rosati, G. (2002)A molecular approach to the tangled intrageneric relationship underlying phylogeny in Eurplotes (Ciliophora, Spirotrichea). *Moll. Biochem Parasitol.* **120**: 93-106.

Ponce, G.P., Martínez, R. & Herrera, S. (2004): *Entamoeba struthionis* n.sp. (Sarcocystidophora: Endamoebidae) from ostriches (*Struthio camelus*). *Vet. Parasitol.* **119**: 237-335.

Bibliografía

Ponce, G.P., Rojas, B. & Martínez, R. (2007): Relaciones Filogenéticas entre las Especies del Género *Entamoeba*: Una Revisión Basada en el Análisis de Nuevas Secuencias. *Actas del CIP 10: X Congreso Ibérico de Parasitología, Publicaciones electrónicas, ISBN 978-84-96704-04-6. Madrid*, pags., 68.

Ponce, G.P., Jimenez, E. & Martínez, R. (2008): Tentative identification of the species of *Balantidium coli*-like by analysis of polymorphic DNA. *Vet Parasitol.* en prensa; (doi:10.1016/j.vetpar.2008.06.024).

R

Raccurt, C.P. (2007): Worldwide human zoonotic cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium felis*. *Parasite*. **14**: 15-20.

Real, J., Manosa, S. & Muñoz, E. (2000) Trichomoniasis in a Bonelli's eagle population in Spain. *Jour. Wildl. Dis.* **36**: 64-70.

Roberts, L & Janovy, J. (2005): *Foundations of Parasitology 7th Eds.* Publishers McGraw-Hill Company Inc., New York City, New York., pags. 175-180.

Roger, A.J. & Simpson, A.G. (2004): The real 'kingdoms' of eukaryotes. *Curr. Biol.* **14**: R693-696.

Rolf, A. (2002): <http://www.ornitaxa.com/SM/SMOrg/sibley4.html> The Sibley/Monroe World List of Bird Names.

Roos, D.S., Crawford, M.J., Donald, R.G.K., Fraunholz, J., Harb, O.S., He, C.Y., Kissinger, J., Shaw, M.K. & Stiepan, B. (2002): Mining the Plasmodium enome database to define organellar function. What does the apicoplast do? *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* **357**: 35-46.

Ryan, U.M., Xiao, L., Read, C., Zhou, L., Lal, A.A. & Pavlasek, L. (2003): Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 4302-4307.

S

Santos, M.M.A.B, Peiro, J.R. & Meireles, M.V. (2005): *Cryptosporidium* infection in ostriches (*Struthio camelus*) in Brazil: Clinical, Morphological and Molecular Studies. *Brazilian Journal of Poultry Sciences.* **2**: 113-117.

Shane, S. & Tully, T. (2000): *Ratite Management, Medicine and Surgery.* Krieger Publishing Company. *Melbourne Florida.*, pags. 212.

Shepherd, A.J., Swanepoel, R., Leman, P.A. & Shepard, S.P. (1987): Field and laboratory investigation of Crimen-Congo haemorrhagic fever virus (nairovirus family Bunyaviridae). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **81**: 1004-1007.

Shivaparasad, H.I., Woolcock, P.R. & McFarland, M. (1997): Parasitic bacterias and viral agents associated with high mortality in a Flock of rhea chicks. *Proceedings of the 46th Western Poultry Disease Conference*, pags. 17.

Sibley, C.G. (1993): Classification of Birds. *Birding.* **25**: 446-455.

- Sibley**, C.G. & Monroe, B.L. (1990): *Distribution and Taxonomy of Birds of the World*. Yale University Press, New Haven and London., pags. 1111.
- Sibley**, C.G. & Monroe, B.L. (1993a): A World Checklist of Birds. Yale University Press., pags. 400.
- Sibley**, C.G. & Monroe, B.L. (1993b): *Supplement to Distribution and Taxonomy of Birds of the World*. Yale University Press, New Haven and London., pags. 108.
- Sibley**, C.G., Ahlquist, J.E. & Monroe, B.L. (1988): A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridization studies. *Auk*. 105: 409-423.
- 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**: 3114.
- Silberman**, J.D., Clark, C.G., Diamond, L.S. & Sogin, M.L. (1999): Phylogeny of the Genera *Entamoeba* and *Endolimax* as Deduced from Small-Subunit Ribosomal RNA Sequences. *Mol. Biol. Evol.* **16**: 1740-1751.
- Silvanosa**, C.D., Samour, J.H., Naldo, J.L. & Bailey, T. A. (1998): Oro-pharyngeal protozoa in captive bustards: Clinical and pathological considerations. *Avian Path.* **27**: 526-530.
- Simitzis**-Le Flohic, A.M. & Chastel, C. (1982): Little savage mammals: free-living amoebae vectors. *Med. Trop.* **42**: 275-279.
- Simpson**, A.G., Roger, A.J., Silberman, J.D., Leipe, D.D., Edgcomb, V.P., Jermini, L.S., Patterson, D.J. & Sogin, M.L. (2002): Evolutionary History of "early-diverging" eukaryotes: the excavate taxon *Carpodimonas* is a close relative of *Giardia*. *Mol. Biol & Evol.* **19**: 1782-1791.
- Sironi**, G., Rampin, T. & Burzoni, G. (1991): Cryptosporidiosis in game birds. *Vet. Rec.* **129**: 337-338.
- Sleigh**, M.A., Dodge, J.D. & Patterson, D.J. (1984): *A synoptic classification of living organisms*. In R.S.K. Barnes, ed. Blackwell Scientific, Oxford, pags. 25-88.
- Small**, E.B. (1976): A proposed subphyletic division of the phylum Ciliophora Dolfein (1901). *Trans. Amer. Micros. Soc.*, **95**: 739-751.
- Small**, E.B. & Lynn, D.H. (1985): Phylum Ciliophora Dolfein (1901) In an *Illustrated guide to The Protozoa*. Lee, J.J., Hunter, S.H. & Bovee, E.C. (ed) *Society of Protozoologists.*, Kansas., pags. 343-344.
- Solaymani-Mohamadi**, R., Ali, M. & Anwar, M. (2005): Human balantidiasis in Iran: an 430 unresolved enigma? *Trends Parasitol.* **21**: 160-161.
- Sotiraki**, S.T., Georgiades, G. & Antoniadou-Sotiriadou, K. (2001): Gastrointestinal parasites in Ostriches (*Struthio camelus*). *Vet. Rec.* **148**: 84-86.
- Stenzel**, D.J. & Boreham, P.F.L. (1996): *Blastocystis hominis* revisited. *Clin. Microbiol Rev.* **9**: 563-584.
- Stenzel**, D.J., Cassidy, M.F. & Boreham, P.F. (1994): Morphology of *Blastocystis* sp., from domestic birds. *Parasitol. Res.* **80**: 131-137.
- Stenzel**, D.J., Cassidy, M.F. & Boreham, P.F. (1996): Morphology of *Blastocystis* sp., from domestic birds. *Parasitol. Res.* **80**: 131-137.
- Singh**, M., Suresh, K., Ho, L.C., Ng, C.G. & Yap, E.H. (1995): Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.* **81**: 446-450.

Bibliografía

Stevens, C.E. & Hume, I.D. (1995): *Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System*, Cambridge University Press, Boston Mass., pags. 189.

Sotiraki, S.T., Georgiades, G., and Antoniadou-Sotiriadou, K. (2001): Gastrointestinal parasites in Ostriches, *Struthio camelus*. *Vet Rec.* **148**: 84-86.

Stabler, RM (1954): *Trichomonas gallinae*: a review. *Exp Parasitol.* **3**:368-402.

T

Tan, K.S. (2004): Blastocystis in humans and animals: new insights using modern methodologies. *Vet. Parasitol.* **126**: 121-44.

Thompson, R.C.A. (1988): *Giardia* infection. In: *Zoonosis: Biology, Clinical Practice and Public Health Control*. Eds Palmer, S.R., Soulsby E.J.L. & Simpson, D.H., Oxford Publishing, University Press. *United Kingdom.*, pags. 545-561.

Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. & Meloni, B.P. (1990): Genetic variations in *Giardia* Kunster, 1882: taxonomic and epidemiological significance. *Protozool. Abstr.* **14**: 1-28.

Thompson, R.C.A. & Monis, P.T. (2004): Variation in *Giardia*: Implications for taxonomy and Epidemiology. *Adv. Parasitol.* **58**: 69-137.

Travis, B.V. (1937): A synopsis of the flagellate genus *Cochlosoma* Kotlán, with the description of two new species. *Jour. Parasitol.* **24**: 343-345.

Travis, B.V. (1938): *Trichomonas phaisani*, a new flagellate from the ring-necked pheasant *Phasianus torquatus*. *Jour. Parasitol.* **18**: 285-287.

Tan, K.S.W. (2002): Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int. J. Parasitol.* **32**: 789-804.

Tan, K.S.W. (2004): *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. *Vet. Parasitol.* **126**: 121-144.

U

Upcroft, J., McDonnell, P.A., Gallagher, A.N., Chen, N. & Upcraft, P. (1996): Lethal *Giardia* from a wild-caught sulphur-crested cockatoo (*Cacatua galerita*) established in vitro chronically infects mice. *Parasitol.* **114**: 407-412.

Upcroft, J.A., McDonnell, P.A. & Upcraft, P. (1998): Virulent Avian *Giardia duodenalis* Pathogenic for mice. *Parasitol.* **14**: 281-284.

USDA APHIS VS (1989a): Forging Animal Disease Report. *Federal Register* **17**: 2-3.

USDA APHIS VS. (1989b): Importation of ostriches and other ratites. *Federal Register.* **54**: 34485-34487.

USDA APHIS VS. (1990). Importation of ostriches and other ratites. *Federal Register.* **55**: 21879-21883.

V

- Van Keulen, M.**, Feely, D.H., Macechko, P.T., Jarroll, E.L. & Erlandsen, S.L. (1998): The sequence of *Giardia* small subunit rRNA shows that voles and muskrats are parasitized by a unique species *Giardia microti*. *Jour. Parasitol.* **84**: 294-300.
- Vera, G.** Quinteros, J., Tolic, P. & Saldias, J. (2004): Detección de la presencia de endoparasitos y ectoparasitos de avestruces (*Struthio camelus*) en Criaderos de la Sexta Region y Region Metropolitana. *Revista electronica de Veterinaria*: N°12.
- Vetterling, J.** (1969): Continuous-flow differential density flotation of coccidial oocysts and a comparison with other methods. *Jour. Parasitol.* **55**: 412-417.
- Verweij, J.J.**, Polderman, A.M. & Clark, C.G. (2001): Genetic variation among human isolates of uninucleated cyst-producing *Entamoeba* species. *Jour. Clin. Microbiol.* **39**: 1644-1646.
- Vickerman, K.** (1976): Phylum Zoomastigina. Class Kinetoplastida. En: *Handbook of Protozoista*. L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (Eds). Jones and Barlett Publishers. Boston. 215-223.
- Vickerman, K.** (1990): Phylum Zoomastigina Class Diplomonadida. In L. Margulis, J.O. Corliss and D.J. Chapman edition of *Handbook of Protozoista*. Jones & Barlett, Boston, pages. 220.
- Verwoerd, D.J.** (2000): Ostrich diseases. *Rev. Sci. Tech.* **19**: 638-661.

W

- Wade, J.R.** (1992): Ratite pediatric medicine and surgery. Proceedings of the Association of Avian Veterinarians, pages. 340-355.
- Walne, P.L.** & Kivic, P.A. (1989): Phylum Euglenida. Class Kinetoplastida. En: *Handbook of Protozoista*. L. Margulis, J. O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (Eds). Jones and Barlett Publishers. Boston. 270-276.
- Watkins, R.A.**, O'Dell, W.D. & Pinter, A.J. (1989): Redescription of flagellar arrangement in the duck intestinal flagellate, *Cochlosoma anatis* and description of a new species, *Cochlosoma soricis* n.sp., from shrews. *Jour. Protozool.* **36**: 527-531.
- Wenrich, D.H.** (1932): The relation of the Protozoan Flagellate, *Retortamonas gryllotalpae* (Grassi, 1879) Stiles, 1902 to the Species of the Genus *Embadomonas* Mackinnon, 1911. *Trans. Amer. Microscopical. Soc.* **51**: 225-238.
- Wenrich, D.H.** (1941): The morphology of some protozoan parasites in relation to microtechnique. *Jour. Parasitol.* **27**: 1-29.
- Wenyon, C.** (1926): In: *Protozoology: A manual for medical men, veterinarians and zoologists*. (Ed.): Baillière, Tindall and Cox, 8 Henrietta Street, Covent Gardens, W.C., London, Londres., pages. 628-629.
- Whittington, R.J.** & Wilson, J.M. (1985): Cryptosporidiosis of the respiratory tract in a pheasant. *Austr. Vet. J.* **62**: 284-285.
- Wintherfield, R.** & Thacker, H. (1978): Verminous encephalitis in an emu. *Avian Dis.* **22**: 336-339.

X

- Xiao, L. & Herd, R.P.** (1993): Quantitation of *Giardia* and *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples by direct immunofluorescence assay. *Jour. Clin. Microbiol.* **31**: 2944–2956.
- Xiao, L. & Herd, R.P.** (1994): Review of equine *Cryptosporidium* infection. *Equine. Vet. J.* **26**: 9–13.
- Xiao, L., Herd, R.P. & McClure, K.E.** (1994): Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. *Jour. Parasitol.* **80**: 55–59.
- Xiao, L., Sulaiman, I.M., Ryan, U.M., Zhou, L., Atwill, E.R., Tischler, M.L., Zhang, X., Fayer, R. & Lal, A.A.** (2002): Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *Int. J. Parasitol.* **32**: 1773-1785.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. & Upton, S.J.** (2004): *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. & Microbiol Rev.*, **17**: 72-97.

Y

- Yakimoff** (1940): *Isospora struthionis*, n.sp., coccidie de l'autruche africaine. *Ann.Soc.Belgue Med. Trop.* **20**: 137-138.
- Yamada, M., Yoshikawa H., Tegoshi, T., Matasumoto, Y., Yoshikawa, T., Shiota, T. & Yoshida, Y.** (1987): Light microscopical study of *Blastocystis* sp., in monkeys and fowls. *Parasitol. Res.* **73**: 527-531.
- Yaman, M. & Dutgut, R.** (2005): Devekuslarinin Paraziter Hastaliklari ve Tedavileri. *Turkiye Parazitoloji Dergisi.* **29**: 103-109.
- Yoshikawa, H., Morimoto, K., Zhiliang, W., Sing, M. & Hashimoto, T.** (2004): Problems in speciation in the genus *Blastocystis*. *Trnds Parasitol.* **20**: 251-255.

Z

- Zaman, V** (1993): *Balantidium coli*. In: Kreier, J.P., Baker, J.R. (Eds). *Parasitic Protozoa*. Vol. *Academic Press, Inc., San Diego*, pags. 44-63.
- Zaman, V., Khan, K.Z., Khan, M.A. & Khan, M.A.** (1994): Isolation of *Blastocystis hominis* from sewage. *SE. Asian J. Trop. Med.& Public. Health.* **25**: 211.
- Zaman, V., Zaki, M., Manzoor, M., Howe, J. & Ng, M.** (1999): Postcystic development of *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.* **85**: 974-976.
- Zierdt, C.H., Rude, W.S. & Bull, B.S.** (1967): Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am J Clin Pathol.* **48**: 491-501.
- Zierdt, C.H.** (1973): Studies of *Blastocystis hominis*. *Jour. Protozool.* **20**: 114-121.

- Zierdt, C.H.** (1988): *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. *Parasitol today* **4**: 15-17.
- Zierdt, C.H.** (1991): *Blastocystis hominis* past and future. *Clin. Microbiol. Rev.* **4**: 61-79.
- Zierdt, C.H.** (1991): Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Jour.Clin.Microbiol.* **29**: 662-663.
- Zierdt, C.H. & Tan, H.K.** (1976): Ultrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. *Z Parasitenkd* **50**: 277-283.
- Zierdt, C.H. & Tan, H.K.** (1976): Endosymbiosis in *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. *Exp. Parasitol.* **39**: 422-430.
- Zwart, P., Ippen, R. & Schroder, H.D.** (1987): Cryptosporidiosis in muscovy ducks (*Cairina moschata*). *Erkrankungen der Zootiere Verhandlungsbericht: 29 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere, Cardiff Germany.*, pags. 61-64.

