

61
2Ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

PREVALENCIA DE LA INFECCION POR
Cryptosporidium EN LA POBLACION INFANTIL
DE MUNICIPIOS DE LA ZONA NORTE DEL
ESTADO DE MEXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JAIME SOLORIO FUENTES

ASESOR: M.V.Z. JUAN PABLO MARTINEZ LABAT.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

274978



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ERIDAD NACIONAL
AVINOMIA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Depo
Examen

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

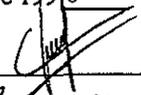
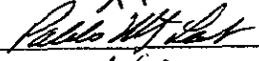
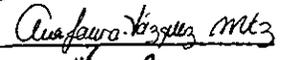
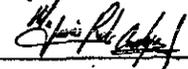
Prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* en la población infantil de municipios de la zona norte del Estado de México

que presenta el pasante: Jaime Solorio Fuentes
con número de cuenta: 8703043-9 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE.
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 03 de Febrero de 1999

- PRESIDENTE M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez 
- VOCAL M.V.Z. Juan Pablo Martínez Labat 
- SECRETARIO Dr. Andrés Romero Rojas 
- PRIMER SUPLENTE M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez 
- SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. M^a de Jesus Rodríguez Cadena 

DEDICATORIAS

A DIOS:

Por permitirme ser parte de su creación
y cubrirme durante toda mi vida con su amor.

A MIS PADRES:

José Guadalupe y Gilberta, a quienes
jamás podré pagar el esfuerzo por sacarme
adelante y por su Amor inmenso.

A MIS HERMANOS:

Isabel, Marcos, Guadalupe y Blanca.
Por soportarme y quererme a pesar de mis
defectos, que con sus preguntas y tareas me
han hecho esforzarme más.

A MIS AMIGOS:

Juan Manuel, Jesús y Oscar Ulises, por
su amistad incondicional, su apoyo y
compañerismo en las buenas y en las malas,
en Chihuahua y en Puebla. "Gracias".

A PILAR:

Por tu gran amor, apoyo y comprensión en todo momento, por estar siempre conmigo. Te Amo.

A MI MADRINA:

Por quererme como si fuera un hijo más, haberme abierto las puertas de su casa y de su corazón. Gracias también a Isaura Guadalupe, Julio, José Luis y Araceli.

A MI ASESOR:

Al M.V.Z. Juan Pablo Martínez Labat un fraternal abrazo. Agradezco su entrega al aceptar hacerse cargo de mi tesis y ser guía fundamental para concretar el trabajo. Ha sabido magistralmente orientarme y aconsejarme.

INDICE

I

| | |
|--|----|
| ;)Lista de abreviaturas. | IV |
| ;) ;)Indice de Cuadros. | V |
| ;) ; ;)Indice de Figuras. | VI |
| 1.0.) RESÚMEN. | 1 |
| 1.1.) ANTECEDENTES. | 2 |
| 1.2.) AGENTE ETIOLÓGICO. | 4 |
| 1.3.) DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA | 5 |
| 1.4.) LA ENFERMEDAD | 5 |
| 1.4.1.) Grupos de riesgo. | 8 |
| 1.5.) EPIDEMIOLOGÍA. | 9 |
| 1.5.1.) Resistencia a los desinfectantes. | 9 |
| 1.5.2.) Fuentes de infección. | 10 |
| 1.5.3.) Formas de transmisión. | 13 |
| 1.5.4.) Incidencia en el hombre. | 14 |
| 1.6.) CICLO BIOLÓGICO. | 17 |
| 1.7.) MECANISMOS PATOGENICOS. | 20 |
| 1.7.1.) Mecanismo general de diarrea. | 22 |
| 1.7.2.) Enterotóxina. | 24 |
| 1.7.3.) Citocinas. | 25 |
| 1.8.) INMUNOLOGÍA. | 26 |
| 1.8.1.) Papel de las defensas del hospedero. | 26 |
| 1.8.1.1.) Inmunidad por anticuerpos. | 26 |
| 1.8.1.2.) Inmunidad celular. | 29 |
| 1.8.2.) Edad. | 30 |

| | |
|---|----|
| 1.8.3.) Estado nutricional. | 31 |
| 1.9.) MANIFESTACIONES CLÍNICAS. | 33 |
| 1.10.) DIAGNÓSTICO. | 36 |
| 1.11.) TRATAMIENTO. | 38 |
| 1.11.1.) Terapia farmacológica. | 38 |
| 1.11.2.) Terapia inmunológica. | 39 |
| 1.12.) PREVENCIÓN. | 42 |
| 2.0.) JUSTIFICACIÓN. | 44 |
| 2.1.) Municipios y guarderías que se muestrearon. | 44 |
| 2.2.) Propuesta en que se basa el presente estudio. | 45 |
| 3.0.) HIPÓTESIS. | 46 |
| 4.0.) OBJETIVOS. | 47 |
| 5.0.) MATERIAL Y MÉTODOS. | 48 |
| 5.1.) Material biológico. | 48 |
| 5.2.) Material de laboratorio. | 48 |
| 5.3.) Mecánica de recolección. | 49 |
| 5.3.1.) Recolección de muestras. | 49 |
| 5.4.) Diagrama de flujo. | 51 |
| 6.0.) RESULTADOS. | 52 |
| 6.1.) Datos obtenidos en Cuautitlán México. | 53 |
| 6.2.) Datos obtenidos en Cuautitlán Izcalli. | 55 |
| 6.3.) Datos obtenidos en Teoloyucan. | 57 |
| 6.4.) Datos obtenidos en Tepotzotlán. | 59 |
| 6.5.) Datos generales obtenidos en los municipios. | 62 |
| 6.6.) Datos de frecuencia. | 63 |
| 6.7.) Correlaciones entre alimentación, higiene, animales e ingresos. | 65 |
| 7.0.) DISCUSIÓN. | 66 |
| 8.0.) CONCLUSIONES. | 72 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | PAG |
|---|-----|
| SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) | 2 |
| DI₅₀ (Dosis infectante estimada) | 5 |
| VIH (Virus de la inmunodeficiencia humana) | 5 |
| CD 4⁺ (Células T, marcador CD 4 ⁺) | 8 |
| H₂O₂ (Peróxido de hidrógeno) | 10 |
| NFS (Asociación Nacional de Filtros Standar) | 11 |
| C.D.C. (Centros para el Control de Enfermedades) | 16 |
| Cl⁻ (Ión de cloro) | 20 |
| FAP (Factor Activador de Plaquetas) | 20 |
| NaCl (Cloruro de sodio ó sal común) | 21 |
| FNT (Factor de Necrosis Tumoral) | 21 |
| HCO₃⁻ (Ión de carbonato) | 22 |
| Na⁺ (Ión de sodio) | 22 |
| AMPc (Monofosfato de Adenosina cíclico, por sus siglas en inglés) | 22 |
| GMPc (Monofosfato de Guanina cíclico, por sus siglas en inglés) | 22 |
| PMN's (Células Polimorfonucleares) | 23 |
| IFN-γ (Interfeón gamma) | 23 |
| PGE₂ (Prostaglandina E ₂) | 25 |
| MN's (Células Mononucleares) | 25 |
| IL-6 (Interleucina 6) | 25 |
| IL-3 (Interleucina 3) | 25 |
| IgA, IgE, IgG e IgM (Anticuerpos) | 26 |
| BALB/c (Cepa de raton singénica; es decir, que son idénticos entre sí) | 27 |
| mAb (Anricuerpo monoclonal, por sus siglas en inglés) | 27 |
| KDa (Kilodaltones, son unidades de peso molecular) | 27 |
| Th (Células T cooperadoras) | 29 |
| NK (Células del sistema inmune llamadas asesinas naturales) | 29 |

| | |
|--|----|
| CD 8 ⁺ (Células T, marcador CD 8 ⁺) | 29 |
| W/W ^v (Cepa de raton singénica; es decir, que son idénticos entre sí) | 30 |
| SCID (Inmunodeficiencia Combinada Severa) | 31 |
| PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) | 36 |
| ADN (Acido Desoxirribonucleico) | 36 |
| dUTP (Di-uridintrifosfato) | 36 |
| ELISA (Ensayo Inmunológico Ligado a una Enzima) | 37 |
| HBC (Calostro Bovino Hiperinmune) | 39 |

INDICE DE CUADROS

| | PAG |
|--|-----|
| CUADRO 1. Hallazgos en la población infantil del Municipio de Cuautitlán México. | 53 |
| CUADRO 2. Hallazgos en la población infantil del Municipio de Cuatitlán Izcalli. | 55 |
| CUADRO 3. Hallazgos en la población infantil del Municipio de Teoloyucan. | 57 |
| CUADRO 4. Hallazgos en la población infantil del Municipio de Tepotzotlán. | 59 |
| CUADRO 5. Distribución de <i>Cryptosporidium</i> spp., en los niños de los Municipios estudiados. | 62 |
| CUADRO 6. Frecuencia de muestras en cada Municipio por mes. | 63 |
| CUADRO 7. Relación entre en nivel de ingresos, higiene, alimentación, coexistencia con animales domésticos y la presencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. | 65 |

INDICE DE FIGURAS

| | PAG |
|---|-----|
| Fig. 1.- Ooquistes de <i>Cryptosporidium muris</i> y <i>Cryptosporidium parvum</i> . | 4 |
| Fig. 2.- Epitelio intestinal con ooquistes de <i>Cryptosporidium parvum</i> . | 7 |
| Fig. 3.- Estadíos de <i>Cryptosporidium parvum</i> en tracto intestinal. | 7 |
| Fig. 4.- Prevalencia de Ac's., IgG contra <i>C. parvum</i> en Brasil China y E.U. | 15 |
| Fig. 5.- Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium parvum</i> . | 18 |
| Fig. 6.- Patogénesis de diarrea en la criptosporidiosis. | 23 |
| Fig. 7.- Ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp., con técnica de Faust y tinción de Kinyoun. | 52 |
| Fig. 8.- Porcentaje de casos con <i>Cryptosporidium</i> spp., en Cuautitlán México. | 54 |
| Fig. 9.- Porcentaje de otros parásitos encontrados en Cuautitlán México. | 54 |
| Fig. 10.- Porcentaje de casos con <i>Cryptosporidium</i> spp., en Cuautitlán Izcalli. | 56 |
| Fig. 11.- Porcentaje de otros parásitos encontrados en Cuautitlán Izcalli. | 56 |
| Fig. 12.- Porcentaje de casos con <i>Cryptosporidium</i> spp., en Teoloyucan. | 58 |
| Fig. 13.- Porcentaje de otros parásitos encontrados en Teoloyucan. | 58 |
| Fig. 14.- Porcentaje de casos con <i>Cryptosporidium</i> spp., en Tepetzotlán. | 60 |
| Fig. 15.- Porcentaje de otros parásitos encontrados en Tepetzotlán. | 61 |
| Fig. 16.- Porcentaje de casos con <i>Cryptosporidium</i> spp., en los cuatro Municipios. | 62 |
| Fig. 17.- Frecuencia de casos de <i>Cryptosporidium</i> spp., por mes durante el estudio. | 64 |

1.0) RESUMEN.

Cryptosporidium parvum, es una causa común de diarrea persistente en niños pequeños en países en vías de desarrollo, este parásito se transmite de manera accidental al hombre por la ingestión de ooquistes en el agua y los alimentos. El objetivo de este trabajo es determinar el nivel de prevalencia de criptosporidiosis en niños de guarderías, clínicamente sanos en los Municipios de la zona norte del Estado de México. Los Municipios donde se realizó el muestreo son Cuautitlán México, Cuautitlán Izcalli, Teoloyucan y Tepetzotlán; el trabajo se realizó del mes de Junio de 1997 al mes de Abril de 1998 (excepto durante las vacaciones escolares), para lo cual se obtuvieron muestras de 3 días diferentes (778 al final) de un grupo de 312 niños; empleándose la técnica de Faust en busca de los ooquistes de *Cryptosporidium* y a las que resultaron positivas, posteriormente se les realizó la tinción de Kinyoun para confirmar que lo observado en Faust eran los ooquistes de dicho parásito; además, se investigó la relación animal-humano. Los resultados mostraron que durante los últimos meses del verano de 1997 los casos de criptosporidiosis eran más frecuentes, que en los meses de la época invernal 1997-1998 y principios de primavera de 1998; el porcentaje general fue de 14.7% (46 niños) de positivos, el 12.9% (8 niños) corresponde al Municipio de Cuautitlán Izcalli; mientras en Teoloyucan se obtuvo el 19.77% (17 niños); además se correlacionó la presencia de *Cryptosporidium* con la presencia de animales domésticos encontrándose que en el 52.2% (24 familias) hay contacto entre estos y los niños; en el 6.5% (3 familias) de los casos no tienen animales domésticos y en el 41.3% (19 familias) de los casos no se obtuvo información. También se registro un porcentaje general del 18.2% de los casos relacionados con otros parásitos de los cuales algunos fueron asociaciones de 2 ó más parásitos. Este trabajo permitió observar que la presencia de *Cryptosporidium* es influida por el cambio de estaciones, la presencia de animales domésticos en el hogar tiene un papel importante en la infección de los niños debida al contacto con los animales; además que la transmisión de este parásito y de otros se favorece en los centros de cuidado infantil al ubicar niños con infección activa que la diseminan.

1.1.) ANTECEDENTES.

La criptosporidiosis humana es una entidad clínica de reciente estudio, detectado en humanos por Nime *et. al.*(citado por Botero); en 1976 en la biopsia rectal de una niña ⁽³⁾. El padecimiento es causado por la colonización del epitelio intestinal, por un protozooario del género *Cryptosporidium*. El parásito fué descrito por vez primera por Tyzzer (citado por Lopez, M.R.), quién demostró su presencia en la mucosa gástrica de ratones asintomáticos hacia el año de 1907. Sin embargo, la entidad clínica se relacionó con el parásito hasta 1955; como consecuencia de estudios realizados en guajolotes con diarrea grave que estaban infectados. Se encontró que afectan a un gran número de especies animales incluyendo al hombre ⁽²³⁾.

Desde 1976 hasta 1982, siete casos de criptosporidiosis fueron reportados en humanos, 5 de los cuales fueron en pacientes inmunocompetentes. Desde 1982, el reconocimiento de la criptosporidiosis se ha incrementado como una causa de diarrea severa y mortal en personas con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), así como en personas aparentemente sanas. De los 58 casos de criptosporidiosis descritos en humanos en 1984 en los Estados Unidos, 40(69%) fueron en personas inmunocomprometidas quienes contrajeron una diarrea severa, luego irreversible (durando más de 4 meses en el 65 % de los casos); de estos 40 pacientes, 33 (83%) presentaron SIDA; y el 55 % de las 40 personas inmunocomprometidas murieron ⁽²⁶⁾.

La infección humana por este parásito recientemente ha emergido como un problema de salud pública global. Aunque la infección no cede en pacientes normalmente atendidos como los inmunocomprometidos, una desagradable observación es que la infección con este parásito resulta en una diarrea tanto aguda como crónica, así como autolimitada en niños pequeños. Por datos recientes se comienza a estudiar los múltiples mecanismos potenciales por los cuales el parasitismo del epitelio intestinal puede producir una respuesta secretoria intestinal. Sin embargo, una cuestión fundamental para futuros estudios es comprender de que manera la infección por *Cryptosporidium parvum* en niños pequeños resulta en una presentación clínica de amplio espectro. Una respuesta a tal pregunta es por un conocimiento dual de como impacta la inmunidad sistémica o entérica en la respuesta secretoria intestinal y como el parasitismo

1.2.) AGENTE ETIOLÓGICO

El protozoo causante de la criptosporidiosis es un esporozoario de la subclase: *Coccidia*, suborden: *Eimerina*, familia *Cryptosporidae*, género: *Cryptosporidium* ⁽³⁾. *Cryptosporidium parvum*, es considerado patógeno más importante en humanos y también es encontrado en numerosos mamíferos. Es escasamente más pequeño que el *Cryptosporidium murino* (*Cryptosporidium muris*), y también se distingue de las otras especies de *Cryptosporidium* comúnmente vistas en pájaros, pavos, serpientes y peces ⁽²⁶⁾.

En la materia fecale se eliminan los ooquistes esféricos o elipsoidales, que miden de 4.0 a 6.0 μm . Estas formas parasitarias son infectantes para las personas o animales ⁽²⁰⁾. La infección comienza cuando una persona ingiere los ooquistes, algunas investigaciones sugieren que está puede ocurrir con la ingestión de unos 30 ooquistes y en algunas personas con un sólo ooquiste (Fig 1) ⁽²⁶⁾.

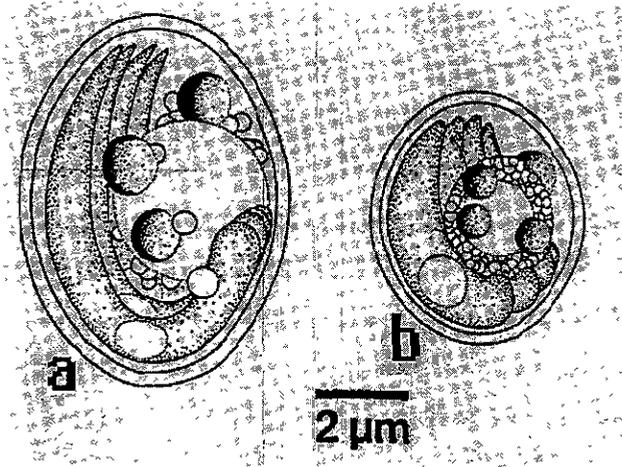


Figura 1. Ooquistes de 2 especies de *Cryptosporidium* de mamíferos. 4(a) *C. muris* el cual infecta las glándulas gástricas en el estómago del ganado, ratones y otros roedores. 4(b) *C. parvum* el cual infecta el epitelio intestinal y tracto respiratorio de diversos mamíferos ⁽²²⁾.

1.3.) DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

El reconocimiento del agente en animales o el hombre en países de diferentes continentes indica que es de distribución mundial ⁽¹⁾.

1.4.) LA ENFERMEDAD.

Cryptosporidium parvum es un importante patógeno en los Estados Unidos que causa una enfermedad severa y mortal en personas con SIDA. El parásito es transmitido por ingestión de los ooquistes excretados en las heces de humanos o animales infectados. La infección puede ser transmitida de persona a persona, por ingestión de agua contaminada (agua potable y agua usada para propósitos recreativos) o alimentos, de animal a persona; o por contacto con superficies contaminadas fecalmente. Epidemias asociadas con todos estos modos de transmisión han sido documentados, por lo que pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) deben de tener más conciencia de las vías de transmisión de *Cryptosporidium*, y ello debe dar dirección a quienes los atienden para reducir el riesgo de exposición ⁽³⁰⁾.

La infección comienza cuando una persona ingiere los ooquistes, que son resistentes a muchos agentes desinfectantes. La infección se da a una DI_{50} de 132 ooquistes en estudios hechos en humanos. Una vez en el intestino, el ooquiste de *Cryptosporidium* para llevar a cabo la exquistación, emplea proteasas, tales como serin-protasa y cistein-proteasa (detectadas a partir de estudios con solubilizados de membranas de esporozoitos) ⁽¹¹⁾. Además, las enzimas proteolíticas (del hospedero) y sales biliares favorecen la exquistación de 4 esporozoitos infecciosos, los cuales penetran en el borde de cepillo de la superficie del epitelio y se desarrollan dentro de las células merozoitos capaces de replicarse de manera asexual ó sexualmente debajo de la membrana celular (pero extracitoplasmáticamente) en el borde de cepillo de la célula epitelial (Fig 2). Las fases sexuales se combinan para formar nuevos ooquistes; algunos de los cuales (aproximadamente el 20 % como ooquistes de pared delgada) pueden esporular y continuar la infección en la misma

persona, mientras que otros (ooquistes de pared gruesa) son excretados. Aunque pocos organismos pueden penetrar a través de las células M, la infección sistémica esencialmente no puede ocurrir; las infecciones ocasionales en tracto biliar y respiratorio en personas inmunocomprometidas probablemente alcancen estos lugares a través de la superficie luminal (Fig 3) ⁽²⁶⁾.

Inicialmente el incremento de casos fue limitado a personas inmunocomprometidas; sin embargo, con la ayuda del nuevo desarrollo de técnicas diagnósticas de laboratorio, la difusión entre estas personas comenzó a ser reconocida. En personas inmunocompetentes, la criptosporidiosis se manifiesta como una enfermedad diarreica aguda y autolimitada, con evolución en 7 a 14 días y es acompañada después con náusea, dolor abdominal, baja de peso, anorexia, malestar general y fiebre ligera. En pacientes con SIDA, la criptosporidiosis es generalmente crónica y más severa que en las inmunocompetentes ⁽³⁰⁾. Se han empleado varios medicamentos como la espiramicina y la paramomicina, los cuales han disminuido el número de ooquistes eliminados en personas con alguna alteración del sistema inmune ^(10,14). Recientemente se ha reportado que la Nitazoxanida es efectiva contra la diarrea criptosporidial en personas con SIDA logrando en algunos casos la eliminación de *Cryptosporidium* ⁽⁸⁾.

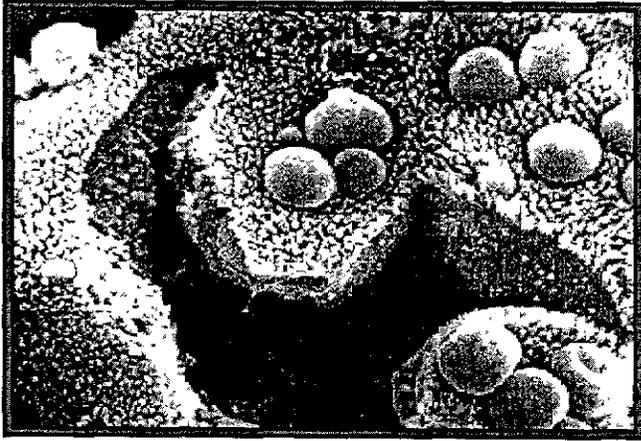


Figura 2. Fotografía con microscopio electrónico de barrido mostrando un tapizado con ooquistes de *Cryptosporidium* spp.; en el tracto intestinal de un pavo. (Por Gardiner *et al.*, 1988, del Atlas de Parasitos protozoarios en tejidos animales, USDA Agriculture Handbook No.516)⁽¹³⁾.

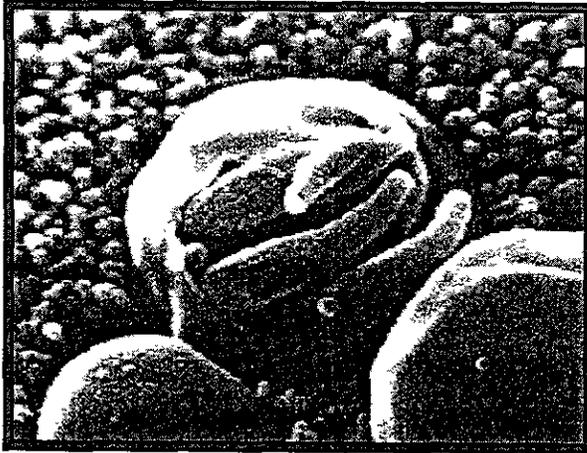


Figura 3. Fotografía con microscopio electrónico de barrido mostrando un epitelio intestinal de pavo, en el cual los esporozoitos de *Cryptosporidium* spp., se liberan del ooquiste. (Por Gardiner *et. al.*, 1988; del Atlas de Parásitos protozoarios en tejidos animales, USDA Agriculture Handbook No. 516)⁽¹³⁾.

1.4.1.) Grupos de riesgo.

La criptosporidiosis es particularmente más peligrosa para las personas inmunocomprometidas, especialmente personas con inmunodeficiencias como personas VIH seropositivas y con SIDA. Individuos con un conteo celular CD 4⁺ menor a 200 células/mm³ tienen una mayor probabilidad de padecer complicaciones como diarrea prolongada, con deshidratación y posiblemente la muerte. Aquellos individuos con un conteo celular CD 4⁺ mayores de 200 células/mm³ pueden recobrase de los síntomas de la criptosporidiosis manteniendo todavía una infección asintomática, los síntomas pueden reaparecer si su conteo de CD 4⁺ caen posteriormente. Otras enfermedades además del SIDA, como la agammaglobulinemia congénita, la deficiencia de IgA congénita, el cáncer; personas que toman corticosteroides por trasplante de órganos o de médula osea, pueden causar inmunosupresión severa suficiente para conducir a criptosporidiosis crónica. Por lo que este tipo de personas deberán estar conscientes sobre la posibilidad de infectarse; sin embargo, esto se puede solucionar cuando los fármacos son disminuidos o eliminados.

Otras personas con alto riesgo de contagio a criptosporidiosis incluyen a trabajadores de guarderías, niños que usan pañal y quienes los atienden; personas expuestas a heces humanas por contacto sexual; enfermeras quienes pueden estar en contacto directo con heces de enfermos con criptosporidiosis; así como aquellos individuos con deficiencia proteico-calórica y en las que su sistema inmune se debilita aunque sea por un corto período ⁽²⁸⁾.

1.5.) EPIDEMIOLOGÍA.

Los animales constituyen la fuente principal para la infección del humano, a partir de las heces fecales que contienen los ooquistes infectantes. También se puede adquirir de persona a persona por las materias fecales o por transmisión oro-anal, como puede ocurrir en homosexuales^(20,32). Algunas personas con *Cryptosporidium parvum* son portadores sanos que pueden transmitir la enfermedad a otros. Después de la infección una persona puede eliminar los ooquistes en el excremento por meses y puede transmitir la enfermedad a otras personas⁽²⁹⁾.

Los ooquistes salen al medio ambiente y pierden su actividad cuando están congelados. Hay pérdida progresiva de la infectividad a 4°C. No es infectante después de dejarlo dos meses en agua destilada. La infectividad se pierde totalmente en 2 semanas cuando está entre 15°C y 20°C, en 5 días a 37°C y en 30 minutos a 65°C. Se recomienda esterilizar el material contaminado mediante autoclave⁽²²⁾.

1.5.1.) Resistencia a los desinfectantes.

Estudios de infecciones experimentales en animales de granja y laboratorio demuestran claramente que los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* son resistentes al medio ambiente, esporulados e infectivos al momento de ser eliminados por el hospedero. La pared gruesa que los recubre les confiere una notable resistencia a la mayoría de los desinfectantes comunes y pueden sobrevivir por meses si se mantienen en condiciones de frío y humedad. Un estudio destinado a evaluar la eficacia de los desinfectantes comerciales, demostró que el amonio (al 50% o más) y formalina (al 10% o más) por 30 minutos, pueden destruir los ooquistes de *Cryptosporidium baileyi*. Cuando estos desinfectantes y otros usados comúnmente en hospitales, laboratorios y granjas fueron evaluados a las bajas concentraciones recomendadas por los fabricantes, nueve fueron efectivos contra ooquistes de *Cryptosporidium parvum*.

Se ha reportado que los ooquistes son destruidos cuando se secan a congelamiento y se exponen por 30 minutos a temperaturas arriba de los 60°C y abajo de los -20°C (Anderson 1985, Tzipori 1983; citados por García.S.L.). La mayoría de los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* conservados a 4°C en dicromato de potasio acuoso al 2.5% (peso/volumen) permanecen viables de 3 a 4 meses, y algunos pueden permanecer infectivos para cultivos celulares y ratones lactantes por más de un año. Para obtener los esporozoitos viables por exquistacion *in vitro*, se necesita incubacion con blanqueador comercial al 10% o 20% (la fuerza total del blanqueador es 5.25% de hipoclorito de sodio) por 10-15 min. en baño de hielo. Los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* son resistentes a este procedimiento de desinfección, por lo que la cloracion normal del agua potable tiene poco o ningún efecto en su viabilidad ⁽¹²⁾. El riesgo es grande para las personas que cuidan niños y cambian pañales en estos lugares infantiles; por lo que una aplicacion de Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂) al 3% a los juguetes, cuartos de baño y superficies donde se preparan de alimentos, es la mejor eleccion en centros de cuidado infantil ⁽²⁷⁾.

1.5.2.) Fuentes de infeccion.

La infección por *Cryptosporidium* puede ser causada por ingerir únicamente pequeñas cantidades de ooquistes. Algunas fuentes de infección son:

AGUA: El agua en lagos, ríos, arroyos estanques y albercas puede estar contaminada con *Cryptosporidium*; por lo que al ingerir esta agua cuando se esta nadando puede causar criptosporidiosis, también el agua potable o el hielo a partir de está puede contener ooquistes de *Cryptosporidium*. A diferencia de otros gérmenes de pared resistente, este parásito no es destruido usando cloro para tratar el agua de beber. Hervir el agua es el mejor método de eliminar a este parásito. El agua debe ser traída y hervida por 1 minuto completo. Después debe dejarse enfriar y puede almacenarse en un lugar limpio, sellar el recipiente o el cántaro con una tapa de uso normal. Las personas deben evitar introducir las manos en los recipientes donde almacenan agua. El agua puede ser también filtrada para remover a *Cryptosporidium*. Algunos filtros tienen la etiqueta de "Osmosis Inversa", "probado y certificado por NSF para la remocion de quistes"

y/o "tamaño micron absoluto de una micra" son garantizados para remover a *Cryptosporidium*. Personas que beben agua embotellada también deben buscar evidencia de estos sistemas en las etiquetas de la botella de agua. Latas y envases contenedores de bebidas, tales como refrescos y cervezas son usualmente calentadas y filtradas lo suficiente en la fábrica para remover o matar al parásito, la ebullición del té o café calientes también puede eliminar al parásito ⁽²⁹⁾.

ALIMENTOS: Aquellos vegetales y fruta que están en tierra pueden estar contaminados. Lavando los vegetales y la fruta que no puede ser cocinada, con agua hervida o filtrada para remover a *Cryptosporidium* o agua embotellada que no contiene al parásito, son seguras. La fruta que no es cocinada, también puede ser pelada para ser segura. El cocimiento y empaquetamiento de alimentos son seguros si no son manejados por una persona infectada, después del cocimiento o procesamiento. La leche no pasteurizada y sus derivados no son seguros ⁽²⁹⁾.

OBJETOS: Tierra en el jardín y en otros lugares pueden estar contaminados cuando un animal con *Cryptosporidium* deja su excremento allí. Algunos objetos, tales como una llave de mano, una mesa sobre la que se cambio un pañal o un traste depositado en la cama, que son manejados por una persona infectada y que no se lava las manos después de ir al sanitario pueden estar contaminados. Las personas siempre deben lavarse las manos después de trabajar con tierra o tocar algún objeto que fuera usado por una persona con *Cryptosporidium* ⁽²⁹⁾.

EXCREMENTO: A *Cryptosporidium* se le puede hallar en las ropas o en otros objetos empleados por individuos infectados (personas o niños con diarrea). La gente debe lavarse las manos después de tocar posibles objetos contaminados y antes de manipular los alimentos o llevar su mano a la boca. Las prácticas sexuales pueden involucrar contacto con excremento, especialmente el sexo oral, y a su vez con *Cryptosporidium*. El excremento de animales domésticos y de granja, especialmente animales menores de 6 meses de edad o animales con diarrea, pueden tener *Cryptosporidium*, por lo cual hay que lavarse las manos después de tocar a los animales, lavar sobre su excremento o después de haber visitado una granja y áreas donde estos animales viven ⁽²⁹⁾.

ANIMALES: *Cryptosporidium parvum* es capaz de infectar a todas las especies de mamíferos incluyendo al hombre. En animales, la criptosporidiosis ocurre casi exclusivamente en los recién nacidos. En un estudio realizado en Atlanta (E.U.), el 10 % de los perritos examinados de un refugio de animales resultaron infectados con eliminación de ooquistes. Dos casos sospechosos se han reportado en los cuales se encontraron gatos infectados en los hogares de personas inmunodeficientes con criptosporidiosis; y en ninguno de los casos se determinó el origen de la infección. Se ha demostrado que otras especies de *Cryptosporidium* no infectan al hombre y a la fecha sólo se ha reportado el caso de infección humana con una especie diferente a *Cryptosporidium parvum*; esto ocurrió en un paciente con VIH del cual se aisló un parásito semejante a *C. baileyi*, pero no tenía ninguna ave (hospedero natural de esta especie) como mascota ⁽³⁰⁾. En cortes histológicos realizados a peces, ranas, lagartos y serpientes no se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, mientras que numerosos estadios se encontraron en ratones control, lo que indica que *C. parvum* es incapaz de establecer infecciones gastrointestinales en estos animales y como se demostró en estos vertebrados inferiores pueden retener los ooquistes por lo menos 14 días después de la administración ⁽¹⁵⁾.

El contraste, a los pocos datos epidemiológicos que implican animales domésticos como fuentes de criptosporidiosis en humanos; la evidencia de la transmisión de *Cryptosporidium parvum* a través de becerros a humanos es enorme e inequívoca. Esto estima que el 50 % de los becerros eliminan los ooquistes en la leche y que el parásito está presente en más del 90 % de los productos lácteos de granja. Mientras que relativamente pocos pacientes con SIDA son directamente expuestos a becerros infectados, la alta prevalencia de estos, origina cuestionamientos sobre la ingestión de leche y sus derivados sin pasteurizar ⁽³⁰⁾.

1.5.3.) Formas de transmisión.

En investigaciones realizadas en los últimos años se ha comprobado que *Cryptosporidium parvum* no es especie-específico y que cepas de una especie animal pueden infectar a otros animales. De tal manera, cepas aisladas del hombre, terneros, corderos, cabritos y ciervos han sido transmitidas por vía oral a corderos, terneros, lechones en los que causo diarrea y a potrillos, pollos, animales de laboratorio los cuales presentaron la infección pero no la enfermedad (Tzipori, 1983; citado por Long, L.P.). Este hecho indica que los hospederos y reservorios en la naturaleza son múltiples y que una especie animal puede contraer la infección de otra. En efecto, episodios de contacto del hombre con terneros enfermos de criptosporidiosis parece sugerir que es posible la transmisión de animales a seres humanos. Uno de tales casos se refiere a una estudiante de veterinaria que trato dos terneras infectadas y que contrajo la criptosporidiosis después de 5 días de contacto (Anderson *et al.*, 1982; citado por Long, L.P.). En otro episodio, 12 de 18 personas que habían tenido contacto directo con las heces de terneros enfermos durante lapsos de 10 min a 6 días, contrajeron la infección y 9 de ellos tuvieron diarrea y dolores abdominales por 1 a 10 días ⁽²²⁾.

La infección en el hombre ocurre también sin contacto con animales y existen evidencias de transmisión interhumana. En Australia, se describió el caso de un padre que se contagio de su hija enferma. Una transmisión directa por el contacto anal se dió en un homosexual. La transmisión indirecta puede ocurrir por ingestión de alimentos y agua contaminadas con heces del hombre y animales (Current, 1983; citado por Romero, C.R.). Por un accidente de laboratorio ocurrido a un investigador parecería que un número pequeño de ooquistes es suficiente para infectar al hombre (Blagburn y Current, 1983; citados por Romero, C.R.). Desde aquel tiempo, brotes de criptosporidiosis han sido reportados entre niños de guarderías infecciones adquiridas en hospitales han sido investigadas ⁽³³⁾.

1.5.4.) Incidencia en el hombre.

Es una enfermedad emergente, que se desconocía en el hombre hasta 1976 cuando se reportaron los dos primeros casos en pacientes inmunocomprometidos. Hasta hace poco se consideraba la criptosporidiosis como una enfermedad rara que ocurría solamente en personas con deficiencias inmunológicas o inmunosuprimidas. Sin embargo, resulta cada vez más evidente que *Cryptosporidium* es un agente que afecta a personas inmunocompetentes y debe considerársele como uno de los patógenos que causan diarrea en la población general, en especial entre niños ⁽¹⁾.

La transmisión de esta infección en centros infantiles se está documentando, con 14 brotes identificados en los Estados Unidos, además de otros brotes en el Reino Unido, Francia, Portugal, Australia, Chile y el Sur de África, países en los que la capacidad para reconocer la infección y en consecuencia los casos de enfermedad existen. Estos brotes usualmente se han observado en verano e inicio de otoño, especialmente durante Agosto y Septiembre en los Estados Unidos y Portugal. La proporción de individuos afectados era del 13%-90%, con elevada incidencia entre grupos de niños que comienzan a caminar y niños que usan pañales en los centros infantiles. La prevalencia general del rango de 1.8% a 3.8%; sin embargo, proporciones tan altas como un 30% se reportaron en centros de cuidado infantil, dependiendo de el lugar y la técnica de diagnóstico empleadas. Durante los brotes, del 3.7% al 22.9% de los niños infectados no tuvieron diarrea; y se observó que los ooquistes infecciosos continúan siendo eliminados después de 5 semanas de terminada la enfermedad diarreica, en los casos que se llega a presentar.⁽²⁶⁾ Así mismo se observó que en la ciudad italiana de Apulian hay una prevalencia del 1.9%, la cual es muy similar a la de otras ciudades desarrolladas como Inglaterra (1.4%-1.6%); en Alemania (1.6%); en Francia (2.1%) y en Suiza (2.4%) estas últimas son prevalencias elevadas son raras ⁽⁴⁾.

En 2 hospitales de Melbourne, Australia se examinaron heces de 884 pacientes con gastroenteritis y se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium* en 36 (4.1% y sólo 5 de ellos tenían otros enteropatógenos), mientras que en 320 pacientes sin gastroenteritis no se hallaron ooquistes. La incidencia en niños fue mayor (4.8%) que en adultos (1.6%). La enfermedad fue más frecuente en verano (Tziporí, 1983; citado por Acha, N.P.) ⁽¹⁾.

En una revisión de 22 reportes adicionales a 2,000 personas infectadas con el VIH, muestran infección por *Cryptosporidium parvum* y diarrea del 14% al 24% de las personas VIH infectadas, contra el 0% al 5% de los controles VIH infectados y sin diarrea. Estudios seroepidemiológicos sugieren que del 17%-32% de las personas jóvenes no inmunocomprometidas en Virginia, Texas y en Wisconsin, así como voluntarios no inmunocomprometidos del Cuerpo de Paz, muestran positividad serológica a la infección por *Cryptosporidium parvum*. Por otra parte, más de la mitad de los niños de 5 años en el área rural de Anhui; China, mostraron positividad serológica a la infección criptosporidial, en contraste; más del 90 % de los niños que viven en áreas improvisadas de La Fortaleza, Brasil, mostraron positividad serológica a la infección criptosporidial en sus primeros años de vida (Figura 4) ⁽²⁶⁾.

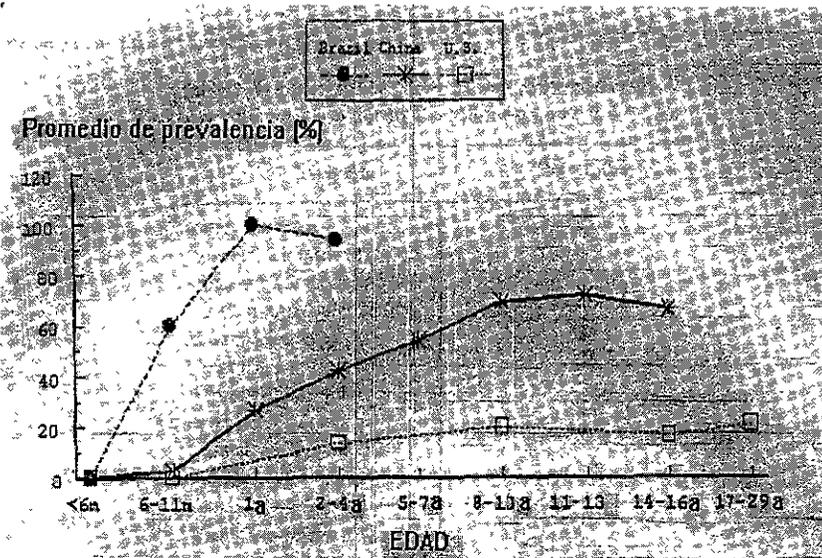


Figura 4. Prevalencia de anticuerpos IgG contra *Cryptosporidium parvum*, por edad, en Brasil, China y los Estados Unidos. (Edad: m= meses, a=años) ⁽²⁶⁾.

En 1984, en los Centros para el Control de Enfermedades (C.D.C.) de los Estados Unidos, se recibieron informes sobre múltiples casos de criptosporidiosis en niños de guarderías de 5 estados ⁽²²⁾. La criptosporidiosis es una causa común de diarrea en niños, especialmente en lugares de cuidado infantil; su expansión es más alta entre los niños que no se limpian el ano después de ir al baño, así como entre los niños que comienzan a caminar, probablemente debido a el incremento de los movimientos al caminar y a la interacción con otros niños ⁽²⁷⁾.

1.6.) CICLO BIOLÓGICO.

Cryptosporidium parvum es un parásito monoxénico, esto es; su ciclo de vida se completa dentro del hospedero. El parásito se transmite de un hospedero a otro por vía oro-fecal. El ciclo de vida (Fig.5), ocurre cuando los ooquistes maduros son eliminados en las heces por un hospedero infectado, contaminando el medio ambiente (agua y alimentos) y de esta manera son ingeridos por otros hospederos. Una vez en el tracto gastrointestinal (usualmente íleon o yeyuno) o respiratorio (el cual al parecer es el sitio más común en la infección de aves), los esporozoitos exquistan y parasitan células epiteliales ⁽⁶⁾. Los esporozoitos y las subsecuentes etapas de desarrollo se ven en el epitelio luminal del tracto infectado, el ciclo está dividido en 6 eventos principales de desarrollo: a) Exquistación (liberación de esporozoitos infectantes); b) Merogonia (multiplicación asexual dentro de las células hospederas); c) Gametogonia (formación de microgametocito y macrogametocito); d) Fertilización (formación sexual); e) Formación de la pared de los ooquistes y f) Esporogonia (formación del esporozoito) ⁽³³⁾.

Está comprobado que todas las etapas del ciclo de vida son intracelulares, envuelto por una delgada capa de la membrana de la célula hospedera pero fuera del citoplasma. Un sólo organelo de adhesión, a veces llamado "organelo alimentador", se desarrolla en la interfase entre el parásito y el citoplasma de la célula. Los esporozoitos evolucionan a trofozoitos esféricos, formando dos tipos de merontes (o esquizontes), cuando ocurre la replicación asexual. El meronte tipo I contiene de 6-8 núcleos, los cuales se transforman en 6-8 merozoitos cuando el meronte es maduro. Cada merozoito es capaz de infectar a nuevas células y desarrollan tanto un meronte tipo I como un meronte tipo II, el cual contiene 4 merozoitos cuando madura ⁽¹⁰⁾. Los estadios encontrados en las superficies de las microvellosidades miden aproximadamente 1µm ⁽²⁰⁾. Mientras estadios comparables de *Eimeria* e *Isospora* ocupan vacuolas parasitoforas usualmente profundas (perinucleares) dentro de las células hospederas ⁽²²⁾.

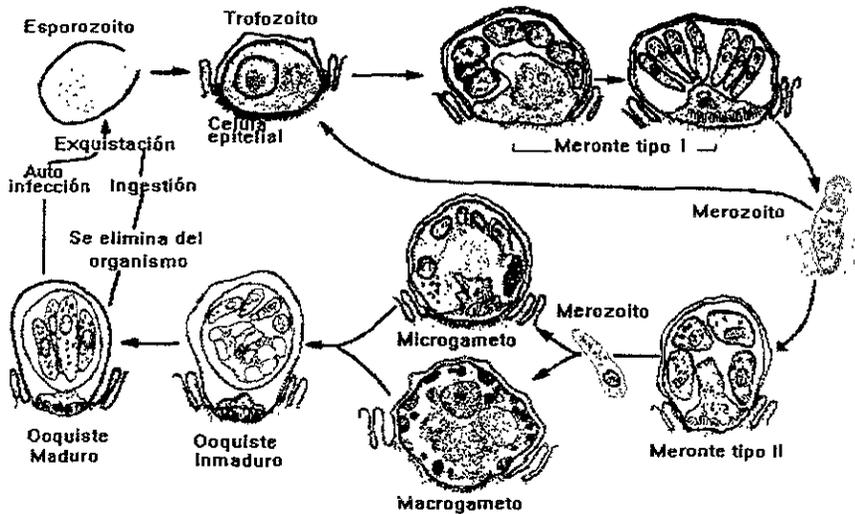


Figura 5. Representación del ciclo biológico de *Cryptosporidium parvum* como ocurre en el epitelio intestinal de un mamífero infectado. Los esporozoitos exquistan y penetran la microvellosidad de una célula epitelial, mientras se diferencian a trofozoitos. Los trofozoitos sufren proliferación nuclear para formar el meronte tipo I. Un merozoito tipo I sale del meronte para formar meronte tipo I y tipo II. Un merozoito tipo II sale del meronte para formar microgameto y macrogameto. El microgameto fertiliza al macrogameto, el cual evoluciona a oocisto. Los oocistos son eliminados del organismo en las heces o esporulan *in situ* liberando esporozoitos por autoinfección (Fayer and Ungar, 1986) ⁽⁶⁾. El ciclo de vida de *Cryptosporidium baileyi*, que infecta gallinas difieren de lo mostrado antes, en que este parásito tiene un tipo de meronte adicional (tipo III) que deriva de los merozoitos tipo II ⁽³³⁾.

Los merozoitos del meronte tipo II también invaden nuevas células, donde se inicia la replicación sexual por diferenciación, tanto en el gameto masculino (microgameto) como en el gameto femenino (macrogameto). Después de la maduración, los microgametocitos contenidos en el microgameto, fertilizan al macrogametocito. El macrogametocito fertilizado o cigoto, evoluciona a oocisto, el cual sufre meiosis dentro del hospedero. Cuando la esporogonia (formación meiótica de esporozoitos) termina cada oocisto contiene 4 esporozoitos potencialmente infectivos. Algunos oocistos son eliminados a través de las heces o tal vez por

secreciones respiratorias. Otros esporozoitos se liberan dentro del hospedero y estos pueden reiniciar el ciclo de vida (merogonia, gametogonia y esporogonia) ⁽¹⁰⁾.

Cada generación de parásitos puede desarrollarse y madurar de 12-14 hrs. El rápido ciclo de vida, más los ciclos autoinfectivos y una infección secundaria en duodeno, pueden llevar a un enorme número de formas parasitarias en el intestino. En personas inmunosuprimidas se han encontrado parásitos en el estomago, conducto biliar, conducto pancreático y tracto respiratorio. Se han colectado de 2 -20 billones de ooquistes en un período de 24 hrs en heces de becerros infectados experimentalmente ⁽⁶⁾.

Estudios subsecuentes de *Cryptosporidium baileyi* en gallinas infectadas experimentalmente, revelan que estas especies tienen un ciclo de vida similar al descrito arriba para *Cryptosporidium parvum* en el modelo de ratón lactante. La principal característica que diferencia el ciclo de vida de estas dos especies, es que *Cryptosporidium baileyi* tiene tres distintos tipos de merontes, al contrario de los dos tipos encontrados en *Cryptosporidium parvum* ⁽³³⁾.

1.7.) MECANISMOS PATOGENICOS.

Después de la exquistacion, se liberan 4 esporozoitos los cuales se adhieren por su porcion apical a la superficie de la mucosa intestinal. Una lectina específica del esporozoito se ha identificado, como el agente de adherencia a la superficie intestinal ⁽¹⁹⁾. Después de que se adhiere el esporozoito, existe la hipotesis de que las células de la mucosa epitelial liberan citocinas que activan a macrofagos de esta zona. Estas células activadas liberan factores solubles que incrementan la secrecion intestinal de agua y Cl⁻, así como también inhiben la absorcion. Estos factores solubles incluyen a la histamina, serotonina, adenosina, prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas (FAP), los cuales actúan sobre varios substratos, incluyendo nervios entéricos y las mismas células epiteliales. Consecuentemente, las células epiteliales son dañadas por uno de los siguientes modelos: 1) las células muertas son el resultado directo de la invasion, multiplicacion y expulsion de los parásitos, o 2) las células podrían encontrarse dañadas por células T mediadoras de la inflamacion, produciendo atrofia de las vellosidades e hiperplasia de la cripta. Cada modelo produce distorsion estructural de las vellosidades y se acompaña de mala absorcion de nutrientes y diarrea. Evidencia experimental supone que esta hipotesis se presenta en modelo de cerdo, en donde la disminucion en la absorcion intestinal de sodio se ha correlacionado con la "disminucion del área superficial de la vellosidad y la inhibicion de prostaglandina E₂ producida por células inflamatorias" ⁽¹⁴⁾.

Cryptosporidium parvum no infecta tejidos más allá de la superficie del epitelio intestinal; sin embargo, puede alterar la funcion intestinal. Aunque se ha buscado una enterotoxina del parásito extensivamente y algunos reportes sugieren que puede existir una, estos resultados son controversiales y el origen de sustancias en el excremento de personas y animales infectados que induce la secrecion no resulta claro. Estudios extensivos en un modelo de lechon (Argenzio *et. al.* 1994; citado en *Cryptosporidiosis: An Emerging, Highly Infectious Threat*) demostraron la pérdida de vacuolas en la periferia de la vellosidad del epitelio (aproximadamente 2 terceras partes del área superficial de la vellosidad), acompañado por una reduccion aproximada del 50% en el co-transporte de sodio-glucosa. El resultado es un predominio de la union del epitelio de transicion, en el cual se incrementa el metabolismo de la glutamina dirigido al intercambio de

sodio-hidrogeno y al cual se acopla el transporte de cloro. Así, la glutamina viaja de manera neutral en la absorcion de NaCl con una forma aparente de prostaglandina inhibitoria en epitelio de lechon infectado con *Cryptosporidium*. Además, se ha (Argenzio *et. al.* 1994; citado en *Cryptosporidiosis: An Emerging, Highly Infectious Threat*) demostrado incremento de macrofagos que produce el aumento del factor de necrosis tumoral (FNT) en la lámina propia de lechones infectados con *Cryptosporidium*. Aunque el FNT no afecte directamente el transporte epitelial, cuando fibroblastos en monocapa se añadieron, un efecto inhibitorio de indometacina fue notado con el FNT. Consecuentemente, los investigadores proponen un efecto secretorio dependiente de prostaglandina, el cual ocurre: 1) a través de una vía secretoria de cloro inhibitoria de bumetanida, predominantemente desde células de la cripta; y 2) a través de la inhibicion de absorcion neutral de NaCl por medio de una proteína amiloide sensible al intercambio de sodio-hidrogeno, predominantemente en la union del epitelio de transicion durante la infección criptosporidial activa ⁽²⁶⁾.

La reduccion en la absorcion de xilosa y vitamina B-12 están entre los efectos descritos en humanos y animales con criptosporidiosis. La interrupcion de la funcion de barrera intestinal con sorprendente incremento de permeabilidad y absorcion a lactosa o manitol ha sido documentado durante la infección criptosporidial sintomática activa en niños y en adultos infectados con VIH. *Cryptosporidium* aparece como una de las primeras causas de diarrea, especialmente diarrea persistente, entre los niños del nordeste de Brasil. En suma, la incidencia de diarrea ha sido de casi el doble durante algunos meses en niños pequeños después de infecciones criptosporidiales sintomáticas, sugiriendo que la interrumpida funcion de barrera en niños infectados permite daños residuales resultando en un incremento de susceptibilidad de lesionar el epitelio por una enfermedad diarreíca adicional ⁽²⁶⁾.

Las lesiones histologicas asociadas con la criptosporidiosis intestinal no son características. Los trofozoitos están localizados intracelularmente en las microvellosidades del intestino. El contacto inicial entre el parásito y el glicocáliz de la célula hospedera, produce un acortamiento o ausencia de las microvellosidades con atrofia y aumento del tamaño de la cripta.

Se observa en la mucosa y hasta en la lámina propia un infiltrado moderado de células mononucleares ⁽³⁾.

Cryptosporidium ha sido encontrado en diversas zonas corporales tales como faringe, esófago, estomago, duodeno, yeyuno, íleon, apéndice, colon, recto, vesícula biliar, ductos biliares y en epitelio bronquial ⁽²³⁾. Aunque pocos organismos pueden penetrar a través de las células M, la infección sistémica esencialmente no puede ocurrir; las infecciones ocasionales en tracto biliar y respiratorio en personas inmunocomprometidas probablemente alcancen estos lugares a través de la superficie luminal ⁽²⁶⁾.

1.7.1.) Mecanismo general de la diarrea.

La diarrea se desarrolla cuando la absorción intestinal es dañada o la secreción es aumentada. La absorción y secreción intestinal son procesos complejos que ocurren fuera de la cubierta de los enterocitos del intestino delgado. El sodio es activamente absorbido primeramente por células en forma de vellosidades por 2 vías: la electroneutral (NaCl) y la electrogénica (Na⁺/glucosa o Na⁺/cotransporte de aminoácidos). En contraste, la secreción de fluido intestinal ocurre lentamente como resultado de la secreción activa de Cl⁻ y/o HCO₃⁻ por células de la cripta intestinal, frecuentemente combinado con una absorción disminuida de Na⁺ por células de la vellosidad ⁽⁵⁾.

Numerosos mediadores intracelulares regulan la absorción y secreción intestinal por modificación de transporte de iones a través de los enterocitos. Estos mediadores incluyen nucleótidos cíclicos (AMPc y GMPc) y Calcio, además de lípidos y productos metabólicos del ácido araquidónico. En resumen, otros tipos de células en el epitelio intestinal y nervios de la lámina, células del músculo liso, fibroblastos, mastocitos y células del sistema inmune (por ejemplo, neutrófilos (PMN's), linfocitos y macrófagos) también juegan un papel importante en la regulación de la secreción de fluido intestinal (Fig. 6). Estas células pueden producir moléculas efectoras tales como serotonina, histamina, prostaglandinas, interferon- γ (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral- α (FNT- α), los cuales son conocidos por modificar el transporte de iones y/o la permeabilidad epitelial. Organismos infecciosos pueden alterar el transporte intestinal de iones,

por ejemplo, produciendo toxinas que estimulan la secrecion intestinal, por adherencia, o invadiendo células del epitelio intestinal. El patogeno puede alterar directamente las propiedades de transporte de las células del epitelio intestinal y/o estimular el sistema neurohormonal, nervios entéricos o la respuesta inmune que altere el balance de la absorcion y secrecion intestinal.⁽⁵⁾

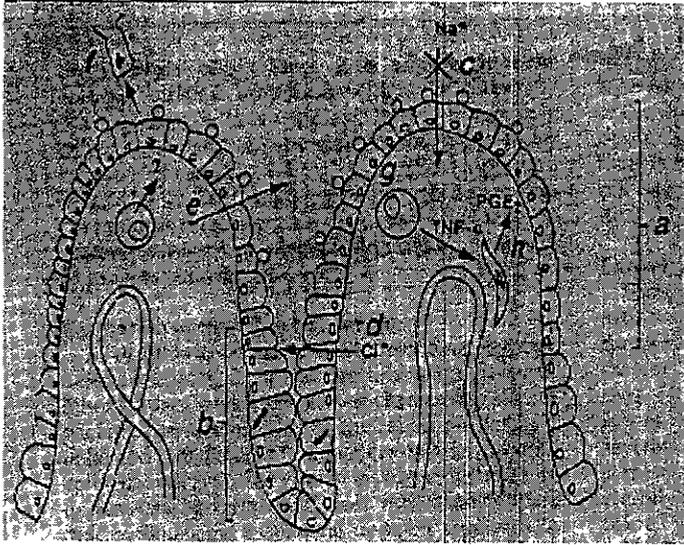


Figura 6. Eventos propuestos de la patogénesis de diarrea en criptosporidiosis: unión de la microvellosidad (a); células de la cripta con hiperplasia (b); absorción de Na⁺ (NaCl o Na⁺/co-transporte de sustrato) (c); aumento de la secreción de Cl⁻ (d); incremento de la permeabilidad paracelular (e); células epiteliales dañadas y muertas (f); producción de FNT- α por macrófagos infiltrados (g); incremento de la producción de PGE₂ (h). La función de otras células inflamatorias, nervios entéricos, citocinas o neurohormonas en la patogénesis de la diarrea criptosporidial son, hasta hoy, desconocidas ⁽⁵⁾.

1.7.2.) Enterotoxina.

Algunas personas con criptosporidiosis desarrollan, una diarrea acuosa y profusa (arriba de 20 lt/día), los cuales clínicamente asemejan la diarrea secretoria inducida por la toxina del colera. Esta similitud con la toxina mediadora de diarrea, se combina con la observacion que la intensidad de la infección no siempre correlacióna con la severidad de la diarrea, ha conducido a la hipótesis que *Cryptosporidium parvum* puede elaborar una enterotoxina. Guariano *et.al* (1994) recientemente identificaron una "enterotoxina-similar" activa en el sobrenadante filtrado de las heces de borregos infectados con *Cryptosporidium parvum*. En estos sistemas, la adición apical del sobrenadante fecal de borregos infectados inducen el incremento de Cl^- dependiente de un corto circuito de corriente en la mucosa yeyunal de humanos normales en estudios en la cámara de Ussing, sugiriendo estimulación de la secreción activa de Cl^- . Esta actividad fue sensible a la temperatura, dependiente de calcio, reversible y saturable ⁽¹⁶⁾.

Respuestas secretorias similares dependientes de calcio, son estimuladas por agonistas neurohormonales del hospedero con un tiempo de vida corta tales como acetilcolina, histamina, serotonina o neurotensina, por ejemplo, a través de estos agonistas típicamente, estimulan la secreción de Cl^- únicamente cuando aplican a la membrana basolateral de células del epitelio intestinal. Por lo tanto, no está claro en este estudio si la actividad secretoria detectada en el sobrenadante de heces es debida a una enterotoxina derivada del parásito o a un defecto derivado del hospedero (tal como una hormona secretoria producida por el sistema inmune o nervioso del hospedero) o a un metabolito secretorio liberado del epitelio infectado ⁽³⁴⁾.

1.7.3.) Citocinas.

La inflamación de la mucosa, semejante a la vista en la criptosporidiosis, altera de manera marcada el transporte de agua y electrolitos intestinales por la acción de numerosos mediadores inflamatorios tales como la prostaglandina E_2 (PGE_2). Los mecanismos por los cuales *Cryptosporidium parvum* en la infección de células del epitelio intestinal recluta PMN's y mononucleares (MN's) es desconocida. Una hipótesis es que la invasión intracelular por *Cryptosporidium parvum* puede estimular en células epiteliales la producción de citocinas proinflamatorias, tales como las interleucinas IL-6, IL-8 y/o FNT- α .

Relacionado con esta hipótesis, Kandil *et.al.* (citado por Clark and Sears) identificaron números incrementados de macrófagos en la lámina propia del íleon porcino infectado con *Cryptosporidium parvum*, así como concentraciones incrementadas en mucosa de FNT- α . Nuevos estudios revelan que en el tratamiento de mucosa ileal porcina normal con FNT- α en una cámara de Ussing estimula un corto circuito (secreción de Cl^-) el cual no tiene efecto directo en células T84, sin embargo, un pretratamiento de monocapas de fibroblastos con FNT- α , seguido por una co-estimulación con células T84 resulta en un incremento sensible de indometacina al corto circuito. Estos datos sugieren que el FNT- α secretado potencialmente tanto por los macrófagos reclutados de la lámina propia como por las células del epitelio intestinal, estimula a células subepiteliales, tales como fibroblastos por liberación de prostaglandinas, las cuales estimulan la secreción de Cl^- en las células epiteliales. Alternativamente, otras citocinas pueden mediar alteraciones en la función de barrera (por ejemplo IFN- γ) o propiedades secretorias (por ejemplo IL-6 o IL-3) del epitelio intestinal después de la infección por *Cryptosporidium parvum*. Sin embargo, datos decisivos con respecto al incremento de la síntesis o liberación de estas citocinas en el intestino infectado por *Cryptosporidium parvum* aún no están disponibles ⁽⁵⁾.

1.8.) INMUNOLOGÍA.

Como ya se ha mencionado la infección por *Cryptosporidium parvum* se da con ingestión de una cantidad relativamente pequeña de ooquistes, los cuales llegan al intestino en donde se desarrollan. Los estadios del ciclo de vida de *Cryptosporidium parvum* se localizan en la parte superior de las células que se encargan de asimilar los alimentos, por debajo de la membrana de la célula hospedera pero fuera del citoplasma. Los parásitos también se han encontrado en el íleon de cuyes dentro del citoplasma de las células M extendidas sobre las placas de Peyer. Inflammaciones de ligeras a moderadas con infiltración de células linfoides, macrófagos y PMN's se han observado en las vellosidades afectadas y debajo de la lámina propia ⁽³⁵⁾.

1.8.1.) Papel de las defensas del hospedero.

Los mecanismos de defensa del hospedero responsables de controlar las infecciones por *Cryptosporidium parvum* están pobremente comprendidos. La infección y la diarrea son característicamente autolimitados en personas inmunocompetentes pero prolongados y amenazan la vida de las personas inmunocomprometidas (con inmunosupresión, hipogammaglobulinemia o SIDA) y personas mal alimentadas ⁽³⁵⁾.

1.8.1.1.) Inmunidad por anticuerpos.

En el hombre y los animales infectados natural y experimentalmente con *Cryptosporidium parvum* se desarrollan anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE específicos, y anticuerpos IgA secretorios tanto en sangre como en secreciones. Los coproantígenos se han detectado en el excremento de niños filipinos así como en borregos y becerros infectados. En borregos infectados experimentalmente con ooquistes se detectaron anticuerpos específicos en

siero 6-7 días después de la inoculación; la IgG es encontrada 6 días después de la infección y permanece elevada en toda la infección; la IgA e IgM muestran pequeños cambios. Las concentraciones de IgG, IgA e IgM aumentan en el excremento de 5-6 días después de la infección, alcanzando un máximo entre los 8-14 días después de la infección y luego decrecen.

En cuyes infectados oralmente, los títulos de anticuerpos para *Cryptosporidium* aumentaron significativamente, 2 semanas después de la inoculación y permanecieron con títulos altos durante 8 semanas después. Los cuyes fueron desafiados por una reinoculación con ooquistes de *Cryptosporidium*, resultaron completamente resistentes a la reinfección. El mecanismo por el cual estos anticuerpos contribuyen a la eliminación de la infección y provocan inmunidad protectora contra la reinfección permanece incierta ⁽³⁵⁾.

Cuando los esporozoitos aislados de *Cryptosporidium parvum* son incubados con suero de bovinos inmunes a esta fase, la infectividad para la cepa de ratón BALB/c es completamente neutralizada. En suma, anticuerpos monoclonales (mAb) antiesporozoitos empleados en la infección, reconocen proteínas de los esporozoitos de 28kDa y 55kDa, y una enorme superficie antigénica o antígeno no determinado que también protege a la cepa BALB/c, mientras que los anticuerpos son usados contra esporozoitos antes o para el tratamiento después de la infección. En ratones atímicos con criptosporidiosis experimental persistente, la infección intestinal y no la biliar o pancreática presentan resultados significativamente menores en aquellos ratones tratados con el mAb neutralizante. Sin embargo, la IgM e IgG en suero observadas en ratones normales no correlacionan con la severidad o duración de la criptosporidiosis, el pico y la duración de la criptosporidiosis experimental; sugieren que, en este modelo de ratón, la respuesta específica de anticuerpos no juega un papel importante en la resolución de la infección por *Cryptosporidium* ⁽³⁵⁾.

La causa por la cual algunos pacientes con SIDA infección sintomática persistente por *Cryptosporidium* tienen un alto título de anticuerpos contra *Cryptosporidium parvum*, supone la teoría; que anticuerpos séricos específicos no son suficientes para el control de la infección. Diferentes estudios epidemiológicos sugieren que los niños que son amamantados tienen menores infecciones y accesos de diarrea que aquellos niños que son alimentados con biberón en

zonas locales endémicas. Niños que son amamantados tienen significativamente menores niveles de criptosporidiosis que aquellos niños alimentados con biberón ⁽³⁵⁾.

Diversos estudios en animales y humanos indican que los anticuerpos de calostro obtenidos de vacas hiperinmunizadas (con títulos $\geq 1:100\ 000$) por infusión repetida del antígeno parasitario en la glándula mamaria puede prevenir o terminar con la infección intestinal por *Cryptosporidium*. Estudios en ratones demuestran que en el calostro están presentes factores inmunes (especialmente fracciones de IgG1 e IgA) los cuales son capaces de reducir la infectividad del esporozoito. Estudios con *Cryptosporidium parvum* por técnicas inmunológicas en íleon de ratón revelan que cada isotipo de inmunoglobulina bovina de calostro hiperinmune, reconocen antígenos de todos los estadios del ciclo de vida del parásito. Así los anticuerpos reconocen diferentes "blancos" potenciales para neutralizar a *Cryptosporidium parvum*, y los anticuerpos neutralizantes de antígenos de superficie contra los esporozoitos y merozoitos pueden ayudar a resolver las infecciones persistentes en los hospederos inmunocomprometidos. El calostro hiperinmune producido por vacunación intramamaria en vacas preñadas con antígenos criptosporidiales ha reportado como un éxito en el tratamiento de 4 pacientes inmunocomprometidos que tenían diarrea crónica, además de hipogammaglobulinemia congénita, SIDA o inmunosupresión por quimioterapia para leucemia. Estos pacientes se recobraron entre 3-5 días y quedaron libres de diarrea posteriormente, pero la infección subclínica persistió en dos de ellos. Si bien los anticuerpos del calostro pueden ayudar a eliminar al *Cryptosporidium* intraluminal, los organismos intracelulares no pueden ser afectados y; en algunos casos, los anticuerpos permanecen en el intestino por un corto período antes de ser degradados o excretados por el hospedero ⁽³⁵⁾.

1.8.1.2.) Inmunidad celular.

La infección persistente por *Cryptosporidium parvum* con diarrea en mamíferos inmunocomprometidos provee evidencias indirectas de que las células T (posiblemente células Th) son esenciales para descubrir el desarrollo de la infección y la inmunidad protectora. Las células T son indispensables en la inmunidad protectora contra coccidios como *Eimeria* y *Toxoplasma*, tanto en la estimulación de células cooperadoras para la producción de inmunoglobulinas como para las células efectoras que liberan mediadores solubles que actúan en los parásitos intracelulares. La respuesta específica de linfocitos contra *Cryptosporidium* en becerros infectados se ha observado 2 días después de la inoculación de ooquistes. En ratones adultos BALB/c tratados con mAb anti CD 4 citolíticos, desarrollaron infección crónica por *Cryptosporidium* y eliminaron ooquistes en baja cantidad. El tratamiento con mAb anti IFN- γ permitió una infección autolimitada más severa a la ocurrida. El tratamiento tanto con mAb anti CD 4 como mAb anti IFN- γ llevaron al desarrollo de una infección crónica y severa con eliminación de ooquistes de pared gruesa que se invierte cuando el tratamiento con los mAb es eliminada. Los ratones adultos BALB/c tratados con mAb anti IFN- γ muestran también un incremento substancial en la eliminación de ooquistes. Estos hallazgos sugieren que tanto las células CD 4⁺ como el IFN- γ son necesarios para prevenir el comienzo de la infección, mientras que cada uno por separado pueden limitar la severidad (IFN- γ) o la duración (células CD 4⁺) de la infección. Las infecciones sintomáticas por *Cryptosporidium* en ratones y ratas atímicos y las deficiencias de células NK en ratones, (C57BL/6Jbg/bg) muestran que los cambios histopatológicos con estas infecciones no dependen de las células T ni de las células NK ⁽³⁵⁾.

Niños con grados variables de desnutrición y criptosporidiosis tienen una significativa y persistente respuesta por anticuerpos hacia los parásitos pero dificultan la inmunidad mediada por células. Porque la respuesta inmune mediada por células es restaurada una vez que el niño se recupera de la criptosporidiosis, por lo que se ha postulado que la respuesta inmune efectiva hacia la criptosporidiosis es probablemente dependiente de los anticuerpos y del efecto citotóxico mediado por células. Sin embargo, la observación de ratones con depleción selectiva de células T (CD 8⁺) citotóxicas falla al incrementarse la severidad o duración de la infección por

Cryptosporidium, lo cual detiene la autolimitación por más de 3-4 semanas, y son argumentos contra el papel de la citotoxicidad mediada por células T en su recuperación ⁽³⁵⁾.

El factor de transferencia (un dializado de leucocitos que pasivamente transfiere factores de hipersensibilidad tardía) de becerros inmunes, ha dado protección efectiva para animales no inmunizados contra infecciones clínicas como *Elmeria*. También se ha probado en 8 pacientes de SIDA con infección por *Cryptosporidium* y diarrea severa, la condición de 5 de ellos mejoró después del tratamiento con factor de transferencia por vía oral de becerros inmunizados contra *Cryptosporidium*. Sin embargo, en los otros el éxito fue menor con el factor de transferencia de bovinos ⁽³⁵⁾.

La susceptibilidad de ratones jóvenes W/W^v deficientes de mastocitos con infección intestinal con *Cryptosporidium parvum* es similar a la de los ratones jóvenes normales. Ratones adultos W/W^v son significativamente más susceptibles a la infección primaria que los ratones adultos normales, pero ambos grupos se recuperan en un período similar. Por lo tanto, parece que los mastocitos no son importantes en la resistencia del ratón contra *Cryptosporidium* ⁽³⁵⁾.

1.8.2.) Edad.

La infección por *Cryptosporidium* es mucho más común en niños que en adultos. Roedores, becerros y corderos neonatos son altamente susceptibles al desafío oral, y relativamente pocos ooquistes pueden provocar infecciones sintomáticas o fatales. Esto es una dificultad para infectar ratones de más de 3-4 semanas de edad, pues con grandes dosis de ooquistes da como resultado sólo una leve infección, de la misma manera, que los roedores inmunosuprimidos por tratamiento con ciclofosfamida o atímicos desnudos son relativamente resistentes a la infección en edad adulta. De 2 ratas adultas atímicas inoculadas con altas dosis de ooquistes (2.7×10^7) de origen bovino, sólo una desarrolló una leve infección subclínica y eliminó una pequeña cantidad de ooquistes por 2 días. Simultáneamente a ratas adultas no inmunizadas se les inoculó la misma dosis desarrollando anticuerpos como respuesta, pero no hubo síntomas

detectables o eliminación del parásito. Ratones adultos de laboratorio nunca expuestos a *Cryptosporidium*, son resistentes a la infección, un efecto que es presumiblemente correlacionado con la maduración de la flora intestinal⁽³⁴⁾, ya que estudios experimentales demostraron que los ratones adultos libres de gérmenes pero sin antibioterapia; fueron más susceptibles a la infección que los controles con su flora normal. Las infecciones en ratones SCID fueron más severas en los que estaban libres de gérmenes que en aquellos con flora intestinal, con esto se sugiere que la flora intestinal puede estimular mecanismos inespecíficos contribuyendo a la resistencia del hospedero, posiblemente produciendo IFN- γ a través de una vía distinta a la célula T⁽³³⁾.

La resistencia relacionada con la edad puede explicarse en parte por la resistencia atribuida a la inmunidad adquirida. Sin embargo, becerros criados en lugares no contaminados con *Cryptosporidium* permanecen susceptibles al desafío hasta por lo menos 3 meses de edad. Además, el desafío inicial con *Cryptosporidium* a la semana o al mes de edad resulta en un pequeño incremento del título de anticuerpos en suero a diferencia de aquellos desafíos a los 3 meses de edad, sugiriendo que una exposición oral temprana de becerros neonatos puede inducir tolerancia inmunológica hacia el parásito⁽³⁵⁾.

1.8.3.) Estado nutricional.

Usualmente se cree que la desnutrición infantil puede perjudicar la inmunidad y predisponer a la infección por *Cryptosporidium*. Diversos estudios realizados en hospitales, han revelado que la desnutrición y el agotamiento de los niveles de hierro se asocian con la infección por *Cryptosporidium*. En un estudio control en Perú se encontró que niños hospitalizados con criptosporidiosis fueron más susceptibles por la desnutrición, pero no encontraron el parásito, la criptosporidiosis era nosocomial con desnutrición severa en 3 de ellos, resultando en 2 muertes. En experimentos con ratones inmunosuprimidos se observó que una dieta baja en proteínas incrementa la susceptibilidad a la infección por *Cryptosporidium*. La recuperación de pacientes con SIDA, diarrea severa y desnutrición, por medio de terapia sugiere que hay una mejoría de la

1.9.) MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

La mayoría de las manifestaciones clínicas comunes de criptosporidiosis en personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas es la diarrea; es el síntoma que más frecuentemente lleva al diagnóstico. Generalmente, la diarrea es profusa y acuosa; esta puede contener moco pero no sangre ni leucocitos, esto se asocia frecuentemente con baja de peso. Otras características clínicas menos comunes incluyen dolor abdominal, náuseas y vómito, baja fiebre (arriba de 37°C y menos de 39°C). Ocasionalmente, se presentan síntomas inespecíficos tales como mialgia, debilidad, malestar, jaqueca y anorexia. La severidad de estos síntomas pueden crecer y agravarse paralela y usualmente a la intensidad de los ooquistes esporulados. Tanto la duración de los síntomas como el resultado típicamente varía de acuerdo al status inmune del hospedero. Pacientes con SIDA usualmente experimentan una prolongada enfermedad que amenaza su vida, mientras que en la mayoría de las personas inmunocompetentes, es una enfermedad de corto período de recuperación completa y espontánea. Sin embargo, la presentación clínica de criptosporidiosis gastrointestinal no siempre está dentro de estas dos categorías divergentes. Personas con SIDA han sido reportadas con claras infecciones después de varios meses de diarrea, e individuos reportados como inmunocompetentes, presentaron infecciones duraderas por más de un mes. Infecciones ligeras y asintomáticas han sido reportadas en personas inmunocompetentes y en varios pacientes con SIDA ^(22,33).

a) En los inmunocompetentes, el período de incubación varía entre 3 y 12 días. La sintomatología puede fluctuar entre la sensación de indigestión y un cuadro de enteritis con diarrea de tipo agudo o crónico. Algunas personas pueden permanecer totalmente asintomáticas. En otras aparece la diarrea pero la infección se autolimita. Se puede confundir con otros agentes que causan la llamada “diarrea del viajero” por lo que es necesario realizar un diagnóstico diferencial.

La diarrea generalmente es acuosa, sin moco ni sangre, la mayoría de las veces sin leucocitos. Se presentan de 5 a 10 episodios al día, después de un tiempo puede seguirle la constipación. Los pacientes se quejan de dolores abdominales, ocasionalmente fiebre, cefalea,

anorexia, vomito y pérdida de peso. Generalmente la enfermedad se autolimita a los 10-14 días. En una cuarta parte de los pacientes puede llegar a más de un mes. La mayoría de los casos no requieren tratamiento, los parásitos desaparecen 4 a 6 semanas después ⁽³⁾.

b) En los pacientes con inmunodeficiencias, los síntomas son más intensos y de larga duración. La diarrea es crónica y produce una enfermedad debilitante con malestar, anorexia, fiebre, pérdida de líquidos y electrolitos. También puede causar un síndrome de mala absorción que compromete seriamente el estado general. En los pacientes con SIDA, además de la localización intestinal, se ha encontrado diseminación con complicación pulmonar. Causa una neumonía intersticial con eliminación de parásitos que pueden salir con el esputo ⁽³⁾.

Cryptosporidium parvum causa como se menciona antes una diarrea autolimitada en adultos inmunocompetentes, pero una larga enfermedad diarreica severa en pacientes inmunodeficientes. Más específicamente Flanigan *et.al* (citados en Cryptosporidiosis in The Child Care Setting) han encontrado que pacientes infectados con VIH y conteos celulares CD4⁺ menores a 180 células/mm³, espontáneamente desaparece la infección en las siguientes 4 semanas; sin embargo, el 87% de los pacientes con un conteo celular más bajo de CD4⁺ desarrollan enfermedad persistente. Estos datos indican la importancia de la inmunidad celular sistémica modulando la infección. Goodgame *et.al* (citados en Cryptosporidiosis in The Child Care Setting) ha analizado la morfología duodenal y la intensidad de la infección por *Cryptosporidium parvum* entre pacientes con SIDA y conteos celulares CD4⁺ menores de 150 células/mm³. En estos pacientes, hay un amplio rango de hallazgos en 1) la intensidad de la infección, 2) grado del daño de la mucosa intestinal, 3) función intestinal, y 4) síntomas clínicos. En general, una elevada intensidad de la infección (determinada por el número de ooquistes excretados en las heces luego de un período de 24 hrs) es asociado con acortamiento de la vellosidad duodenal, un marcado incremento en el número de células mononucleares de la lámina propia, un gran número de enterocitos parasitados en cada vellosidad, y la función intestinal dañada (absorción deficiente de vitamina B₁₂, absorción decreciente de D-xilosa, pruebas de permeabilidad lactosa/manitol anormales) ⁽²⁷⁾.

La enfermedad es más frecuente en los pacientes con SIDA, pero también ocurre en otras inmunodeficiencias como hipogammaglobulinemia, terapia inmunosupresora, desnutrición, leucemia, linfoma y otros defectos de la inmunidad ⁽³³⁾. Por otra parte se ha asociado con organismos oportunistas como *Toxoplasma*, *Pneumocystis*, *Cándida*, Citomegalovirus u otros enteropatógenos ⁽²³⁾.

1.10.) DIAGNÓSTICO.

Para establecer el diagnostico etiologico de está parasitosis se puede recurrir a técnicas de concentracion-flotacion específicas para la búsqueda de ooquistes de *Cryptosporidium*, tales como la técnica de Sheather, en la cual se usa una solución de azúcar con una densidad de 1.27; mayor a la de los ooquistes o la técnica de Faust que emplea una solución de sulfato de zinc a una densidad de 1.18 ⁽²³⁾. En heces diarreicas pueden estar ooquistes con uno o cuatro nucleos, los cuales se desarrollan a esporozoitos en pocos días a 20°C ⁽³²⁾. Además, debido al pequeño tamaño de los ooquistes (de 4.0-6.0 µm) se dificulta la detección de los mismos, por lo que un método de tinción diferencial como la de Ziehl-Neelsen modificado o Kinyoun, Giemsa, Hematoxilina-Eosina, Safranina, Ziehl-Neelsen caliente o auraminaronidamina, son recomendables para poder visualizar al parásito ya que es ácido-alcohol resistente ⁽¹⁸⁾.

Los métodos de concentracion apropiados pueden aumentar la detección cuando hay pequeñas cantidades de ooquistes presentes, pero algunos métodos tales como la concentracion de acetato-etil-formalina pueden resultar en una baja de algunos ooquistes. Mientras que distintos métodos de pruebas inmunoabsorbentes ligados a enzimas son empleados para la detección de antígenos criptosporidiales en heces con un 83%-95% de sensibilidad en muestras diarreicas, estos métodos son de menor sensibilidad en muestras compactas y requieren más tiempo. Con microscopio usando anticuerpos inmunofluorescentes es ligeramente más sensible y puede ser rápida. La reaccion en cadena de la polimerasa (PCR) provee un nuevo método que puede ayudar a detectar *Cryptosporidium* en almacenamientos de agua o en portadores asintomáticos. Una librería genómica de ADN se ha construido en el plásmido pUC18 por propagacion de *Escherichia coli*. Después de secuenciada unas 2.3 kb de un fragmento específico de *Cryptosporidium parvum*, una secuencia de 400 bases con un único sitio Sty I ha sido amplificado usando primers de 26 nucleotidos cada uno. Laxer *et. al.* (citados en Cryptosporidiosis: An Emerging, Highly Infectious Threat) usan una sonda de 20 bases marcada con digoxigenina-11-dUTP para detectar el ADN de *Cryptosporidium parvum* fijado, en parafina dentro de tejido ⁽²⁶⁾.

En biopsia intestinal se puede observar la atrofia de las vellosidades del intestino y la hipertrofia de las criptas, en donde se localiza el parásito. Se logran definir distintos estadios mediante las coloraciones comunes de hematoxilina-eosina, en donde se ven de color violeta. También se usa la técnica de plata-metenamina y la inmunoperoxidasa. La inmunofluorescencia directa se aplica para extendidos de materia fecal o en tejidos. Se obtiene mayor especificidad con un anticuerpo monoclonal ⁽³⁾.

Se ha demostrado también la presencia de anticuerpos circulantes con inmunofluorescencia indirecta y con técnicas de ELISA. En algunos estudios serológicos se consideran significativos para el diagnóstico los títulos de 1:40 o superiores ⁽³³⁾.

1.11.) TRATAMIENTO.

Comúnmente no hay cura para la criptosporidiosis, aunque la investigación de fármacos continúa. Pacientes de quienes se sospeche puedan tener criptosporidiosis deben ingerir una cantidad extra de líquidos y deben tener una rehidratación oral o terapia líquida para evitar la deshidratación. Individuos VIH positivos de quienes se sospeche tener criptosporidiosis deberán visitar a su médico para tomar las precauciones debidas. Individuos infectados deben ser advertidos de lavar sus manos frecuentemente sobre todo antes de preparar alimentos y después de ir al baño, también deben evitar el contacto con personas que han tenido debilitado su sistema inmune, las que presentan diarrea no deben nadar en áreas públicas mientras tengan diarrea y por lo menos durante 2 semanas después del último ataque de diarrea ⁽²⁸⁾.

1.11.1.) Terapia farmacológica.

Para pacientes inmunocomprometidos con criptosporidiosis, diversos agentes antimicrobianos se han probado como posible tratamiento para la enfermedad. Antibióticos tales como la espiamicina y el dicalzuril sodico han respondido parcialmente en los pacientes (una disminución parcial de la diarrea o una disminución parcial en el número de ooquistes en heces), pero no han dado resultados confiables y reproducibles. La paromomicina es un antibiótico de amplio espectro similar a la neomicina, aunque se absorbe pobremente; en un estudio de 12 pacientes con 23 episodios de criptosporidiosis gastrointestinal, 16 de los 23 episodios han respondido completamente a la terapia (mejoría de los síntomas, erradicación de la diarrea e incremento de peso) y los otros siete episodios respondieron parcialmente. Sin embargo, recaer después del tratamiento es común y frecuentemente se necesita mantener la terapia que es bastante costosa ⁽¹⁰⁾. Sin embargo, este agente antimicrobiano en particular, ha demostrado una disminución en la intensidad de la infección, se mejora la morfología y función intestinal ⁽¹⁴⁾.

Otro fármaco que se ha estudiado es la Nitazoxanida , que administrada a dosis de 7.5 mg/Kg de peso cada 12 hrs.; durante tres días resulto ser efectivo en la erradicación de un amplio espectro de infecciones parasitarias mixtas; además, es bien tolerado, los efectos colaterales tales como dolor abdominal y epigástrico son mínimos, no hay cambios en los valores hematológicos y de química sanguínea; por lo que es considerado el primer agente antiparasitario eficaz contra protozoarios y helminto, así como; para diarrea criptosporidial en personas con SIDA ⁽⁸⁾.

1.11.2.) Terapia inmunologica.

Aún cuando los anticuerpos en suero no proveen protección contra la infección por *Cryptosporidium*, diversos estudios realizados muestran que los anticuerpos en el lumen intestinal pueden ayudar a eliminar o a prevenir la infección. Suministrando inmunoglobulinas de calostro bovino a personas, se observó una mejoría en los síntomas causados por *Cryptosporidium* y también mostraron que la secreción de IgA en intestino acompaña a esta mejoría. En resumen, la infectividad de los esporozoitos de *Cryptosporidium parvum* en ratones, se ha bloqueado con anticuerpos específicos; inhibiendo su capacidad de adhesión a la superficie de la mucosa intestinal ⁽¹⁷⁾

En un reciente estudio, se produce inhibición de la infección por *Cryptosporidium parvum* con calostro hiperinmune de bovino *in vitro*, proporcionando un sistema ideal a través del cual se estudie en el laboratorio mecanismo infeccioso de *Cryptosporidium*. El número promedio de parásitos intracelulares por célula se redujo en un 61% después de administrar anticuerpos Ig HBC con una concentración de 1mg/ml de IgG. En esta investigación también se purificaron anticuerpos Ig HBC en Western blots a partir de proteínas de *Cryptosporidium* y encontraron que estas, además; inhibían la infectividad *in vitro* de *Cryptosporidium parvum*. Finalmente, se identificaron 19 antígenos de superficie en esporozoitos, los cuales son reconocidos por Ig HBC. Este sistema de inmunoterapia (administración gástrica intraluminal de HBC a pacientes inmunocomprometidos) es un gran paso hacia adelante para encontrar un

tratamiento eficaz para la criptosporidiosis. Sin embargo, una combinación de terapia farmacológica e inmunológica puede ser el argumento más efectivo para combatir a *Cryptosporidium parvum* en pacientes inmunodeficientes ⁽⁹⁾.

La habilidad de los ooquistes de pared gruesa para persistir y propagarse en el medio ambiente, así como; su bien documentada resistencia al cloro son responsables de la propagación de *Cryptosporidium*, que es constante en todos los abastecimientos de agua clorada potable y albercas de natación. Aunque algunos científicos han notado que 9600 partes por millón (mg/l) de cloro durante 1 minuto de exposición se requiere para descontaminar el agua, otros han notado que después de exponer a toda la fuerza del blanqueador doméstico (5.25% de hipoclorito de sodio; 500 partes por millón) por 2 horas, los ooquistes inmóviles permanecen infecciosos para animales experimentales. Mientras que *Giardia* es 14-30 veces más susceptible al bioxido de carbono u ozono, respectivamente; el ozono es el medio químico más efectivo para inactivar los ooquistes de *Cryptosporidium*. Consecuentemente, la erradicación del organismo de los abastecimiento de agua potable dependen de una adecuada floculación y filtración, más que cloración. Aunque requerimientos previos de turbidez se basan en la remoción de quistes grandes de parásitos tales como los de *Giardia lamblia* o *Entamoeba histolytica*, los pequeños ooquistes de *Cryptosporidium parvum* son más difíciles de remover. Se necesitan nuevos métodos de erradicación de ooquistes infecciosos de abastecimientos de agua, posiblemente usando osmosis inversa, membranas de filtración, métodos electrónicos o de radiación; en lugar de los ineficaces químicos o de las difíciles técnicas de filtración comúnmente usadas ⁽²⁶⁾.

En caso de un brote de criptosporidiosis en un centro de cuidado infantil se recomienda lo siguiente.

- 1) Contactar al Depto. de salud local o estatal. El personal de salud necesitará que las muestras de excremento sean negativas después de la infección del niño antes de permitir su regreso al centro infantil.
- 2) Hay que excluir al niño o adulto con diarrea hasta que allá cesado, los niños que estén infectados con *Cryptosporidium* pero no tengan diarrea pueden regresar al centro infantil.

- 3) Asegurarse que todos en el centro infantil practiquen buenas técnicas de lavado de manos, usando toallas disponibles.
- 4) Lavarse las manos después de ir al baño, después de ayudar a los niños a ir al baño, después de cambiar pañales, antes de preparar y servir los alimentos.
- 5) Notificar a los padres de los niños que tengan diarrea para que tomen las medidas de higiene necesarias en casa y evitar el contagio al resto de los familiares.
- 6) Desinfectar los juguetes, cuartos de baño y las superficies de preparación diaria de alimentos, empapando con una solución de Peroxido de Hidrogeno (H_2O_2) al 3% por 10 minutos ⁽²⁷⁾.

1.12.) PREVENCIÓN.

El sector salud recomienda tomar en cuenta los siguientes puntos como una manera de prevenir la ingestión de ooquistes de *Cryptosporidium* y por lo tanto llegar a padecer la enfermedad, así como otras enfermedades:

- 1) Lavarse las manos con abundante agua y jabón después de estar cambiando pañales; de tocar la ropa, pijama o bacinica de alguien que tuvo diarrea; de estar en contacto con tierra; de acariciar a una mascota u otro animal; de tocar algún objeto que pudiera estar en contacto con excremento; después de ir al baño y antes de preparar alimentos.
- 2) Personas infestadas con *Cryptosporidium* pueden tenerlo en la piel del área genital, incluyendo muslos y nalgas; por lo cual necesita tener en cuenta estas medidas:
 - a) no besar o lamer los genitales ni el ano. El sexo oral (oro-anal) es una manera de esparcir la infección por este tipo de prácticas sexuales al tener más de una pareja.
 - b) lavar bien sus manos después de tocar el ano o el área rectal de su pareja.
- 3) Evitar el contacto con animales de granja y los lugares donde son criados, en caso de que haya ocurrido un contacto lávese las manos con agua y jabón, evite llevar objetos a la boca, así como el excremento de estos animales.
- 4) Evitar el contacto con el excremento de animales domésticos, para lo cual debe tener quien le ayude a limpiar el excremento si no es así, utilice guantes desechables aún para agarrar algún objeto contaminado con heces y lave sus manos después de usar los guantes. No lleve a su casa animales callejeros.
- 5) Lave los vegetales y frutas que estén en contacto con el suelo o agua contaminada, sólo con agua limpia; pele las frutas así como las vegetales que no se cocinen; no consuma productos lácteos sin pasteurizar.
- 6) No trague agua cuando vaya a albercas públicas, jacuzzis, ríos o lagos ya que pueden estar contaminados con el parásito.
- 7) No beber agua directamente de lagos, ríos, arroyos o nacimientos acuíferos, hay 2 maneras de garantizar agua segura:

- a) hervir el agua por 1 minuto y guardarla en un recipiente limpio y seguro, el hielo que necesite lo puede obtener del agua hervida y meterla al congelador.
 - b) filtre el agua de la llave empleando filtros de un micron absoluto, el certificado por la NSF standard 53; o por osmosis inversa.
- 8) Cuando vaya de viaje a otros países evite consumir alimentos en la calle, consumir agua de la llave, no consuma frutas y verduras lavadas con agua de la llave, no consuma hielo hecho con agua de la llave, no consuma productos lácteos no pasteurizados y pele usted las frutas que coma ⁽²⁵⁾.

2.0.) JUSTIFICACIÓN.

Debido a la escasa información existente respecto a la situación que tiene *Cryptosporidium* en nuestra población, se hace necesario conocer la prevalencia de dicho parásito sobre todo en la población infantil que es la más afectada; debido a que su sistema inmunológico no está desarrollado por completo por lo que su salud se ve afectada; además, de estar en la etapa de crecimiento y donde requieren de muchos nutrientes, los cuales no son aprovechados por los niños al estar parasitados, llegando a padecer anemia, lento crecimiento, cansancio, falta de apetito entre otras cosas; por lo cual se decidió realizar la presente tesis profesional..

2.1.) Municipios y guarderías que se muestrearon.

El lugar donde se realizó el estudio abarcó los Municipios de Cuautitlán México, Cuautitlán Izcalli, Teoloyucan y Tepetzotlán; eligiéndose estos Municipios por tener zonas urbanizadas urbano y zonas semiurbanas (o de transición), permitiéndonos observar como se comporta el parásito en zonas semiurbanas donde todavía se practica el fecalismo al aire libre, hay falta de drenaje, agua potable, lugares donde la gente tiene corrales y como se comporta en las zonas urbanizadas donde la gente cuenta con todos los servicios, no hay corrales, no se da la defecación al aire libre.

2.2.) Propuesta en que se basa el presente estudio.

Para realizar el estudio se hizo una reunion con el personal de cada guardería o jardín de niños en donde se les hablo acerca de los diferentes tipos de parásitos que pueden afectar al ser humano, las consecuencias que pueden traer, la manera de como prevenir y/o controlar las parasitosis cuando se presentan; empleando como material de apoyo diapositivas. Posteriormente a los padres de familia se les explico la manera de como se iba a trabajar, entregandoles una encuesta para obtener información sobre la alimentación, la higiene, el nivel socioeconomico, la presencia de animales domésticos y al final se les entregaron los resultados obtenidos para que en caso de requerirlo acudieran al médico.

3.0.) HIPÓTESIS:

Siendo *Cryptosporidium* un parásito eurixénico oportunista que está asociado a mala alimentación, higiene y presencia de animales portadores, aumentarían las infecciones y posiblemente los casos de enfermedad en estas condiciones, entonces; al no existir estas, los niños tanto de zonas urbanizadas como semiurbanas no manifestarán la infección y la enfermedad en esta área geográfica.

4.0.) OBJETIVO GENERAL.

Determinar la prevalencia de *Cryptosporidium* en niños de preescolar, clínicamente sanos de cuatro Municipios de la zona norte del Estado de México.

4.1.) Objetivos particulares.

- 1) Determinar la presencia de los ooquistes de *Cryptosporidium* en las heces fecales de los niños por la técnica de Faust.
- 2) Confirmar mediante la tinción de Kinyoun la presencia de los ooquistes de dicho parásito.
- 3) Establecer la relación entre de *Cryptosporidium* y la presencia de enfermedad.
- 4) Establecer si hay relación entre la presencia de *Cryptosporidium* en heces y la coexistencia con animales domésticos que sean posibles portadores.
- 5) Establecer si existe correlación entre la presencia de *Cryptosporidium* y factores como la alimentación, higiene y nivel económico.

5.0.) MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1.) MATERIAL BIOLÓGICO.

Se recogieron 3 muestras de heces por cada niño, una cada semana en los diferentes Municipios, obteniendo un total de 778 ya que en algunos casos los padres entregaron 1 o 2 muestras en lugar de las 3 que se solicitaron.

A los padres de cada uno de los niños muestreados se les dió una hoja con preguntas sobre su nivel de ingresos, higiene, alimentación y la presencia de animales domésticos, esto con el fin de establecer una correlación entre la presencia o ausencia de *Cryptosporidium* en los niños que permita darnos una idea más precisa de su comportamiento tomando en cuenta estos distintos parámetros

5.2.) MATERIAL DE LABORATORIO.

Cristalería: portaobjetos, cubreobjetos, vidrio de reloj, pipeta de 10 ml, tubos de ensayo de...,

Equipos: Centrifuga, Microscopio compuesto.

Material: Vasos de plástico, cucharas, espátula, gradilla, coladores, densímetro, encendedor.

Reactivos: Solución de Sulfato de Zinc al 33% con densidad de 1.18, Ac. Sulfúrico al 10% (V/V), Fucsina al 4% (W/V), Verde Malaquita al 1%(W/V), Metanol.

5.3.) MECÁNICA DE LA RECOLECCION.

5.3.1.) Recoleccion De Muestras.

- Frasco de vidrio de boca ancha con tapa de rosca de aluminio o de plástico.
- Abatelenguas o cuchara de plástico.

Se recolectaron aproximadamente 5 gramos de heces empleando un abatelenguas y depositando la muestra en un frasco limpio evitando mezclarla con orina o cualquier otra sustancia. Las heces duras, sin señas de gran putrefaccion, se dejaron durante la noche a temperatura del laboratorio, sin que se perdieran las características diagnosticas de los parásitos que pudieran haber en ellas; sin embargo, de preferencia se guardaron en el refrigerador. En el caso de heces líquidas o semilíquidas estas se examinaron en un plazo no mayor de una hora y no se refrigeraron, ya que en este tipo de muestras podemos encontrar a las formas activas de los protozoarios y eventualmente helmintos ⁽²⁴⁾.

Las muestras eran procesadas por medio de la técnica de Faust descrita por Ash, (1987) y Martínez; Morales, (1995) ver apéndice "A" ^(21,24).

La tinción de Kinyoun se utilizo como procedimiento confirmatorio de acuerdo con lo descrito por Ash, (1987) y Martínez; Morales, (1995) ver apéndice "B" ^(21,24).

ENCUESTA

Estancia o Jardín de Niños: _____.

Nombre de el(a) niño(a): _____.

1.-La alimentacion de su hijo(a) es:

- a)Excelente (leche, huevo, carne, verduras, frutas y cereales)
- b)Buena (carne, verduras, frutas y cereales)
- c)Pobre (verduras, frutas y cereales)

2.-La higiene en su casa es:

- a)Buena (se lavan las manos después de cualquier accion que lo requiera, lavan los alimentos, el baño está dentro de la casa y alejado del baño)
- b)Deficiente (no hay baño, no hay drenaje, no se lavan las manos, no hay agua potable y algunas veces los alimentos no se lavan antes de prepararlos)

3.-El tipo y número de animales domésticos que tiene en casa es:

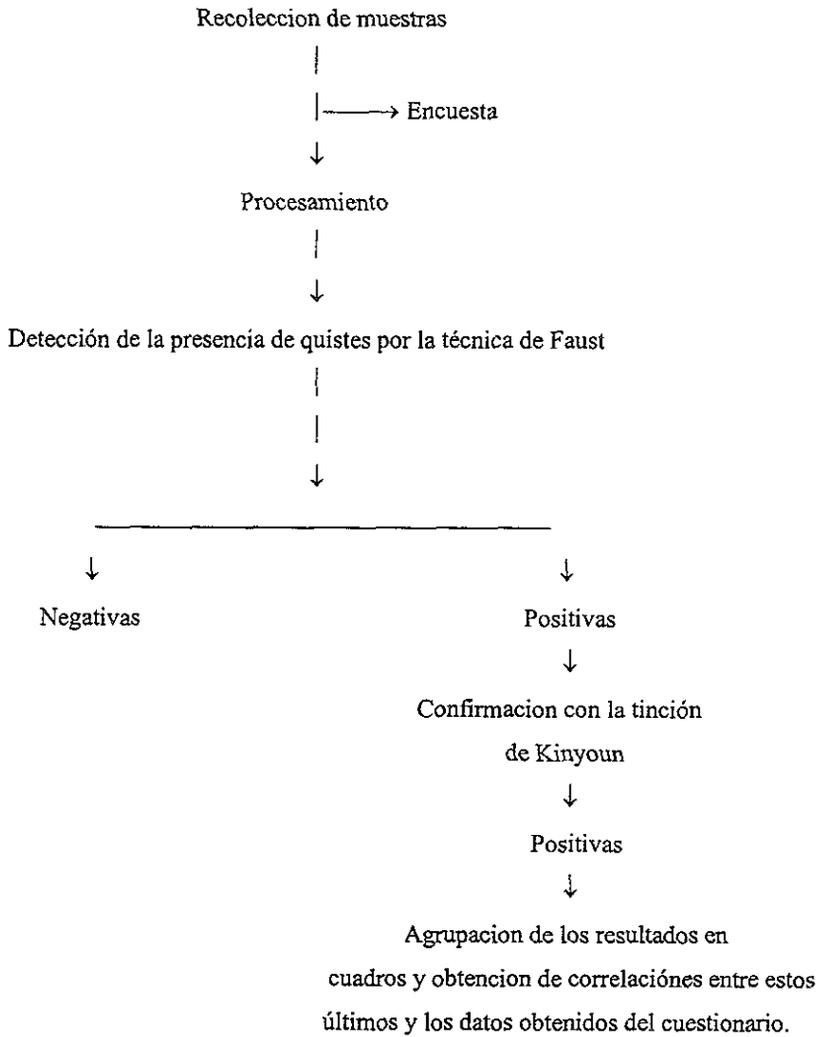
4.-El tipo de contacto físico que tiene el(a) niño(a) con los animales es:

- a)Frecuente
- b)Ocasional
- c)Raro
- d)Ninguno

5.-El nivel de ingresos de su familia es:

- a)Alto
- b)Medio
- c)Bajo

5.4.) DIAGRAMA DE FLUJO.



6.0.) RESULTADOS.

Los resultados obtenidos se muestran de acuerdo a los Municipios estudiados; los porcentajes se obtuvieron empleando reglas de tres; en el caso de los parásitos el resultado general de cada Municipio se tomo como el 100% y posteriormente se obtuvieron los porcentajes individuales. En la Figura 7 se aprecia como se ven los ooquistes tanto en la técnica de Faust (donde en algunos casos los ooquistes toman ligeramente el color rojizo-café del lugol); así como cuando se tiñen con Kinyoun (donde se observan de color rojo).

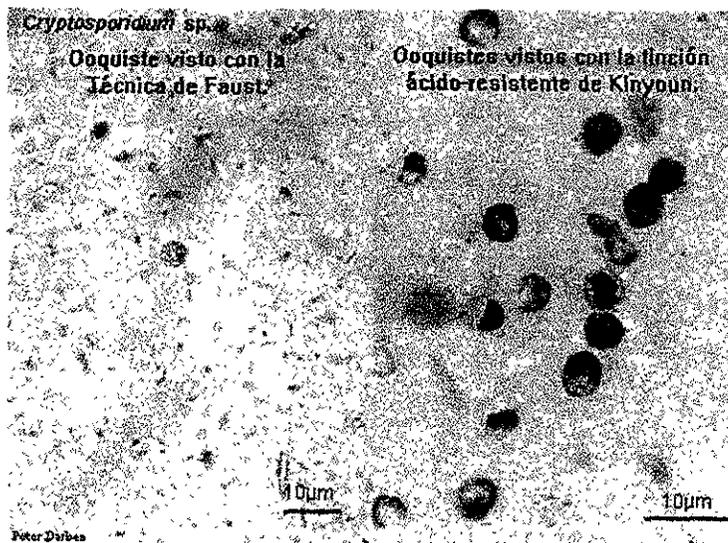


Figura 7.- Ooquistes observados con microscopio compuesto empleando la técnica de Faust (izquierda) y con la tinción de Kinyoun (derecha)

6.1.) DATOS OBTENIDOS EN CUAUTITLAN MÉXICO.

Se muestrearon 2 estancias infantiles, la primera con 26 niños y la segunda con 47; con edades entre los 2-4 años; la coexistencia de los niños con animales se dio en un 50% de los casos.

| | |
|--|----|
| Nº Total De Niños Muestreados | 73 |
| Nº Total De Niños Con <i>Cryptosporidium</i> spp | 11 |
| Nº Total De Niños Con Otro Tipo De Parásitos | 15 |
| Nº Total De Niños Libres De Parásitos | 47 |

Como se observa en el Cuadro 1, en los niños de este Municipio se encontró una mayor cantidad de protozoarios que helmintos en heces, en donde *Giardia lamblia* es el de mayor incidencia y seguido por *Cryptosporidium* spp., llegando a un 35.12% en total; sin embargo, la mayoría se encuentra sin parásitos debido a la practica de las medidas básicas de higiene. La alimentación estaba entre Buena[•] y Excelente[•]; el nivel economico generalmente fue Medio.

| | PORCENTAJE (%) |
|--|----------------|
| NIÑOS CON <i>Cryptosporidium</i> spp | 15.07 |
| NIÑOS CON OTROS PARÁSITOS | 20.55 |
| NIÑOS CON <i>Ciclospora cayetanensis</i> | 6.66* |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba coli</i> | 6.66* |
| NIÑOS CON <i>Giardia lamblia</i> | 53.33* |
| NIÑOS CON <i>Hymenolepis nana</i> | 6.66* |
| NIÑOS CON <i>Ascaris lumbricoides</i> | 13.33* |
| NIÑOS CON <i>Giardia lamblia</i> e <i>Hymenolepis nana</i> | 13.33* |
| NIÑOS SIN PARÁSITOS | 64.38 |

*Relacion de los parásitos encontrados en los niños.

Cuadro 1.- Hallazgos en la población infantil del Municipio de Cuautitlán México.

[•] Estos parámetros se encuentran en la encuesta, en la parte de materiales y métodos.

En esta Figura 8 se observa como en más del 50% de los niños no se encontró ningún tipo de parásito en las heces; sin embargo la presencia de *Cryptosporidium* spp. se encuentra en el 15% de los niños.

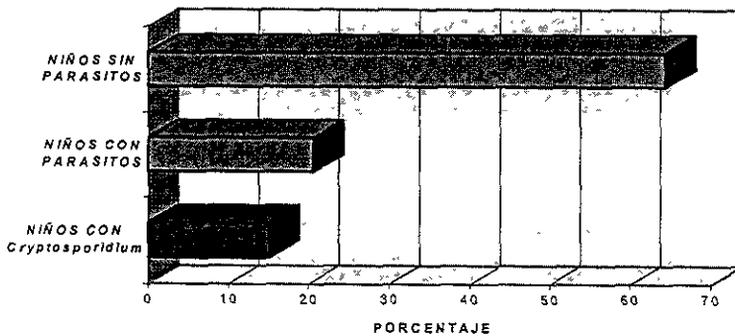


Figura 8.- Porcentaje de los casos encontrados en niños, de las estancias infantiles en el Municipio de Cuautitlán México.

Como se observa en la Figura 9, *Giardia lamblia* es el parásito más frecuente con un 53%, seguido de *ascaris lumbricoides* y de la asociación *Giardia lamblia-Hymenolepis nana* con un 13% en ambos casos.

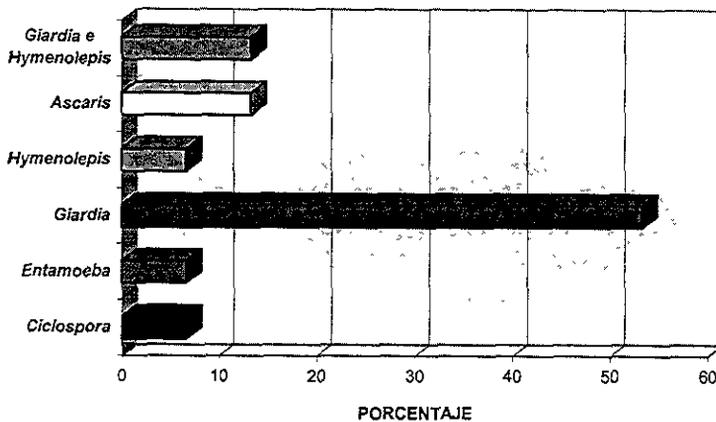


Figura 9.- Distribución de los parásitos diferentes a *Cryptosporidium* dentro del porcentaje general en el Municipio de Cuautitlán.

6.2.) DATOS OBTENIDOS EN CUAUTITLÁN IZCALLI.

En este Municipio se muestrearon 3 estancias infantiles; en INFONAVIT Norte con población de 13 niños; en INFONAVIT Centro con 34 y en INFONAVIT Centro con 15; con edades entre 2-4 años. La coexistencia con animales domésticos se dio en un 35.71%.

Nº Total De Niños Muestreados 62

Nº Total De Niños Con *Cryptosporidium* spp 8

Nº Total De Niños Con Otro Tipo De Parásitos 2

Nº Total De Niños Libres De Parásitos 52

En en Cuadro 2, vemos que el 83.8% de los niños no tienen parásitos; que en el 12.9% apareció *Cryptosporidium* spp., y que sólo en el 3.23% se presentó *Entamoeba coli*. En este Municipio las practicas de higiene son realizadas casi por la totalidad de las familias; en cuánto a la alimentación, la información proporcionada por los padres indico que está es buena[•] y excelente[•]; la situación economica de las familias es Media en un 70% y Bajo en el resto.

| | PORCENTAJE (%) |
|--------------------------------------|----------------|
| NIÑOS CON <i>Cryptosporidium</i> spp | 12.90 |
| NIÑOS CON OTROS PARÁSITOS | 3.23 |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba</i> | 100.00* |
| NIÑOS SIN PARÁSITOS | 83.87 |

*Relacion de los parásitos encontrados en los niños.

Cuadro 2.- Hallazgos en la población infantil del Municipio de Cuautitlán Izcalli.

[•] Estos parámetros se encuentran en la encuesta, en la parte de materiales y métodos.

En la Figura 10 se observa que *Cryptosporidium* spp., se encuentra en el 13% de los niños y la presencia de otros parásitos sólo es del 3.23%.

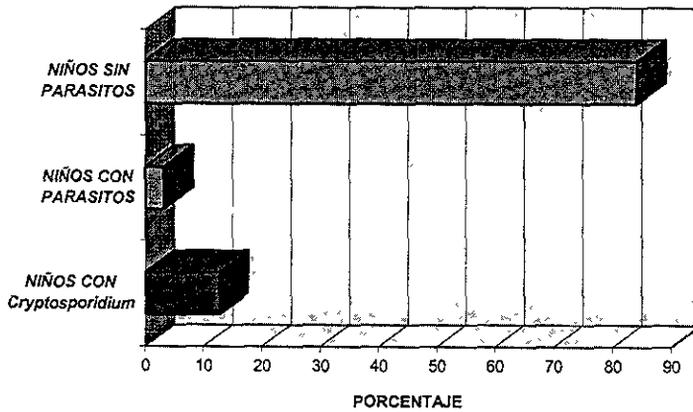


Figura 10.- Porcentaje de los casos encontrados en niños, de las estancias infantiles en el Municipio de Cuautitlán Izcalli.

En la Figura 11, se observa que *Entamoeba coli* es el único parásito presente 2 niños; quienes representan el 3.23% de la Figura 9.

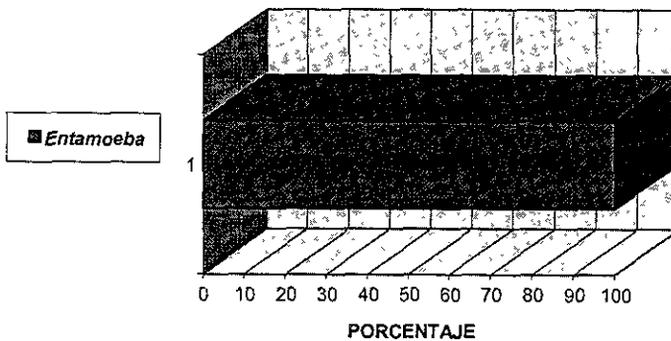


Figura 11.- Distribucion de los parásitos diferentes a *Cryptosporidium* dentro el porcentaje general en el Municipio de Cuautitlán Izcalli

6.3.) DATOS OBTENIDOS EN TEOLOYUCAN.

En este Municipio se muestrearon 2 jardines de niños, el primero con una población de 66 niños y el segundo con 20, con edades entre 4-6 años; aquí la coexistencia con animales domésticos se dio en un 85.71%.

| | |
|--|----|
| Nº Total De Niños Muestreados | 86 |
| Nº Total De Niños Con <i>Cryptosporidium</i> spp | 17 |
| Nº Total De Niños Con Otro Tipo De Parásitos | 19 |
| Nº Total De Niños Libres De Parásitos | 50 |

En el Cuadro 3 se observa que la infección por *Cryptosporidium* spp se dio en un 19.77%, mientras que dentro de las infecciones por otros parásitos *Giardia lamblia* (85%) es el más frecuente, seguido de *Entamoeba coli* (10%) y *Ascaris lumbricoides* (5%); además eran pocas las medidas de higiene practicadas por las familias; por otra parte la alimentación resultó deficiente debido a que se encontraron casos de alimentación buena[•] y regular.

| | PORCENTAJE (%) |
|---------------------------------------|----------------|
| NIÑOS CON <i>Cryptosporidium</i> spp | 19.77 |
| NIÑOS CON OTROS PARÁSITOS | 23.25 |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba coli</i> | 10.00* |
| NIÑOS CON <i>Giardia lamblia</i> | 85.00* |
| NIÑOS CON <i>Ascaris lumbricoides</i> | 5.00* |
| NIÑOS SIN PARÁSITOS | 58.14 |

*Relacion de niños parasitados.

Cuadro 3.- Hallazgos en la población infantil del Municipio de Teoloyucan.

• Estos parámetros se encuentran en la encuesta, en la parte de materiales y métodos.

En la Figura 12, se observa que las infecciones por *Cryptosporidium* spp. y por otros parásitos se presentaron casi en la misma proporción (entre 19%-23%).

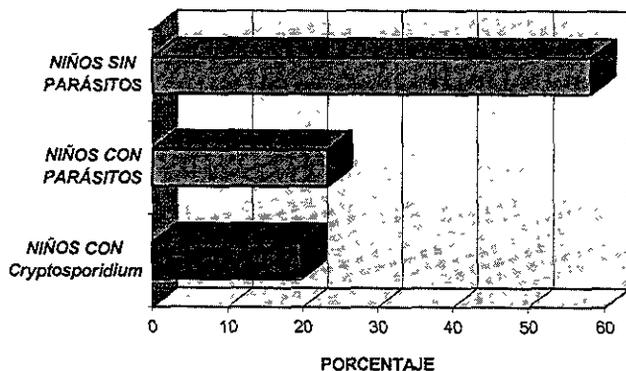


Figura 12.- Porcentaje de los casos encontrados, en los jardines de niños del Municipio de Teoloyucan.

En la Figura 13, se observa como las infecciones por protozoarios (*Giardia lamblia* y *Entamoeba coli*) son más frecuentes que las de helmintos.

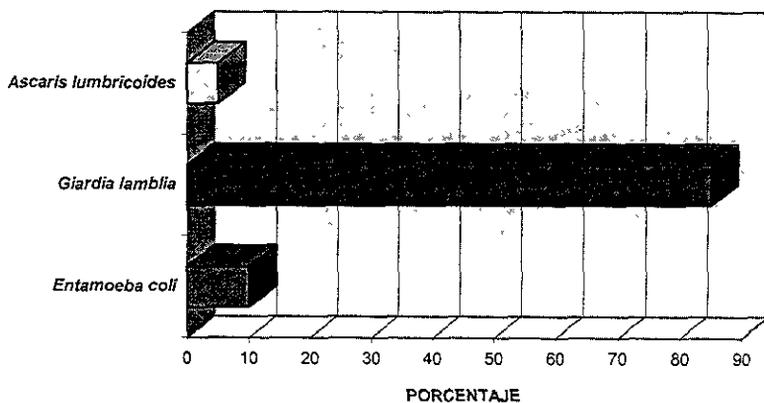


Figura 13.- Distribución de los parásitos diferentes a *Cryptosporidium* dentro del porcentaje general en el Municipio de Teoloyucan.

6.4.) DATOS OBTENIDOS EN TEPOTZOTLÁN.

En este Municipio se muestrearon, una guardería con 27 niños y un jardín de niños con una población de 63, con edades entre 2-4 años; la coexistencia con animales domésticos se dio en un 44.82%.

| | |
|--|----|
| Nº Total De Niños Muestreados | 90 |
| Nº Total De Niños Con <i>Cryptosporidium</i> spp | 10 |
| Nº Total De Niños Con Otro Tipo De Parásitos | 21 |
| Nº Total De Niños Libres De Parásitos | 59 |

En el Cuadro 4, se observa una gran cantidad de infecciones por otros parásitos en un 23.33%; las cuales incluyen asociaciones de dos o más patógenos, siendo los más frecuentes *Giardia lamblia* y *Entamoeba coli*; seguidos por las asociaciones entre estos y otros agentes. Mientras que *Cryptosporidium* spp afecta al 11.11% de los niños. Por otra parte se practican las medidas de higiene; en cuanto a la alimentación se encontró que fue excelente[•] y buena[•].

| | PORCENTAJE (%) |
|---|----------------|
| NIÑOS CON <i>Cryptosporidium</i> spp | 11.11 |
| NIÑOS CON OTROS PARÁSITOS | 23.33 |
| NIÑOS CON <i>Ciclospora cayetanensis</i> | 4.76* |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba coli</i> | 14.28* |
| NIÑOS CON <i>Giardia lamblia</i> | 42.85* |
| NIÑOS CON <i>Trichuris trichura</i> | 4.76* |
| NIÑOS CON <i>Giardia</i> y <i>Entamoeba</i> | 4.76* |
| NIÑOS CON <i>Giardia</i> e <i>Hymenolepis</i> | 9.52* |
| NIÑOS CON <i>Giardia</i> y <i>Ascaris</i> | 9.52* |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba</i> y <i>Ascaris</i> | 4.76* |
| NIÑOS CON <i>Entamoeba coli</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Hymenolepis nana</i> y <i>Ascaris lumbricoides</i> . | 4.76* |
| NIÑOS SIN PARÁSITOS | 65.55 |

*Relación de niños parasitados.

Cuadro 4.- Hallazgos en la población infantil del Municipio de Tepotzotlán.

• Estos parámetros se encuentran en la encuesta, en la parte de materiales y métodos.

Como se observa en la Figura 14, *Cryptosporidium* spp., afecta al 11.11% de los niños; superado por otros agentes en conjunto con 23.33%.

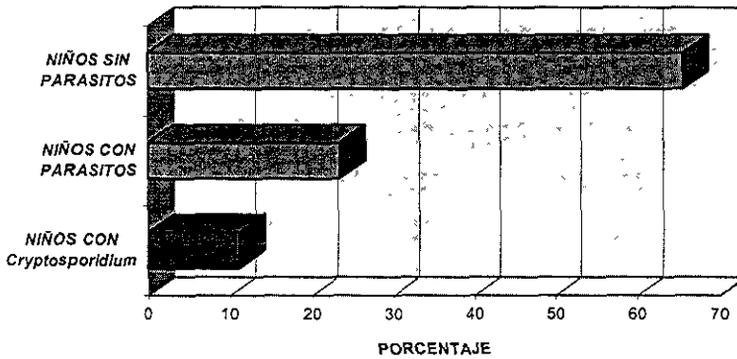


Figura 14.- Porcentaje de los casos encontrados en los niños de guarderías en el Municipio de Tepetzotlán.

En la Figura 15, se observa como *Giardia lamblia*, sigue siendo el agente más frecuente en los niños con 42.85%, además de importantes infecciones con dos o más parásitos y en los que también está involucrado este microorganismo.

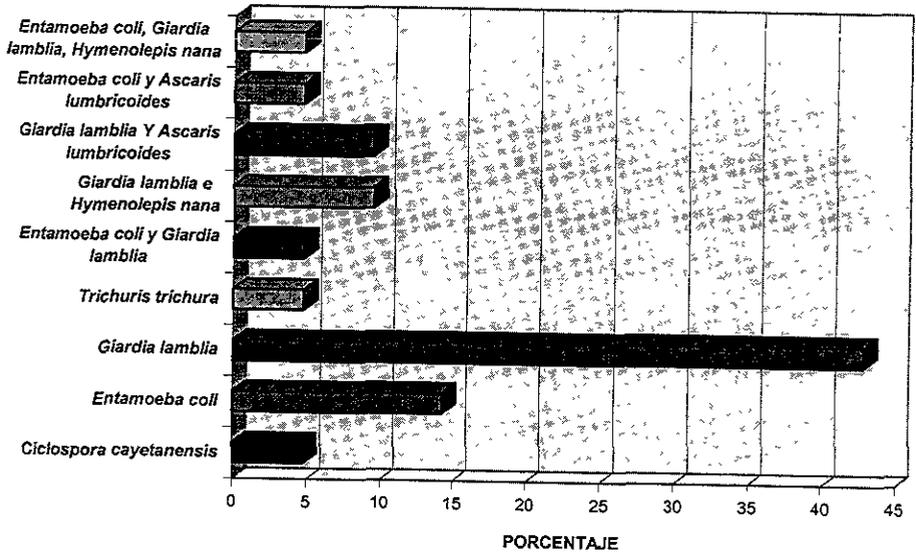


Figura 15.- Distribucion de los parásitos diferentes a *Cryptosporidium* dentro del porcentaje general en el Municipio de Tepetzotlán.

6.5.) DATOS GENERALES OBTENIDOS EN LOS MUNICIPIOS CON RESPECTO A LA PRESENCIA DE *Cryptosporidium*.

Como se observa en el Cuadro 5, el Municipio con menor prevalencia de *Cryptosporidium* spp., es Cuautitlán Izcalli; mientras que Teoloyucan es el que presenta la mayor prevalencia.

| MUNICIPIO | PORCENTAJE (%) |
|--------------------|----------------|
| CUAUTITLÁN MÉXICO | 23.90 |
| CUAUTITLÁN IZCALLI | 17.40 |
| TEOLOYUCAN | 37.00 |
| TEPOTZOTLÁN | 21.7 |

Cuadro 5.- Distribución de *Cryptosporidium* spp., en la población infantil de los diferentes Municipios muestreados.

En la Figura 16, se observa como está la distribución de las infecciones por *Cryptosporidium*, en los cuatro Municipios que se estudiaron.

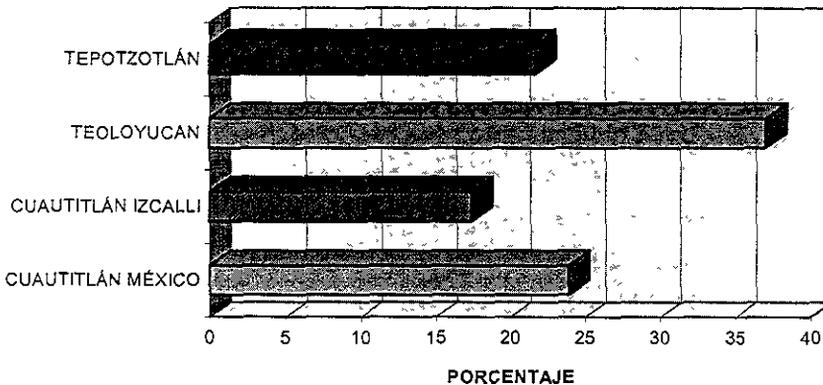


Figura 16.- Porcentaje de casos con *Cryptosporidium* spp., en los cuatro Municipios.

6.6.) DATOS DE FRECUENCIA DE *Cryptosporidium* spp., DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO.

En el Cuadro 6, vemos que la distribución de las muestras es más o menos homogénea durante los nueve meses del estudio y como durante los primeros cuatro están presentes los ooquistes de *Cryptosporidium* spp., mientras que en los cinco meses restantes no hay presencia de los ooquistes en las heces fecales.

| MES | C. MÉXICO | C. IZCALLI | TEOLOYUCAN | TEPOTZOTLÁN | TOTAL |
|--------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| Junio | 14 (4) | 8 | 17 (3) | 17 (8) | 56 |
| Septiembre | 20 (6) | 14 | 21 (13) | 16 (6) | 71 |
| Octubre | 10 (8) | 20 (15) | 36 (3) | 25 (9) | 91 |
| Noviembre | 30 (9) | 28 (4) | 26 (4) | 47 (2) | 131 |
| Diciembre | 16 | 9 | 10 | 20 | 55 |
| Enero | 18 | 12 | 18 | 30 | 78 |
| Febrero | 21 | 12 | 24 | 29 | 86 |
| Marzo | 31 | 19 | 28 | 28 | 106 |
| Abril | 25 | 24 | 28 | 27 | 104 |
| TOTAL | 185 | 146 | 208 | 239 | 778 |

NOTA: Los números entre paréntesis son las muestras positivas a *Cryptosporidium* spp.

Cuadro 6.- Frecuencia de muestras en cada uno de los Municipios por mes.

En la Figura 17, vemos como se distribuye la frecuencia de los niños con *Cryptosporidium* spp., del mes de Junio de 1997 al mes de Abril de 1998; donde los meses de Septiembre y Octubre son los de mayor presencia de este parásito.

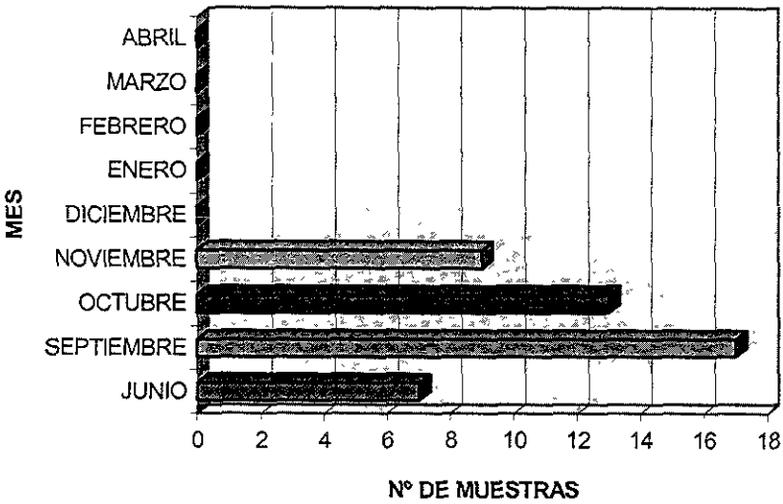


Figura 17.- Frecuencia de niños en cada uno de los Municipios por mes, a partir de Junio de 1997 a Abril de 1998.

6.7.) CORRELACION ENTRE LA PRESENCIA DE *Cryptosporidium* spp, Y EL NIVEL DE INGRESOS, HIGIENE, ALIMENTACION Y ANIMALES DOMÉSTICOS DE TODOS LOS MUNICIPIOS.

En el Cuadro 7, se observa que cuanto al nivel de ingresos; las familias con un nivel medio son las más afectadas por el parásito; así mismo, las familias con un nivel de higiene bueno, alimentación excelente y buena son las que más presentan infecciones, al igual que aquellas en las que hay coexistencia con animales domésticos.

| NIÑOS Y NIVEL DE INGRESOS | Nº DE CASOS | PORCENTAJE |
|---|-------------|------------|
| <i>Cryptosporidium</i> e Ingresos Bajos | 2 | 4.4 % |
| <i>Cryptosporidium</i> e Ingresos Medios | 15 | 32.6 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Sin Informes | 29 | 63 % |
| NIÑOS E HIGIENE | | |
| <i>Cryptosporidium</i> e Higiene Buena | 14 | 30.4 % |
| <i>Cryptosporidium</i> e Higiene Deficiente | 3 | 6.6 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Sin Informes | 29 | 63 % |
| NIÑOS Y ALIMENTACION | | |
| <i>Cryptosporidium</i> y Alimentación Excelente | 4 | 8.7 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Alimentación Buena | 12 | 26.1 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Alimentación Pobre | 1 | 2.2 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Sin Informes | 29 | 63 % |
| NIÑOS Y ANIMALES | | |
| <i>Cryptosporidium</i> y Animales | 24 | 52.2 % |
| <i>Cryptosporidium</i> y Sin Animales | 3 | 6.5 % |
| <i>Cryptosporidium</i> Sin Información | 19 | 41.3 % |

Cuadro 7.- Relacion entre el nivel de ingresos, higiene, alimentacion, coexistencia con animales domésticos y la presencia de *Cryptosporidium* spp.

7.0.) DISCUSIÓN.

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria que se adquiere por la ingestión de ooquistes maduros que al llegar al intestino se rompen dejando libres las fases infectantes ocasionando cuadros de diarrea de pocos días, desapareciendo posteriormente; sin embargo, el parásito permanece en el hospedero y este sigue eliminando los ooquistes al medio ambiente sin que presente nuevamente manifestaciones de la enfermedad volviéndose un portador sano, los ooquistes eliminados van a estar contaminando superficies, animales domésticos, alimentos, agua, tierra, transmitiendo así el parásito a otros hospederos quienes van a presentar la enfermedad.^(3,33)

En este estudio se investigó la presencia de *Cryptosporidium* spp., en las heces fecales de niños sanos, de estancias infantiles y jardines de niños en todos los Municipios involucrados en el estudio, sin embargo; no se presentaron síntomas de la enfermedad, pero al encontrar los ooquistes en el excremento era evidente que sí tenían la infección (lo mismo sucedió con los demás parásitos encontrados); las heces de los niños muestreados generalmente presentaban una consistencia firme y coloración normal, algunas muestras tenían apariencia muy deshidratada que puede hacer pensar en espasmos de colon; también se encontraron heces muy duras que corresponden a problemas de estreñimiento debido a una deficiente ingesta de líquidos o a compensación de hipersecreción intestinal.

En el Cuadro 1 encontramos que la infección por *Cryptosporidium* spp. en Cuautitlán México fué del 15.0 %; además se encontraron otros parásitos dentro de los cuales; en la Figura 9 se observan *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Ciclospora cayetanensis*, *Hymenolepis nana*, *Ascaris lumbricoides* y asociaciones entre *Giardia lamblia* e *Hymenolepis nana*, lo que indica que los niños no siempre se lavan las manos, que apesar de tener buena alimentación algunos de estos no son preparados de manera higiénica, así como la coexistencia de los niños con animales es muy frecuente pues se dio en el 50 % de las encuestas y que estos animales actúan como portadores de estos parásitos.

En el Cuadro 2, vemos que el porcentaje de infecciones por *Cryptosporidium* spp. en Cuautitlán Izcalli fue del 12.9%; existiendo una coexistencia con animales del 35.71% lo que sugiere que es esta característica la que influye; en cuanto a otros patógenos sólo se encontraron quistes de *Entamoeba coli* (Figura 11) esto debido a las medidas de higiene practicadas por las familias y a la frecuente administración de antiparasitarios.

De acuerdo al Cuadro 3, el porcentaje de infecciones por *Cryptosporidium* spp. en Teoloyucan fue 19.77%; además se presentaron otros patógenos (Figura 13) tales como *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides*, todo esto es resultado de la falta de servicios de agua potable en algunas zonas de este Municipio, falta de drenaje y la presencia de animales tanto de compañía (perros, gatos y aves) como de granja (vacas, borregos, gallinas, puercos) algunos de los cuales son transmisores de *Cryptosporidium parvum* (que también afecta al hombre) y de otros parásitos, también la transmisión se ve favorecida por una higiene deficiente debido a la falta de servicios.

En base al Cuadro 4, la infección por *Cryptosporidium* spp. en Tepetzotlán fue del 11.11%, por otra parte a diferencia de los otros Municipios la carga de diversos parásitos en los niños resultó muy grande (Figura 15) encontrando *Ciclospora cayetanensis*, *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, *Trichuris trichura* y asociaciones tales como *Entamoeba coli-Giardia lamblia*, *Entamoeba coli-Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia-Hymenolepis nana*, *Giardia lamblia-Ascaris lumbricoides* y *Entamoeba coli-Giardia lamblia-Hymenolepis nana-Ascaris lumbricoides*; esto porque al igual que en Teoloyucan existen zonas donde apenas comienzan a llegar los servicios de drenaje, agua potable, tienen animales de granja con lo que se tiene mucho contacto y de los animales de compañía en ocasiones hasta hay varios perros o gatos (además de aves), quienes pueden vagar por el corral, en basureros aumentando las probabilidades de contraer estos agentes patógenos.

En este estudio, la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp. en los cuatro Municipios, está entre 17.4%-37% (Cuadro 5), con un promedio del 25%; estos resultados son muy altos a comparación de los obtenidos en países desarrollados como Estados Unidos y Portugal, en donde está entre 1.8%-3.8% considerada por ellos como elevada, aunque han

encontrado proporciones que pueden llegar a 30% entre los niños de centros infantiles, dependiendo de las zonas y métodos empleados ⁽²⁶⁾, esto indica que la infección por este parásito afecta a un gran porcentaje de la población en aquellos países que están en vías de desarrollo aunque también afecta a los países desarrollados pero con una incidencia menor. Por lo que el grado de urbanización influye de manera directa sobre la infección por *Cryptosporidium*, ya que Cuautitlán México y Cuautitlán Izcalli son Municipios muy urbanizados en donde la gente vive principalmente en su zona centro; en contraste; Teoloyucan y Tepetzotlán son Municipios en proceso de urbanización, donde la gente que vive en la periferia de estos lugares llega a carecer de servicios como agua potable, drenaje, pavimentación de calles, presentan incluso basureros al aire libre; y también hay una gran cantidad de animales domésticos, además; el consumo de alimentos en la calle como frituras, frutas preparadas y aguas frescas empleando agua potable probablemente contaminada, por la manipulación por personas con poca o ninguna medida de higiene. Esto permite que los parásitos lleguen a los niños, además; la manera despreocupada (en cuanto a las medidas de higiene para prevenir infecciones) de convivir de los niños como el jugar con tierra, llevarse objetos a la boca, rascarse el ano o las nalgas por comezón, consumir los alimentos con las manos sucias, permite una constante y repetida exposición a los parásitos.

El período de mayor presentación de acuerdo al Cuadro 6, es de Septiembre a Octubre de 1997 en donde se presenta un clima caluroso y lluvioso, lo que permitió la transmisión de *Cryptosporidium* debido a la contaminación de cuerpo de agua en zonas semiurbanas de Teoloyucan y Tepetzotlán, donde no hay agua potable entubada, que junto con la presencia de heces de animales infectados, la presencia de basureros al aire libre y la defecación al aire libre lo que favorece la transmisión de este parásito. Este clima permite la permanencia viable de los ooquistes de *Cryptosporidium*, pues estos pueden permanecer viables por varios meses en condiciones de humedad ⁽²²⁾. Al final de Octubre el clima se fue tornando más frío, menos húmedo y sin lluvias de tal manera que los ooquistes van perdiendo su infectividad conforme descende la temperatura (Figura 17), debido a esto; aunque los animales y personas infectadas eliminan ooquistes estos pierden rápidamente su infectividad, por consiguiente el número de casos positivos se va reduciendo a mediados de otoño (finales de Octubre, Noviembre, parte de Diciembre) y para la época de invierno (2ª mitad de Diciembre, Enero, Febrero, 1ª mitad de Marzo) no se presenta una sola muestra con *Cryptosporidium* spp. como se ve en la Figura 16.

Durante el inicio de la primavera (Marzo y Abril de 1998) tampoco se presentaron muestras con *Cryptosporidium*, esto pudo ser debido a la sequía que se registro en esta época; lo cual mantuvo las condiciones adversas para la viabilidad de los oocistos en el medio ambiente. Por lo que el periodo de presentacion de estainfección concuerda en parte con los reportes del C.D.C; donde se menciona que, "los brotes en estancias infantiles estadounidenses más frecuentes se presentan durante el inicio y final del verano (meses de agosto y Septiembre)"⁽²⁷⁾.

En cuanto al tratamiento, todavía hasta hace unos dos o tres años no se sabía de algún fármaco capaz de eliminar a *Cryptosporidium parvum*; sin embargo, la Nitazoxanida ha resultado eficaz en la erradicación de este parásito del tracto intestinal en personas con SIDA ⁽⁸⁾; además en un estudio de Nitazoxanida como tratamiento contra parasitosis intestinal mixta en 272 niños en el Municipio de Coacalco estado de México, 46 (38%) de ellos presentaron parasitosis únicas y de estos 11(9%) resultaron con *Cryptosporidium parvum*. A todos se les administro 7.5 mg/kg de Nitazoxanida cada 12 horas por 3 días a los días se les realizaron coproparasitoscópicos de control, en las parasitosis únicas la eficacia fué de 91% y en el caso de los niños con *Cryptosporidium parvum* recibieron otros dos tratamientos de 3 días cada 12 horas al final de los cuales los estudios control fueron negativos ⁽⁷⁾, esto signifivica que la Nitazoxanida es también eficaz en las personas sanas aunque se requieren de tres tratamientos para la eliminacion del parásito.

Cuando hay una infección o enfermedad en una población determinada se piensa que afecta sobre todo a aquellas familias con escasos recursos economicos y poca higiene, sin embargo, en este estudio fue lo contrario (Cuadro 7) el mayor porcentaje de infecciones se dieron en las familias con ingresos elevados 32.6% y con un nivel de higiene bueno 30.4%, a diferencia de aquellas con una higiene deficiente 6.6% e ingresos bajos 4.4%; estos resultados no son confiables debido a que el número de encuestados son desiguales en ambas situaciones. Debido a este problema de salud, en varias estancias y jardines de niños las autoridades escolares han tomado medidas que tienen como finalidad prevenir infecciones y enfermedades por parásitos; para lo cual han implementado programas de desparasitacion dirigido a los niños de estos centro infantiles cada 6 meses, empleando como medicamentos de eleccion metronidazol y mebendazol,

los cuales son suministrados por la secretaría de salud estatal a través del D.I.F. de cada Municipio.

Se ha señalado que la desnutricion infantil puede perjudicar la inmunidad y predisponer a la infección por *Cryptosporidium* (es decir, que se presente el parásito, sin manifestaciones de enfermedad) ⁽³³⁾. Sin embargo, en el Cuadro 7 vemos que los niños con una alimentación balanceada y completa también son afectados por este microorganismo en una proporción del 26.1%; la cual es muy superior al 2.2% de los que tienen una alimentación deficiente. Esto puede ser lógico si tomamos en cuenta que los niños mejor alimentados presentan un epitelio intestinal en buen estado morfológico y funcional permitiendo la unión entre el trofozoito y el glicocálix de las células hospederas, por lo que es ideal para el desarrollo de los diferentes estadios de *Cryptosporidium* spp., a diferencia del epitelio atrofiado e incapaz de albergar y sostener a las formas infectantes (esporozoitos) debido a la atrofia de las células, por lo que la unión del parásito con el glicocálix no es adecuada y la frecuencia de infección es baja.

Como se puede ver en el Cuadro 7 (al final), la presencia de animales domésticos puede ser un factor importante para la presencia de *Cryptosporidium* en los niños ya que se encontró un 52% de relación entre la convivencia física de niños con los animales, hubo un 43% de casos donde los padres no brindaron ninguna información a este respecto, pero por el porcentaje tan parecido con la presencia de animales es muy posible que un gran número de estas familias si tengan animales en sus casas y estos tengan contacto con los niños; sólo un 6.3% no tenían ningún animal en casa pero aún así los niños presentaron *Cryptosporidium* lo que sugiere que se infectaron seguramente de otros niños en los centros infantiles. Por último en relación a la presencia de animales en las casas, hay mucha gente que los trata como a otro miembro de la familia; es decir, que dejan que entren en la casa y hasta duerman no nada más en los cuartos de los niños sino también en las camas; esto es un gran error ya que por mucho que se tenga cariño hacia un animal estos no razonan, pueden convivir con animales callejeros los cuales pueden tener desde pulgas o sarna hasta rabia transmitiendo una gran cantidad de enfermedades a los dueños, pero es algo que muchas personas no quieren entender ¡los animales siempre serán animales!.

Por otra parte, en cada uno de los Municipios se han encontrado otras especies de parásitos, lo cual indica la constante presencia de estos agentes patógenos y por lo tanto frecuentes exposiciones de los niños lo que origina parasitosis mixtas como es el caso de Tepetzotlán; donde varias de las muestras de heces presentaron 2 o más especies de parásitos, generalmente *Giardia lamblia* o *Entamoeba coli* asociados con *Ascaris lumbricoides* o *Hymenolepis nana* (Cuadro4); estas parasitosis mixtas se observaron en un estudio realizado a 272 niños de una colonia del Municipio de Coacalco, estado de México con edades entre 2-4 años. En donde 121 (45%) presentaron patógenos; de los cuales en 75(62%) fueron parasitosis mixtas y en los otros 46 (38%) parasitosis únicas ⁽⁷⁾. En estos casos de asociaciones, los parásitos son de transmisión directa, es decir; que el vehículo de eliminación (el excremento), es también el vehículo de transmisión, ya que a través del excremento se contaminan agua, alimentos y superficies que están en contacto o son consumidos por otros hospederos causando la infección.

Por último se recomienda hacer una entrevista y no una encuesta por que en la primera se puede obtener información más verídica que en el caso de las encuestas en las cuales la gente llega a mentir con mucha más facilidad.

8.0.) CONCLUSIONES.

- 1) Se detecto la presencia de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp., en los niños de estancias infantiles y jardines de niños muestreados.
- 2) La técnica de Faust no es segura para el diagnostico de los ooquistes, por lo que es necesaria la tinción de Kinyoun como prueba confirmatoria.
- 3) La presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp., es indicativo de una infección más no necesariamente de la enfermedad.
- 4) La infección en los niños se favorece por la coexistencia con animales domésticos que son transmisores del microorganismo.
- 5) No es necesario una mala alimentación o higiene deficiente para que se presente la infección en los niños.
- 6) La prevalencia de *Cryptosporidium* spp., es de un 25% en promedio en esta zona geográfica.

9.0) APÉNDICE "A".

TÉCNICA DE FAUST.

Material y Equipo:

- Tubos de centrifuga.
- Gradilla.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Varilla de vidrio.
- Coladera.
- Recipientes de plástico.
- Cuchara.
- Asa bacteriologica.
- Microscopio compuesto.
- Centrifuga.

Solución y Reactivos:

- Solución saturada de sulfato de zinc al 33% y densidad de 1.18.
- Lugol parasitologico.
- Agua.

DESARROLLO.

- a) Colocar de 2-3 gramos de materia fecal en el recipiente de plástico.
- b) Adicionar 10 veces su volumen de agua y homogenizar con la cuchara.
- c) Colar a otro recipiente de plástico y depositar en el tubo de centrifuga.
- d) Balancear los tubos y centrifugar a 2,000 r.p.m., durante 1 minuto y decantar el sobrenadante.
- e) Resuspender la pastilla con agua y volver a centrifugar, repitiendo este paso hasta que el sobrenadante quede transparente.
- f) Resuspender la pastilla con la solución saturada de sulfato de zinc y centrifugar a 2,000 r.p.m.
- g) Poner el tubo en la gradilla y adicionar solución saturada hasta llenarlo y formar un menisco en la superficie, dejando reposar el tubo durante 10 minutos.

- h) Tomar una muestra con el asa bacteriológica y ponerla sobre el portaobjetos.
- i) Depositar una gota de lugol sobre la muestra, poner el cubreobjetos y observar al microscopio con el objetivo de 40X.

INTERPRETACION.

Se reportan los parásitos encontrados dando como positiva o negativa la muestra. Deben tomarse tres muestras de distintos días para obtener el más alto porcentaje de posibilidad de detección.

9.1.) APÉNDICE "B".

TINCION DE KINYOUN.

Material y Equipo:

- Portaobjetos.
- Aplicadores de madera.
- Goteros.
- Encendedor.
- Microscopio compuesto.

Reactivos:

- Metanol.
- Fucshina al 4% (P/V).
- Acido Sulfúrico al 10% (V/V).
- Verde Malaquita al 1% (P/V).
- Agua.

DESARROLLO.

- a) Tomar una muestra de materia fecal con el aplicador y realizar un extendido lo más delgado posible.
- b) Dejar que el entendido se seque y fijarla por métodos químicos y físicos (con metanol y calentando ligeramente con el encendedor por la parte inferior del portaobjetos).
- c) Cubrir el extendiso con Fucshina al 4% durante 5 minutos.
- d) Lavar al chorro de agua para eliminar el exceso de colorante.
- e) Decolorar con ácido sulfúrico al 10% hasta obtener una coloracion pálida e inmediatamente lavar con agua, para eliminar el exceso de ácido.
- f) Eliminar el exceso de agua agitando el cubreobjetos suavemente con la mano.
- g) Cubrir el extendido con el Verde Malaquita al 1% (colorante de contraste) durante 2 minutos.
- h) Lavar al chorra de agua para eliminar el exceso de colorante y dejar secar a temperatura ambiente.
- i) Agregar una gota de aceite de inmersión y observar con el objetivo de 100X.

INTERPRETACION.

Se reporta la muestra como positiva, si se encuentran los ooquistes los cuales se tiñen de color rojo intenso observandose también los esporozoitos dentro del ooquiste; mientras que el resto de las estructuras se tiñen de color verde por el colorante de contraste, y se reporta la muestra como negativa, si no se encuentran los ooquistes.

10.0.) BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Acha N.P. (1986) **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes Al Hombre Y Los Animales.** Organizacion Panamericana De La Salud. 2ª Edicion. Washington D.C. E.U.A. 585-589.
- 2.- Ash R.L. (1987) **A Guide to Laboratory Procedures and Identification.** ASCP Press, American Society of Clinical Pathologists. E.U.A. 33-35, 51-52.
- 3.- Botero D. (1992) **Parasitosis Humanas.** Corporacion Para Investigaciones Biologicas. 2ª Edicion. Medellín, Colombia. 65-69
- 4.- Brandonisio, O.; Mrangi, A.; Panaro, M.A.; Marzio, R.; Natalicchio, I.M.; Zizzadoro, P. and De Santis, U. (1996) **Prevalence of *Cryptosporidium* in Children With Enteritis in Southern Italy.** European Journal of Epidemiology. 12: 187-190.
- 5.- Clark P.D. and Sears L.C. (1996) **The Pathogenesis of Cryptosporidiosis.** Parasitology Today Vol.12, Nº 6, Pags: 221 - 225.
- 6.- *Cryptosporidium*. URL:burgundy.uwaterloo.ca/crypto/listfigs.htm
- 7.- Díaz, C.M.G.E.; Morales, H.A.; Mondragon, A.J.; Hernández, S.G.; Ramírez, H.C.E.; Gámes, A.A.; Bernal, R.R. UMF, IMSS; Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM; Hospital Infantil de México "Federico Gomez", SSA. (1998) **Nitazoxanida en el Tratamiento de la Parasitosis Mixta en Niños.** Expuesto en el XIII Congreso Nacional de Parasitología CONAPAR' 98. Del 8 al 10 de Octubre de 1998, en la Universidad Autonoma de Zacatecas, en Zacatecas (México)

- 8.- Doumbo, O. *et al.* (1997) **Nitazoxanide in The Treatment of Cryptosporidial Diarrhea and Other Intestinal Parasitic Infections Associated With Acquired Immunodeficiency Syndrome in Tropical Africa.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 56: 637-639.
- 9.- Doyle, P.S. *et al.* (1993) **Anti-*Cryptosporidium parvum* Antibodies Inhibit Infectivity *In Vitro* and *In Vivo*.** Infect. Immunology. 61(10): 4079-4084.
- 10.- Flanigan, T.P. and Soave, R. (1993) **Cryptosporidiosis.** Prog. Clin. Parasitology. 1-20.
- 11.- Forney, R.J.; Yang, S. and Healy, C.M. (1996) **Protease Activity Associated With Excystation of *Cryptosporidium parvum* Oocysts.** Journal of Parasitology. 82(6): 889-892.
- 12.- García S.L and Bruckner A. D. (1988) **Diagnostic Medical Parasitology.** Editorial ELSEVIER Science Publishing Co. Inc. E.U.A. 44-50.
- 13.- Gardiner. *et al.* (1988) **Atlas de Parásitos Protozoarios en Tejidos Animales.** USDA. Agriculture Handbook. 516.
- 14.- Goodgame, R.W. (1996) **Understanding Intestinal Spore-Forming Protozoa: Cryptosporidia, Microsporidia, *Isospora* and *Cyclospora*.** Ann. Intern. Medicine. 124(4): 429-441
- 15.- Graczyk, K.T.; Fayer, R. and Cranfield, R.M. (1996) ***Cryptosporidium parvum* is not Transmissible to Fish, Amphibians or Reptiles.** Journal of Parasitology. 82(5): 748-751.
- 16.- Guariano, A. *et al.* (1994) **Enterotoxic Effect of Stool Supernatant of *Cryptosporidium*-Infected Calves on Human Jejunum.** Gastroenterology. 106: 28-34.
- 17.- Heyworth, M.F. (1992) **Immunology of *Giardia* and *Cryptosporidium* Infections.** Journal of Infections Diseases. 166(3): 465-472.

- 18.- Katz M. and Gwadz R. (1989) **Parasitic Diseases.** Editorial Springer-Verlag.
2ª Edicion. E.U.A. 152-156.
- 19.- Keusch, G.T. *et. al.* (1995) **Cryptosporidia Who is at Risk?** Schweiz Med.
Wochenschr. 125(8): 889-908.
- 20.- Kreier J.P. and Baker J.R. (1987) **Parasitic Protozoa.** Editorial Allen & Unwin Inc.
2ª Edicion. London. 140-143.
- 21.- Leech H.J.; Merle A.S.; Root K.R. (1988) **Parasitic Infections.** Editorial Churchill-
Livingstone. E.U.A. 109-119.
- 22.- Long L.P. (1990) **Coccidiosis Of Man And Domestic Animals.** Library of Congress
Cataloging-in- Publication Data. E.U.A. 156-180.
- 23.- Lopez, M.R.; Gutierrez, Q.M.; Romero, C.R. (1994) **Microbiología y Parasitología
Médicas.** Méndez Editores. 2ª Edicion. México. 358-363.
- 24.- Martinez, L.P y Morales, M. A. (1995) **Manual de Parasitología Médica.** F.E.S.C.
México 13-14, 20-22, 24-25, 85.
- 25.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta
G.A **Cryptosporidiosis: A Guide for Persons with HIV/AIDS.**
[wysiwyg://82/http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/hiv aids.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/hiv aids.htm)
- 26.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta
G.A. **Cryptosporidiosis: An Emerging, Highly Infectious Threat.**
<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no1/guerrant.htm>

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- 27.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta
G.A. **Cryptosporidiosis in the Child Care Setting.**
<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/abc/facts08.htm>
- 28.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Diseases Control and Prevention. Atlanta
G.A. **Cryptosporidiosis: Control and Prevention.**
[wysinwyg://76/http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/control.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/control.htm).
- 29.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta
G.A. **Cryptosporidiosis: Fact Sheet.**
[wysiwyg://79/http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/cryptos.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/cryptos.htm)
- 30.- National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta
G.A. **Cryptosporidiosis: Sources of Infection and Guidelines for Prevention.**
[wysiwyg://85/http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/sources.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/crypto/sources.htm)
- 31.- O'Donoghue, J.P. (1995) **In *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals.** International Journal for Parasitology.
- 32.- Piekarslei G. (1989) **Medical Parasitology.** Editorial Springer-Verlag. Alemania 85-88.
- 33.- Romero C.R. (1993) **Microbiología y Parasitología Humana.** Editorial Médica Panamericana. 1ª Edición. México. 526-530.
- 34.- Sears, C.L. and Guerrant, R.L. (1994) **Cryptosporidiosis: The Complexity of Intestinal Pathophysiology.** Gastroenterology. 106: 252-267.
- 35.- Zu S-X, Fang G-D, Fayer R and Guerrant L.R. (1992) **Cryptosporidiosis: Pathogenesis and Immunology.** Parasitology Today. Vol. 8, Nº 1, Pags: 24-27.