



48A  
2ej  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES**

ZARAGOZA

**DETERMINACION DE CRYPTOSPORIDIUM EN  
LACTANTES MENORES CON SINDROME  
DIARREICO DE EVOLUCION PROLONGADA.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A :

**LIDIA CORA VALERIANO BUENROSTRO**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

SEPTIEMBRE, 1990



## **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 está 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.

## INDICE GENERAL

	pág
I. INTRODUCCION	I
1.1 Aspectos historicos de <u>Cryptosporidium</u>	6
1.2 Clasificación	8
1.3 Morfología	11
1.4 Ciclo de vida	12
1.5 Vias de transmisión	15
1.6 Mecanismos de patogenicidad	18
1.7 Distribución por edad y sexo	20
1.8 Epidemiología	21
1.9 Diagnóstico	25
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
3. OBJETIVOS	29
4. HIPOTESIS	30
5. METODOLOGIA	31
6. DISEÑO EXPERIMENTAL	33
7. RESULTADOS	38

	pág.
8. DISCUSION DE RESULTADOS	47
9. CONCLUSIONES	53
10. ANEXO	55
II. BIBLIOGRAFIA	56

## INTRODUCCION

Las enfermedades diarréicas constituyen uno de los problemas de salud pública más importante en los países en vías de desarrollo; es comunmente definida como un incremento en la frecuencia de deposiciones, y dependiendo de la edad del individuo estas pueden ser de consistencia líquida ó semilíquida, asociadas frecuentemente con anorexia, nausea, vómito, dolor abdominal y en algunas ocasiones con fiebre. (9)

La enfermedad diarréica es la causa más frecuente de morbilidad en los pueblos insalubres, en donde además, las tasas de -- mortalidad siguen siendo muy elevadas. (3,4,12) Las diarreas imponen una pesada carga en la morbi-mortalidad durante la edad -- pediátrica; si bien la tendencia histórica es un descenso franco, pues en los últimos cincuenta años la tasa de mortalidad ha disminuído más de cuatro veces, en países desarrollados, tal si -- tuación dista de ser satisfactoria, y esto es importante dado -- que México se encuentra entre las naciones con tasa de mortalidad más elevada en el mundo. (12)

El grupo etáreo más afectado es el de los lactantes, seguido por los pre-escolares. En el primer año de vida los factores -- que contribuyen para una predisposición del síndrome son: una ablactación temprana, la ignorancia y el descuido en la prepara

ción de las fórmulas lácteas y otros alimentos; también encontramos deficiencias del saneamiento ambiental, poca accesibilidad a los servicios de atención médica primaria y que además -- contribuyen en las diferencias regionales de enfermedad diarreíca y su correspondiente letalidad para que sean muy disímolas en las diversas entidades federativas. (3,4,6)

La mayoría de los casos de diarrea de origen infeccioso en niños son debido a agentes virales o bacterianos. Sin embargo - entre el 1-5% de esos pacientes pueden ser consecuencia de parásitos protozoarios. (4,10,12)

La transmisión de las infecciones intestinales por protozoarios es un problema sanitario, de higiene y del subdesarrollo, y los factores que la favorecen se pueden resumir como:

- a) Defecación al aire libre en viviendas rurales y suburbanas - carentes de servicios sanitarios.
- b) Características del trabajo rural; los campesinos que trabajan lejos de las viviendas con letrinas tienen la necesidad de defecar en la tierra.
- c) Carencia de agua.
- d) Falta de educación para el conocimiento sobre la transmisión de los parásitos.
- e) Contaminación fecal múltiple; contaminación de alimentos , - contaminación de agua, transmisión directa por las manos de personas infectadas. (3,6,21)

Debido a ésto, las infecciones por protozoarios intestinales constituyen grandes y graves problemas médicos y de salud pública, por su alta prevalencia, su distribución prácticamente mundial y su efecto tanto sobre el estado nutricional, como en el desarrollo físico y mental de los individuos afectados por la influencia que ejercen sobre las condiciones de salud de los niños y por la baja capacidad de los adultos en el trabajo. (3,4)

En México , la gastroenteritis es uno de los principales motivos de consulta y hospitalización, siendo más frecuente en -- las regiones tropicales y subtropicales, con estados de desnutrición, predominando en los lactantes, sobre todo en menores -- de seis meses, disminuyendo su frecuencia conforme aumenta la edad. (6)

En las colonias populares densamente pobladas del Valle de México y del Distrito Federal, las encuestas parasitológicas en niños han demostrado una prevalencia elevada de giardiasis, amebiasis, enterobiasis, ascariasis e hymenolepiasis. (3,6,12)

En el cuadro 1 se mencionan las frecuencias de gérmenes enteropatógenos en niños menores de tres años estudiados en la Ciudad de México, en donde observamos que a la lista de parásitos intestinales tradicionales como Entamoeba hystolitica, Giardia

---



---

<u>Microorganismo</u>	<u>Porcentaje aproximado</u>
<u>Rotavirus</u>	12 - 20
<u>Adenovirus</u>	4
<u>S.H. virus</u>	5
<u>E. coli</u>	
ETEC	10 - 22
EPEC	5 - 10
EIEC	1
<u>Campylobacter jejuni</u>	12 - 15
<u>Shigella sp</u>	8 - 12
<u>Salmonella sp</u>	2 - 6
<u>Giardia lamblia</u>	2 - 6
<u>E. histolytica</u>	1
<u>Cryptosporidium</u>	2
Infecciones múltiples	15 - 20

---

Cuadro 1  
 Germen enteropatógenos encontrados en  
 niños menores de tres años en la Ciudad de México .



Iamblia se ha agregado otro agente patógeno Cryptosporidium; - los primeros parásitos mencionados son exclusivos del hombre, y Cryptosporidium a pesar de ser un parásito propio de numerosas especies de animales, en las cuales origina un síndrome en el que predomina la diarrea, solo en fechas recientes se ha demostrado que puede infectar al hombre en el que produce el mismo - síntoma. (1,11,13,16) En pacientes inmunologicamente sanos presenta diarreas benignas y de curso autolimitado,(11,19) sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos y entre estos en pacientes afectados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) provoca diarrea crónica o intermitente (29) y con relativa frecuencia se asocia a los síndromes de mala absorción intestinal y/o deficiencia de algunos nutrientes como grasas, carbohidratos ( D-xilosa, lactosa) y vitaminas ( A, B<sub>12</sub>, ácido fólico . ( 23, 27)

En México, Olarte y col. encontraron Cryptosporidium en --- 2.3 % de 263 niños menores de tres años de edad con diarrea aguda y en 0.8 % de 264 controles sanos de la misma edad, estudiados en enero de 1985 a marzo de 1986. ( 12)

## ASPECTOS HISTORICOS

Cryptosporidium se había considerado un parásito con importancia en veterinaria médica solamente, las primeras descripciones de este parásito se remontan al año de 1895 cuando fue estudiado por Clark; pero no es sino hasta 1907 cuando Tyzzer lo estudia - en la mucosa gástrica de ratones asintomáticos y lo describe como un coccidio, dadas sus características propias, usando microscopía con resolución limitada. (1,11,13)

A partir de 1910 Tyzzer describe a C. muris con gran detalle y por otro lado se estudia a Cryptosporidium en animales vertebrados nombrando a cada especie de Cryptosporidium dependiendo del animal del que se había aislado y estudiado. En el cuadro 2- se proporciona la lista de las especies encontradas y su hospedero. (11,22)

El primer caso de criptosporidiosis en humanos fue reportado en 1976, en 1982 se reportaron 7 casos y cada vez se tiene mayor conocimiento sobre el número de pacientes infectados. (13,24)

ESPECIE	AUTOR	HOSPEDERO
<u>C. agni</u>	Barker y Carbonell 1974	animales bovinos domes- ticos.
<u>C. ameiviae</u>	Arcay de Perasa y Bas- tardo de San Jose 1969	Ameiva ameiva (lagarto)
<u>C. anserium</u>	Proctor y Kemp 1974	Anser anser (ganso do- méstico).
<u>C. bayleyi</u>	Current, Upton 1986	Gallus gallus (pollo - doméstico )
<u>C. bovis</u>	Barker y Carbonell	Bos taurus (buey).
<u>C. croteli</u>	Triffil 1925	Crotalus confluens --- (serpiente).
<u>C. ctenosauris</u>	Dusznski 1969	Costa rican lizzard - (lagarto).
<u>C. Cuniculus</u>	Inman y Takeuchi 1979	Oryctolagus cuniculus (conejo doméstico).
<u>C. felis</u>	Iseki 1979	Felis catis (gato do- méstico).
<u>C. garnhami</u>	Bird 1981	Homo sapiens.
<u>C. lampropeltis</u>	Anderson y Marquardt 1968	Lampropeltis calligas- ter (lagarto)
<u>C. meleagridis</u>	Slavin 1955	Meleagridis gallopavo (guajolote, pavo).
<u>C. muris</u>	Tyzzer 1907	Mus musculus (ratón do- méstico).
<u>C. nasorum</u>	Hovver 1961	Nazo literatus (pez) .
<u>C. parvum</u>	Tyzzer 1912	Meleagris gallopavo.
<u>C. rhesi</u>	Levine 1981	Macaca mulatta ( mono- rhesus).
<u>C. serpentis</u>	Levine 1961	colubrid crotalid.
<u>C. Tyzzero</u>	Levine 1961	Gallus gallus (gallo doméstico).

cont....

continua....

<u>C. vulpis</u>	Netzel 1938	Vulpes vulpes (zorro común europeo).
<u>C. wrairi</u>	Vetterling 1971	Cavia porcellus (conejillo de indias).

---

#### Cuadro 2

Especies de Cryptosporidium encontrados y sus hospederos . ( 22 )

#### CLASIFICACION

Todas las especies de Cryptosporidium están taxonómicamente clasificadas dentro del Phylum Apicomplexa, orden Eucoccidida, y familia Cryptosporididae. En la figura 1 se señala su posición taxonómica y en el cuadro 3 las características biológicas.

CLASIFICACION	NOMBRE	CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS
Protozoa		Organismos formados por una sola célula, que realiza todas las funciones esenciales del metabolismo y reproducción.
Phylum	Apicomplexa	Complejos apicales con anillo polar.
Clase	Sporozoasida	Las formas típicas carecen de organelos de locomoción se desplazan por deslizamiento ó ondulación.
Subclase	Coccidia	Ciclo de vida por merogonia - gametogonia y esporogonia. Siendo esporozoarios con generaciones alternas sexuales y asexuales.
Orden	Eucoccidiida	Merogonia en vertebrados.
Suborden	Eimeriina	Los gametos femeninos y masculinos se desarrollan independientemente.
Familia	Cryptosporidiae	Su ciclo de vida es monoxeno,

## Cuadro 3

Características biológicas de acuerdo a la clasificación taxonómica a la que pertenece Cryptosporidium . ( 22 )

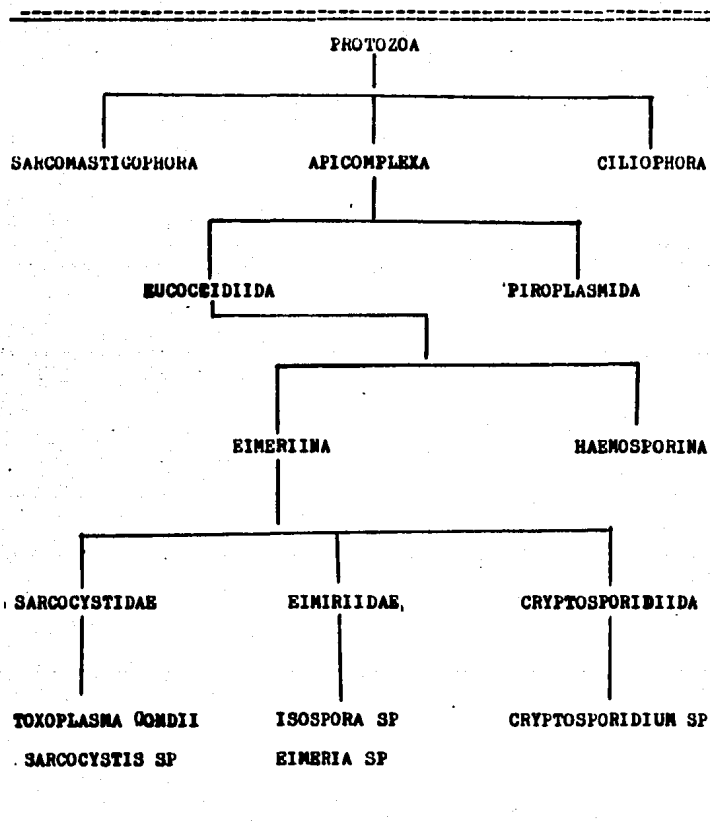


Fig 1 Posición taxonómica de CRYPTOSPORIDIUM.

(18,26)

## MORFOLOGIA

Cryptosporidium está taxonómicamente relacionado con otros coccidios que infectan a humanos como; Toxoplasma gondii, Isospora belli, y especies de plasmodium. (1,13,19)

Dentro de los coccidios, el género Cryptosporidium tiene los oocitos más pequeños, los cuales son esféricos u ovoides, esporulados, tienen un tamaño promedio de 5.6 a 7.4 micras de diámetro, cada oocito esporulado contiene cuatro esporozoitos y un residuo de pequeños gránulos, limitando al oocito una membrana esférica u ovoide. ( 11,22)

La mayoría de los autores no reportan esporozoitos dentro de los oocitos. Fallas morfológicas frecuentemente son observadas en los oocitos de coccidia como microfilamentos y gránulos polares, pero no fueron demostrados en los oocitos de Cryptosporidium, La pared del oocito es lisa e incolora y en promedio tiene 50 nm de densidad; está compuesto de dos capas electrodensas separadas por un pequeño espacio electro-luciente. Algunas veces con el microscopio de luz puede verse una tenue línea extendiéndose de un polo del oocito hacia el otro lado de la circunferencia de la pared, esto ha sido bien definido con el microscopio de transmisión de electrones como una sutura o unión-

que se dispersa durante la exitación. (22)

Los oocitos maduros y los esporozoitos móviles se cree que - pueden ser las formas infectantes del parásito, se han encontrado ciertos rasgos característicos de semejanza entre Cryptosporidium y Pneumocystis carinii que son :

1. Ambos parásitos se encuentran en las superficies del epitelio en pacientes con grandes defectos de células T.
2. Ambos son morfológicamente similares.
3. Ninguno de los dos puede ser cultivado in vitro.

#### CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de Cryptosporidium es monoxeno, la fase infectante que son los oocistas maduros (trofozoitos) son expulsados de las heces de los animales enfermos y están listos para infectar a otros animales (no requieren madurar en el medio ambiente como sucede con otros coccidios). (1)

Los esporozoitos del oociste son liberados por mecanismos desconocidos, pero parece que el desenquistamiento se favorece



por la digestión de la pared quística en el conducto gastroin--  
testinal del huésped infectado. Los esporozoitos liberados in--  
fectan células epiteliales del intestino delgado para transfor--  
marse en trofozoito (el cual es el estado de desarrollo más tem--  
prano del parásito). (19)

Se debe señalar que los trofozoitos y todos los demás esta--  
dios del parásito se encuentran únicamente en la superficie de  
la membrana del epitelio intestinal, nunca dentro del citoplas--  
ma de las células o debajo de la capa epitelial. Sin embargo --  
ocasionalmente, otras superficies epiteliales han sido infecta--  
das (ejem; vesícula biliar, conductos pancreáticos y biliares,  
en aves ocurre en el epitelio traqueal). (1,11,13)

El trofozoito forma una unión electrodena en la interfase --  
con la célula huésped, el citoplasma del trofozoito es rodeado  
por cuatro membranas distintas. El origen de las membranas no --  
se ha establecido pero las últimas evidencias indican que las --  
dos membranas externas son originadas por el huésped, por lo --  
que la localización del parásito es intracelular, pero extraci--  
toplásmica. Fig 2 (1,13)

El trofozoito sufre tres divisiones nucleares para formar --  
ocho merozoitos; esta estructura se ha llamado esquizonte de --

primera generación, posteriormente los ocho merozoítos formados son liberados e infectan otras células epiteliales, estas últimas cambian de forma, se redondean y sufren dos divisiones nucleares para formar el esquizonte de segundageneración. (11,22)

En la fig. 3 se presenta el ciclo sexual, en el cual el macrogametocito (femenino) presenta pequeñas modificaciones y se convierte en macrogameto y el microgametocito (masculino) sufre una división nuclear y forma varios microgametos (el número de divisiones no se conocen). (22,26)

Un microgameto se une con un macrogameto para formar el cigoto y éste se desarrolla para formar un ooquiste, para así -- completar el ciclo de vida del Cryptosporidium. (1,21)

Se sugiere que Cryptosporidium puede sufrir múltiples ciclos de esquizogonia, al menos en huéspedes inmunodeficientes. (28)

## VIAS DE TRANSMISION

La transmisión de este protozooario intestinal es semejante - al de los demás protozoarios intestinales, la transmisión de -- Cryptosporidium es a través de un huésped a otro, pudiendo ser de animal - animal ó animal - humano y en pocas ocasiones como humano - animal; efectuándose así un paso directo. Otra vía de transmisión es la ingestión de oocistas maduros, (los cuales -- son infectantes inmediatamente después de ser eliminados por - las heces) a través de manipulación de niños que se atienden - en los centros de salud, (2,11,30) en pacientes homosexuales, por exposición con objetos, agua ó alimentos contaminados con las formas infectantes. Por ejemplo, el contacto con excretas de animales con oocitos de Cryptosporidium infecta a veterinarios y personal-veterinario que los manipulan. (10,22,26) (16)

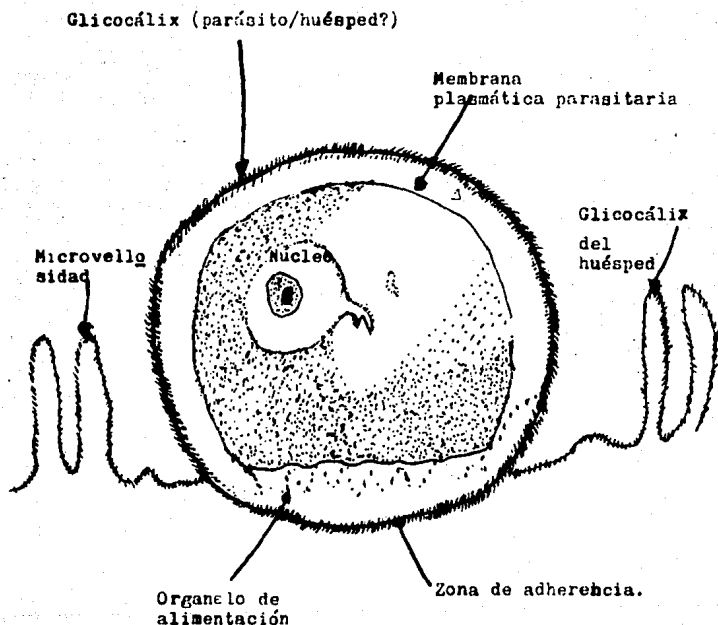


Fig 2 Cryptosporidium se considera como parásito intracelular pero extracitoplásmico.

( 1 )

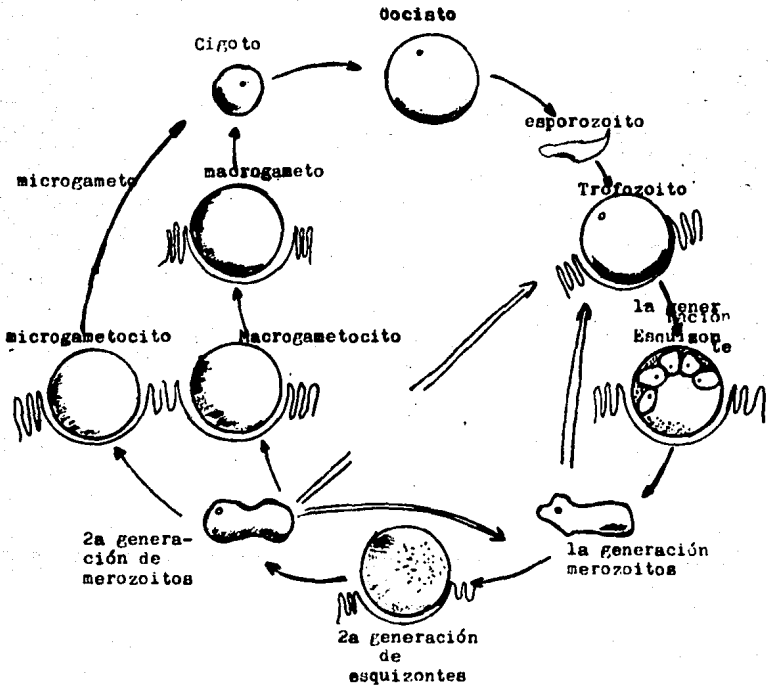


Fig 3 . Ciclo de vida de *CRYPTOSPORIDIUM* .

(1,11,19).

## MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

Gracias a estudios realizados en terneras, carneros, cabras, ratones, conejos, serpientes, gansos, pavos, y pavo real entre otros animales, se han conocido diferentes estadios de Cryptosporidium, así como su patogenicidad, aprovechando los datos -- histopatológicos de biopsias que han ayudado a identificar sitios de infección de Cryptosporidium en faringe, esófago, estómago, duodeno, yeyuno, ileon, apéndice, colon, recto, vesícula biliar y epitelio bronquial. (1,21)

La relación de Cryptosporidium en el epitelio intestinal -- del hospedero aparentemente es única ya que el estudio de la -- estructura revela que el organismo invade el borde de las microvellosidades de las células epiteliales, adheriéndose a los enterocitos y encerrándolos en una vacuola parasitophora. (1, 13,22) La membrana, envuelta de la vacuola es observada sobre -- célula huésped, la posición del organismo es caracterizado como intracelular-extracitoplásmica, ya que se han demostrado -- cuatro membranas del oocito, una de las cuales pertenece a la membrana de la célula huésped infectada. (13,26) Usualmente la mucosa intestinal aparece intacta; las lesiones encontradas se describen como criptas elongadas, con una pequeña inflamación infiltrada en la lámina propia con linfocitos polimorfonuclea-

res y células plasmáticas e hiperplasia de las placas de Peyer (20,23,29)

La fisiopatología de la pérdida de líquidos no se ha definido completamente, pero por los síntomas observados existe la posibilidad que la causante de ella sea una toxina parecida a la del cólera. (2, 17)

La histopatología de la criptosporidiosis en hospederos inmunocompetentes aún no se describe claramente. (29) En pacientes con inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se ha encontrado Cryptosporidium en epitelio de bronquios y alveolos, la criptosporidiosis en este tipo de pacientes frecuentemente cursa con infecciones asociadas, por lo que no existe recuperación plena del paciente. (19,23,29)

## DISTRIBUCION DE EDAD Y SEXO

El rango de edad para que Cryptosporidium infecte es de tres días (se sugiere que la vía de contagio sea vaginal) a 95 años, disminuyendo la susceptibilidad conforme aumenta la edad. (7,12 25).

Los niños más susceptibles son menores de dos años en los -- cuales existe una gran prevalencia. La infección no está fundamentada por el alimento materno, se han realizado dos estudios comparando a pacientes que han recibido pecho materno y no se -- ha encontrado variación significativa con los que no han sido -- alimentados por pecho materno. (22,24) Pero aún así se sugiere la posibilidad que la ablactación temprana influya en la predig posición del lactante para adquirir dicha infección. (12,22).

Con lo que se refiere al sexo, en los estudios realizados no se señala diferencia ó variación significativa en pacientes inmunológicamente sanos, ya que en pacientes inmunodeprimidos se ha observado un incremento en el sexo masculino. ( 1)



## EPIDEMIOLOGIA

La prevalencia y la intensidad de este protozooario en el mundo, presenta variaciones considerables de distribución y aparición estacional a causa de los factores socioeconómicos e inmunitarios. (1,13)

La criptosporidiosis es una enfermedad que se describió primero en animales domésticos y posteriormente en ganado vacuno ; los primeros informes de enfermos humanos se reportaron en manejadores de ganado vacuno por lo que se considera una zoonosis , (8,24) y también fué detectada en viajeros que visitaban las provincias, este tipo de casos principalmente fué estudiado en Texas, sobre la frontera con México, encontrándose enfermedades gastrointestinales en personas que regresaban de visitar la provincia. (24)

La frecuencia de criptosporidiosis en humanos aún no se ha establecido completamente, aunque se han realizado estudios donde se han seleccionado especímenes de la población como son los niños y adultos con diarrea o con otras complicaciones gastrointestinales, completándose con casos de atención médica particular o en áreas de hospitalización.

Tzipori asegura que no es común encontrar portadores asintomáticos en la población en general (basándose en un estudio que realizó con 320 pacientes sin gastroenteritis, ninguno expulsó oocistos, pero, sí existe la posibilidad de poder encontrarlos en homosexuales o en pacientes con SIDA. (1,13)

Cryptosporidium es un parásito que se ha reconocido como causante de diarreas en los trópicos, principalmente afectando a los niños.(14)

A pesar de las estadísticas de incidencia de Cryptosporidium es variable, se puede notar que su prevalencia se describe en los cinco continentes, variando su porcentaje y los meses que se presenta, a continuación en el cuadro 4 señalaremos el número de casos de diarreas reportadas en diferentes países. (17,20 28)

La criptosporidiosis prevalece más en las regiones de menor desarrollo, predominando más en climas húmedos(23,28)

PAIS	INCIDENCIA REPORTADA %
Australia	7
Costa Rica	7.9
San Antonio Texas	6
Finlandia	1
Inglaterra	2.5
Liberia	8
Noreste de Brasil	5

Cuadro 4

Frecuencia de Cryptosporidium  
en algunas partes del mundo.

(17,20,28)

La información de América Latina en individuos inmunocompetentes que presentan diarreas agudas se obtuvo a través de varios estudios estadísticos, en donde dado el porcentaje de criptosporidiosis en América Latina, se puede ubicar como un cuarto ó quinto patógeno más común.(12) ver cuadro 5

PAIS	NINOS	EDAD	POSITIVOS	
	NUM	MESES	NUM	%
Venezuela	120	24	13	10.8
Pacatuba				
Brasil	117	24	9	7.7
San José				
Costa Rica	183	9.7	8	4.4
Juriscal				
Costa Rica	95	22.7	4	4.2
México	263	36	6	2.3

## Cuadro 5

Frecuencia de Cryptosporidium  
en América Latina (12)

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los factores que influyen sobre las manifestaciones clínicas son ; especie, (en varias especies de ratas y cobayos no se desarrolla la diarrea) edad (en estudios realizados en carneros - neonatos de distintas edades, demostraron que una dosis de  $10^5$  ooquistes la presencia de la enfermedad dependia de la edad del animal), estado inmunitario (la inmunodeficiencia incrementa la susceptibilidad a la infección. (1,8)

En humanos normales inmunológicamente, la enfermedad se caracteriza por diarrea acuosa, sin sangre, por lo que la gastroenteritis es leve, siendo autolimitante; las manifestaciones -- más importantes que se presentan son:

- a) Diarrea con duración de 1 - 3 semanas.
- b) Anorexia
- c) Dolor abdominal.
- d) Fiebre.
- e) Vómito.

Los cuales son síntomas que ceden al tratamiento. (24,26)

En individuos con daño inmunitario la severidad de Cryptosporidium está determinado por el grado de inmunodeficiencia del paciente, la cryptosporidiosis se ha estudiado y detectado en

personas con SIDA, en las cuales la gastroenteritis se presenta con evacuaciones frecuentes de 25 por día, voluminosas (aproximadamente 20 litros) acompañada de sangre o células inflamatorias, con calambres en la región epigástrica, mala absorción intestinal, descenso de peso. En estudios recientes se ha encontrado náusea persistente, vómito, colestasis hepática, radiológicamente se encuentran ductos biliosos dilatados. En este tipo de pacientes existe una hipogammaglobulinemia combinada con una severa inmunodeficiencia. (26,29)

#### DIAGNOSTICO

El diagnóstico de infección humana inicialmente estuvo basada en la identificación de períodos de desarrollo en muestras de biopsias, Los períodos se reconocen por tamaño y situación - localizadas individualmente o en grupos sobre la superficie epitelial de los tractos respiratorio y gastrointestinal apareciendo como proyecciones esféricas hacia el lumen. (6,13,18)

Los inconvenientes para este tipo de diagnóstico son; la muestra es limitada ya que no puede abarcar toda la superficie afectada, la necesidad de cuidados inmediatos en el procesamiento

to del espécimen para evitar autólisis o remoción del organismo de la superficie de la membrana. (21,22)

En 1980 se identificaron los oocitos en muestras fecales teñidas con tinción de Giemsa. Posteriormente numerosas técnicas de concentración de muestras de heces se han aplicado para la detección de Cryptosporidium. (9)

A continuación mencionaremos las técnicas de concentración más utilizadas para la detección de oocitos y las técnicas de tinción. (1)

#### TECNICAS DE CONCENTRACION

1. Concentración de Sheater.
2. Flotación con sucrosa.
3. Método de Ritchie con formalina éter.
4. Método de Faust.

#### TECNICAS DE TINCION

1. Kinyou frío modificado
2. kinyou caliente.
3. Ziel Nielsen

4. Fluoresceína-auramina.
5. Auramina - rodamina.
6. Tinción de Shiff o PAS



## JUSTIFICACION AL PROBLEMA

La enfermedad diarréica ocupa el segundo lugar de morbi-mortalidad infantil (3,12,19), y este hecho por si mismo requiere de un mejor conocimiento de las causas etiofisiopatológicas de dicho proceso gastroentérico.

En una revisión realizada por la O.M.S. se encontró que la tasa de mortalidad por diarrea en niños menores de cinco años - fue mayor durante los dos primeros años de vida. (12)

En nuestro medio existe una gran demanda de servicios médicos para este problema de salud pública; desafortunadamente y a pesar del esfuerzo del equipo de salud. muchos de estos pacientes cursan con diarrea de larga evolución y de etiología desconocida.(3) Puesto que en la literatura nacional y extranjera - existen reportes de nuevos agentes etiológicos, (10,12) consideramos adecuado el realizar un estudio específicamente de Cryptosporidium por su frecuencia relativamente alta (7 - 15 %) en muestras negativas para otros agentes, (12) este estudio nos permitirá tener en mente una posibilidad más de etiología en - diarreas.

## OBJETIVOS

Determinar la frecuencia de criptosporidiosis en niños lactantes menores con síndrome diarreico de evolución prolongada, atendidos en el Hospital Infantil de Moctezuma.

Correlacionar la presencia de Cryptosporidium con la presencia de otro (S) parásitos, para poder determinar posibles factores de oportunismo de Cryptosporidium en el paciente.

Dar a conocer este estudio como otra opción para poder determinar un nuevo agente etiológico de síndromes diarreicos.

## HIPOTESIS

Si Cryptosporidium es un nuevo agente enteropatógeno causante de síndromes diarreicos, se hace necesario el empleo de exámenes específicos, rápidos y de bajo costo para discriminar las diferentes etiologías que ocasionan cuadros semejantes y así tener un diagnóstico adecuado que ayude a evitar el abuso de fármacos que enmascaran el curso de la enfermedad.

## METODOLOGIA

## MATERIAL

- 1.) Tubos de ensaye 13 x 100.
- 2.) Un paquete de algodón.
- 3.) Caja de porta - Objetos.
- 4.) Caja de parafila.
- 5.) Parrilla para tinción.
- 6.) Caja de aplicadores.
- 7.) Plumas para membretar.
- 8.) Lápiz.
- 9.) Cinta de etiquetar.
- 10.) Lápiz graso.
- 11.) Lápiz diamante.
- 12.) Cuaderno de anotaciones.
- 13.) Gradilla.
- 14.) Microscopio compuesto .

## SOLUCIONES

- 1.) Frasco de carbolfushina.
- 2.) Frasco con alcohol ácido.
- 3.) Frasco con verde brillante.
- 4.) Frasco con Formalina al 10%.
- 5.) Solución salina fisiológica .
- 6.) Frasco de Yodo - lugol.

## MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.) Testigo Cryptosporidium.
- 2.) Materia fecal.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estudiaron a 150 lactantes menores (1 - 12 meses) que fueron hospitalizados en el Hospital Infantil Moctezuma en el período comprendido de agosto a diciembre de 1989; con diagnóstico de gastroenteritis (síndrome diarreico) los cuales presentaban los síntomas de diarrea de larga evolución con episodios febriles y de etiología desconocida, de cada niño se recolectaron tres muestras fecales seriadas.

La obtención de las muestras se realizó estimulando a cada paciente para defecar, con un hisopo estéril, la muestra obtenida fue recolectada en tubos de ensayo estéril; posteriormente fue procesada en el laboratorio realizando un estudio de coproparasitoscópico directo para la identificación de protozoarios, enseguida se aplicó la prueba para la identificación de oocitos de Cryptosporidium por el método de Kinyoun en frío.

En este estudio se incluyó también a 150 niños lactantes aparentemente sanos, que no presentaban diagnóstico de gastroenteritis, estudiando tres muestras fecales seriadas de cada paciente y procesándose siguiendo el mismo desarrollo que las muestras problemáticas.

Las laminillas las examinamos usando microscopia óptica, buscando la morfología característica del oocito de Cryptosporidium sp y contrástandola con una muestra testigo positiva.

Observación: El resto de materia fecal fue preservado en formalina al 10%.

## EXAMEN MACROSCOPICO DIRECTO.

El examen de muestra directo, es obtenido por una disolución de una partícula muy pequeña de heces en una gota de solución salina fisiológica, lo que constituye un método sencillo y rápido.

La suspensión resultante debe ser lo suficientemente fina - usando un cubreobjetos para mejorar la visibilidad, en donde los resultados positivos son tan válidos como los obtenidos por las técnicas de concentración.

El examen directo presenta ciertas ventajas de diagnóstico - sobre las técnicas de concentración.

1. La flotación de soluciones hipertónicas tiende a deformar las larvas, dificultando así la diferenciación de las infecciones causadas por Strongyloides.
2. El frotis puede poner de manifiesto, las formas de protozoarios y duelas, así como ciertos huevecillos de tenias que pueden pasar inadvertidos con las técnicas de concentración.
3. El examen directo, permite estudiar los caracteres de movilidad de las formas vegetativas de protozoarios.



## METODO PARA PREPARACIONES DIRECTAS

Preparaciones no teñidas: se coloca una pequeña cantidad de material fresco seleccionado, en un portaobjetos tibio con un aplicador o asa de platino, cuidadosamente se emulsiona con una o dos gotas de solución salina isotónica de cloruro de sodio, con cuidado se coloca un cubreobjetos, evitando la formación de burbujas. Una preparación satisfactoria debe ser lo bastante delgada que permita leer los tipos de periódico a su través. La muestra se examina con objetivo seco fuerte y las formas sospechosas se observan a inmersión.

Preparaciones con yodo: la preparación con yodo se usa para examinar quistes y huevecillos, colocando en un portaobjetos de sengrasado y limpio una pequeña cantidad de heces y se emulsiona con una gota de yodo - lugol, se coloca un cubreobjetos y se observa a seco débil, posteriormente a seco fuerte las formas sospechosas.

## METODO KINYOUN

En una laminilla perfectamente limpia y desengrasada se coloca una pequeña muestra de materia fecal con un hisopo estéril. o con una asa de platino, de preferencia se escoge de los sitios mucosos, se gira el hisopo sobre la laminilla procurando - dejar una película delgada, se deja secar la muestra y se procede a fijar con calor, colocando la laminilla a 37°C durante cinco minutos.

## Procedimiento para la tinción:

1. Teñir la laminilla con solución de Kinyoun durante dos minutos.
2. Lavar con agua de la llave.
3. Decolorar con alcohol ácido durante tres minutos.
4. Lavar con agua de la llave.
5. Contrateñir con verde brillante durante un minuto.
6. Lavar con agua de la llave.
7. Dejar secar las laminillas teñidas.
8. Examinar el microscopio en seco fuerte, los objetos sospechosos se observan a inmersión.

## RESULTADOS

Este estudio se realizó a trecientos niños efectuando tres exámenes sucesivos de materias fecales, en días alternos, lo que hizo un total de novecientos muestras.

Para el estudio se dividió la población en dos grupos, cada grupo compuesto por ciento cincuenta individuos: El grupo "A" integrado por niños lactantes menores hospitalizados con un diagnóstico de síndrome diarreico de etiología desconocida los cuales presentaban evacuaciones diarréicas con cuadros febriles.

El grupo "B" fue integrado por niños aparentemente sanos - los cuales no presentaban ninguna manifestación gastroentérica pero que acudieron a consulta externa del hospital.

Se consideraron como muestras positivas a aquellas que presentaban más de dos oocitos de Cryptosporidium por campo. Esta observación se realizó con microscopio óptico en lente de inmersión, lo cual nos permitió eliminar los problemas de diferenciación entre Cryptosporidium de levaduras y de otras formas celulares, ya que la técnica de tinción Kinyoun utilizada

tiñen de un color rojo los oocitos de Cryptosporidium resaltando en un fondo verde.

Los resultados obtenidos en este trabajo son presentados a manera de tablas y gráficas.

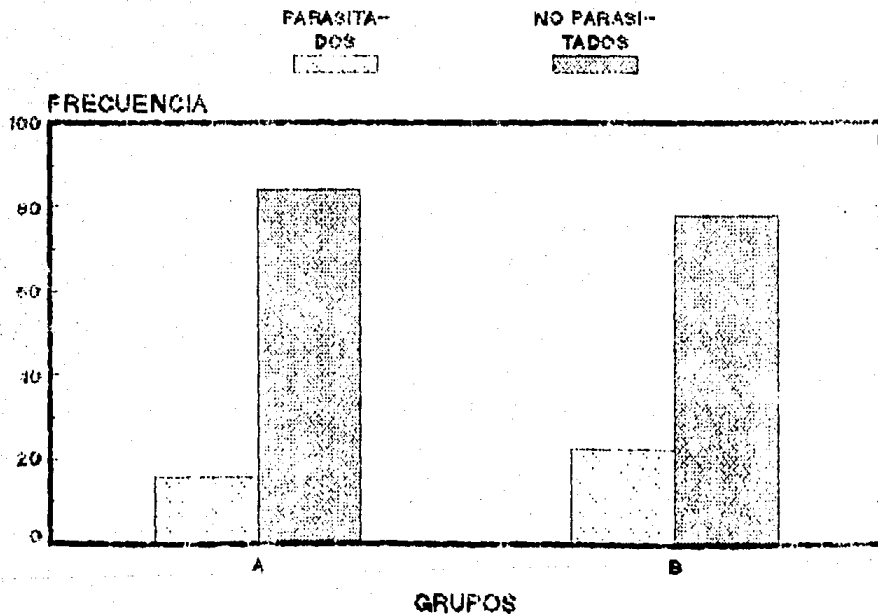
GRUPO	No DE MUESTRAS POSITIVAS	PORCIENTO DE MUESTRAS POSIT.
A		
150 lactantes con síndrome diarreico	24	15.9
B		
150 lactantes sin síndrome diarreico	34	22.4
TOTAL	58	38.3

Tabla (1) Muestras positivas a parásitos encontrados en las dos poblaciones.

GRUPO	No DE MUESTRAS NEGATIVAS	PORCIENTO DE MUESTRAS NEG.
<b>A</b>		
150 lactantes con síndrome diarreico	126	84
<b>B</b>		
150 lactantes sin síndrome diarreico	116	78
<b>TOTAL</b>	<b>242</b>	<b>62</b>

Tabla (2) . Muestras negativas a parásitos encontrados en los dos grupos.

# COMPARACION DE FRECUENCIAS PARASITADOS Y NO PARASITADOS



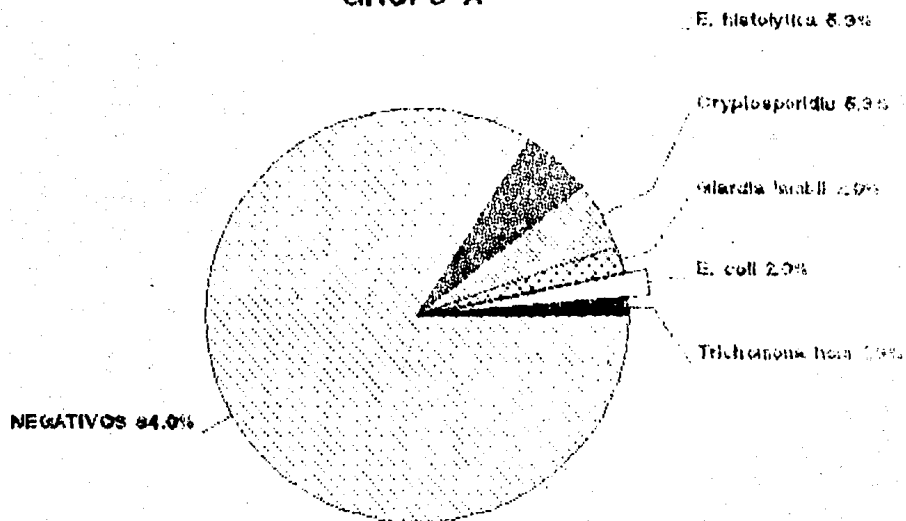
GRAFICA 1. Comparacion de frecuencias en los grupos A y B.

AGENTE	No LACTANTES POSITIVOS	% DE LACTANTES POSITIVOS
<u>Cryptosporidium</u> sp	8	5.3%
<u>Entamoeba histolytica</u>	8	5.3%
<u>Entamoeba coli</u>	3	2.0%
<u>Giardia lamblia</u>	3	2.0%
<u>Trichomona hominis</u>	2	1.3%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>15.9 %</b>

Tabla (3). Parásitos encontrados en  
Grupo "A" .

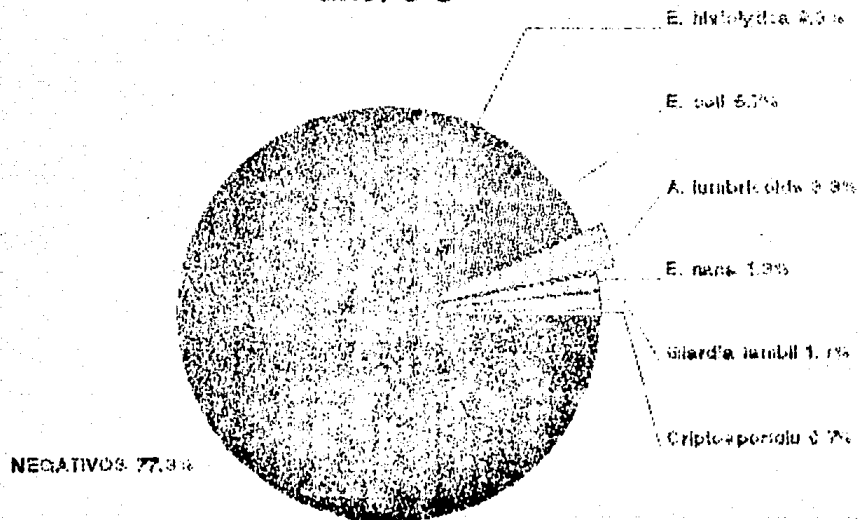


## FRECUENCIA DE PARASITOS ENCONTRADOS GRUPO A



GRAFICA 2. Parasitos encontrados en el grupo A.

## FRECUENCIA DE PARASITOS ENCONTRADOS GRUPO B



GRAFICA 3. Parasitos encontrados en el Grupo B.

AGENTE	No LACTANTES POSITIVOS	% LACTANTES POSITIVOS
<u>Entamoeba histolytica</u>	14	9.3
<u>Entamoeba coli</u>	10	6.6
<u>Ascaris lumbricoides</u>	5	3.3
<u>Giardia lamblia</u>	2	1.3
<u>Endolimax nana</u>	2	1.3
<u>Cryptosporidium</u> sp	1	0.6
TOTAL	34	22.4

Tabla (4) . Parásitos encontrados en el grupo "B" .

## DISCUSION DE RESULTADOS

En este estudio encontramos el 15.9% de parasitosis (24 de - 150 individuos) en la población "A" (tabla 1) lo que nos da un 84% (126 de 150 individuos) de frecuencia de no parasitados; pero dentro de este grupo no debemos de descartar la presencia de otros gérmenes patógenos de las familias de virus o de bacterias

Por lo que respecta a la población "B" la frecuencia de parasitosis alcanzó el 22.4% (34 de 150 ind.) y su porcentaje de -- muestras no parasitadas alcanzó el 78% (117 de 150 ind.) .  
ver tabla 2 gráfica 1.

Al efectuar el estudio comparativo de parasitosis entre las dos grupos, (gráfica 1) encontramos que en el grupo "A" la incidencia es menor al del grupo "B" aunque esperabamos una mayor incidencia para el grupo "A", esta discrepancia de frecuencia de individuos parasitados y no parasitados (graf 1) es debido a - que el grupo "B" estuvo compuesto por una población más variada (lactantes menores, preescolares y escolares) a lo que atribuímos el alto porcentaje. Lo ideal hubiera sido el haber tenido a niños lactantes menores fuera del hospital.

En los datos obtenidos el parásito Cryptosporidium se encontró con una incidencia del 5.3% del total de parasitados del -- grupo "A" (8 de 150 niños), (tabla 3) el cual es un valor alto -- en comparación a las cifras reportadas en otros estudios realizados como: El estudio efectuado por Olarte y col. en el Hospital Infantil de México, en donde encontraron una incidencia del 2.3% de 263 niños menores de tres años (14) y el estudio realizado en una guardería en la ciudad de México en donde se encontró una frecuencia del 2.08% (4 de 192 individuos) en una población integrada por lactantes, preescolares y adultos, reportando que las muestras positivas fueron de niños que se encontraban entre los ocho meses y cuatro años. (15)

En el grupo "B" del estudio que realizamos se encontró el -- 0.6% del total de parasitados para Cryptosporidium . (tab4, gr3) Cabe mencionar que la muestra positiva correspondió a una niña de guardería, la cual anteriormente había presentado cuadros -- diarreicos, de los cuales no se conoció su causa.

Comparativamente podemos observar que la presencia de Cryptosporidium en el grupo "A" es más elevada que el grupo "B", esto se puede deber a dos factores; primero a la edad de los individuos puesto que en el grupo "A" los lactantes se encontraban entre los tres y ocho meses y el grupo "B", como anterior --

mente se mencionó estaba constituido por preescolares y escolares por lo que su rango de edad se encontraba de los seis meses a los diez años. El segundo factor se debe a que los niños --- del grupo "A" todos presentaban cuadros diarréicos .

En este estudio observamos el predominio de Cryptosporidium en niños lactantes con síndrome diarréicos, y que su presencia en pacientes aparentemente sana es rara.

También así observamos el predominio de parásitos de los -- dos grupo (tabla 3,4) encontrándose parásitos clásicos como : Entamoeba histolytica, Entamoeba coli, Giardia lamblia.

Entamoeba histolytica se le encontró con una incidencia de 9.3% del total de parasitados en el grupo "B"; en el grupo "A" los valores obtenidos fue del 5.3%, ocupando los primeros lugares comparativamente con relación a los otros parásitos encontrados. (graf 2) .

Entamoeba histolytica sigue considerándose como un protozoo importante en los problemas gastroentéricos de la población en general, tanto en la ciudad de México donde se han realizado diversos estudios epidemiológicos, así como en otros países la

tinoamericanos (Chile, Brasil, Ecuador) en donde su frecuencia le concede el primer lugar.

También cabe señalar que la frecuencia de la infección amibiana medida por la alta incidencia de quistes de E. histolytica en heces arroja la cifra de 500 millones de individuos infectados en todo el mundo, predominando en Asia, Africa, Centro y Sudamérica. (14)

Entamoeba coli se encontró con una incidencia del 2.0% del total de parasitados en el grupo "A" y en el grupo "B" se encontró el 6.6%. Es un parásito considerado como comensal, del cual su presencia en las zonas urbanas está en función de los hábitos higiénicos, lo que influye en su prevalencia.

Giardia lamblia es un habitante del intestino delgado, distribuido mundialmente, la infección se adquiere por vía fecal-oral con quistes maduros. Se le encuentra en regiones de clima cálido tropical, su prevalencia se asocia a las malas condiciones higiénicas, se encuentra el 15 - 30 % de la población infantil, (14) por lo que su importancia como productor de diarrea ha aumentado. Este parásito lo encontramos con una frecuencia del 2.0% del total de parasitados del grupo "A" y 5.9% en el --

grupo "B" . ( tabla 3,4) su incidencia encontrada en las dos poblaciones es baja en comparación con las citadas anteriormente, posiblemente por el tipo de clima que predomino durante el análisis de muestras.

Ascaris lumbricoides se considera como un parásito predominante de zonas templadas y tropicales, abundando en países cálidos sobre todo donde la sanidad es deficiente. (5) La ascariasis ocurre a todas las edades, pero es más frecuente a la edad de 5 - 9 años y en aquellos individuos que están más expuestos al parásito en el suelo contaminado. Este parásito fue detectado en el grupo "B" con una frecuencia del 3.3 % del total de individuos. (tab.4, graf 3) . La presencia de A.Lumbricoides - en esta población se debe probablemente a que en el grupo de estudio había varios preescolares y escolares.

Endolimax nana se considera como un parásito comensal del intestino, como observamos en las gráficas solo se encontró los quistes de E. nana en el grupo "B" con una incidencia baja de 1.3 % .

Trichomona hominis es un flagelado que invade mucosa intestinal; en las materias fecales diarréicas y frescas se presenta moviéndose rápidamente, emitiendo extensiones de su citoplasma a manera de pseudópodos (10). La presencia de T.hominis en el



grupo "A" (tab. graf 2) nos indica que el huésped ingirió ali-  
mentos o agua contaminados con heces y su presencia en el lac-  
tante menor es perjudicial .

## CONCLUSIONES

En el presente estudio logramos identificar a Cryptosporidium sp en un 5.3% de la población conformada por niños lactantes con diarrea y cuadro febril. Además que se encontró como agente etiológico de la diarrea, desde el punto de vista parasitario, pues no se asoció a ningún otro parásito. En el grupo control (grupo "a") se encontró un 0.6% de Cryptosporidium sp .

La identificación de este agente se llevó a cabo por medio de la técnica de Kinyoun la cual resultó adecuada para la observación de los oocitos.

A parte de Cryptosporidium sp se identificó en el grupo problema (grupo "A") : Entamoeba histolytica 5.3% , Entamoeba coli 2.0%, Giardia lamblia 2% y Trichomonas hominis 1.3% .

En el grupo "B" se encontró: Entamoeba histolytica 9.3% , Entamoeba coli 6.6% , Ascaris lumbricoides 3.3% , Giardia lamblia 1.3% y Endolimax nana 1.3%

Cryptosporidium sp es un parásito cuyo conocimiento epidemiológico es prácticamente reciente y por lo tanto escaso, aun que se le ha asignado como agente casual de diarreas. Para su identificación se sugiere un estudio microscópico minucioso de la materia fecal por el método de Kinyoun para la búsqueda de oocitos.

## ANEXO A

## PREPARACION DE SOLUCIONES

## 1.) Kinyoun carbol-fucsina.

Fucsina alcalina en polvo.	4.0 gr
Alcohol 95% .	20.0 ml
Fenol (líquido).	8.0 ml
Agua destilada.	100.0 ml

Disolver la fucsina en el alcohol.

Mezclar fenol y agua.

Combinar las soluciones.

## 2.) Alcohol ácido.

Acido clorhídrico concentrado.	3.0 ml
Alcohol etílico 95% .	97.0 ml

Combinar las soluciones.

## 3.) Verde brillante.

Verde brillante (polvo)	2.0 gr
Hidroxido de potacio 1%	2.0 ml
Agua destilada	198.0 ml

Combinar las soluciones.

## BIBLIOGRAFIA

1. Amador Lopez H. "Criptosporidiosis" Infectología. - 6(8):3-8;1986.
2. Alpert G., Bell L., Kipatrick C., Budnick L., Campos J., Friedman H., Flokic S., "Outbreak of cryptosporidiosis in a care center" Am J Dis Child. 139;1023-1035;1986.
3. Botero D. "Persistencia de parasitosis intestinales en América Latina" Bol. of Saint.Panam. 90(1);39-45;1981.
4. Botero D., Olarte J. "Etiopatogenia de las diarreas infecciosas" Progresos en pedoatría. Bol. Med. Hosp. - Inf. Méx. 42(1);66-72;1985.
5. Brown W. "Parasitología clínica" Ed Interamericana 4ta ed. México 1985.
6. Carrada T. "Las parasitosis humanas en México" Bol. Med. Hosp. Infan. Méx. 42(1);73-77;1985.
7. Casemore D., Jackson B., "Sporadic sryptosporidiosis in a children" The Lancet. 17(8);679;1983.
8. D'Antonio R., Winn R., Taylor J., Gustafson T., Rhoses M. "A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal -- hosts" Ann. Inter. Med. 103(6);886-888;1985.
9. Derrick B. "Sensitive, rapid, simple methods por detecting cryptosporidium in faeces" The Lancet. 2(11);1149;- 1983.

10. raust C., Kusell., Jung R. "Parasitología clínica" 1ra edición Editorial Salvat México 1981.
11. Fayer L., Ungar B. "Cryptosporidium sp and cryptosporidiosis" Microb. Rev. 50(4);458-480;186;1986.
12. Gomez F. "Enfermedades diarreicas en el niño" 9a edición. EEdiciones Médicas del Hospital Infantil. 1987.
13. Gonzalez B., Reyes M., Conde G., Calderon J. "Cryptosporidiosis" Infectología 6(6);140-145;1985.
14. Guerrant R., Lohr J., Williams M. "Acute infectious -- diarrhea L.Epidemiology, etiology and pathogenesis". Ped. Infec. Dis. 5(3);353-357;1983.
15. Jandette Zárate C. "Frecuencia de quistes de Cryptosporidium en niños menores de seis años que asisten a la guardería del IHN y personal adulto que labora en el mismo" Tesis profesional ENEI Zaragoza UNAM 1989.
16. Koch K., Shankey G., Weinstein R., Current J. "Criptosporidiosis in hospital personnel; evidence for person to person transmission." Ann. Intern. Med. 102;593-596; - 1985.
17. Mathan M., Venkatesan R., Mathew. "Cryptosporidium and diarrhea in southern Indian children" Lancet 11(1); -- 1172-1175;1984.

18. Nasrrala K. "Complejidad etiológica de la diarrea" *Infec.* 6(6);138;1985.
19. Preston A., Dover C., "Cryptosporidium" *The Journal of Infec. Dis.* 153(2);365-367;1986.
20. Pizarro D., Vives M., Mata L., Bolaños H. "Cryptosporidiosis in children from some, highland Costa Rica rural - and urban areas" *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 33;24-29;1984.
21. Madetsky M "Laboratory evaluation of acute diarrhea" - *Ped. Inf. Dis.* 5(20);230-236;1986.
22. Soave R. "Cryptosporidium and cryptosporidiosis" *Rev. Infec. Dis.* 8(6);1012-1023;1986.
23. Soave R. "Three step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracter watery diarrhea" *J. Infec. Dis* 147;824-828;1983.
24. Sterling C., King S. "Cryptosporidium as a causative -- agent of traveler's diarrhea" *J. Infec. Dis.* 5(2);380; 1986.
25. Taylor J., Perrone J., Dingley D., Gustafson T., Reed A. "Cryptosporidiosis outbreak in a day care center" *Am. - J. Dis. Child.* 139;1023-1025;1986.
26. Tzipori S., Angus E., Gray E., Cambell J. "Vomiting and diarrhea asociated with cryptosporidial infection" *J. Infec. Dis.* 144;170-175;1981.

27. Ungar B., Soave K., Fauer K., Hersh T. "Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to Cryptosporidium in immunocompetent and immunocompromised persons" J. Infect. Dis. 153(30);570-578;1986.
28. Weikel C., Johnston Cl., Auxilia D., Guerrant R. "Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil; association with sporadic diarrhea" J. Infect. Dis. 147;824-828;1983.
29. William L., Reese N., Ernts J., Bailey W., Heyman M. "Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient person; studies of an outbreak and experimental transmission" N. Engl. J. Med. 308;1252-1257;1983.
30. Weintin P. "Detection of Cryptosporidium in human fecal specimens" Trop. Dis. Lab. The J. Parasit. 69(3);622-624;1983.