

302927

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO ³Leje.

ESCUELA: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA U.N.A.M.



**AVANCES SOBRE LA SITUACION ACTUAL DE LA PARASITOSIS
HUMANA ORIGINADA POR Isospora belli**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
NAELA LARA HERNANDEZ

DIRECTORA DE TESIS:
Q. F. B. MAITE ASTIGARRAGA ZAVALA

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

CONTENIDO

	PAGINA
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	5
JUSTIFICACION	6
GENERALIDADES	7
CLASIFICACION Y NOMENCLATURA	11
MORFOLOGIA Y CICLO BIOLOGICO	12
EPIDEMIOLOGIA	20
PATOGENIA	24
SINTOMATOLOGIA	28
INMUNOLOGIA	31
CASOS CLINICOS	
1) PRESENCIA DE <u>ISOSPORA BELLI</u> EN EL SINDROME DE MALABSORCION	34
2) PADECIMIENTO INTESTINAL CRONICO EN EL HOMBRE CAUSADA POR <u>ISOSPORA BELLI</u>	41
3) PRESENCIA DE <u>ISOSPORA BELLI</u> EN PACIENTES CON SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA (SIDA)	45
DIAGNOSTICO	51
1) MEDIANTE TECNICAS DE CONCENTRACION (FLOTACION)	53
2) MEDIANTE CORTES HISTOLOGICOS	58
3) MEDIANTE LA TECNICA DE LA CAPSULA DUODENAL DE BEAL (ENTEROTEST)	68
TRATAMIENTO	74
PROFILAXIS	75

CONCLUSIONES

78

BIBLIOGRAFIA

81

INTRODUCCION

Desde hace mucho tiempo, es conocido en el hombre la presencia de parásitos coccidios intestinales, pero, --- mientras que las primeras publicaciones no tenían en cuenta mas que casos aislados con cierta confusión en la identidad de la especie tratada, hoy en día se ha observado en cuanto al número de casos, un aumento en su área de dispersión así como un conocimiento mucho mas preciso de las características morfológicas de la especie hallada en el hombre --- Isospora belli y de las manifestaciones patológicas que les corresponden (1).

El género Isospora comprende una especie patógena para el hombre: Isospora belli, se denomina también coccidio y es el agente causal o etiológico de la isosporiasis humana (53).

Gracias a Henderson en 1963, se define muy bien la estructura morfológica de I. belli la ausencia o variabilidad de síntomas clínicos, la rareza de la forma parásita presente en las deposiciones, la brevedad en los periodos de eliminación fecal. La dificultad para diagnosticarlo coproparasitoscópicamente (c.p.s.) junto con la necesidad de una identificación cuidadosa y además la deficiencia de algunas técnicas de concentración que no eliminan suficientemente los residuos fecales, con el mejoramiento de las metodologías; en especial los métodos de flotación de Faust y Sheather, se explica el progreso en el descubrimiento del -

conocimiento de la secuencia patógena de estos coccidios (7).

I. belli es un parásito esporozoario del intestino delgado, ha sido aislado en personas inmunodeficientes e inmunológicamente normales. En sujetos inmunocompetentes la infección puede ser asintomática, ésta frecuentemente causa diarrea poco severa y autolimitada (44).

La isosporiasis humana es una parasitosis del tracto digestivo cosmopolita pero rara (2). La infección humana, que fue hasta hace poco considerada rara; ha sido reconocida con gran frecuencia en la década pasada (34), la primera identificación de isosporidiasis intestinal en el hombre es atribuida a Kjelberg, citada por Virohow en 1860 (5,22); desde entonces los casos estudiados provienen principalmente de climas calientes de Centro y Sudamérica, África y sureste de Asia, el curso clínico usual de coccidiosis humana se ha confirmado por infestación experimental en voluntarios (11).

En 1961 Senevet, al describir dos casos; señala 210 observaciones en la literatura, mientras que en 1971, Faust, recopila 835 casos. I. belli es rara, pero las publicaciones recientes hacen pensar que con frecuencia es desconocida (12). En 1979 Campos y Cols. investigaron 12 casos entre 165 exámenes, también Sagua y Cols. descubrieron 90 casos en 3 meses de 1981, los casos observados conscientemente conciernen siempre a sujetos que tuvieron una estancia en zona tropical (11).

Respecto a los escritos relacionados con I. belli

esta fue estudiada en 1915 por Woodcock, Raillet y Lucet - (1890), encontraron en materias fecales los ooquistes, mientras que Wenyon en 1923 dio la primera descripción detallada de los ooquistes y las esporas. En el Oriente se ha observado mucho en soldados japoneses que estuvieron en China continental durante la Segunda Guerra Mundial y se han reportado muchos casos después de la guerra. Recientemente se ha informado sobre casos de I. belli combinados con linfoma en relación a la etiología de I. belli, existen los reportes de Barksdale y Routh (1978), Connal (1980), Matsubayashi y Nozawa (1990), aunque comúnmente es un padecimiento autolimitado, también se han reportado casos de infección crónica continua (27,50).

Los coccidios de los géneros Toxoplasma, Isospora Sarcocystis y Cryptosporidium pueden infectar al hombre. El conocimiento de todos ellos ha progresado mucho en la última década (59).

I. belli desarrolla su ciclo sexual en las células epiteliales del intestino delgado en el hombre y los animales. Los ooquistes se expulsan en las heces y son los agentes infectivos capaces de instalarse en otro huésped. -- También puede tener lugar una fase hástica con esporozoítos y merozoítos, pero la transmisión directa se produce, en general, por vía del ooquiste.

Sólo existe una especie, I. belli que ha sido asociada en el paciente con diarrea y malabsorción (Brandborg, 1970). El diagnóstico se establece al hallar los ooquistes

no esporulados de 12 x 30 micras en observación directa de las heces o después de una concentración. Si se dejan las heces a temperatura ambiente durante 24-48 horas, puede aparecer la esporulación.

Los ooquistes infectivos contienen dos esporoquistes con 4 esporozoítos (25,58,72).

Existen géneros de Isospora en animales comunes -- como el perro llamada Isospora rivolta o canis e Isospora felis en gatos, ambas pueden hallarse en estos animales; pero no se ha probado que sean animales reservorios y produzcan el foco de infección para la transmisión de Isospora belli a humanos (30).

OBJETIVO

Realizar un estudio retrospectivo de la especie Isospora belli que abarque los siguientes aspectos;

- Mecanismo patógeno y curso clínico
- Ciclo biológico mediante el diagnóstico en biopsias intestinales
- Técnicas coproparasitológicas y de tinción
- Revisión del tratamiento

JUSTIFICACION

Este trabajo se realiza debido a las severas e imprevistas infecciones oportunistas en el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA); puesto que este padecimiento destruye el sistema inmune disminuyendo la respuesta inmunológica del paciente y la patología causada por I. belli produce una enteritis con diarrea continua entre otros síntomas, asociada con otros microorganismos es letal para los pacientes que la padecen, sin embargo; en pacientes inmunocompetentes la isosporiasis humana es rara y la curación es espontánea, muchas veces sin la necesidad de alguna terapia.

Actualmente, en nuestro país se incrementa el número de pacientes con SIDA y las infecciones oportunistas - como es la isosporiasis humana, por lo tanto, cobra virtual importancia conocerla en todos sus aspectos para poder erradicarla por completo, tanto de pacientes inmunosuprimidos - como de pacientes inmunocompetentes.

GENERALIDADES

I. belli pertenece a los esporozoarios, un grupo de parásitos protozoarios el cual incluye; Plasmodium sp., Toxoplasma gondii y Sarcocystis sp. Aunque no está bien --- clasificado dentro de éste grupo, Neumocistis carinii puede estar relacionado con estos microorganismos. Los coccidios son esporozoarios que infectan el epitelio intestinal del huésped, los pacientes con SIDA, son particularmente susceptibles a la infección grave por parásitos coccidiales. .

I. belli, ha sido más frecuentemente reportado en los trópicos y es una causa conocida de enfermedad entérica en el hombre capaz de provocar enfermedad crónica y malabsorción en individuos con inmunidad defectuosa (24,55,56).

La isosporiasis humana es una enfermedad determinada por coccidios del género Isospora debido a la especie I. belli (Wenyon en 1923), la cual produce sintomatología intestinal semejante a la de innumerables agentes de otras enfermedades infecciosas, haciéndose prácticamente imposible su diagnóstico exclusivamente clínico, es por eso que se recurre al diagnóstico parasitológico que es hecho sin grandes problemas por el aspecto que presentan en las heces recientemente eliminadas; utilizándose técnicas de concentración para investigar la presencia de oquistes los cuales miden de 25 a 33 micras por 12 a 16 micras y son las formas parásitas infectivas de I. belli (9,24).

Con el trabajo de Gysneiros de Oliveira y Col. --

quedó registrada la mayor gama de casos de isosporiasis humana, con 164 casos, en 45,012 exámenes realizados (0.36%). A pesar de que no es muy frecuente la infección por la especie de Isospora, ha sido relatada en varias partes del mundo. Según Faust y Col. en América fueron diagnosticados 835 casos de isosporiasis humana y probablemente esta ocurre en todos los países y la mayor incidencia se verifica con I. belli (0,36%) y 36 casos de I. belli; significando el 0.108% entre los 45,012 exámenes efectuados. Aunque se han denunciado tan solo unos pocos centenares de casos de infecciones de Isospora en México, la infección es indudablemente mucho más común en numerosos países donde no reinan condiciones sanitarias adecuadas (11).

Esta revisión en México, tiene la frecuencia general más baja de todas las protozoosis patógenas, siendo de 0.09%; el primer reporte fue realizado por Vargas y Col. -- en los municipios del poniente del estado de Nuevo León con una cifra de 0.5%, mientras que la más baja correspondió a la de Tejeda y Vargas (1978) en Puebla y que fue del 0.01% en pacientes inmunocompetentes (56).

La parasitosis es mucho más común en niños y este parásito tiene una fase asexual (esquizogonia) y sexual (gametogonia) en su multiplicación en un mismo huésped (definitivo) (25).

La coccidiosis intestinal puede ser asociada a un síndrome de absorción intestinal deficiente y anomalías en la mucosa del intestino delgado (34). Los síntomas que pro-

bablemente continúan mientras dure el ciclo asexual de multiplicación, ceden espontáneamente por lo regular en un lapso de varias semanas, sin embargo; en algunos casos puede persistir por meses y aún por años, a veces hasta causar la muerte. El diagnóstico puede establecerse por medio de oquistes en las heces, éstos muchas veces son escasos por lo que casi siempre se observan técnicas de concentración como flotación de sulfato de zinc o el método de Sheather, la incubación de las heces durante dos días a la temperatura del laboratorio con frecuencia incrementan los resultados positivos, el aspirado duodenal y la biopsia yeyunal son métodos más confiables (13).

Isosporiasis, es la infección producida por la invasión de las células del epitelio de la mucosa del intestino delgado del hombre por coccidios del género Isospora, -- que pueden determinar un síndrome digestivo causando enteritis con diarrea aguda, fiebre y eosinofilia (8).

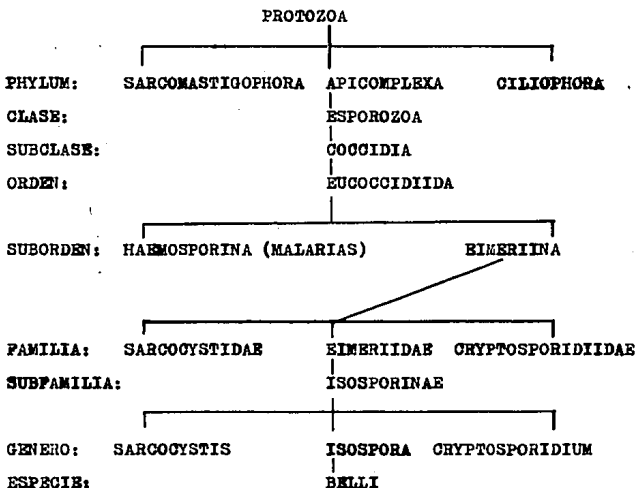
Las áreas en que se han descubierto la mayoría de los casos son en las Islas sudoccidentales del Pacífico, el estado de São Paulo, en Brasil, Colombia; Natal en el sur de Africa, Chile, Estados Unidos (Faust y Col en 1961; Sanders en 1967); pero también se han comunicado infecciones aisladas en muchos otros países como Bélgica, Egipto, Macedonia, Irak, Irán, Argas del Mediterráneo Oriental, Sur de Rusia, Rumania, Italia, Siria, Palestina, Turquía, Túnez, -

Marruecos, Africa Occidental, Africa Oriental Portuguesa, - sudoeste del Sudán, Nigeria, Senegal, Japón, China del Norte y Central, Indochina, Bengala, Rakón (India), Indonesia, Uruguay, Argentina, Perú, Ecuador, Panamá, Venezuela, Costa Rica, México, Puerto Rico, Cuba y Hawai (12).

CLASIFICACION Y NOMENCLATURA

Los esporozoarios constituyen la clase más importante de la Protozoología y quizá de la Parasitología, pues en ella están agrupados parásitos como los Plasmodios que producen enfermedades extraordinariamente interesantes como el paludismo (32,33).

Clasificación;



MORFOLOGIA Y CICLO BIOLOGICO

Los coccidios son esporozoos que realizan un ciclo evolutivo con cambio generacional similar a la de los plasmodios, se multiplican en la pared intestinal en posición intracelular, por partición, para crecer luego y formar macrogametos de gran tamaño o microgametocitos masculinos que originan mas tarde numerosos microgametos. Los macrogametos fecundados por estos microgametos se cubren de una membrana y se convierten en ooquistes, el ooquiste de I. belli mide unas 33 por 10 micras como término medio (16,50).

Con las heces se eliminan ooquistes esporulados que tomados por vía oral en forma esporulada; generan nuevas infecciones (18).

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL IMPORTANTE DE OOQUISTES DE I. BELLI

Tamaño del ooquiste	33 x 10 micras
Esporoquiste	11 x 9 micras
Forma	ooquistes ovoides o ligeramente alargados
Madurez en el momento de expulsión	inmaduro, generalmente en etapa de esporo blasto único
Huésped	hombre

(Elimina ooquistes en heces)

Biología. Los ooquistes de I. belli se encuentran en las --

excretas humanas en su forma no segmentada, pero continúan su desarrollo una vez evacuadas del organismo (4). Los oocistos son de forma ovoidal, alargados y miden de 20 a 33 micras de largo por 10 a 19 micras de ancho (1,25) (Fig. 1)

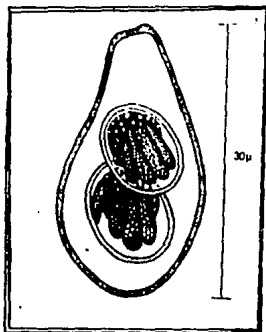


Fig. 1. "*Isospora belli*", oociste maduro con 2 esporas y 4 esporozoitos cada una.

Algunos oocistes son largos y delicados, mientras que otros son mas cortos y gruesos. Uno de los polos del oociste es más angosto y se presenta a manera de cuello. La pared quística está formada de dos capas, de las que la interna es lisa, delgada, incolora y membranosa, mientras que la externa es dura y casi impermeable a los líquidos. Algunas veces puede verse un pequeño micrópilo en

el polo angosto del ooquiste. Cada uno de los ooquistes no segmentados que se encuentran en las heces contiene una masa esférica de gránulos, observándose el núcleo como una esfera redonda y clara dentro de la masa granular.

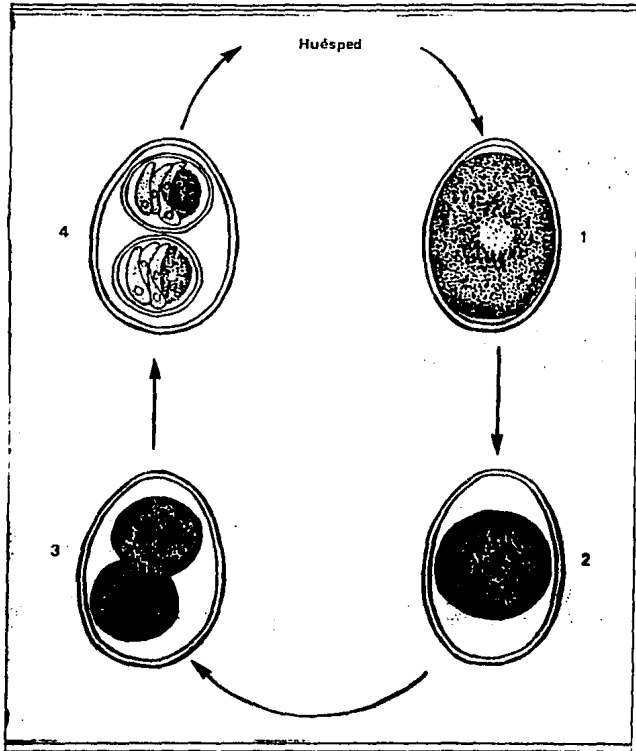


Fig. 2

Etapas en el desarrollo de oquistes de I. belli (Fig. 2).

Estos oquistes pasan por 4 fases de desarrollo:

- 1.- La etapa de célula simple o cigoto, los contenidos aparecen granulares y llenan al oquiste casi por completo.
- 2.- La etapa del esporoblasto único en la cual el cigoto se encoge para formar un cuerpo circular.
- 3.- La etapa de dos esporoblastos como resultado de la división del esporoblasto único.
- 4.- La etapa de esporoquiste en la cual se forma una pared quística alrededor de cada esporoblasto midiendo de 12 a 14 micras de largo por 7 a 9 micras de ancho y al mismo tiempo se desarrollan 4 esporozoítos en cada esporoquiste, aparece una masa granular en cada esporoquiste, conocida como esporoquiste residual, que actúa como reserva de alimentos (56).

Ciclo biológico de I. belli. Tal como se indica en el diagrama 1, se trata de una infección por vía oral, al ingerir los oquistes; los esporozoítos invaden el interior de las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado (duodeno); ahí se segmentan abundantemente y se convierten en esquizontes. Después se destruyen las células de la mucosa y se liberan numerosos merozoítos; éstos invaden nuevas células epiteliales. Este ciclo es una generación asexual, una parte de los merozoítos que invadieron las células epiteliales no efectúan una división abundante y se convierten en cuerpos sexuales masculinos o femeninos. Dentro del sis-

tema se realiza la unión sexual, se convierten en cuerpos fusionados, se forman los ooquistes y salen al exterior junto con las heces (Fig. 3).

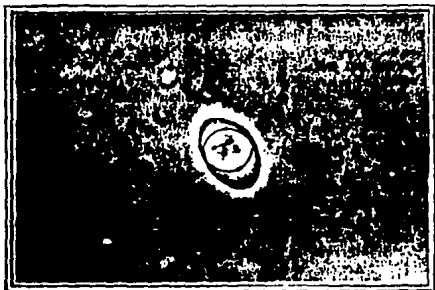


Fig. 3. Imagen de Isospora belli con iluminación de contraste de fases, tal como se puede observar en el laboratorio rutinario de diagnóstico en una evacuación reciente; en ésta etapa tiene una célula única (ooquiste con un esporoblasto).



Diagrama 1.

Ciclo biológico de Isospora belli (Diagrama 1, modificado de Faust).

a) Dentro del intestino

b) Fuera del intestino

a) 1.- Ingestión oral del oociste maduro, Esquizogonia:
 2.- El esporozoíto invade las células epiteliales del conducto intestinal, 2a.- Trofozoíto joven en célula de la mucosa, 3.- Formación de los esquizontes, 4.- Liberación de los merozoítos de la membrana del progenitor; Gametogonia:
 5.- Cuerpo sexual masculino, desarrollándose a partir de merozoítos (microgametocito), 6.- Cuerpo sexual femenino, desarrollándose a partir de merozoítos (macrogametocito), -

7.- Reproducción sexual masculina (microgameto), 8.- Reproducción sexual femenina (macrogameto), 9.- Fertilización -- (fusión), 10.- Ooquiste inmaduro (se expulsa junto con las heces).

b) 11.- Formación del esporoblasto, 12.- Formación de esporoquistes, 13.- Ooquiste maduro que ha formado esporozoitos (reproducido de "Parasitología Clínica") (31).

I. belli evoluciona según un ciclo monoxeno y directo, 10 biopsias de la mucosa del intestino delgado obtenidas de 6 pacientes infectados con coccidios (I. belli) manifiestan un espectro de anormalidades. Todos los pacientes presentan coccidios en sus especímenes. Todas las formas -- del ciclo endógeno del parásito se identifican dentro del -- epitelio. La detección de cualquiera de estas etapas de desarrollo es una característica del diagnóstico de coccidiosis. Los ooquistes y esquizontes son hallados en los contenidos intestinales de pacientes. Los pacientes presentan -- diarrea y esteatorrea, los coccidios pueden ser etiológicos en pacientes con diarrea y malabsorción no diagnosticadas.

(Fig. 4).- Mediante observaciones en voluntarios infectados, la siguiente estructura representa el ciclo -- biológico endógeno de coccidios humanos, las formas A y B -- son merozoitos que han invadido a células epiteliales y están desarrollándose a gametocitos o experimentando esquizogonia, C es un esquizonte inmaduro y D es un macrogametoci-

to maduro, los gránulos grandes en el citoplasma se fusionan y forman la pared del oociste.

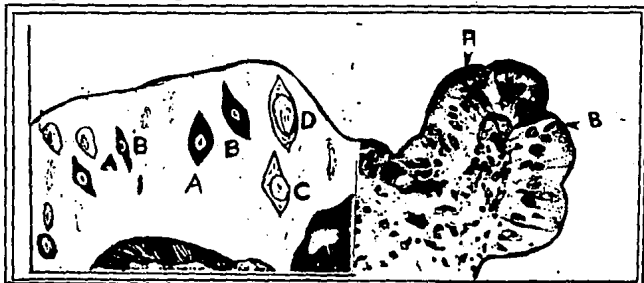


Fig. 4. Merozoítos (A y B). Requizonte inmaduro (C) y ma---
crogametocito (D) (tinción de colofonio de giemsa) x 1 000.

Los coccidios humanos son parásitos epiteliales - del intestino delgado, como son la mayoría de otras espe---
cies de coccidios. La esquizogonia y gametogonia se realiza en este mismo sitio.

Los estadios intracelulares de ambos ciclos, el asexual y el sexual de I. belli, fueron observados a través de microscopía electrónica excepto para los microgametos - individuales y los esporozoítos. El mecanismo por el cual - los parásitos invaden y producen lesiones en la mucosa, puede ser que sus efectos primarios no son directamente sobre la lámina propia; la cual es invariablemente infiltrada con células plasmáticas, eosinofilia y leucocitos polimorfonu---
cleares (11,15,28,63).

EPIDEMIOLOGIA

La infección tiene lugar por la ingestión de alimentos contaminados por los oocistos de origen fecal (50).

Los coccidios son parásitos que comúnmente infectan a muchos animales domésticos y salvajes. Isospora belli un miembro de este grupo de protozoarios, ocasionalmente, - causa enfermedad en el hombre. La epidemiología de las infecciones de I. belli, en ambas poblaciones humanas heterosexual y homosexual; se investiga hoy en día.

Otros patógenos intestinales ocurren en altos índices en los hombres homosexuales incluyendo protozoarios - como E. histolytica y G. lamblia (12). Se piensa que el contacto sexual oral-anal origina el vínculo para la transmisión de persona a persona de estos parásitos. En vista del hecho de que al menos en pacientes anilingus, es posible que I. belli sea contraído de esta manera. Para que sean infectivos los oocistos, deben estar esporulados y esto puede tomar 24 horas después de que hayan pasado al excremento (14,26,62).

I. belli es un esporozoario cosmopolita, que pocas veces es identificado en los laboratorios rutinarios de diagnóstico, sin embargo, cuando los microscopistas son cuidadosos lo encuentran regularmente y con cierta frecuencia.

En muchas regiones del mundo solo se ha registrado en el hombre y para entender su epidemiología, se tiene que aceptar la existencia de portadores asintomáticos que -

mantienen la infección en la naturaleza. En voluntarios infectados en forma experimental, se ha demostrado claramente su capacidad de producir cuadros de diarrea y dolor abdominal; esto se observa también en algunos casos de infección natural aún cuando la mayor parte de las veces esta infección no causa molestias (4).

La transmisión de I. belli, se cree que es a través de la vía oro-fecal (47). La prolongación de la infección en el intestino delgado del huésped, puede ser debido a que el humano es el huésped definitivo y se repite el ciclo asexual intracelular y/o a la re-encuistación durante la reabsorción en el intestino delgado antes de que haya paso fecal (34). Es interesante considerar que, por la alternancia de sus ciclos esquizogónico y sexuado, usualmente -- los parásitos (ooquistes) aparecen en la materia fecal varios días después de iniciado el cuadro diarreico o cuando este ha terminado. La eliminación de ooquistes suele continuar durante algunas semanas, sin embargo, como el ciclo esquizogónico que daña la mucosa intestinal ya ha terminado -- el paciente ya no presenta molestias, por lo tanto, es frecuente encontrar la infección en internados, institutos de rehabilitación mental y otros sitios donde las personas viven en estrecha proximidad; durante su desarrollo en el intestino el parásito puede dar lugar a síntomas gastrointestinales leves (45,50).

La isosporiasis humana es considerada apenas en -

los libros de Patología y en los de Clínica Médica, es una infección frecuente que suele producir síntomas alarmantes en los pacientes inmunodeprimidos; en el hombre se produce por fecalismo. Se considera necesario conocer el número de ooquistes que expulsa la persona infectada, pero en la mayoría de los casos estos elementos son escasos. La resistencia de los ooquistes de Isosporas en el medio externo es elevada, pudiendo permanecer durante varios meses sin alterarse.

Experimentalmente, se han mantenido ooquistes de I. belli en solución salina por meses, conservando su vitalidad por 7 meses; se ha investigado a 12,398 enfermos, -- diagnosticándose infección por isosporiasis en 342 de ellos y se ha comprobado la existencia de variaciones mensuales; la infección por I. belli es mas frecuente en los meses de otoño. Las cifras de infección obtenidas en esos estudios corresponden a enfermos seleccionados por médicos que conocían el cuadro clínico de la isosporiasis y que, en muchas oportunidades, formulan esa hipótesis diagnóstica. La baja frecuencia obtenida en otros casos, se debe a que muchos clínicos que no están familiarizados con la sintomatología de la enfermedad, no piensan en ella y por lo tanto no solicitan el estudio correspondiente (8).

Como en toda enteroparasitosis, existen numerosos infectados asintomáticos, que no se alcanzan a diagnosticar por la corta duración de la isosporiasis, pero que contribu

yen a su diseminación en la naturaleza (1).

El número limitado de casos de infección por la especie del género Isoospora, se debe ciertamente a los siguientes hechos:

- 1) La no utilización de técnicas de concentración para el diagnóstico de protozoarios intestinales, no solo de parte de los laboratorios de Salud Pública del estado, así como también de los laboratorios de análisis clínicos particulares.
- 2) Al no registro de todos los casos en la literatura.
- 3) Al pequeño número de oquistes en las heces; principalmente en las infecciones naturales.
- 4) Al número relativamente elevado de casos asintomáticos (10,11).

PATOGENIA

Reacción del hospedador (patogenia). Los coccidios evolucionan intracelularmente con destrucción de la célula hospedadora. Los parásitos indiferenciados sexualmente procedentes de esquizogonia, atacan a su vez las células vecinas. Las células infectadas por coccidios se reúnen a modo de nido, ello condiciona una notable destrucción del tejido intestinal, puesto que al parecer, el número de parásitos procedentes de un esporozoito es limitado potencialmente o evidenciado por la acción del hospedador; el alcance de las lesiones tisulares que se constituyen en el hombre por la acción de los coccidios, está en relación con la intensidad de la infección. El hombre solo está afectado de ligeras molestias, la coccidiosis humana cursa con el cuadro clínico de una inflamación del intestino delgado región duodeno-yeyunal (enteritis), que sólo dura pocos días de 6 a 10 días después de la infección existe un período de diarrea, a los nueve a dieciséis días de la infección aparecen los primeros oquistes en las heces. Estos no se eliminan de manera continua, sino por períodos (63).

Según Herrlich y Liebmannl; los oquistes se pueden demostrar durante unos 22 días (según Kay, durante 64 días). La infección queda vencida por una especie de autodepuración. Del curso clínico descrito se puede deducir el probable desarrollo evolutivo parasitario que sigue: después de la ingestión de los oquistes maduros, los esporo-

zoítos se liberan bajo la acción del jugo gástrico (pH 2-3) y del jugo duodenal (pH 7-7.3) penetran en el epitelio de la porción baja del intestino delgado y de la porción superior del grueso y sufren allí varias veces un ciclo asexual con la creciente intensidad de la invasión del epitelio intestinal, aparecen las molestias antes mencionadas (13).

Con el comienzo de la transformación de los estadios parasitarios asexuados en estadios sexuados, a los 9-10 días aproximadamente, disminuyen los trastornos. Al concluir la gametogonia y la eliminación de los oocistos inmaduros, la coccidiosis toca a su fin, aún sin tratamiento medicamentoso, no se adquiere una inmunidad; siendo posible la reinfección.

Los coccidios alojados intracelularmente en la pared intestinal destruyen las células del huésped como consecuencia de su multiplicación, por lo que originan alteraciones en los tejidos (28). Puesto que el hombre puede infectarse con un pequeño número de oocistos, la infección suele cursar de forma inaparente o con escasa sintomatología. Las coccidiosis agudas de mayor gravedad causan una enteritis, después de un período de incubación de 6 a 10 días sobrevienen fiebre, diarrea y astenia, el parásito invade las células epiteliales de la mucosa intestinal del duodeno, -- produciendo úlceras y diarrea de gravedad variable.

La intensidad del daño en la pared intestinal en humanos infectados con coccidiosis, estaría en relación con

las condiciones inmunológicas del huésped, con el número y la virulencia de los parásitos y con su capacidad de localizarse superficial o profundamente en los tejidos, en general, la anatomía patológica consiste en el daño de las diversas capas de la pared intestinal, especialmente la mucosa y la submucosa, que pueden presentar grados variables de necrosis y hemorragias. Este daño puede comprometer tanto al intestino delgado como al grueso, sobre todo en la región cecal (46). Pueden ser factores importantes la movilidad que poseen los esporozoítos y los merozoítos, para ponerse en contacto con las células del epitelio de la mucosa intestinal. Seguramente este parasitismo endocelular, al destruir la célula, puede producir liberación de mediadores que explicarían el proceso inflamatorio de la pared intestinal y el síndrome febril, que es frecuente en estos pacientes. La enteritis produciría la sintomatología digestiva caracterizada por el intenso síndrome diarreico y de malabsorción, con astenia y pérdida de peso (1).

La presencia de abundantes eosinófilos en el infiltrado inflamatorio, sugiere la posibilidad de un fenómeno alérgico en el mecanismo de producción de esta enfermedad.

La esquizogonia y el principio de la esporogonia tiene lugar en las células epiteliales de la parte anterior del intestino delgado. La patogénesis de la diarrea con presencia de moco causada por I. belli es probablemente debido

a la invasión de los protozoarios dentro de la mucosa intestinal, la multiplicación masiva de los esporozoitos son la causa de múltiples úlceras sobre la superficie epitelial del ileon y el ciego; resultando diarrea con moco (24).

La revisión de las biopsias de la mucosa del intestino delgado, revelaron varias formas de coccidios en el epitelio, biopsias adicionales tomadas después y un gran espécimen yeyunal obtenido en la laparotomía efectuada, presentaron coccidios dentro del epitelio. La laparotomía, después de dos años de haber empezado con los síntomas, reveló solamente adhesiones del ileon final con la pared abdominal posterior. Una segunda laparotomía causada por creciente dolor abdominal y diarrea demostró tres ulceraciones en la segunda parte del duodeno (la concentración en ayunas de ácido gástrico antes de ésta operación fue reportada como 5 mEq. por litro), dos de éstas úlceras fueron biopsiadas e interpretadas como "ulceraciones focales extendiéndose a través de la mucosa hacia las capas musculares". La revisión mostró una mucosa lisa y formas de coccidios. Una biopsia mucosal del intestino delgado obtenida cerca del ligamento de Treitz, contenía coccidios.

Una biopsia del intestino delgado fue interpretada con vellosidades normales y vasos dilatados. La revisión de este espécimen reveló coccidios en el epitelio, vellosidades agrupadas, marcada dilatación de los espacios vasculares y una espectacular deposición de colágeno en la lámina propia (22,34)

SINTOMATOLOGIA

El ataque es normalmente bastante agudo, con fiebre y seguido de malestar por diarrea, dolor de cólicos abdominales y baja de peso. La enfermedad es autolimitada en pacientes inmunocompetentes; con restablecimiento y curación espontánea en un período de unos cuantos días a varios meses, pero si es grave puede resultar aún en diarrea fatal en pacientes inmunocomprometidos y los reportes incluyen es teatorrea, complicaciones hepáticas y en algunos casos la muerte (48).

Isosporiasis. En ésta peculiar infección protozoaria, es frecuente el comienzo con diarrea y con fiebre de 37.5°C a 38°C . Sin embargo, éste estado febril es fugaz, no dura mas de dos o tres días y entonces se acentúa la diarrea de carácter lientérico acompañada de baja de peso corporal y sensible compromiso del estado general (1). Los síntomas incluyen dolores abdominales, diarreas, flatulencia, trastornos digestivos (excreción de alimentos no digeridos), calambres abdominales, náuseas, pérdida de peso, fiebre, pérdida de apetito y lasitud (11).

% DE PERSONAS ESTUDIADAS CON I. BELLI (Según A. Jarpa (27)).

1.- Síntomas digestivos:

- a) Síndrome diarreico.....98.2%
- b) Dolor abdominal.....61.4%
- c) Vómitos.....44.4%
- d) Meteorismo.....70.0%

2.- Síndrome febril.....75.0%

3.- Otros síntomas generales:

- a) Anorexia.....71.4%
- b) Astenia.....88.2%
- c) Pérdida de peso.....86.3%

4.- Eosinofilia periférica.....54.0%

Después de la infección inicial, el período de incubación dura una semana y después los síntomas pueden aparecer o no, durante aproximadamente un mes; en este tiempo se eliminan los oocistos, cuando estos no se encuentran la enfermedad ha pasado su curso y no ocurre aparentemente la reinfección (35). Se reportan casos en que la coccidiosis provoca diarrea acuosa continua, repetitiva y persistente, la frecuencia media es de unas 6 deposiciones diarias, llegando en casos extremos hasta 20 o aún más. Además disturbios en la nutrición (malabsorción) (27).

La coccidiosis en los humanos resulta en enteritis con diarrea que puede ser letal y atrofia del vello intestinal (9).

Los síntomas de isosporiasis pueden continuar ---

tanto tiempo como la esquizogonia esté ocurriendo, los ooquistes cuando son forzados al lumen intestinal no son infectivos, deben ser reingeridos y enquistados y la reinvasión del epitelio debe ocurrir. La cronicidad de la infección producida por I. belli puede ser explicada por la continua presencia de ooquistes esporulados, las formas infectivas en el intestino delgado; aunque la anormalidad de la mucosa varía en los pacientes, es suficiente para justificar los síntomas (56).

En los sujetos infectados experimentalmente, la expulsión de ooquistes por las heces empieza de nuevo a los 16 días después de la infección y dura 3 semanas, a los 7 días aparecen fiebre y malestar, luego diarrea con dolores abdominales y debilidad general (7).

INMUNOLOGIA

La coccidiosis en las mucosas del tejido intestinal en pacientes que poseen un mecanismo normal de las defensas inmunológicas en pocos días realizan la recuperación de las células epiteliales, existen casos en que el padecimiento se mantiene por largo tiempo, la coccidiosis no se puede considerar algo pasajero por lo que se presume que el hecho de que la diarrea se mantiene en forma repetitiva está relacionado con la participación de cierta falla en el mecanismo inmunológico debido a isosporiasis. Ocasiona un cambio patológico en el ducto biliar debido a la invasión directa y cambios patológicos que semejan edemas en la mucosa del tracto digestivo, dando lugar a una diarrea crónica y desarrollo de síntomas secundarios de malabsorción (28).

Las alteraciones en la inmunidad celular, con o sin sarcoma de Kaposi o infección oportunista; recientemente se han vuelto evidentes entre este mismo grupo, como Cryptosporidium sp o I. belli; puede ser crónico y grave en los pacientes. Un reporte reciente de 3 pacientes con inmunidad alterada e isosporiasis crónica donde se reporta la enteritis de I. belli que ocurre en tres hombres homosexuales; los tres manifiestan linfopenia y dos presentan reversiones profundas de las razones de cooperador-supresor de células T. Este protozooario puede ser una causa de diarrea en la población homosexual masculina.

La infección es espontánea autolimitante; debido a las características biológicas del parásito.

Una infección simple generalmente otorga inmunidad parcial que se manifiesta por infecciones asintomáticas. Los períodos subsecuentes aumentan la inmunidad hasta impedir totalmente la colonización del intestino por el parásito, los experimentos en aves y mamíferos han demostrado que la resistencia es estimulada por la fase de gametogonia y que se expresa principalmente contra esta misma fase, sin impedir la invasión de la mucosa intestinal por los esporozoítos. Entre la primera y segunda semana después de la infección, se puede verificar la presencia de una variedad de anticuerpos precipitantes, aglutinantes y fijadores del complemento en el suero, pero no en las secreciones intestinales del huésped. Aunque estos anticuerpos persisten durante varios meses y son capaces de reducir la infectividad de esporozoítos y de merozoítos in vitro, no están estrictamente relacionados con la presencia de inmunidad adquirida.

Por otra parte, la reducción de la respuesta celular mediante timentomía o mediante la inoculación de suero antilinfocítico, deprime parcialmente la producción de resistencia contra coccidios observándose una compleja combinación de respuesta celular y humoral (29,33). Las infecciones por coccidios producen inmunidad y esto podría explicar la aparente desaparición espontánea de la isosporiasis en unas semanas (26).

Estudios en animales sugieren que los linfocitos son esenciales en mediar la respuesta del huésped contra --

los coccidios. Los números e índices anormales de linfocitos presentes en pacientes pueden en parte explicar la naturaleza crónica de sus infecciones (20).

La isosporiasis extraintestinal es muy poco frecuente pero en la autopsia de un paciente se comprueba la afectación de los ganglios linfáticos (61).

1) PRESENCIA DE ISOSPORA BELLI EN EL SINDROME DE MALABSORCION (SMA).

Isospora belli, es un parásito protozoario localizado en el citoplasma del enterocito y es responsable de la diarrea crónica, malabsorción y varios grados de atrofia de las vellosidades intestinales en sujetos inmunocompetentes y en pacientes con SIDA. El diagnóstico es realizado por el examen de materia fecal y fluido yeyunal y además confirmado por la cuidadosa examinación histológica de la mucosa duodeno-yeyunal. Esta patogenicidad es muy probable puesto que la diarrea y malabsorción disminuyen en acuerdo con la desaparición de I. belli en el intestino y la recaída de la enfermedad cuando la parasitosis reaparece (71).

El diagnóstico de malabsorción se plantea en presencia de diarrea crónica acompañada de compromiso del estado general, en estos pacientes suele agregarse además del enflaquecimiento, manifestaciones hemorrágicas, síntomas cutáneo-mucoso, alteraciones óseas y anemia. El diagnóstico de certeza se evidencia mediante un conjunto de procedimientos de laboratorio destinados a evaluar algunos mecanismos fisiológicos que participan en la absorción de nutrientes; la malabsorción se diagnostica al comprobar estentorrea en un balance de grasas.

Este procedimiento aparece obstaculizado por las dificultades del paciente en ingerir una dieta con una cantidad de grasa prefijada y recolectar sus deposiciones durante -----

tres días. A ello se suma el desarrollo inherente a la manipulación de las heces para cuantificar su contenido graso.

Con el propósito de conocer la utilidad diagnóstica de los exámenes de laboratorio más solicitados ante la sospecha clínica de malabsorción, se revisan los valores obtenidos en el laboratorio de Gastroenterología en las determinaciones de carotinemia, vitamina A y D-xilosa en diferentes situaciones clínicas.

Los exámenes de laboratorio analizados pertenecen a tres grupos de pacientes:

- 1.- Enfermedad celíaca: caracterizada por presencia de esteatorrea (balance graso con excreción fecal mayor de un 5%), atrofia vellositaria en la biopsia intestinal y mejoría clínica después de una dieta exenta de gluten.
- 2.- Enfermos no celíacos con malabsorción: presencia de esteatorrea en portadores de alguna de las siguientes afecciones digestivas: gastrectomía total, asa ciega, resección intestinal, fístula intestinal, neuroenteropatía diabética, tuberculosis intestinal, lambliasis, cirrosis hepática, neoplasia de vías biliares y pancreatitis crónica.
- 3.- Enfermos sin malabsorción: pacientes en quienes se sospechó este síndrome sin comprobar anormalidad en el balance de grasas, estableciendo el diagnóstico de alguna enfermedad no determinante de malabsorción. En estos grupos se evaluaron los valores obtenidos en las determinaciones de carotinemia, absorción de vitamina A y prueba de la D-xilosa.

Se analizan los resultados obtenidos para las determinaciones de carotinemia después de una carga de 50 000 unidades de vitamina A por tres días, se observa que el 96,7% de los casos con síndrome de malabsorción (SMA) presentan valores inferiores a lo normal (55 mcg/100 ml) diferencias notorias de este porcentaje de absorción entre celíacos (93.6%) y no celíacos (100%). En 94 determinaciones de porcentaje de absorción, a las 4 horas de haber aplicado una dosis de 300 000 unidades de vitamina A y después de una carga de 50 000 unidades diarias por tres días, se observa que el 75% de los casos con SMA tienen valores inferiores a lo normal (5% de absorción), existiendo una clara diferencia de esta deficiencia entre celíacos (89,3%) y no celíacos (60,7%).

En 20 pruebas de absorción de D-xilosa después de la administración de 25g de esta pentosa en 250ml de agua, se observan valores plasmáticos inferiores al normal (20mg) en 38.9% de los casos con SMA y valores urinarios inferiores al normal (4g/5horas) en 61,7% de los casos, existiendo una diferencia notoria entre celíacos (87.7%) y no celíacos (45.5%) (21,39,66).

En los casos que aquí se presentan, se tratan a pacientes que por mucho tiempo han padecido de diarrea y SMA; causados por el parásito intestinal I. belli, observándose que estos padecimientos están combinados con linfoma por leucocitosis debido a células tipo T. Se considera que estos casos son importantes para conocer la interrelación que existe-

entre la infección por coccidios, SMA, los síntomas de deficiencia inmunológica y la supresión de inmunidad celular por el linfoma de células tipo T (21).

La coccidiosis en humanos produce complicaciones -- verificadas como es el SMA, complicación hepática y la muerte causada por la enteritis necrotizante (4). Recientemente varios investigadores han sugerido que los estados inmunodeficientes pueden predisponer a la infección coccidial de largo plazo con malabsorción, además, la investigación inmunológica demuestra inmunodeficiencia humoral y celular combinadas, en el estudio de pacientes que se hospitalizaron, presentando -- SMA, coccidiosis e inmunodeficiencia combinada (celular y humoral), la relación entre los estados inmunodeficientes y las complicaciones intestinales son conocidas; la infección normalmente causa enfermedad autolimitante poco severa. Sin embargo, en algunos casos, la infección puede ser severa y prolongada con marcada malabsorción; una de las razones para tal curso modificado puede ser la inmunodeficiencia, existe una diferencia en el efecto de la infección coccidial de la mucosa intestinal entre los pacientes inmunodeficientes y los inmunológicamente competentes (Fig. 5) (23).

Al final del período hospitalario, los pacientes -- resultan con aguda enfermedad linfoproliferativa maligna, se establece que hay una prevalencia incrementada de malignidad en los pacientes con inmunodeficiencias, estos pacientes presentan una historia por 5 años de diarrea y síntomas compatibles con malabsorción. Consecuentemente, el linfoma podría --

haberse desarrollado en pacientes con inmunodeficiencia y el proceso linfoproliferativo precedió a la infección por los coccidios. Este estudio ha llamado la atención al posible papel de la infección coccidial en el síndrome de malabsorción en los pacientes inmunodeficientes. Los pacientes presentan ataques de diarrea de intensidad creciente cada pocos meses, hallándose oocistos de I. belli en repetidos exámenes de materia fecal durante la investigación de parásitos.

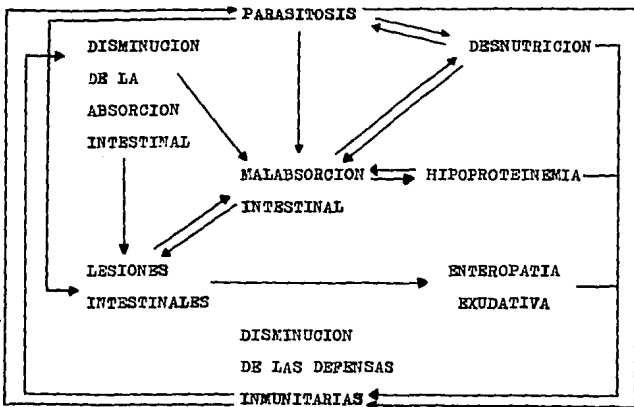


Fig. 5. Interacciones: parasitosis-malnutrición-malabsorción-inmunidad (1).

Una serie del tracto gastrointestinal superior e

inferior muestra un lumen (abertura) amplificado del intestino delgado con un marcado patrón mucoso. Los resultados de los estudios de malabsorción mostraron valores como: xilosa - 3.6 g/5 horas (normal menor de 5g/5 horas); esteatorrea ---- 13 g/24 horas; (normal, menor de 6 g/24 horas).

La evaluación para la malabsorción fue hecha en algunos pacientes con isosporiasis, esta incluye la excreción urinaria de 5 horas de D-xilosa, inicialmente se presenta normal en algunos pacientes y anormal en otros pacientes; es determinada por administración de una dosis oral de 25g de D-xilosa a los pacientes en ayunas y por la recolección de toda la orina evacuada durante 5 horas. Una muestra sanguínea 2 horas después de la ingestión, se analiza para la D-xilosa -- (normal: mayor que 20 mcg/100cc) y la excreción urinaria anormal de D-xilosa en 5 horas es definida como menor de 4.5g, -- grasa fecal cualitativa donde los excrementos se examinaron para la grasa fecal microscópica y el conteo de las gotas de grasa fecal; una prueba positiva demuestra más de 5 gotas de grasa por campo de alto poder (400x), la determinación de caroteno en el suero es determinado en estado de ayuno (valor normal: arriba de 50 mcg/100cc) y biopsia del intestino delgado donde pequeñas biopsias intestinales se obtienen de la región duodeno-yeyunal; las secciones preparadas de los especímenes de biopsia se tiñen con hematoxilina y eosina para -- investigar a I. belli, además, los volúmenes de excremento variaron de dos a cuatro litros por día en los pacientes ----

con isosporiasis, los especímenes de excremento no contienen leucocitos o sangre oculta (21,69).

2) **PADECIMIENTO INTESTINAL CRONICO EN EL HOMBRE CAUSADO POR**
ISOSPORA BELLI.

Los pacientes que padecen de diarrea intermitente - por más de 20 años, presentan eosinofilia, probable malabsorción, infestación coccidial intestinal y estudiada mediante - biopsias. Una lesión severa en la mucosa del intestino delgado, caracterizada por empequeñecimiento de las vellosidades, hipertrofia de criptas e infiltración de la lámina propia con eosinofilia, leucocitos polimorfonucleares y las células que rodea se asocian con la infestación coccidial intestinal. Diversos estadios de ambos ciclos, el sexual y el asexual de I. belli se identifican en el epitelio del intestino delgado con microscopía de luz y electrónica, en algunos pacientes -- con un promedio de 58 años de edad desarrollan etapas intermitentes de diarrea no sanguinolenta, dolor abdominal benigno - con una reciente pérdida de peso de 12.33 Kg. y bajo grado de fiebre, mas tarde, estos pacientes defecan moderadamente -- bien, excepto por 3 o 4 etapas de diarrea por año, durando varias semanas y aliviándose espontáneamente. Después al rehospitalizarse con historia clínica de diarrea persistente (arriba de 6 evacuaciones de diarrea por día), malestar y baja de peso (13.59 Kg.), los hallazgos físicos oportunos incluyen la evidencia de reciente debilidad. Los aspirados duodenales, revelan numerosos ooquistes y esporoblastos, los cuales se identifican como I. belli (68).

Ravenel y Cols. reportan un caso que corresponde a 26 años atrás; el curso prolongado en pacientes puede ser --- justificado por la presencia de generaciones numerosas de la esquizogonia sobre muchos años, es posible que la enquistación y reinvasión de la mucosa intestinal por esporozoítos --- suceda, ya que estos se parecen a los merozoítos en su estructura y esto dificulta distinguir estos dos estadios; existen dos tipos de manifestaciones crónicas, el primero es frecuente y benigno; evoluciona espontáneamente hacia su curación --- siendo su característica principal unas simples diarreas y el segundo es mas raro pero grave, se caracteriza por padecimientos de cuadros diarreicos prolongados, esteatorrea, decaimiento del estado general con adelgazamiento (Brandborg y --- Cols.), de tratamiento frecuentemente difícil; ésta forma evoluciona de manera crónica muy larga y es el principio de un síndrome de malabsorción (Trier y Cols.) (9,50).

El examen físico de pacientes, resulta esencialmente negativo con excepción de desnutrición, deshidratación moderada, depresión, irritabilidad y fiebre de 38°0, el examen de las heces como el aspirado duodenal demuestran la presencia de oocistas de I. belli. La biopsia duodenal de la mucosa intestinal presenta inflamación crónica con aplanamiento de la mucosa, acortamiento de los vellos y denso infiltrado eosinófilo de polimorfonucleares en la lámina propia, especialmente de células plasmáticas y de linfocitos. Los pacientes recurren a una segunda evaluación de diarrea, la cual ocu

rre periódicamente, la manifestación inicial en pacientes --- con isosporiasis es la diarrea, después de poco tiempo los -- pacientes continúan teniendo de 1 a 2 períodos semanales de -- diarrea ocurriendo cada 3 a 4 meses, la diarrea persiste; --- cuando los especímenes de excremento se examinan y encuentran a I. belli, estos pacientes se re-hospitalizan presentando e- vacuaciones las cuales son sueltas de color café y con olor - fétido con frecuencia de hasta 10 evacuaciones por día. Con - la técnica de flotación de sulfato de zinc, los ooquistes de I. belli se identifican, éste hallazgo conduce a mas estudios de la mucosa del intestino delgado. Sin embargo, también se - demuestra al parásito en la mucosa intestinal mediante teñi- miento histológico (36,63).

Isospora belli, es un organismo unicelular el cual se reproduce en el epitelio intestinal por gametogonia (se- a- xualmente) y esquizogonia (asexualmente). El ooquiste se ob- serva que es excretado en casos convalescentes por un período de hasta 120 días, debe ser ingerido para que la infección oc- curra (14). Después de la ingestión, los ooquistes esporula- dos invaden la mucosa del intestino delgado donde la reproduc- ción ocurre ya sea por esquizogonia o por gametogonia.

Es probable que pacientes que mantienen la infec- ción de isosporiasis humana durante 10 años puedan padecerla por mas de 25 años.

Las investigaciones sobre los pacientes, indican -- que la coccidiosis intestinal en el hombre se manifiesta por

una infección intestinal persistente en pacientes inmunocompetentes y produce la muerte en pacientes inmunosuprimidos -- (36,63).

3) PRESENCIA DE ISOSPORA BELLI EN PACIENTES CON SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA (SIDA).

La epidemia de infecciones oportunistas unidas a un Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se halla en constante aumento; el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente causal del SIDA, ejerce citopatología y efectos supresivos sobre los linfocitos, con desarrollo consecuente de inmunodisfunción en el huésped. Tal inmunosupresión conduce frecuentemente a infecciones oportunistas y se manifiesta comúnmente por la infección de parásitos entéricos. Las especies protozoarias como I. belli y Cryptosporidium, son asociados con una crónica diarrea debilitante y malabsorción en un número significativo de pacientes con SIDA. I. belli, un parásito coccidio, es un patógeno oportunista reconocido recientemente, el cual implica una enteritis del 1 al 15% en pacientes con SIDA (6,19,22); inicialmente limitado a los homosexuales, éste síndrome se describe en los europeos, los farmacodependientes, los hemofílicos y politransfundidos (75,79).

De las enfermedades por protozoarios, estas infecciones son muy difundidas entre los hombres homosexuales; en base a datos publicados, sin embargo, se sospecha que I. belli muchas veces puede escapar del diagnóstico debido a las dificultades técnicas relacionadas con su identificación en el laboratorio. En pacientes inmunodeficientes se ha demostrado la presencia de I. belli por medio de la tinción ---

ácido-resistente modificada de Ziehl Neelsen (38,40,41). La infección coccidial persistente, es una causa de diarrea crónica debilitadora en pacientes con SIDA. A diferencia del patrón en los pacientes inmunocompetentes, donde la enfermedad normalmente es autolimitante, en el SIDA, el ciclo del parásito parece persistir y ningún fármaco ha probado ser convincentemente eficaz en tales pacientes. En algunos pacientes la impresión inicial es de SIDA y los resultados de los estudios convencionales del excremento se presentan negativos, pero la tinción ácido-resistente modificada demuestra la presencia de I. belli (74).

Actualmente la frecuencia por I. belli en los casos de SIDA en México, pertenece a un número de 39 pacientes, el cual corresponde al 2.2% de la población total (64).

Estos pacientes presentan perturbaciones de inmunidad celular, caracterizados por una linfopenia, una disminución de la respuesta a estímulos antigénicos y de la relación de linfocitos colaboradores/supresores (OKT4/OKT8) (23).

Los pacientes inmunosuprimidos contraen frecuentemente infecciones oportunistas, aquí se reportan casos de pacientes heterosexuales jóvenes (30 años), hospitalizados varias veces por diarreas reinicidentes debidas a coccidiosis -- (I. belli), donde una importante deficiencia inmunológica se ha puesto en evidencia en estos pacientes; por lo tanto, se establece el diagnóstico de coccidiosis crónica en pacientes inmunodeprimidos (50,51).

Desde el punto de vista de la serología viral por el SIDA, la investigación de anticuerpos al virus anti-linfadenopatía asociada (LAV) es positivo, la interrelación entre la infección debida a I. belli y el linfoma de células T, en primer lugar se puede pensar que éste protozoario de alguna forma es la causa inmediata; son varios los trabajos que apoyan esta hipótesis, por ejemplo, ocurre infección retardada de cierto tipo de antígenos (protozoarios, toxoplasma, virus y auto-antígenos), debido a esto se produce un estado anormal de reacción inmunológica (clínicamente significa linfadenopatía). Como una segunda hipótesis está la que supone que el linfoma de células T, se desarrolla sin sintomatología; en este lapso en que no hay síntomas se llega a un estado de insuficiencia inmunológica, lo cual provoca la aparición evidente de una infección continua causada por este protozoario (36). En este caso, 4 años después de que aparece la diarrea, el paciente manifiesta el síndrome de malabsorción y una linfocitosis leve, después de cinco años de su evolución se desarrolla un linfoma, esto hace pensar en algo que apoya la primera hipótesis. Por lo tanto, mas que atribuir a éste parásito protozoario ser el causante del linfoma de células T, se debe pensar en un tipo de infección oportunista debida a una insuficiencia inmunológica secundaria..(60).

Isospora belli en SIDA

Normalmente I. belli se presenta como benigna, limitándose a diarrea acuosa con poca temperatura y dolor abdominal con cólicos de aproximadamente dos semanas de duración, - la prolongación de estos síntomas, puede ocurrir en pacientes inmunocomprometidos (23). La malabsorción, esteatorrea y severa pérdida de peso puede complicar la prolongada isosporiasis. Los resultados de laboratorio incluyen una eosinofilia periférica en aproximadamente el 50% de los pacientes que ya han padecido de parásitos protozoarios. El diagnóstico es hecho por la presencia de coquistes en el excremento, I. belli es un parásito protozoario del tipo de Cryptosporidium y que se ha señalado como posible causa de severa diarrea acuosa en personas inmunocomprometidas. Hoy en día se tienen reportes - a nivel mundial de I. belli en SIDA. Por consiguiente, se reportan los casos de este organismo en pacientes que padecen SIDA. Por consiguiente, se reportan los casos de este organismo en pacientes que padecan SIDA con enfermedad diarreica, el SIDA es un estado de inmunocompromiso, puede también predisponer a infecciones oportunistas de parásitos protozoarios I. belli se ha reportado en SIDA y se presenta como una infección oportunista en personas inmunosuprimidas causando prolongación de la enfermedad y diarrea fatal (80), se encuentra en hombres homosexuales y heterosexuales con SIDA (50,57;.65).

La infección coccidial del tracto gastrointestinal en huéspedes inmunocompetentes, comúnmente resulta en enfer-

medad aguda autolimitada. Las infecciones entéricas crónicas con parásitos coccidiales han estado asociados con estados -- inmunodeficientes congénitos o adquiridos, el propósito de -- éste reporte es describir las manifestaciones clínicas, diagnóstico y terapia de la coccidiosis entérica en pacientes -- identificados con el SIDA e infección coccidial entérica debida a I. belli (23,61).

Se utilizan técnicas como la de flotación de azú-- car (solución de Sheather) y tinción ácido-resistente modificada de Ziehl Neelsen en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales para identificar ooquistes de I. belli en materia fecal (14,41) o mediante la prueba de la cápsula duodenal de -- Beal; I. belli es una causa poco común de diarrea en el hombre, éste organismo causa enfermedad que puede ser más grave y crónica en pacientes con estados fundamentales de inmunodeficiencia (67). Se menciona a pacientes hombres homosexuales con enteritis por I. belli, cada uno tiene varios meses de -- diarrea, presentando profunda linfopenia y 2 con reversión de la razón de colaborador-supresor de células T, además, estos pacientes confiesan contacto oral-anal; una práctica asociada con la adquisición de parásitos y otros patógenos entéricos -- en la población homosexual. Se sugiere que el I. belli pueda ser un patógeno transmitido sexualmente, lo cual debe ser con siderado en el diagnóstico de pacientes homosexuales con diarrea mucosa, dolor abdominal continuo por largo tiempo, un -- exámen repetido de materia fecal revela ooquistes de I. belli. Estos pacientes confiesan frecuentes encuentros homosexuales

con múltiples compañeros durante el año anterior a su enfermedad y niegan ser farmacodependientes y los subconjuntos de células T demuestran una razón de colaborador-supresor de 0.98 (normal 1.0 a 2.2), además, no han viajado recientemente, --- tienen múltiples compañeros sexuales y frecuentemente participan en contactos oral-genital y oral-anal. Las evacuaciones son aguadas de 2 a 5 litros diarios, los coquistes de I. belli se observan en frotis directo y algunos cristales de Charcot Leyden también son visibles (47).

Se describen a pacientes hombres homosexuales con enteritis de I. belli, una enfermedad no documentada con anterioridad en esta población; el curso clínico de estos pacientes se caracteriza por diarrea crónica y pérdida de peso debido a que estos síntomas coinciden con el SIDA que preocupa a este grupo de pacientes y la presencia de otros patógenos durante el curso de la enfermedad (50).

DIAGNOSTICO

a) Método del frotis.- Se toma una pequeña cantidad de heces o raspados de la mucosa intestinal y se distribuyen en una gota de solución salina sobre un portaobjetos, se coloca un cubreobjetos y se examina al microscopio en busca de oquistes. Este procedimiento es satisfactorio para el diagnóstico de infecciones masivas (55).

b) Técnica de flotación.- Es útil para la concentración de oquistes en infecciones ligeras (72). Para procedimientos ver las técnicas posteriores.

c) Estadios de desarrollo.- El estudio de los estadios de desarrollo en los tejidos del hospedador se obtiene en condiciones óptimas, mediante cortes histológicos teñidos. Fijar en formol al 10%. Incluir y hacer cortes finos transversales (6-7 micras) tiñendo bien con hematoxilina y eosina y tinción negativa.

d) Esporulación de oquistes.- Se prepara una suspensión fina de heces en dicromato de potasio al 2.5%, se pone en una placa de Petri hasta una altura de 0.3 cm, dejándolos esporular.

Se examina diariamente para ver como progresa la esporulación, ésta dura de uno a cuatro días, si se dejan las deposiciones a la temperatura de laboratorio; mezclándolas con carbón adicionado con bicromato de potasio, la esporulación comienza hacia la doceava hora (Zaman). Se observa en el interior, dos esporoquistes de 11x9 micras, con doble pared -

refringente, al cuarto día la segmentación es total y cada esporoquiste contiene 4 esporozoítos iguales que tienen una extremidad redondeada y la otra puntiaguda. En el centro --- del esporoquiste, entre los esporozoítos, se puede observar un cuerpo residual compacto y granuloso (9,11,53).

e) Identificación de ooquistes. Mediante la técnica de la -- cápsula duodenal de Beal (enterotest) y posteriormente el te ñido de Ziehl Neelsen modificado (17,62).

1) MEDIANTE TECNICAS DE CONCENTRACION (FLOTACION).

En las deposiciones frescas, que contienen cristales de Charcot-Leyden (la presencia de estos cristales es un buen indicio para proseguir la búsqueda de ooquistes en las deposiciones, pues se encuentran en el 75% de los casos de infección por I. belli, frecuentemente asociadas con hipereosinofilia), se observan ooquistes no segmentados de 22 a 33 - por 11 a 16 micras (1). Los ooquistes aparecen 20 días después de la contaminación, su presencia irregular puede persistir durante muchos años; con frecuencia el diagnóstico parasitológico es difícil por la rara presencia de los ooquistes y su emisión discontinua, es necesario repetir los exámenes, sobre todo tratándose de sujetos que viven en países tropicales y sufren de diarreas persistentes cuando no hay ninguna afectación bacteriana, viral o parasitaria (9). El diagnóstico se basa sobre el descubrimiento de ooquistes de I. belli en las materias fecales dentro de los que se pueden distinguir después de su maduración en el ambiente externo, dos esporoquistes portando cada uno 4 esporozoítos (11,26); muchas veces son escasos aun en presencia de diarrea y esteatorrea graves (14). Clínicamente se puede plantear el diagnóstico de la isosporiasis humana en presencia de un síndrome diarreico de evolución aguda o subaguda; con deposiciones de carácter litérico, acompañado de marcada astenia, anorexia y pérdida de peso (1), como los coccidios se eliminan con las heces, la enfermedad se diagnostica por demostración microscópica de los

ooquistes en las deposiciones donde se concentran de una muestra de heces tratada por métodos de flotación y por lo tanto, colada ascienden a la superficie (12,14), en las infecciones producidas por estos protozoarios en la mayoría de los casos; los ooquistes están presentes en las materias fecales durante 2 o 4 días como máximo y en algunas ocasiones un sólo día antes de desaparecer, por eso, es aconsejable el examen seriado de las deposiciones por lo menos con 6 muestras pues los ooquistes se siguen eliminando días o meses después de la desaparición de la sintomatología clínica. Los ooquistes y esporoquistes son tan transparentes que pueden pasar inadvertidos en exámenes directos de materia fecal, pero son fácilmente concentrados y detectados por medio de la técnica de concentración de sulfato de zinc (12,36). Su examen microscópico, realizado por un especialista manifiesta un número de ooquistes escaso, la búsqueda requiere tiempo y experiencia en el reconocimiento de parásitos. Una solución de azúcar saturada es también utilizada como medio de flotación (técnica de Sheather) (54).

Técnicas diagnósticas de laboratorio.

Examen de las heces.— La materia fecal recién evacuada debe enviarse al laboratorio para su estudio.

El examen de materia fecal muestra raros oquistes de I. belli en algunos pacientes inmunodeficientes, diagnosticados por examen rutinario y en otros por flotación de azúcar, el excremento es examinado bajo microscopía de contraste de fase después de centrifugación con solución de Sheather.

La técnica de Faust y Cols., empleada en el examen parasitológico de heces, demuestra oquistes de I. belli caracterizados morfológicamente por presentar forma elíptica, -- con una de las extremidades un poco mas delgada y con una masa central granulosa de citoplasma, dejando un espacio libre en las regiones polares. Un segundo examen con la misma técnica realizado 72 horas después; confirma la presencia de oquistes, esta vez, en número mayor y presentando en su interior 2 esporoquistes (3,9).

Métodos para concentración de ooquistes.**Flotación con sulfato de zinc (técnica de Faust).**

- 1.- Hacer una suspensión con agua de una pequeña muestra de heces y colar a través de una gasa.
- 2.- Centrifugar durante 45 a 60 segundos a 3,000 rpm.
- 3.- Decantar el sobrenadante, agregar más agua y volver a --- centrifugar. Repetir esta operación tres veces aproximadamente.
- 4.- Decantar el último sobrenadante y agregar sulfato de zinc con una densidad de 1.180. Centrifugar durante 45 a 60 segundos a 3,000 rpm.
- 5.- Tomar una asada de la superficie del sobrenadante y colocarlo en un portaobjetos para observar en fresco o dejar secar para teñir posteriormente (43).

Flotación con solución de Sheather.

- 1.- Preparar el reactivo de Sheather con 500 g. de sacarosa, 320 cc. de agua destilada y 6.5g de fenol en cristales.
- 2.- Mezclar aproximadamente 5g. de heces con el reactivo y -- llenar un tubo de centrifuga con esta mezcla.
- 3.- Centrifugar durante 5 minutos a 1,500 rpm.
- 4.- Colocar un cubreobjetos sobre el tubo para que los oo---- quistes se adhieran a él y colocarlo después en un portaobjetos, para hacer una observación en fresco; o bien hacer un -- frotis para teñir posteriormente. Una modificación de este -- método, es usar un tubo de centrifuga con rosca para taparlo.

y evitar la "aerosolización" de los ooquistes del parásito. Después de centrifugar tomar una asada del sobrenadante y -- colocarla en un portaobjetos. Los ooquistes suben a la superficie del sobrenadante debido a la densidad de la solución - de azúcar que es de 1.27 (16).

2).- MEDIANTE CORTES HISTOLOGICOS.

En humanos, a menudo el diagnóstico es difícil. La biopsia de la mucosa del intestino delgado es importante en la estructura del diagnóstico (14). En 1963 Niedman presentó una sola fotografía de una biopsia de la mucosa del intestino delgado, conteniendo esquizontes de coccidios. Se examinan biopsias de la mucosa de 6 pacientes con esteatorrea y diarreas debidas a I. belli; en 4 pacientes, las biopsias establecieron el diagnóstico, uno de éstos pacientes presenta oquistes no esporulados de I. belli en sus contenidos intestinales por varios meses, otro los presentó durante tres años.

La identificación de cualquiera de estas etapas en el epitelio del intestino delgado es diagnóstico de coccidiosis, por el uso de la biopsia de mucosa y el drenaje duodenal es posible detectar a este parásito cuando no es hallado por el método parasitológico normal. Es necesario, en pacientes ligeramente infectados, examinar múltiples secciones de material para no omitir al parásito. En el momento de su diagnóstico, 17 de 81 pacientes presentan síntomas abdominales y en sólo 6 de estos I. belli es el único parásito hallado. En total 40 biopsias intestinales obtenidas en un período de 45 meses; de éstas, 30 biopsias son diagnosticadas por estudios en microscopio de luz y 10 por microscopio electrónico. Todas las biopsias se obtienen de la región duodeno-yeyunal, éstas son enfocadas cuidadosamente a través del microscopio de luz colocadas en solución de Bouin fijándose sobre parafina, las secciones consecutivas se tiñen con hematoxilina y eosina.

Las biopsias observadas a través del microscopio -- electrónico se colocan en boffer de tetróxido de cromo-osmio deshidratados en alcohol graduado, fijadas en resina de epoxi y teñidas con tinción negativa, las 10 biopsias de la mucosa del intestino delgado examinadas incluyen; 8 especímenes duodeno-yeyunal y 2 obtenidas de la ileostomía en un niño.

La endoscopia de la biopsia del intestino delgado -- frecuentemente demuestra cambios desiguales no especificos -- en la composición de la mucosa intestinal, estos cambios incluyen acortamiento de vellosidades intestinales y un incremento celular en la lámina propia con células inflamadas y -- eosinofilia. El trastorno en la mucosa varía desde cambios -- benignos hasta severas alteraciones que pueden llegar a ser -- orificios en la mucosa, I. belli principalmente afecta las -- vellosidades intestinales de las superficies enquistadas. El parásito intracelular, puede ser identificado, de una endoscopia a través de una biopsia de la mucosa, en un microscopio de luz. Con el microscopio electrónico, las diversas fases de los ciclos sexual y asexual de I. belli son identificadas --- (39,76).

Este estudio se realizó, en las 30 biopsias, antes -- de que el tratamiento se administrara. La estructura de la -- mucosa resulta marcadamente anormal en las 30 biopsias, las vellosidades drásticamente disminuidas en su tamaño e hipertrofia (aumento de células) en criptas, ahí se complican ancor

malidades desiguales de algunas de las células de absorción y en los revestimientos de las vellosidades muchas células sufren empequeñecimiento, existe una pérdida de polaridad nuclear y presentan una vacuolización extensiva de su citoplasma, pocas aparecen completamente normales. Los coccidios se observan dentro de las células epiteliales (enterocito), cerca de las vellosidades de todas las biopsias durante el pretratamiento; los diferentes estadios identificados incluyen merozoítos, trofozoítos, esquizontes, macrogametocitos, microgametocitos y oquistes no esporulados. Además, el número de eosinófilos en la lámina propia es notablemente incrementado en todo el período de pretratamiento de las biopsias.

Microscopio electrónico: las observaciones mediante el mi --
 croscopio electrónico de 10 biopsias durante el pretratamien-
 to, confirman la presencia de significantes aunous desigua--
 les anomalías en las células de absorción donde las por-
 ciones representativas dañadas son las microvellosidades que
 se encuentran empequeñecidas y el citoplasma contiene muchas
 vacuolas, las cuales varían de tamaño y supuestamente llenas
 de lípidos (partículas de lipoproteínas), están presentes en
 el espacio intercelular del epitelio dañado. Además, muchos
 linfocitos, eosinófilos y ocasionalmente leucocitos polimor-
 fonucleados; frecuentemente vistos entre las células epite--
 liales.

Mientras que los parásitos se descubren frecuente-
 mente dentro de las células epiteliales con citoplasma apa-
 rentemente normal; relativamente durante el pretratamiento -
 de las biopsias, diversos estadios del ciclo biológico de --
I. belli se observan dentro de las células epiteliales me-
 diante microscopio electrónico; éstos se demuestran dentro
 de una vacuola en límites de la membrana de ésta, la cual se
 paró los coccidios intracelulares de el citoplasma de la cé-
 lula huésped. Este "parasitoporo vacuolar" se nota regular--
 mente en las células epiteliales del intestino de pacientes
 infectados con I. belli. Uno de los estadios mas observados
 en el epitelio intestinal de los pacientes es el merozoíto.
 Las partes de varios merozoítos maduros son vistos dentro --
 de un parasitoporo vacuolar. El merozoíto extendido es rodea-
 do por una película la cual consiste de una membrana unidad-

tipo exterior continua y aplicada e interiormente electro---- densa, la cuál es discontinua en el polo anterior del mero--- zoíto. El polo anterior, favorablemente organizado de los merozoítos, contiene un conoide denso y muchos micronemas los - cuales se extienden posteriormente cerca de los núcleos, és--- tos se localizan en la parte posterior de los merozoítos y es caracterizado por el nucleoplasma granular y un solo nucleolo prominente, varias mitocondrias grandes con crestas tubulares un buen desarrollo del aparato de Golgi supranuclear, además existen cantidades poco densas de retículo endoplásmico gra--- nular, abundantes ribosomas libres y varios tamaños de gránulos citoplásmicos. La luminosidad electrónica, favorece las - características de la fina estructura citoplásmica del mero--- zoíto. Estos merozoítos no entran en la fase sexual de los -- diferentes estadios de maduración dentro de cada trofozoíto - en las células epiteliales.

El trofozoíto maduro es grande y mas redondo que -- el merozoíto y ha perdido muchas características de su estruc--- tura especializada, lo cual se caracteriza en el polo ante--- rior del merozoíto, así, el trofozoíto ha formado elementos - de retículo endoplásmico granular y el número de mitocondrias en el citoplasma se incrementa. La división nuclear dentro - del trofozoíto, deja huellas dentro de la transformación de - un esquizonte. Los esquizontes jóvenes tienen 2 o 3 núcleos y de cerca se parecen a los trofozoítos en sus características estructurales. También los esquizontes maduros -----

donde su tamaño aumenta rápidamente, la cantidad de gránulos y la superficie lisa del retículo endoplásmico aumenta y mas divisiones nucleares suceden, dando lugar al crecimiento múltiple de los núcleos pequeños los cuales pueden carecer de distintas envolturas nucleares. Las formas inmaduras de los gametógenos pueden parecerse de cerca a los esquizontes jóvenes, sin embargo, las características estructurales del gametógeno son de formas distintas. Los microgametocitos con tienen núcleos múltiples, así en los microgametos maduros muchos de los núcleos se extienden y emigran para ajustarse -- por debajo de la membrana de la célula en la periferia, normalmente se asocian con una mitocondria alargada, la forma madura del microgameto presenta salientes citoplásmicos a lo largo de su envoltura. Los cuerpos basales de la sección flagelar, son también localizados en la periferia del citoplasma cercano a las salientes citoplásmicas y al núcleo. El macrogameto maduro difiere notablemente sus características estructurales de un microgameto maduro o microgameto.

El macrogameto tiene un sólo núcleo central demasiado grande, con nucleoplasma granular pálido, el citoplasma es caracterizado por formar relativamente un retículo endoplásmico con rugosidades, numerosos ribosomas libres, mitocondrias con crestas tubulares y por lo menos dos tipos de gránulos intracitoplásmicos, éstos incluyen gránulos electrodensos, los cuales tienen que terminar en "cuerpos oscuros" y gránulos electro-luminosos, los cuales se convierten mas -

tarde en "cuerpos para formar la pared". Ellos son presumiblemente para contener el material, lo cual puede eventualmente formar la pared del coquiste durante la maduración del mismo, la (Fig. 6), es una porción del desarrollo del coquiste dentro del citoplasma de una célula de absorción intestinal. Tanto los cuerpos luminosos que forman la pared como los cuerpos densos oscuros se encuentran en todo el citoplasma.

La formación de la pared que caracteriza el estado del coquiste de I. belli es identificado por la presencia de una capa de material amorfo, que rodea al parásito y la cual es aplicada cerca de la superficie externa de esta membrana celular. La patología de la mucosa del intestino delgado varía. Ningún paciente presenta mucosa normal, algunos con mucosa lisa, otros con vellos altos y puntas agrupadas, marcada dilatación de los espacios vasculares y excesivo colágeno en la lámina propia, criptas alargadas con vellos cepados residuales, además, se encuentran linfocitos, eosinófilos y células plasmáticas en cifras elevadas dentro de la lámina propia, todas las etapas que representan el desarrollo endógeno de los coccidios, se observan dentro del epitelio o inmediatamente bajo él, muchas veces en vacuolas.

Las secciones teñidas con hematoxilina y eosina resultan mas oscuras y permiten mas fácil la identificación; - la etapa del esquizonte es vista en las preparaciones teñidas, los esquizontes maduros con sus merozoítos también se identifican con esta tinción (28,37).

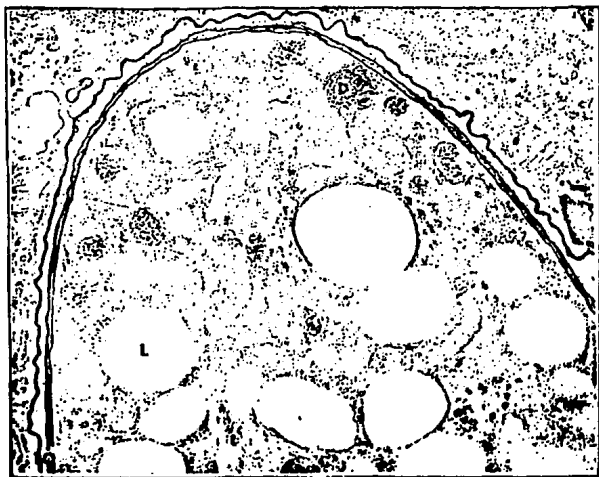


Fig. 6.- Una porción de un ooquiste de I. belli madurando — dentro del citoplasma de una célula epitelial desde el pre--tratamiento en una biopsia. Note la pared de la célula trila--minar y la presencia de los cuerpos electro--luminosos forma--do la pared (L) y cuerpos oscuros (D) dentro del citoplasma uno o ambos de éstos gránulos presumiblemente contribuyen pa--ra la formación de la capa amorfa más alejada de la pared de la célula, la cual caracteriza a la forma del ooquiste ---- (27,000).

Métodos de tinción.

A.- METODO DE HEMATOXILINA-EOSINA (hematoxilina de Harris---- eosina alcohólica)

- 1.- Fijar en formol al 10%
- 2.- Hacer cortes por congelación o por parafina
- 3.- Lavar los cortes en agua destilada
- 4.- Teñir con hematoxilina de Harris, de 1 a 3 minutos
- 5.- Lavar con agua de la llave
- 6.- Lavar con agua destilada
- 7.- Deshidratar con alcoholes de 50° y 70°, por 3 minutos en cada uno
- 8.- Teñir con eosina alcohólica, de 1 a 3 minutos
- 9.- Deshidratar con alcoholes de 96° (dos cambios) y absoluto durante 5 minutos en cada alcohol (sólo si los cortes son por parafina pasar al absoluto)
- 10.- Aclarar con creosota, si los cortes fueron por congelación, o en xilol, si fueron por parafina, durante 5 minutos

Preparación de los colorantes:

- Eosina alcohólica

Eosina azulosa	1.0 g
Orange G	1.0 g
Alcohol de 70°	100 cc

- Hematoxilina de Harris

Hematoxilina (Merck)	1.0 g
Oxido rojo de mercurio	0.5 g
Sulfato de aluminio y amonio o potasio (alumbre)	20 g
Alcohol etílico absoluto	10 cc
Agua destilada	200 cc

Se mezcla todo en frío y se filtra. No debe prepararse demasiado porque las soluciones de mucho tiempo se alteran. Filtrar cada vez que se use.

B.- Tinción negativa para microscopía electrónica.

- 1.- Se prepara un frotis fecal y se fija con glutaraldehído - al 0.5%, durante un minuto.
- 2.- Se tinge con ácido fosfotúngstico al 0.5% o hasta 20% con pH = 7.0; o con uranil acetato al 2% pH= 7.0 durante 10 - minutos. Dejar secar para observar al microscopio (6).

3) MEDIANTE LA TECNICA DE LA CAPSULA DUODENAL DE BEAL
(~~ENTEROTEST~~)

En pacientes con persistente exámen negativo del excremento para I. belli por técnicas de concentración por flotación, se demuestra este organismo en las secreciones intestinales utilizando la prueba de la capsula duodenal de Beal (Fig. 7). Los coquistes de I. belli no se tiñen fácilmente con yodo y son mejor observados con iluminación reducida; los coquistes de I. belli son ovoides, alargados, puntiagudos en un extremo y tienen una pared lisa hialina de doble capa, invaden al intestino delgado causando lesiones superficiales del vello y destrucción de las células epiteliales.

El exámen rutinario en el excremento para los parásitos, se realiza con especímenes preservados en fijador de alcohol polivinilo y en solución de formol-salino, después de la petición de los especímenes del excremento de los pacientes con SIDA; se examinan por la técnica de tinción ácido-resistente modificada en 56 especímenes de 37 pacientes, encontrándose coquistes de I. belli.

Durante dos años, más de 100 sujetos se hospitalizaron con SIDA o sospecha de SIDA. Aproximadamente 30 pacientes son evaluados por síntomas de diarrea persistente.

En éste último grupo, 10 pacientes diagnosticados con infecciones entéricas coccidiales, les realizaron las pruebas rutinarias de laboratorio en el excremento, investigándose la presencia de sangre oculta, leucocitos fecales, huevecillos, parásitos y los cultivos para patógenos entéricos. La materia fecal se recolecta en formalina, alcohol polívinil (PVA) y dicromato potásico al 2.5% para los estudios en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales.

La prueba del cordón duodenal de Beal (Enterotest Hedico, Mountain view, California), se utiliza para examinar los excrementos de los pacientes con sospechosa parasitosis intestinal superior; la prueba se efectúa habiendo el paciente tragado una cápsula conteniendo un cordón enrollado, la cápsula se disuelve y el cordón se desenrolla, éste es impulsado mediante peristalsis al intestino delgado; para mejor cosecha de parásitos se extrae el cordón después de una prueba de 12 horas (nocturnamente). El moco del extremo final del cordón es agregado a un portaobjeto conteniendo una gota de solución salina, otro con una gota de yodo para el examen directo a través del microscopio. Otro portaobjeto con frotis de moco puede ser utilizado para la tinción ácido-resistente modificada (Ziehl Neelsen). Múltiples muestras examinadas de un total de 45 pacientes, 7 con SIDA son analizadas, distribuyéndose las muestras fecales en 3 viales separados; cada uno conteniendo lo siguiente: el primero con dicromato de potasio al 2.5%, el segundo con formalina al 10% y el tercero con al-

cohol polivinil (PVA). Se coloca lg de materia fecal dentro - de cada vial y se mezcla bien; los frotis se preparan de los viales con formalina al 10% y dicromato de potasio al 2.5%, - se calientan durante 10 minutos a 70°C para fijarlos; antes - del teñido, el material es montado por vía húmeda directa y - concentrada (flotación y sedimentación), utilizando microscopía óptica.

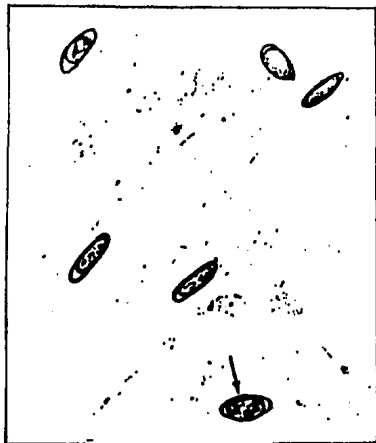
Fijación de oquistes de I. belli para la tinción ácido-re--- sistente modificada (Ziehl Neelsen) con KOH al 10%.

El material sedimentado (llevar la capa del sedimento des---- pués de centrifugar por dos minutos a 3 000 rpm) es colocado sobre un portaobjeto (capa fina) y es fijado con calor a 70°C por 10 minutos antes del teñido. Si la muestra aparece mucoid- de, se añaden 10 gotas de KOH al 10% al sedimento y homogei-- nizar como torbellino hasta crear un vórtice, antes de la --- preparación del frotis. Se enjuaga con formalina al 10% y cen- trifugar, decantar fuera el fluido sobrenadante, una gota del sedimento se coloca sobre el portaobjetos como se describe -- anteriormente.

El uso de material preservado en formalina reduce - el peligro de infectar al personal sano. Actualmente, todas - las muestras fecales presuntas de pacientes con SIDA son so-- metidas en formalina al 10% y PVA, procedimientos que son e-- jecutados en un gabinete de seguridad biológica. La recupera- ción e identificación de los parásitos, pueden ser dependien- tes sobre una combinación de técnicas y muy cuidadosa exami-- nación de el material después del procedimiento; las técnicas

recomendadas descritas son para asegurar que la clínica y el laboratorio alcancen al máximo su habilidad para formar el diagnóstico, de esta manera asistiendo la clínica en el cuidado del paciente. El uso del teñido ácido-resistente modificado sobre el sedimento formalinado proporciona la mas efectiva oportunidad para la identificación de I. belli; esta misma técnica de teñido también se utiliza en aspirados duodenales, los cuales tienen que ser primeramente fijados en un volumen igual de formalina al 10% y entonces sedimentado como se mencionó anteriormente (17,20).

Pocos oocistos de I. belli se identifican en las preparaciones ácido-resistentes, teñidas en especímenes de excremento de pacientes con SIDA, es fácilmente reconocido por su tamaño (30 x 12 micras) y la masa redondeada contenida de materia germinal o esporoblastos la cual en especímenes con mas de 48 horas a temperatura ambiente, se divide para formar dos esporocistos; se tiñe de un color rojo intenso y un precipitado de esta tinción perfila la pared del oocisto, la cual no se tiñe (14,41). En pacientes donde I. belli es hallado por el Enterotest, presentando 6 exámenes de excremento negativos, la prueba del Enterotest resulta marcadamente positiva en pacientes con isosporiasis, identificando de 5 a 6 oocistos por campo (400 x) en la (Fig. 7) (62,75).



(fig. 7).- Oocistos de Isospora belli como son vistos en el moco de la prueba del cordón duodenal de la cápsula de Beal (Enterotest). No teñido (x290).

Técnica de tinción.

ZIEHL NEELSEN MODIFICADA.

- 1.- Preparar un frotis fecal y fijarlo con calor.
- 2.- Cubrir el frotis con carból-fuchsina y calentar hasta ---
emisión de vapores
- 3.- Dejar actuar el colorante durante 5 minutos; si empieza a
secarse el colorante agregar más, pero sin calentar.
- 4.- Lavar con agua
- 5.- Decolorar con ácido sulfúrico al 5% durante 30 segundos o
el tiempo necesario hasta que el frotis tome un color ana
rillo al agregar más ácido
- 6.- Lavar con agua y contrateñir con azul de metileno (solu-
ción de Loeffler) durante un minuto
- 7.- Enjuagar y dejar secar para observar al microscopio, en
objetivos de 10x, 40x y 100x (51, 75).

TRATAMIENTO

Los diferentes regímenes terapéuticos utilizados para tratar la infección causada por I. belli son:

- A. Tratamiento con Amprolio.- Dosis de 10 a 50 mg/Kg al día (60,73).
- B. Tratamiento con delvex (yoduro de ditiazanina).- Dosis de 200 mg/día (44,50).
- C. Tratamiento con Furazolidona (Lomofen o Puroxona).- Dosis de 100 mg, 4 veces al día durante 7 semanas (64).
- D. Tratamiento con pirimetamina y sulfadiazina.- Dosis de 21 días con 75 mg de pirimetamina y 28 días con 37 mg de sulfadiazina (42,70,78).
- E. Tratamiento con tinidazol (Fasigina).- Dosis de 500 mg/día por 5 a 10 días (9).
- F. Tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol (Co-trimoxazol, SEPTRA, Bactrin, Lidaprim).- Dosis de 80 a 160 mg de trimetoprim y 400 a 800 mg de sulfametoxazol, de 1 a 2 tabletas cada 6 horas por 5 a 10 días y después 2 veces al día durante 3 semanas o una vez al día por un mes (31, 34, 36, 41, 44, 49, 52 55, 77).
- G. Ocotrectide.- Dosis de 150 a 300, 750 y 1500 mcg/día, por vía subcutánea (62).

Actualmente el tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol es el más empleado tanto en pacientes inmunocompetentes como en pacientes inmunosuprimidos ya que determina mejoría en dichos pacientes. Así también, el tratamiento con ocotrectide logra una respuesta satisfactoria en pacientes con SIDA.

PROFILAXIS

La profilaxis se define como la prevención de la --
sintomatología de isosporiasis humana por cualquiera de las --
dos vías: la supresión de la recaída o la prevención a que --
reaparezca la infección (43).

Se considera necesario descubrir en cada población--
la causa fundamental de la endemidad y de los brotes epidé--
micos de I. belli, puesto que, la lucha contra la isosporia--
sis humana y su profilaxis eventual dependen de que se acepte
que ésta infección es un problema de sanidad pública. Este --
concepto se basa en el conocimiento de la importancia clínica
de la enfermedad, que no respeta la edad ni raza y se encuen--
tra extensamente diseminada entre las poblaciones urbanas y --
rurales de los climas templados y cálidos.

Debido a que la transmisión se lleva a cabo por in--
gestión de alimentos o bebidas contaminadas con materias feca--
les que contienen oocistos, las medidas profilácticas reco--
mendadas son las siguientes: un suministro adecuado de agua --
potable para beber, uso doméstico y para bañarse se puede ob--
tener por filtración, sedimentación y esterilización con clo--
ro o yodo; con esto se previenen con frecuencia las epidemias
y disminuye el índice de endemia, a condición de que el agua--
limpia no sea contaminada con las aguas negras. Los alimentos
tienen que ser protegidos de la contaminación causada por el--
uso de deyecciones humanas y de las personas infectadas encar--
gadas de manipularlos.

La transmisión directa de persona a persona ----

en instituciones como orfanatorios, prisiones, manicomios y - tiene que combatirse por el desarrollo en los grupos afectados de la necesidad de mejorar la higiene colectiva y personal.

Atacar este problema exige la entusiasta colaboración del clínico, del médico parasitólogo, del epidemiólogo, del inspector sanitario, ingeniero, enfermera, educador y jefe de sanidad. En una campaña contra la isosporiasis, el clínico desempeña su papel al diagnosticar y tratar a las personas infectadas que tiene a su cuidado; pero no solo a los que presentan manifestaciones indudables de la enfermedad, sino - también a los portadores asintomáticos de I. belli, en particular entre los dedicados a la preparación de los alimentos, quienes eliminan oocistos y son la causa de que se mantenga la infección en la comunidad. Pero en la mayoría de los casos no se ponen en conocimiento de las autoridades sanitarias. Se podría hacer mucho mas contra la isosporiasis humana, si los médicos reportaran pronto los casos que atienden. Los servicios del médico parasitólogo son de dos tipos : a) instruir a los clínicos de laboratorio sobre la exacta identificación de Iso spora belli, b) dirigir las investigaciones para determinar la frecuencia de la infección coccidia en la población.

El epidemiólogo se dedicará a investigar la causa - de la elevada endemicidad y de los brotes epidémicos de isosporiasis y dará su opinión sobre las medidas prácticas de control a seguir. El sanitario vigilará los servicios de cocina

en restaurantes, el desaseo de los que manipulan alimentos y de sus hábitos de limpieza personal, datos que pondrá en conocimiento del Departamento de Salud Pública. El ingeniero sanitario se encargará de que los suministros de agua no estén contaminados, la enfermera y el educador informarán de manera exacta y de fácil comprensión para los habitantes, sobre las formas como se puede adquirir la isosporiasis y de como simplemente con lavarse las manos después de ir al baño y antes de las comidas, así como mediante el lavado frecuente de la ropa, se reducen las posibilidades de contagio. El jefe de sanidad coordina el programa y establece como ha de ponerse en práctica para no malgastar el dinero ni los servicios de personal.

Las infecciones por I. belli pueden prevenirse con medidas de higiene de los alimentos, especialmente las verduras o las frutas que se consumen crudas y sin pelar (1,12).

La infección entérica con el protozoario I. belli, es común en pacientes con el Síndrome de inmunodeficiencia - adquirida (SIDA) y severa causa de diarrea. I. belli responde bien al tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol, pero existe un alto índice de reaparición, de acuerdo con este problema, al investigar la profilaxis en pacientes con SIDA y complicaciones por infección de I. belli y diarrea crónica, después de 5 a 15 días de haber terminado la terapia con dicho medicamento. Los pacientes con isosporiasis con sometidos a un régimen profiláctico de 500 mg de sulfadoxina y 25 mg de pirimetamina por vía oral una vez por semana durante 2 semanas; ninguno presenta recaída de I. belli (43, 53).

CONCLUSIONES

Las investigaciones sobre los pacientes inmunodeficientes que padecen de coccidiosis intestinal causada por Isoospora belli, considerada como una parasitosis autolimitada; puede también llegar a ser una enfermedad crónica y en ocasiones producir la muerte. Mediante este estudio se confirma el carácter indiscutiblemente patógeno de I. belli, su origen tropical y la relativa dificultad en el diagnóstico microscópico que exige la identificación de las formas coccidias en tránsito y la puesta en práctica de métodos de concentración eficaces. A través del examen de excremento, biopsias intestinales, aspirados duodenales y frotis obtenidos del contenido intestinal por la prueba del cordón intestinal de la cápsula de Beal (enterotest) y con los métodos de tinción más modernos y exclusivos como es la de Ziehl Neelsen modificada; observándose a través de microscopía óptica obteniendo un resultado óptimo y eficaz, además, también se demuestra la presencia de I. belli en el diagnóstico por medio de biopsias intestinales, utilizándose técnicas de tinción como la de hematoxilina y eosina; también tinción negativa, observándose con microscopía electrónica para obtener resultados acertados. Sin embargo, el costo es demasiado alto para realizarse a nivel Nacional como rutina, por lo tanto, se utiliza microscopía óptica la cual requiere de experiencia para obtener resultados favorables, con esto es posible un estudio más completo y capaz para un mejor diagnóstico de esta parasitosis intestinal.

Isospora belli, es un protozooario el cuál parasita las células epiteliales (enterocito) del intestino delgado en humanos; su distribución es mundial, en los pacientes con inmunomecanismo intacto, la infección es muchas veces asintomática y marcada por una diarrea ligera autolimitada, mientras que, en huéspedes inmunocomprometidos el padecimiento es una causa de diarrea prolongada; el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) visto en su mayor parte en hombres homosexuales y en farmacodependientes, predispone a los pacientes afectados a un gran número de infecciones oportunistas como esta infección coccidia a un resultado letal.

El mecanismo de transmisión oro-anal y oro-fecal, de este protozooario intestinal que conduce a incidencias aumentadas, demostrándose en pacientes homosexuales (masculinos) y pacientes heterosexuales.

I. belli es el agente etiológico que produce coccidiosis humana o isosporiasis humana, el cual responde al tratamiento con las combinaciones de trimetoprim-sulfametoxazol como también de octreotide, en sus dosis correspondientes.

I. belli normalmente produce enteritis de corta duración pero en algunos casos provoca coccidiosis crónica teniendo como consecuencia un síndrome de malabsorción y a veces hasta la muerte.

Además, en conclusión se determina a la isosporiasis humana como una parasitosis benigna pero en ocasiones produce consecuencias fatales, dependiendo del estado de

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

inmunogenicidad del paciente, debido a que es un parásito cosmopolita y difícil de erradicar por la cronicidad de la enfermedad que provoca.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Antuna Egocheaga A; ETAL, "The acquired immunodeficiency syndrome in the elderly". Med. Clin. Baer. 98(12): 461-4, marzo 1992.
- 2.- Aubry P. "Malabsorption syndrome and intestinal parasitosis". Med. Trop (mars) 43 (4): 317-24, jul-aug 1983.
- 3.- Basset A, ETAL, "The association of Cryptosporidiosis and isosporosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)". Med. Trop. (mars); 50 (4): 459-61, oct-dec 1990.
- 4.- Bensaid, M.M, ETAL, "A case of human Isospora belli coocidiosis". Tunis Med. Vol 59 (6), 508, nov 1983.
- 5.- Butler T, ETAL, "Isospora belli infection". Pathology, -- Vol. 13 (3), 593-595, jul 1983.
- 6.- Beaver PC, Jung RC, Cupp E.W.
Clinical Parasitology
Lead Febiger
Philadelphia (1984)
- 7.- Chew SK, ETAL, "Case report. The acquired immunodeficiency syndrome and Isospora belli infection". Singapore Med J, 30 (4): 404-5 aug 1989.

- 8.- Cone LA, ETAL, "An update on the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Associated disorders of the alimentary tract". Dis Colon Rectum, 29 (1) 60-4, 1986.
- 9.- Daniels, G.V.
SIDA. SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA
El Manual Moderno
México, D.F. (1986)
- 10.- Delvol, AM, ETAL, "Incidence and clinical aspects of intestinal coccidiosis in a tropical medicine practice". Bull Soc. Pathol Exot. Filiales, vol 73 (3), 259-265, 1983.
- 11.- Delvol AM, ETAL, "11 casos de isosporiasis (Isospora belli) in patients with AIDS". Bull. Soc. Pathol Exot Filiales, 81 (2): 164-72, 1988.
- 12.- Estambale BB, Knight R, "Protozoan infections and HIV-1 infection: a review". East Afr Med J. Vol 69 (7): 373-7.
- 13.- De Hovitz JA, ETAL, "Clinical manifestations and the raw of Isospora belli infection in patients with the acquired immunodeficiency syndrome". -- N. Engl J. Med; 315 (2): 87-90, jul 1986.

- 14.- Faria, JA, ETAL, "Human isosporosis caused by Isospora belli Wenyon". Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, Vol. 25(1), 47-9, Jan-feb 1983.
- 15.- Faust Carrol, Ernest
Parasitologia Clínica
SALVAT
Barcelona España (1983).
- 16.- Felez MA, ETAL, "Enteritis caused by Isospora belli - in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Description 9 casos". Med. Clin. --- 16:95 (3), 84-88, jun 1990.
- 17.- Forthal, DN, ETAL, "Isospora belli enteritis in three homosexual men". Am J. Trop. Med. Hyg, Vol. --- 33(6), 1060-64, Nov. 1984.
- 18.- Floch PJ, ETAL, "Parasites, etiologic agentes of diarrhea in AIDS. Significance of duodenal aspiration fluid test". Bull Soc. Pathol Exot. Filiales, 82 (3), 316-20, 1989.
- 19.- Figueroa F, ETAL, "Chronic diarrhea due to Isospora belli and Kaposi's sarcoma in a male homosexual Report of the 1st case of acquired immunodeficiency syndrome". Rev. Med. Chil. 113(8):772-9, a ug 1985.

- 20.- Garcia IS, ETAL, "Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens". J. Clin. Microbiol, Vol 118, 185-190, 1983.
- 21.- Genne-D, ET AL, "Fever of un know origin in a cohort of HIV-positive patients". Schweiz-Med Wochen schr. 122 (47):1802, Nov. 1992.
- 22.- Gellin-BG; Soave-R, "Coccidian infections in AIDS. Toxoplasmosis, Cryptosporidiosis and isosporiasis". Med. Clin-North-Am; 76(1):205-34, Jan 1992.
- 23.- Giboda, M, ETAL, "Additional findings in intestinal coccidial infections in man". Cesk. Epidemiol. Mikrobiol Immunol. Vol. 31 (5), 283-285, 1983.
- 24.- Gottlieb MS, ETAL, "The acquired immunodeficiency syndrome". Ann Intern Med. 99:208-20, 1983.
- 25.- Godiwala T, Yaeger R. "Isospora en traveler's diarrhea". Ann Intern Med. 106:908-9, 1987.
- 26.- Guisantes, JA, ET AL; "Human coccidiosis by Isospora belli an malabsorption. The third European Multico loquium of Parasitologia." Cambridge, p. 7-13, 1983.

27.- Greenberg SJ, ET AL, "Isospora belli enteric infection infection in patients with human T-cell leukemia" Am. J. Med; 85 (3): 435-8, sep 1988.

28.- Guerrant, R.L., Shields, D.S. "Evaluation and diagnosis of acute infectious diarrhea". Am. J. Med. 78(6B), 91-98 (1985).

29.- Hallak, A, ET AL, "Malabsorption syndrome, coccidiosis combined immune deficiency, and fulminant lymphoproliferative disease". Arch. Intern. Med. Vol. 142 (1), 196-197, jan 1983.

30.- Hart AS, ET AL, "Novel organism associated with chronic diarrhea in AIDS". Lancet, 333(8682):169-70 , 1990.

31.- Jarpa, A, ET AL, "Human intestinal coccidiosis: infections by Isospora belli and by Sarcocystis hominis (Isospora hominis)". Bol. Chil. Parasitol, - Vol. 36(3-4), 49-55, jul-aug 1983.

32.- Jawest, Ernest

Manual de Microbiología Médica

Manual Moderno

México (1983).

- 33.- Junod, C, "Isospora belli coccidiosis in immunocompe-
rent subjects (a study of 40 cases)". Bull Soc.
Pathol Exot Filiales, Vol 81(3):317-25, 1988.
- 34.- Kawasaki, T, ET AL, "A case of human coccidiosis with
watery diarrhea, eosinophilia and bile duct pro-
liferation". Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi,
Vol. 77(8), 1283-7, aug 1990.
- 35.- Kawano, F, ET AL, "Isospora belli infection in a pa-
tient with adult T-cell leukemia". Rinsho Ket--
sueki. Vol 33(ε):283 -7, may 1992.
- 36.- Keusch-GT, ET AL, "Persistent diarrhea associated ----
with AIDS". Acta Paediatr, 81(381), 45-8, 1992.
- 37.- Kirkpatrick, CE, "Animal reservoirs of Cryptosporidium
and Isospora belli". J. Infect. Dis, 158(4),
909-910, 1988.
- 38.- Kitsukawa, K, ET AL, "An autopsy case of T-cell lympho-
ma associated with disseminated varicella and ma-
labsorption syndrome due to Isospora belli infec-
tion". Rinsho Ketsueki, Vol 22(2), 258-65, 1983
- 39.- Levine, N.D, "Some corrections of coccidian (apicomple-
xa/Protozoa) nomenclature". J. Parasitol, Vol.
66:11, 830-834, 1983.

- 40.- Levine, N.D., ET AL, "A newly revised classification of the protozoa". Protozool, Vol27, 37-58, 1983
- 41.- Levine-G. I. "Parasitic diseases. Diseases associated with acquired immunodeficiency". Prim- Care, -- 18(1), 129-52, mar 1991.
- 42.- Lozano D, ET AL, "Chronic intestinal coccidiosis in the human". Rev. Med. Panama, Vol. 8(3), 37-58 1983.
- 43.- Lynch, R, Mellor, S.I.
METODOS DE LABORATORIO
2a. edición
Interamericana
México, D.F. (1983).
- 44.- Lumb R, ET AL, "Isoospora belli infection. A report of two cases in patients with AIDS". Med. J. Aust. Vol. 155 (3): 194-6, aust 1991.
- 45.- Martin-Du Pan, R.C., ET AL, "Acquired immunodeficiency syndrome, chronic coccidiosis and Salmonella typhi murium septicemia in a couple from Zaire. Immunological functions and attempted immunostimulation by thymopentin". Schweiz Med. Wochenschr, Vol. 114(46), 1645-50, nov. 1984.

- 46.- Markus, MB, "Origin of extraintestinal stages of Isospora belli in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)". Med. Hypotheses, 35(3), 278, 1991.
- 47.- Michiels-JF; ET AL, "Historiopathologic features of opportunistic infections of the small intestine in acquired immunodeficiency syndrome". Ann-Pathol; - 12(3):165-73, 1992.
- 48.- Moreira Junior, ED, ET AL, "Identification of isosporiasis in patients with acquired immunodeficiency". Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1991.
- 49.- Modigliani R, ET AL, "Diarrhoea and malabsorption in acquired immunodeficiency syndrome: a study of four cases with special emphasis on opportunistic protozoan infestations". Gut, Vo. 26(2):179-187, feb 1985.
- 50.- Neira P, ET AL, "Isospora belli in a HIV (+) patient". Rev. Med. Chil, Vol 117 (8): 939, aug 1989.
- 51.- Ng E, ET AL, "Demonstration of Isospora belli by acid fast stain in a patient with acquired immunodeficiency syndrome". J. Clin. Microbiol, Vol 20(3), 384-6, sep 1984.

- 52.- Pilloud M, "Antibiotics and chemotherapeutics from research to practice. III. Remarks to practitioners sulfamide peculiarities". Schweiz. A. Arch. Tierheilkd, Vol. 124(5), 257-66, 1983.
- 53.- Pape SW; ET AL, "Treatment and prophylaxis of I. belli infection in patients with the acquired immunodeficiency syndrome". N. Engl. J. Med. 320(16):1044 -- 1047, apr 20 1989.
- 54.-Pape JW, ET AL, "Isoospora belli infection". Clin. Parasitol, Vol. 2:119-27, 1991.
- 55.- Peter GS, ET AL, "Prevalence of enteric parasites in homosexual patients attending an outpatient clinic". J. Clin. Microbiol. 24:684-5, 1986.
- 56.- Peng CY, ET AL, "Isoospora belli infection in a patient with Hodgkin's disease: report of a case". Taiwan I. Hsueh Huitsa Chin. 90(3):260-3, marzo 1991.
- 57.- Prociw- P; ET AL, "Isoosporiasis in the aboriginal population of Queensland". Med-J Aust, 156(2):115-7, jan 1992.
- 58.- Restrepo C, ET AL, "Disseminated extraintestinal isosporiasis in a patient with acquired immune deficiency syndrome". Am J. Clin. Pathol. 87(4):536-42, --- 1987.

- 59.- Rene-E, ET AL, "Diarrhea in AIDS. Group AIDS GIT". Rev. Prat. Vol. 42(2):189-3, jan 1992.
- 60.- Ros E, ET AL, "Isospora belli infection in patients with AIDS". N. Engl. J. Med., 317(4):246-7, 1987.
- 61.- Romeu J, ET AL, "Therapeutic challenge for I. belli enteritis in an AIDS patient who developed Ly ell - syndrome after co-trimoxazole therapy". Am J. Gastroenterology, 84(2):207-9, feb 1989.
- 62.- Romeu, J, ET AL, "Efficacy of oetrectide in the management of chronic diarrhoea in AIDS". AIDS. Vol. -- 5(12):1495-9, dec 1991.
- 63.- Shein, R, ET AL, "Isospora belli in a patient with acquired immunodeficiency syndrome". J. Clin. Gastroenterology, Vol. 6(6), 525-528, dec 1984.
- 64.- Secretaría de Salud
Dirección General de Epidemiología
Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
Manual de Vigilancia Epidemiológica VIH/SIDA.
México, D.F. 1990.

- 65.- Sorvillo F, ET AL, "Isospora belli and the acquired immunodeficiency syndrome". N. Engl J. Med; ----
322(2):131-2, jan 1990.
- 66.- Soave R, "Cryptosporidiosis and isosporiasis in patients with AIDS". Infect Dis Clin. North Am, --
2(2): 485-93, jun 1988.
- 67.- Sun T, "Opportunistic parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome". Pathol Annu, 23 pt 2:1-32, 1988.
- 68.- Teschareon, S, ET AL, "Isospora belli infection as a cause of diarrhoea". South east Asian, J. Trop. Med. Public Health, Vol. 14(4), 528-30, 1983.
- 69.- Tay, Jorge
PARASITOLOGIA MEDICA
Francisco Méndez Cervantes
México, D.F. (1985)
- 70.- Tietza, KT, ET AL, "Treatment of Isospora belli enteritis in patients with AIDS". Clin. Pharm 5:191, --
1986.

- 71.- Todd Sanford Davidsohn
DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO CLINICO POR EL LABORATORIO
Salvat , 8va. edición
Barcelona, España (1991).
- 72.- Urroz Lacayo, C, ET AL, "Isosporosis". Rev. Med. Panama.
Vol. 7(2), 154-8, may 1983.
- 73.- Veldhuyze Van Zanten, S.J., ET AL, "Amprolium for coccidiosis in AIDS". Lancet. Vol. 2(8398), 345-46, --
1984.
- 74.- Vincent F de Vita, JR
SIDA. ETIOLOGIA, DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO y PREVENCIÓN
Salvat, 2da. edición
Barcelona, España (1990)
- 75.- Whiteside, M.E., ET AL, "Chronic enteric coccidiosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome". Gastroenterology, Vol. 84(2pt2), 1350, --
1983.
- 76.- Whiteside, M.E., ET AL, "Enteric coccidiosis among patients with the acquired immunodeficiency syndrome". Am J. Trop. Med. Hyg, Vol. 33(6), 1065-72,
1984

- 77.- Wofsy C.B. "Antimicrobial therapy of infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome". Peterson P.K., Verhoef Jeds. "The antimicrobial - Agents Annual/1". Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 377-400, 1986.
- 78.- Weiss LM, ET AL, "Isospora belli infection: treatment with pyrimethamina". Ann Intern Med., 109:474-5, 1988.
- 79.- Wong, B. "Parasitic diseases in immunocompromised hosts" Am. J. Med., Vol. 76, 479-86, 1986.
- 80.- Yoon D.H., ET AL, "A case of fatal malabsorption syndrome caused by strongyloidiasis complicated with isosporiasis and human cytomegalovirus infection" Kisaenhohughak Chapchi. , 30(1):53-8, mar 1992.