



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



COMISION DE TESIS DE GRADO  
FACULTAD DE QUIMICA

"COMPORTAMIENTO INMUNOLOGICO  
EN LA CRIPTOSPORIDIOSIS"

**TRABAJO MONOGRAFICO DE  
ACTUALIZACION**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :**

JOSE FRANKLIN ESQUIVEL IZQUIERDO



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## JURADO ASIGNADO

**Presidente:** DR. OSCAR VELASCO CASTREJON  
**Vocal:** Q.F.B. RODOLFO PASTELIN PALACIOS  
**Secretario:** Q.F.B. ABEL GUTIERREZ RAMOS  
**1er. Suplente:** Q.F.B. MAITE ASTIGARRAGA ZAVALETA  
**2do. Suplente:** Q.F.B. NORMA ANGELICA CASTELLANOS CHAVEZ

### Sitio donde se desarrolló el tema:

Biblioteca y hemeroteca de la Facultad de Química U.N.A.M. , hemeroteca de la Facultad de Medicina U.N.A.M., hemeroteca del I.N.N "Dr. Salvador Zubirán", biblioteca del Instituto de Investigaciones Biomédicas U.N.A.M., hemeroteca del Hospital General S.S.A., hemeroteca del Centro Médico Nacional Siglo XXI I.M.S.S.

**Asesor del Tema:** Q.F.B. ABEL GUTIERREZ RAMOS

**Sustentante:** JOSE FRANKLIN ESQUIVEL IZQUIERDO

**A mis padres:**

**Padre gracias, por darme la oportunidad de buscarme un futuro lejos de casa, por permitirme estudiar en esta gran Universidad en la que he culminado mi preparación como persona, que como tú tiene los mismos principios y cree en los mismos ideales. Este logro está construido con mi esfuerzo, pero su base es el sacrificio que tanto tu como mi madre han hecho. Me siento orgulloso de llevar tu nombre el cual he aprendido a honrar estando lejos. Gracias por tu confianza, por que siempre he sentido tu apoyo, por que nunca me has dejado solo. Este trabajo es tan tuyo como mío, es de los dos.**

**Gracias AMIGO**

**Mi gratitud y mi cariño son tuyos señora por sacrificar y siempre buscar la forma de hacernos felices, por procurar nuestro bienestar muchas veces a costa del tuyo, gracias por recibirme con alegría y despedirme cada vez con ojos llorosos, gracias por hacerme saber que puedo conseguir todo lo que me proponga y siempre alentarme a seguir adelante. En ti siempre he tenido a mi confidente y consejera en todas mis cosas, la sencillez que te caracteriza ha sido tu mejor regalo.**

**Gracias AMIGA**

**A la memoria de mi Abuelo:**

**Don Gustavo a quién siempre recuerdo vestido de blanco, con bastón y sombrero, sentado a orillas de la ventana. Gracias por ser quien fuiste, para mí la esencia de la decencia, tu apellido es una gran responsabilidad que mi padre me ha heredado. De tí recibí el primer estímulo para ser químico.**

**A mis abuelas:**

**Dos grandes mujeres, de gran personalidad.**

**Doña Chelo: te quiero mucho, de niño recuerdo verte arreglándome para llegar temprano a la escuela, en los tiempos de la primaria. Gracias por esa ternura que te hace llorar cada vez que nos miras llegar a visitarte, gracias por tus pláticas e historias que evocaban la infancia de mi padre, gracias a ellas lo pude conocer mejor.**

**A la memoria de mi mejor maestra: Doña Olga quien fuera en vida toda humildad y cariño, poseedora de una gran fe inquebrantable. Donde quiera que estés no te olvidaré nunca, por tí mi fe en Dios se ha fortalecido, gracias por tu ayuda y tu corazón.**

A mis hermanas:

Chely: gracias por ayudarnos siempre, por cuidarnos, gracias por ser mi hermana mayor, ese papel no habría podido desempeñarlo como tú. Gracias también por la nueva familia que has formado con un buen hombre y el precioso sobrino Toñito. Con mi agradecimiento para ustedes.

Natasha: Fuimos quienes tuvimos el privilegio de estudiar fuera de casa, siempre nos apoyamos para aguantar la soledad, te extraño mucho y se que te veré con el tremendo hiyiyi y Joaquín muy pronto por México platicándome de sus éxitos. Para ustedes que se esfuerzan tanto por salir adelante son mi ejemplo. Gracias.

Tania: la pequeña, gracias por jugar y aveces pelear, gracias por cuidar de papá y mamá, me acuerdo verte llorar la primera vez que abordé el camión para venir a México, espero poderte ayudar muy pronto a seguir en la Universidad, es un compromiso que asumiré con gran gusto. Te quiero.

A mis tíos:

Pepe y Thelma mi agradecimiento por compartir su techo y sustento como uno de sus hijos y siempre ayudarme haciendo menos difícil mi estancia lejos de casa. mis segundos padres.

Naty y Tito. Gracias por velar siempre por nosotros y ayudarnos a resolver los problemas

**A mis amigos**

**Mi agradecimiento Lic. Adrián Hernández por tu amistad y compañerismo, mi deuda contigo es para siempre, también gracias Lic. Rodolfo León por ser tan buen amigo y por el apoyo que ambos me brindaron para la realización de este trabajo. Lic. Pedro Pulido (no es mi primo hermano), Lic. Juan Miguel Ramos, Lic. Luis Carlos Dupeyrón, Ing. Juan De Wit, Lic. Eduardo Mena, Dr. Manuel Soto, Ing. Miguel Obispo gracias por su amistad desinteresada y hacerme reír tanto.**

**Al Q.F.B. Abel Gutiérrez Ramos a quien considero no solo un profesor sino también un amigo, mi agradecimiento por su acertada dirección en la realización de este trabajo.**

**A mi Novia:**

**Dedico este esfuerzo a mi gran amor por su gran comprensión y cariño, a pesar de la distancia siempre has procurado estar cerca de mi, eres un gran apoyo te quiero.**

## INDICE

	PAG.
<b>CAPITULO I.- GENERALIDADES</b>	<b>1</b>
ANTECEDENTES HISTORICOS	2
CLASIFICACION TAXONOMICA	5
CICLO DE VIDA	7
<b>CAPITULO II.- INFECCION EN HUMANOS</b>	<b>11</b>
OBSERVACIONES EPIDEMIOLOGICAS	11
TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD	14
MECANISMO DE INFECCION Y DIARREA	16
MANIFESTACIONES CLINICAS	18
<b>CAPITULO III.- INMUNOLOGIA DE LA CRYPTOSPORIDIOSIS</b>	<b>21</b>
LA PARTICIPACION DEL SISTEMA INMUNOLOGICO	21
INMUNIDAD HUMORAL	22
EL EFECTO DE LOS ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES	26
EL PAPEL DE LOS ANTICUERPOS	28
INMUNIDAD CELULAR	30
PARTICIPACION DE LOS LINFOCITOS T ( CD4+ Y CD8+)	33
LA SUBPOBLACION DE LINFOCITOS T CD4+ (Th1).	35
LAS CELULAS NATURAL KILLER	38
<b>CAPITULO IV.- DISCUSION</b>	<b>41</b>
<b>CAPITULO V.- CONCLUSIONES</b>	<b>46</b>
<b>CAPITULO VI.- BIBLIOGRAFIA</b>	<b>48</b>

# CAPITULO I

## GENERALIDADES

La diarrea aguda es uno de los problemas mas importantes de salud en el mundo, es la principal contribuyente de enfermedad y causa de muerte en los niños de países en vías de desarrollo (84). Un estudio de sobrevivencia en 24 comunidades de 18 países en desarrollo hecho por la Organización Mundial de la Salud, mostró un elevado índice de mortalidad causado por la diarrea, con un rango anual de 20 defunciones por 1000 niños, en lactantes menores (9).

Debido al gran número de enteropatógenos que en los últimos años se han identificado como agentes causales de gastroenteritis, no es de extrañarse que se continúe la búsqueda de agentes patógenos no descritos, o que se relacionen parásitos de animales con infecciones en humanos. El protozooario Cryptosporidium es un ejemplo de esto, se ha demostrado que causa enteritis en varias especies animales y recientemente ha sido relacionado con enteritis en humanos.(30)

El primer caso de criptosporidiosis humana fue informado en 1976, y hasta antes de 1982 solo 7 casos habían sido publicados. Durante 1982 y principios de 1983 el número de pacientes se incrementó considerablemente. En estos se observó que los individuos con actividad inmunitaria normal presentaban diarrea de curación espontanea; sin embargo la mayoría presentaban diversas anomalías inmunitarias como hipogamaglobulinemia

congénita, SIDA, o bajo tratamiento inmunosupresor, por lo que esta infección ha cobrado gran importancia sobre todo en las personas con alguna inmunodeficiencia. Actualmente se ha relacionado estrechamente al parásito con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Los pacientes con deficiencia inmunitaria generalmente desarrollan diarrea grave e incurable, que se ha confirmado como causa directa de muerte en gran porcentaje. ( 30, 17,58,65).

## **ANTECEDENTES HISTORICOS**

Tyzzar, en 1907, por primera vez describió a Cryptosporidium observándolo en la mucosa gástrica de ratones asintomáticos (67,78), pero fue hasta el año de 1955 que se relacionó con diarrea grave en pavos infectados por este parásito, desde entonces se ha observado en varias especies animales como son: terneras, cameros, cerdos, cabras, ratones, conejos, serpientes, monos, pollos, pavos, gatos, perros, potrillos, venados, gansos, pericos y faisanes (47,30,49,53,70,83,86). También se ha encontrado a Cryptosporidium infectando la traquea, la cloaca, la bolsa de fabricio y el saco conjuntival de aves.(83)

La cryptosporidiosis es una zoonosis ampliamente difundida, inicialmente se describió en animales domésticos, posteriormente en ganado vacuno y los primeros informes de casos humanos se describieron en manejadores de ganado.

Las especies de Cryptosporidium son transmitidas por una variedad de mecanismos. La transmisión zoonótica se consideró al principio como la principal forma de transmisión a los humanos. En la actualidad se ha encontrado que la principal vía de

transmisión es la buco-fecal, ya sea por contacto directo (durante prácticas sexuales con ocurrencia de contacto buco-anal), o indirecto, mediante agua, comida, fomites y otras materias contaminadas. Los animales constituyen el más importante reservorio de la infección para los humanos y se piensa también que lo sean los homosexuales infectados (5).

Estudios recientes han permitido observar que Cryptosporidium es resistente a los antisépticos comunes (59), y a la cloración del agua potable (19).

Actualmente se han descrito aproximadamente 11 especies que causan infección tanto en animales como en el hombre (49); la primera especie descubierta fue Cryptosporidium muris, la cual fue descrita por Tyzzer en 1907, con el hallazgo de ooquistes en heces y glándulas intestinales de ratones. Posteriormente se describió una nueva especie, Cryptosporidium parvum (Tyzzer, 1912) cuyos ooquistes eran ligeramente más pequeños. Después de más de 40 años, en que aparentemente no hubo otras contribuciones, se reinició la descripción de nuevas especies, cuyos ooquistes y otras formas del parásito son similares o idénticas entre sí y con los descritos por Tyzzer y que por el hecho de aparecer en otros vertebrados se les consideró diferentes (49).

Las especies descritas son:

C. muris ( Tyzzer 1910) en ratón.

C. parvum (Tyzzer 1912) en ratón.

C. meleagridis (Slavin 1955)(Levin 1980) en pavos.

C. wrairi (Vetterling et al 1971) en cobayos.

C. anserinum (Proctor y Kemp 1974) en gansos.

C. boyjs (Barker y Carbonell 1974) en terneras

C. agni (Barker y Carbonell 1974) en ovejas.

C. rhesi (Levine 1980) en mono rhesus.

C. crocota (Triffit 1925) en serpientes.

C. serpentis (Levine 1980) en serpientes.

C. nasorum (Hoover, Hoerr, Carlton, Heinsman y Ferguson 1981) en peces

La lista de los animales infectados asciende a nueve mamíferos, tres aves, algunos peces y varias especies de serpientes. Aparentemente la lista de huéspedes es mayor, pues se ha demostrado la presencia de anticuerpos específicos contra el parásito mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta en otros vertebrados como: hombre, perro, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos, venados y gallinas.

(49,85).

La inoculación experimental exitosa de parásitos aislados de un huésped vertebrado a otros, ha permitido demostrar su inespecificidad, así como la posible sinonimia de las especies descritas. ( 49. 70. 83,85, 86).

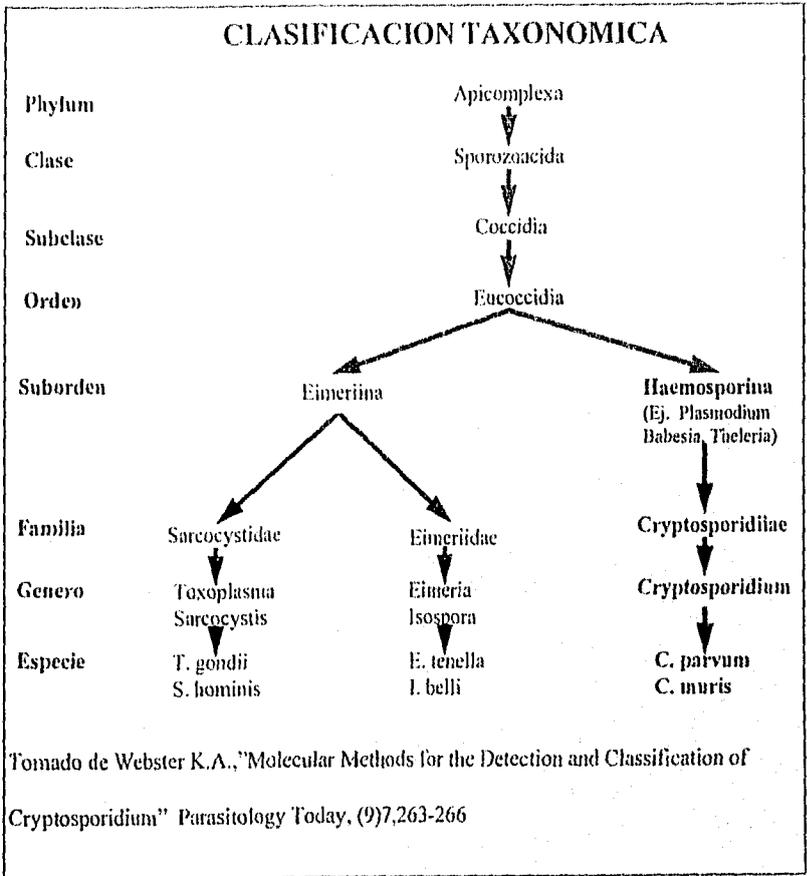
## CLASIFICACION TAXONOMICA

La clasificación taxonómica del genero Cryptosporidium denota su estructura y su biología básica.

Las especies de Cryptosporidium pertenecen al Phylum Apicomplexa, pues al igual que otros parásitos tienen un complejo apical, sin estructuras ciliares o flagelares. Dado que tiene tanto reproducción sexual como asexual, se coloca en la clase Sporozoa y en la subclase Coccidia, por que tiene pequeños gametos intracelulares, característica de los miembros de esta subclase.

Las especies de Cryptosporidium se colocan en el orden Eucoccidia, por el desarrollo de merozoitos (primera y segunda generación) dentro de los esquizontes. Cryptosporidium al igual que Isospora, Sarcocystis y Toxoplasma, es miembro del suborden Eimeriina, debido a la producción de micro y macrogametos, a partir de sus micro y macrogametocitos, respectivamente, aunque en la actualidad se le ha colocado en el suborden Haemosporina junto al Plasmodium, Babesia y Theileria como se ilustra en el diagrama. Por otro lado como un miembro de la familia Cryptosporidiidae el género Cryptosporidium se ha desarrollado en un nicho anatómico especial, justo debajo de la membrana de la célula huésped, como un parásito intracelular pero extracitoplasmático. Se

requiere un solo huésped (monóxeno) para el desarrollo del ciclo de vida completo de las especies de Cryptosporidium (48.33. 46).



## CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de Cryptosporidium se ha investigado en ericetos, terneras y membrana corioalantoidea del embrión de pollo, y parece seguir el mismo patrón que para otras coccidias (30,47).

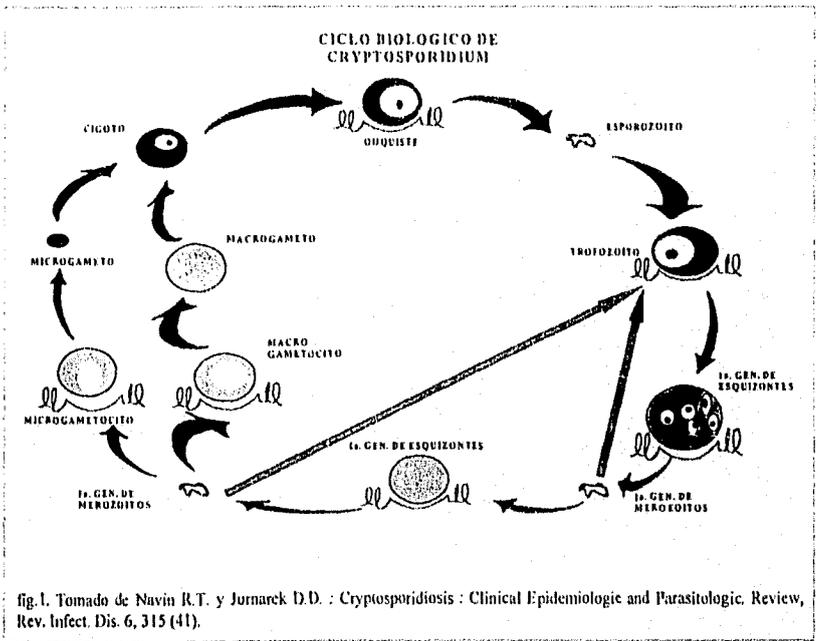
Cryptosporidium es un parásito monóxeno, y su fase infectante es el ooquiste maduro, pequeña formación redonda de 3 a 5  $\mu$ m de diámetro, que se expulsa en las heces de animales enfermos (38). Su ciclo biológico está constituido por una fase asexual en la que se encuentran los estadios de trofozoito, esquizontes y merozoitos,; y una fase sexual en la que participan los estadios de micro y macrogametos (58).

Los ooquistes maduros contiene en su interior 4 esporozoitos, que son liberados cuando el huésped ingiere los ooquistes, posiblemente cuando la pared del ooquiste es digerida en el aparato gastrointestinal, en estudios *in vitro* el desenquistamiento requiere al menos la acción combinada de la tripsina y de las sales biliares (84). Los esporozoitos liberados entran en las microvellosidades del borde de las células epiteliales del intestino delgado iniciando la infección para transformarse posteriormente en trofozoitos.

El núcleo del trofozoito sufre tres divisiones para formar ocho merozoitos; a esta estructura se le llama esquizonte de primera generación, posteriormente los ocho merozoitos formados se liberan e infectan otras células epiteliales. En estas últimas, los merozoitos alargados se redondean y sufren dos divisiones nucleares para formar la estructura conocida como esquizonte de segunda generación el cual contiene cuatro merozoitos de segunda generación que son liberados y vuelven a infectar otras células

epiteliales, es entonces cuando sufren diferenciación sexual formando los micro y macrogametocitos que dan origen a los gametos. Los macrogametocitos sufren pequeñas modificaciones y se convierten en macrogametos, en tanto que los microgametocitos son diferenciados a microgametos. Un microgameto se une con un macrogameto para dar origen al cigoto, el cual se desarrolla hasta formar el ooquiste completándose así el ciclo de vida de este parásito. (fig.1)

La existencia de dos generaciones de esquizontes, se observó en estudios realizados en cobayos alimentados con heces que contenían ooquistes y posteriormente se buscaron las distintas fases del parásito en el conducto gastrointestinal de estos animales (93).



Todo este ciclo reproductivo se desarrolla a nivel de las microvellosidades de las células epiteliales, generalmente en las células del epitelio gastrointestinal, pero se ha observado que en algunas aves y en personas inmunodeficientes puede ocurrir en el epitelio de la tráquea (67,84,30).

La existencia de dos generaciones de esquizontes, se observó en estudios realizados en cobayos alimentados con heces que contenían ooquistes y posteriormente se buscaron las distintas fases del parásito en el conducto gastrointestinal de estos animales (93).

El trofozoíto forma una zona de adherencia en la interface con la célula huésped. En dicha zona se pueden reconocer pliegues membranosos del parásito fusionados con una banda densa formada por cuatro membranas distintas, se creía que estas membranas eran parte del parásito, pero recientes conclusiones han surgido en torno a que las dos membranas externas son originadas por el huésped, por lo que a **Cryptosporidium** se le considera un parásito intracelular pero extracitoplásmico y es a través de estas membranas donde se realiza el intercambio del material nutritivo (47,48, 38,88). (fig. 2)

# CRYPTOSPORIDIUM

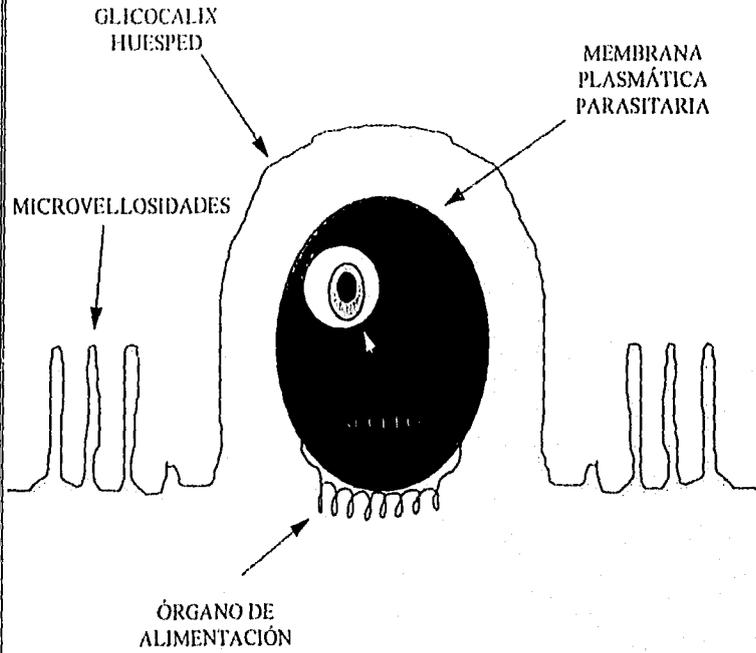


Figura 2. Tomado de Garza D.: Diarrhea Caused by a Coccidian Parasite. Lab Med. 14, 284 (1983). Estudios recientes indican que las dos membranas externas son originadas en el huésped, lo que demuestra que Cryptosporidium puede considerarse como un parásito intracelular pero extracitoplásmico

## CAPITULO II

### INFECCION EN HUMANOS

#### OBSERVACIONES EPIDEMIOLOGICAS

La historia de la criptosporidiosis humana es muy reciente, los primeros dos casos fueron reportados por Nime y Meisel en 1976. Bird y Smith mostraron que la criptosporidiosis humana fue morfológicamente indistinguible de las formas descritas para otros animales. En 1980 fueron descritos casos en individuos con alguna evidencia clínica de inmunodeficiencias congénitas o adquiridas. La criptosporidiosis fue confirmada en estos pacientes por examen histológico de biopsias intestinales.

El primer caso de criptosporidiosis en un adulto inmunocompetente que sufría de diarrea severa acuosa pero autolimitada y vómito, fue descrito por Tzipori en 1980. En este paciente fue hecho el primer diagnóstico por la detección de ooquistes en materia fecal. La transmisión de aislamientos hechos en humanos a ratones y corderos no solo muestra lo biológicamente indistinguible que es este parásito en otros mamíferos, si no que también pone de manifiesto indirectamente la potencia zoonótica que tiene Cryptosporidium. Este potencial zoonótico de Cryptosporidium fue confirmado por infecciones accidentales de humanos que habían estado en contacto cerrado con vacas infectadas(84,37,12).

La frecuencia con la cual los ooquistes de Cryptosporidium han sido detectados en las heces en varios estudios de diarrea en humanos, es del 1 al 4 % en pacientes con diarrea en países mas desarrollados y por arriba del 16 % para los países menos desarrollados.

En Bristol, Inglaterra, se realizó un estudio comprendido en el periodo del mes de febrero de 1983 a enero de 1984, con 863 pacientes con diarrea, de los cuales, 329 eran niños menores de 5 años de edad y sin deficiencias inmunitarias. Los resultados mostraron a 43 pacientes con Cryptosporidium sp., de estos, 24 fueron menores de 5 años. Este agente fue el mas común después de Campylobacter (37).

En un estudio realizado en Melbourne, Australia por Tzipori y cols., se colectaron 844 muestras durante el periodo de febrero de 1981 a junio de 1982, estas provenían de pacientes con gastroenteritis y de controles sin gastroenteritis. Los resultados observados fueron, que solo 36 pacientes (4%) con gastroenteritis mostraron Cryptosporidium en sus evacuaciones. la frecuencia de febrero mayo fue mas elevada en relación a los demás periodos. Este parásito fue mas común en pacientes menores de 15 años (84,88).

En Massachusetts U.S.A., se llevó a cabo un estudio en el mismo periodo que en Bristol, Inglaterra. de febrero de 1983 a enero de 1984 con personas inmunocompetentes y de todas las edades, encontrándose 43 muestras con ooquistes de Cryptosporidium, presentándose el mayor número de casos en niños de 4 años de edad y en personas adultas de 30 a 39 años.

En Costa Rica en 1982, se estudiaron niños lactantes y preescolares con diarrea y sin diarrea encontrándose una frecuencia del 4.4% en diarreicos. Todas las infecciones

ocurrieron de mayo a junio en la población urbana y de junio a agosto en la población rural, indicando una marcada variación estacional (49).

Janoff y Reeller de la Universidad de Colorado en 1986, realizaron una recopilación de datos de pacientes con criptosporidiosis de 1978 a 1985, tanto en países en vías de desarrollo, como en países desarrollados, esta recopilación incluyo a pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos. En los países en vías de desarrollo la prevalencia fue del 3 al 13 %, encontrándose la tasa mas alta en la India en niños menores de 3 años y en personas de todas las edades. En los países desarrollados la tasa de prevalencia fue del 0.6 al 7.3 %, la mas alta se observó en Estados Unidos, en Denver Colorado, en pacientes de todas las edades, mientras que en la Gran Bretaña se encontró la tasa mas alta en niños menores de 5 años.

En el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" de la Ciudad de México, entre los meses de Julio de 1983 y mayo de 1987, se realizó un estudio en 69 pacientes con SIDA que presentaban alteraciones gastrointestinales, se encontraron agentes infecciosos en el 58% de los casos, siendo los más frecuentes Cryptosporidium y E. histolytica, seguidos por Giardia lamblia e I. belli (12).

En este mismo instituto se analizaron 425 muestras de materia fecal provenientes de pacientes infectados con el HIV entre el periodo comprendido de mayo de 1985 a mayo de 1988 ; 256 muestras eran de pacientes con SIDA, 15 de pacientes con enfermedad constitucional por HIV, 9 serotipos HIV asintomáticos, 4 de pacientes con adenopatía por

HIV y 133 de pacientes desconocidos. Los resultados mostraron que 46 muestras fueron positivas para Cryptosporidium 42 fueron casos de SIDA (59).

En 1988 En el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de la Ciudad de México realizó un estudio de muestras de materia fecal de 22 pacientes con diagnóstico clínico y serológica de SIDA, para la búsqueda intencionada de especies de Cryptosporidium, encontrándose en solo dos de los casos ooquistes de este parásito, coexistiendo en uno de ellos con Giardia lamblia (92).

En los pacientes mexicanos con SIDA se ha observado una mayor frecuencia de las infecciones entéricas por Cryptosporidium e L. belli, que las neumonías por Pneumocystis carini (66).

## **TRANSMISION DE LA ENFERMEDAD**

La Cryptosporidiosis es transmitida de varias maneras: persona-persona, animal-humanos, humanos-animales y por contaminación fecal del ambiente incluyendo al agua, comida y posiblemente al aire tanto para animales como a humanos.

La transmisión persona a persona es probablemente la ruta mas importante como se indica por infecciones secuenciales en familias (99). La frecuencia de la Cryptosporidiosis mostró ser mayor en áreas urbanas de Costa Rica y Liberia (50,36), esto puede deberse a un contacto mas estrecho entre los ciudadanos que entre los que habitan areas rurales.

La infección puede ser contraída por el contacto con animales, particularmente vacas (84,1,68) y posiblemente mascotas (6). Las vacas son una importante vía de

transmisión. porque al igual que los humanos desarrollan diarrea generando grandes cantidades de ooquistes que son expulsados al ambiente, incrementando el riesgo de infección para otros animales y humanos.

El periodo de sobrevivencia de los ooquistes en el ambiente es desconocido y puede no ser largo, por otro lado son extremadamente resistentes a la acción de los desinfectantes (2).

La contaminación fecal directa del agua, por animales o humanos (18), o de la comida pueden generar episodios esporádicos de criptosporidiosis.

Otra potencial vía de transmisión que requiere evaluación es el tracto respiratorio. El rango de infecciones traqueales en individuos inmunológicamente normales se desconoce, no obstante se ha reportado un caso de infección laringo-traqueal en un niño (31). El parásito realmente infecta la mucosa traqueal de pájaros, y de puercos infectados experimentalmente (35,34) y puede suponerse que sea mas frecuente en humanos, con o sin síntomas.

Un importante factor que facilita la propagación de la infección por Cryptosporidium es la facilidad con la cual infecta un gran número de diferentes especies de hospederos causándoles o no la enfermedad y con la prolongada excreción de los ooquistes en las deposiciones que continua un largo tiempo después que se ha resuelto la enfermedad clínicamente.

## MECANISMOS DE INFECCION Y DIARREA.

La infección con *Cryptosporidium* ocurre con la ingestión de un relativo bajo número de ooquistes. Infecciones experimentales de primates han mostrados que la dosis de infección puede ser tan baja como 10 ooquistes (54).

En el intestino delgado, los esporozoitos liberados de los ooquistes infectan el epitelio tanto de yeyuno como de ileon. Todos los estadios en el ciclo de vida del *Cryptosporidium* son encontrados en los bordes de las células intestinales que absorben. Los parásitos también se han observado en el ileon de cobayos infectados (48).

Observaciones experimentales in vitro sugieren que los microtúbulos de *Cryptosporidium* son esenciales para la infección de las células. El número de parásitos por célula disminuyó 77 % en cultivos de células sometidas a la acción de dos drogas que inhiben la formación de los microtúbulos de *Cryptosporidium* la Colchicina y la Vinblastina, en comparación con los cultivos de las mismas células pero en medios sin estos inhibidores de los microtúbulos. Los microtúbulos pueden representar nuevos blancos para el desarrollo de agentes farmacológicos en el tratamiento de la cryptosporidiosis en humanos (97).

En las vellosidades afectadas y bajo la lámina propia de estas se ha observado la presencia de moderados infiltrados de células linfoides, macrófagos y polimorfonucleares.

Por otro lado, se han descrito acortamiento de las vellosidades, criptas hipertróficas, disminución en la altura de las células de absorción, pérdida de la polaridad nuclear y

vacuolización citoplásmica extensa (92,81). La localización de *Cryptosporidium* es preferentemente intestinal, especialmente en el último tercio del yeyuno y el ileon; pero se han constatado las posibilidades de colonizaciones más amplias, tomando también el intestino grueso, estómago, duodeno, conductos biliares y el aparato respiratorio de los mamíferos (38,95). En algunos pacientes con SIDA se ha encontrado *Cryptosporidium* en epitelio de bronquios y alvéolos (10,27), también se ha encontrado en pacientes con hipogamaglobulinemia en epitelio traqueal y glándulas accesorias (83,82).

La infección por *Cryptosporidium* puede causar diarrea tanto por mala absorción como diarrea secretora, el intestino delgado en su porción proximal está predominantemente envuelto en la infección en los humanos causando inflamación de la mucosa del tracto gastrointestinal. La diarrea en los humanos parece estar dada por la hipersecreción de fluidos y electrolitos desde el intestino delgado proximal hacia el lumen. Estudios de perfusión de fluidos indican una profusa secreción de fluidos en duodeno y yeyuno proximal. El rango de reabsorción de agua y electrolitos es más bajo de lo normal en pacientes con elevada infección del intestino delgado en su parte baja, la mala absorción de hidratos de carbono, grasas, proteínas, así como de fluidos y electrolitos, del tracto gastrointestinal es común en los estadios terminales de la cryptosporidiosis cuando la mucosa del tracto gastrointestinal ha sido altamente infectada y alterada.

Las personas inmunodeficientes pueden presentar un síndrome coleriforme con gran pérdida de líquido, tres litros o más al día teniendo duraciones desde días hasta años esto ha hecho pensar en la producción de una toxina como la colérica que induzca la producción de

AMPe en las células epiteliales del intestino, con la subsecuente hipersécración de fluidos y electrolitos. Aunque no hay evidencias de la acción de una toxina de esta naturaleza en la infección se requieren mas esfuerzos sobre esta área de investigación (64,29).

Enteropatías caracterizadas por la mala absorción de D-Xilosa y vitamina B12, esteatorrea y pérdida de proteínas se han mostrado en el incremento del aclaramiento fecal de alfa-1-antitripsina en pacientes con SIDA infectados con *Cryptosporidium*.

Deficiencia de lactasa y mala absorción de xilosa se ha encontrado en vacas infectadas (55). Dos enzimas del borde en cepillo: lactasa y fosfatasa alcalina se reducen significativamente en el ileon de ratas infectadas rnu/rnu (28).

## MANIFESTACIONES CLINICAS.

La enfermedad aguda, de animales con criptosporidiosis, se caracteriza clínicamente por diarrea acuosa, anorexia y pérdida de peso. A diferencia de los humanos los animales no presentan criptosporidiosis crónica; se ha observado que resisten la infección o curan en forma espontánea (30), sin embargo, otros mueren (83).

Mediante diferentes experimentos en animales se ha observado que las manifestaciones clínicas dependen de las siguientes variables: especie, edad y estado inmunitario. Algunos mamíferos como ratas, ratones, ericetos y conejos no desarrollan diarrea cuando se les infecta con ooquistes de *Cryptosporidium* provenientes de terneras, mientras que un inoculo semejante puede provocar diarrea grave anorexia y pérdida de peso en animales jóvenes de otras especies como simios, porcinos caprinos y aves (83).

La criptosporidiosis en humanos se percibe como dos entidades distintas de la enfermedad; en pacientes inmunocompetentes como una diarrea autolimitada de corta duración y en inmunocomprometidos como una forma persistente con tratamiento de por vida.

En pacientes con una función inmune normal, se presenta diarrea líquida profusa, fétida, con presencia ocasional de moco, con duración de una a tres semanas, anorexia, dolor abdominal, cólico, náuseas, fiebre y vómito que ceden al tratamiento sintomático (82). Ocasionalmente se presentan síntomas no específicos como: cefalea, mialgia, malestar general y debilidad, la diarrea y el dolor abdominal se exacerbaban con el alimento. Al examen físico, habitualmente sólo se encuentra deshidratación; en cuanto a las anomalías radiológicas, no son específicas e incluyen la proyección de pliegues de la mucosa intestinal y desorden en la motilidad (78).

En pacientes inmunocomprometidos evidencias clínicas indican que los dos tipos de respuesta inmune son necesarios para el restablecimiento a esta infección, los individuos con disfunción de cualquier tipo de inmunidad, humoral o celular, pueden desarrollar una infección insidiosa, con diarrea profusa de varios meses de duración acompañada de una profunda mala absorción y baja de peso significativo.

El desarrollo de la enteritis es comúnmente insidioso pero se incrementa severamente; en estos pacientes hay dolor abdominal y deshidratación severa. Ocasionalmente tienen periodos con síntomas disminuidos, pudiendo aplazarse y disminuirse (84,67,78).

La ocurrencia de diarrea prolongada en pacientes bajo tratamiento con drogas inmunosupresivas es el mejor indicador del papel que juegan ciertas funciones inmunes. La diarrea se resuelve gradualmente después de concluir o interrumpir el tratamiento.

Algunos pacientes con deficiencias nutricionales pueden presentar un curso de la infección semejante al que se presenta en pacientes con inmunodeficiencias (5,60).

## CAPITULO 3

### INMUNOLOGIA DE LA CRIPTOSPORIDIOSIS

#### LA PARTICIPACION DEL SISTEMA INMUNOLOGICO

En los organismos infectados, los mecanismos inmunológicos responsables de controlar la infección con Cryptosporidium no están completamente comprendidos.

Los pacientes inmunocompetentes infectados con Cryptosporidium desarrollan frecuentemente infección asintomática, experimentando diarrea de duración limitada con o sin los síntomas relacionados como son el vómito, deshidratación, fiebre y dolor abdominal; seguida por el restablecimiento entre los 7 a 21 días .

Pacientes inmunocomprometidos (incluyendo pacientes con SIDA, bajo terapias inmunosupresoras o con deficiencias inmunoglobulínicas) o pacientes mal nutridos, a menudo desarrollan diarrea recurrente y crónica. El manejo de estos pacientes es complicado por la ausencia de agentes quimioterapéuticos que sean efectivos en contra de la infección por Cryptosporidium y por esta razón los aspectos biológicos han tenido más atención que los farmacológicos.

En los humanos, el potencial papel de la respuesta humoral ha sido mostrado por los varios casos reportados de pacientes con alguna deficiencia de inmunoglobulinas. Por otro lado, datos de modelos animales sugieren que la respuesta inmune mediada por células es importante para el restablecimiento de este padecimiento. Ambas respuestas parecen tener

una participación importante en el control natural de la infección, por este parásito, en individuos sanos.

## **INMUNIDAD HUMORAL**

En las personas y animales que han sido infectados naturalmente y en los modelos experimentales de animales infectados con Cryptosporidium parvum, se ha observado el desarrollo de la respuesta inmune frente a esta infección, con la detección de anticuerpos séricos específicos de clase IgG, IgA, IgM e IgE y de anticuerpos secretores de clase IgA (100,90,43).

Se han detectado coproanticuerpos en las deposiciones de niños de las Filipinas así como en vacas y corderos infectados.

Los anticuerpos específicos se detectan en el suero de vacas infectadas experimentalmente con ooquistes 6-7 días después de la inoculación (96,98). A los 6 días posteriores a la inoculación la IgG es detectada y sus restos durante el curso de toda la infección en este mismo tiempo la IgA y la IgM solo muestran una pequeña variación. Con respecto a las deposiciones la IgG, IgA, y la IgM, elevan sus niveles de 5 a 6 días después de realizada la inoculación alcanzando su máximo nivel entre los días 8-14 y luego decrecen (98).

En cobayos infectados oralmente, los títulos de anticuerpos específicos se elevan significativamente dos semanas después de la inoculación manteniéndose durante las ocho

semanas posteriores a la misma. Los cuyos que son reinoculados con ooquistes de Cryptosporidium son completamente resistentes a la reinfección (15).

Un estudio realizado en el Centro de Ciencias de la salud de Oklahoma (Mayo de 1994), sobre la seroprevalencia de anticuerpos contra Cryptosporidium durante la infancia y la adolescencia, en 803 niños del hospital de Oklahoma, reveló que el 30% de los niños menores de 5 años fueron seropositivos y los niños en este rango de edad con historia reciente de diarrea fueron seropositivos en un rango mas elevado que los niños sin diarrea. El 38% de los niños ( 5-13 años de edad) y el 58% de los adolescentes (14-21 años de edad) fueron seropositivos para anticuerpos a Cryptosporidium parvum. En este grupo de edad, negros y nativos americanos mostraron rangos mas elevados que los blancos no hispánicos. Este estudio no reveló diferencia en los rangos de seropositividad entre sexos o entre residentes de asentamientos urbanos de Oklahoma o de asentamientos rurales. La exposición a Cryptosporidium parvum durante la niñez es común en Oklahoma y los factores socioeconómicos son los que pueden jugar un papel en la exposición primaria a este patógeno (42).

De manera similar un estudio seroepidemiológico de la infección por Cryptosporidium en niños de 3 comunidades rurales de Anhui, China y en Fortaleza, Brazil publicado en Julio de 1994 apoya el papel que desempeñan los factores socioeconómicos.

En 3 villas, Dondian, Linstan y Fuziyin de Anhui, al este de China. De 320 niños sanos aparentemente, menores de 10 años de edad, de Dondian a quienes se le colectaron

muestras de deposiciones, solo en tres fueron encontrados ooquistes de *Cryptosporidium* y ninguna muestra positiva fue encontrada con 239 niños de Linshan estudiados. En conjunto un total de 610 muestras de suero de estas tres villas fueron examinadas utilizando una prueba Inmunoenzimática (ELISA) para detectar anticuerpos específicos de Clase IgG contra *Cryptosporidium*, la prevalencia fue de 42.3%, 51.7% y 57.5%, respectivamente, en Dondian, Linshan y Fuziyin. La seroprevalencia se incrementó progresivamente con la edad. No se detectaron anticuerpos en infantes entre los 2 y 6 meses de edad mientras que en 36 muestras de suero de adultos entre los 15 y 60 años de edad sin enfermedad diarreica de la villa rural de Huanglu, 50% (18/36) fueron positivos. Como se esperaba una buena correlación se encontró entre los anticuerpos de clase IgG de 30 pares de muestras séricas provenientes de madres y sus respectivos neonatos debido a la transferencia transplacentaria de esta clase de anticuerpo. Por otro lado se observó muy poca o nula inmunoglobulina de clase IgM a pesar de que varias madres habían dado una prueba de ELISA positiva para la IgM.

Muestras de suero de niños menores de 4 años de edad, provenientes de una improvisada comunidad semiurbana en Fortaleza Brazil y 172 muestras de suero de pacientes con edades entre 1 mes y 29 años sin diarrea que habían sido admitidos en el hospital de la Universidad de Virginia fueron también examinados.

En Fortaleza, cerca del 100% de los niños adquirieron anticuerpos en su segundo año de vida, demostrando la elevada prevalencia de esta infección. En la comunidad rural de Anhui los niños de 5 a 7 años fueron infectados. El porcentaje de prevalencia (16.9 %)

en seropositividad en los niños y adultos jóvenes en Virginia fue mucho mas bajo que en China y Brazil.

Estos resultados indican que la infección a *Cryptosporidium* está ubicada y es altamente endémica en las comunidades poco desarrolladas. La diferencia entre Brasil y China puede deberse a diversos factores, como las practicas de Higiene, agua potable o sanitización y a múltiples diferencias entre el desarrollo socioeconómico de estos dos países (101).

La utilidad del estudio serológico en niños para el diagnóstico y la epidemiología de la parasitosis quedó de manifiesto al determinarse por inmunofluorescencia los anticuerpos específicos de clase IgG contra *Cryptosporidium* spp. presentes en el suero de 106 niños entre 0 y 13 años de edad en la provincia de Salamanca, España . La seroprevalencia fue de 22.6 % (24/106) y de estos niños positivos para IgG el 20.8 % (5/24) también presentaron IgM específica. La seroprevalencia en zonas rurales fue de 18.2 % (10/55) mientras que en las áreas urbanas fue de 27.4% (14/51), en ambos casos la mayor seroprevalencia correspondió al grupo de 2 a 3 años de edad. En los niños de Salamanca la seroprevalencia fue mucho mayor que la prevalencia detectada en las heces. La infección puede presentarse simultáneamente con seropositividad para IgG e IgM, esta seropositividad puede ser utilizada para complementar el diagnóstico de la Criptosporidiosis junto con la determinación de ooquistes en las heces (73).

## EL EFECTO DE LOS ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES

Al ser incubados esporozoitos de Cryptosporidium parvum en presencia de suero bovino, inmune para los esporozoitos, la infectividad a la cepa BALB/c de ratón es completamente neutralizada (72). Anticuerpos monoclonales dirigidos contra proteínas de la superficie del esporozoito también protegen a la cepa BALB/c de ratón. Investigadores han mostrado que estos anticuerpos protegen de la infección inicial a cepas de ratones y reducen la severidad de la infección persistente con Cryptosporidium en ratones atímicos (8,61). Ratones con Severa inmunodeficiencia combinada (SCID) infectados con Cryptosporidium parvum son usados para el estudio de la infección y de los protocolos de tratamiento (71,62,41,52,74).

El anticuerpo monoclonal 17.41 reacciona con antígenos del esporozoito de 28, 55 y 98 kDa . El anticuerpo monoclonal 18.44 que también reacciona con un antígeno de superficie proteico del esporozoito y merozoito, neutraliza ambas formas invasivas (62,7,63).

La transferencia pasiva, por vía oral, de anticuerpos monoclonales neutralizantes reduce significativamente el número de Cryptosporidium parvum en yeyuno, ileon y colon pero no en el estómago. La inhabilidad del anticuerpo monoclonal 17.41 para reducir el número de organismos de Cryptosporidium parvum puede explicarse por el bajo pH gástrico, el cual reduce la unión del anticuerpo con el epítoto sensible presente en los esporozoitos y merozoitos. Este último punto es importante por la ineficacia de la administración oral de anticuerpos monoclonales para reducir la infección en el sistema

biliar (8,90) y en el estómago ya que ambos son sitios de infección en pacientes con SIDA. El tratamiento de la Criptosporidiosis persistente en pacientes inmunodeficientes con anticuerpos neutralizantes puede requerir blancos específicos en el sistema biliar y de la modulación del pH gástrico(62).

Varios estudios realizados en animales y en humanos indican que los anticuerpos obtenidos en calostro de vacas hiperinmunizadas con repetidas infusiones de los antígenos del parásito dentro de las glándulas mamarias (títulos mayores de 1:100 000) pueden prevenir de la infección con Cryptosporidium o terminarla (21). El estudio en ratones ha mostrado que los factores presentes en el calostro inmune son capaces de reducir la infectividad de los esporozoitos, especialmente las fracciones de IgG1 e IgA (22). Estudios de Cryptosporidium parvum en ileon de ratón han revelado que cada isotipo de inmunoglobulina bovina presente en el calostro hiperinmune pueden reconocer antígenos presentes en todos los estadios del ciclo de vida de Cryptosporidium parvum (23,7).

Se ha reportado el uso de calostro hiperinmune, obtenido por vacunación intramamaria de antígenos de Cryptosporidium en vacas preñadas, en 4 pacientes inmunocomprometidos que presentaban infección crónica, diarrea, con alguna hipogamaglobulinemia congénita, SIDA o inmunosupresión por la quimioterapia en el tratamiento de la leucemia recuperándose de la infección entre los 3 y 5 días (87,75).

## EL PAPEL DE LOS ANTICUERPOS

La respuesta de anticuerpos séricos de clase IgG e IgM observada en modelos experimentales de ratones normales, no correlaciona con la severidad o duración de la Cryptosporidiosis. Sin embargo el papel de los anticuerpos en la resolución natural de esta infección, ha sido sugerido por la observación de que muchos de los casos reportados de humanos infectados con cryptosporidiosis fueron de pacientes con alguna deficiencia en inmunoglobulinas.

El papel de la inmunidad humoral se ha investigado en modelos de ratones que han sido tratados con anti- $\mu$ , haciéndolos virtualmente deficientes en células B, siendo un modelo de animales con deficiencias en su capacidad para generar respuesta inmune humoral in vivo.

La susceptibilidad relativa de las BALB/c de ratones recién nacidos, normales y deficientes de células B, a la infección con Cryptosporidium no ha mostrado diferencias significativas en este modelo, en la frecuencia, intensidad y duración de la infección, a pesar de la ausencia de anticuerpos de clase IgG, IgM, IgA y IgE como respuesta a esta infección por los ratones tratados con anti- $\mu$ . Estos resultados sugieren que en este modelo de ratón, la importancia de la respuesta inmune de anticuerpos es menor para la resolución de la infección por este parásito. (80)

En personas HIV seropositivas que se han restablecido de esta infección, los niveles de anticuerpos específicos secretores de clase IgA están elevados en comparación a los de personas con el Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana (SIDA) y

criptosporidiosis crónica. En contraste la respuesta de anticuerpos séricos específicos contra Cryptosporidium ssp. es mucho mayor en personas con SIDA y criptosporidiosis crónica. Esto sugiere que los anticuerpos secretores de clase IgA pueden ser los responsables del reestablecimiento de la infección o pueden ser solo un marcador de una respuesta inmune efectiva en la superficie de la mucosa (25).

Cozon y colaboradores del hospital de la Cruz roja, en Lyon Francia, realizaron un estudio en pacientes infectadas con el virus de la inmunodeficiencia humana tipo HIV-1 con criptosporidiosis crónica y sin criptosporidiasis. El conteo de linfocitos CD4 se realizó por citometría de flujo y fue significativamente mas bajo para los pacientes infectados por HIV-1 con criptosporidiosis crónica que para los pacientes sin la infección de este parásito.

Los anticuerpos específicos de clase IgA presentes en el suero de los pacientes infectados con HIV-1 con criptosporidiosis crónica y sin criptosporidiosis mostraron niveles mas elevados que los pacientes controles. Los anticuerpos secretores detectados en saliva de clase IgA se encontraron mas elevados en pacientes que presentaban infección crónica de Cryptosporidium a pesar de los bajos niveles de Linfocitos CD4+. La persistencia de la diarrea a pesar de los elevados niveles de anticuerpos presentes en el suero y los secretores sugiere que estos últimos no son suficientes en el control de infección parasitaria (16).

La respuesta inmune frente a la criptosporidiosis ha sido evaluada tanto en niños como en adultos. Un reporte del comportamiento de esta respuesta fue publicado por Laxer y sus colaboradores (1990), en niños de 1 a 24 meses de edad que fueron admitidos con

diarrea en el hospital de San Lázaro en Filipinas, a los cuales se les determinó, por medio de una prueba de ELISA, los niveles de anticuerpos específicos contra Cryptosporidium de clase IgA, IgG e IgM en muestras de suero, deposiciones y fluido duodenal.

En las muestras de suero, de los 21 niños enrolados en el estudio, se encontró una marcada respuesta para las tres clases de inmunoglobulinas, esta respuesta fue mantenida durante todo el tiempo del estudio (6 meses) en 6 de los sujetos . Las tres subclases mostraron distinta afinidad para la pared de los ooquistes y la película o membrana externa de los esporozoitos. Estos investigadores encontraron una marcada y prolongada respuesta de anticuerpos contra Cryptosporidium, pero la Inmunidad Mediada por Células (IMC) se observó baja (43). En el apartado de Inmunidad celular serán comentados los resultados de este trabajo.

### **INMUNIDAD CELULAR.**

La respuesta inmune a las infecciones por coccidias ha sido caracterizada principalmente, como una inmunidad mediada por células presentando una fuerte dependencia a los linfocitos T (43,45,79). Se ha observado que las células T son críticas para generar una protección inmunitaria en contra de otras coccidias como son la Eimeria y el Toxoplasma, tanto las células cooperadoras (CD4+) que estimulan la producción de las inmunoglobulinas, como las células efectoras a través de la liberación de mediadores solubles que actúan en contra de los parásitos intracelulares (100).

Se cree en infecciones causadas por otras coccidias, que la defensa de los organismos infectados, esta dada principalmente por una inmunidad mediada por células, o como una fuerte posibilidad la combinación de ambas, celular y humoral, presentada como el efecto citotóxico mediado por células dependiente de anticuerpo (ADCC) (43,45,99).

Laxer y sus colaboradores, realizaron un estudio de la respuesta inmune frente a la criptosporidiosis en infantes y niños jóvenes con diarrea en Filipinas. Ellos se interesaron en la respuesta inmune de anticuerpos, la respuesta Inmune Mediada por Células (IMC) y la correlación entre los niveles de la inmunidad y el estado de nutrición (43,100). Las observaciones de esta investigación indican una marcada respuesta de anticuerpos en el suero y por el contrario la inmunidad mediada por células se encontró abatida.

La respuesta IMC fue determinada utilizando una reacción de hipersensibilidad de tipo tardía, expresada por una reacción en piel. En el inicio de esta prueba todos los 7 pacientes mostraron una total anergia en la piel, para los 7 antígenos comúnmente usados en este tipo de análisis (100,40). al término de 6 semanas se realizó nuevamente este examen y se observó un ligero incremento de la reactividad en piel aunque no muy significativa con respecto a lo observado para los controles. Al realizar esta prueba a los 6 meses, en 6 de los pacientes se encontró un importante incremento de la reactividad en piel, indicando una reconstitución parcial de la competencia de la respuesta inmune mediada por células.

Estudios previos han reportado la correlación que existe entre el bajo contenido de hierro y la IMC, en particular con la función de los linfocitos, fagocitosis y actividad

bactericida de los neutrófilos (11,39,3). En este estudio de los niños de Filipinas se encontró un decremento de los niveles de hierro sérico, la capacidad total de unión de hierro incrementada y una disminución en el porcentaje de saturación de la transferrina, signos clásicos de una anemia por deficiencia de Hierro. El estado de desnutrición en contrado en estos pacientes y la respuesta IMC abatida, hizo especular a los realizadores de este trabajo sobre el papel del Cryptosporidium en la deficiencia de hierro. Debido a la virtual preferencia del Cryptosporidium por parasitar el borde en cepillo de los enterocitos, puede disminuir la absorción a través de la superficie de las células y la eficiencia de los mecanismos de transporte molecular generando una fuerte disminución en la absorción del hierro.

Ellos encontraron una marcada respuesta inmune de anticuerpos contra Cryptosporidium, en contraste la respuesta inmune mediada por células se encontró disminuida. La infección desapareció espontáneamente al término del tiempo del estudio (6 semanas) y la IMC fue reconstituida en el mismo periodo. El estado nutricional de los pacientes fue marcado con el déficit de Hierro, que fue encontrado en todos ellos y relacionado con el déficit de la inmunidad mediada por células. Estos resultados y los publicados en otros trabajos, llevaron a este grupo de investigadores a concluir que la respuesta inmune en los niños de las filipinas es probablemente un efecto citotóxico mediado por células dependiente de anticuerpo (100).

## PARTICIPACION DE LOS LINFOCITOS T (CD4+Y CD8+)

Criptosporidiosis prolongada y severa ha sido reportada en ratones alóxicos desnudos congénitos (80.34). También ha sido similarmente descrita, como una respuesta inmune mediada por células, como evidencia del curso de esta enfermedad en pacientes con SIDA. En estos dos casos se exhiben defectos en la funcionalidad de las células T (80). El papel de los linfocitos se ha mostrado como una respuesta específica blastogénica linfóide en vacas, 2 días después de la inoculación con oocistos de *Cryptosporidium* (96). Las infecciones por *Cryptosporidium* con diarreas persistentes en mamíferos inmunocomprometidos, proporcionan evidencias indirectas de la participación de los Linfocitos T, posiblemente los linfocitos de ayuda (CD4+), como esenciales para el desarrollo de una protección inmunitaria que lleve al restablecimiento de la infección por este parásito.

En pacientes con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), el conteo de las Células CD4+ es el mejor marcador de la habilidad del sistema inmune para limpiar de la infección con *Cryptosporidium* a la superficie de la mucosa.

En la práctica clínica se ha observado que hombres infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), desarrollan una infección por *Cryptosporidium* con cuadros diarreicos autolimitados y en personas que presentan el síndrome de la inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA), se genera una infección que no cede con el tratamiento y de larga duración (24). Resultados de estudios han indicado la relación que existe entre la duración de la enfermedad, durante la infección con el HIV, y el grado de

inmunocompetencia de los organismos infectados por este parásito. Por ello, se ha asociado al conteo elevado de los linfocitos CD4+ con la enfermedad autolimitada, considerando su posible uso para predecir este cuadro infeccioso.

Estudios realizados en grupos de pacientes infectados por el HIV, que tuvieron conteos de L-CD4+ de 180 células/mm<sup>3</sup> o más, presentaron infección autolimitada por Cryptosporidium, sin observarse diferencias marcadas con el curso de la enfermedad en pacientes inmunocompetentes HIV-seronegativos. En contraste con lo anterior, en pacientes con el conteo de linfocitos CD4+ menor a 140 células/mm<sup>3</sup> que habían presentado la infección, el 87% la desarrollo de forma persistente (26).

Ratones BALB/c tratados con anticuerpos monoclonales citotóxicos anti-CD4, con y sin anticuerpo monoclonal anti-CD8, desarrollaron infección crónica con Cryptosporidium y expulsaron un bajo número de ooquistes. El tratamiento con anti-interferón- $\gamma$  (monoclonal), condujo a una infección mas severa pero autolimitada. Al tratar conjuntamente a estos ratones con ambos anticuerpos monoclonales, anti-CD4 y anti-interferon- $\gamma$  se observó el desarrollo de una infección severa y crónica con una elevada excreción de ooquistes, que revirtió cuando el tratamiento con ambos anticuerpos monoclonales se detuvo. Ratones adultos BALB/c nu/nu tratados con anti-INF- $\gamma$  monoclonal, tambien mostraron un incremento en la excreción de ooquistes (91). Estos datos sugieren que tanto el interferón- $\gamma$  como las células CD4+ se requieren para prevenir el inicio de la infección, además por separado pueden limitar la severidad (INF- $\gamma$ ) o la duración (células CD4+) de la infección (100).

Otros estudios han concluido que otros mecanismos inmunes, probablemente asociados a los linfocitos CD4<sup>+</sup> son necesarios para eliminar a este protozoo de la superficie de la mucosa en mamíferos inmunocompetentes (16).

### LA SUBPOBLACION DE LINFOCITOS CD4+ (Th1).

Las células T cooperadoras en los ratones, identificadas por la expresión del antígeno CD4<sup>+</sup>, pueden diferenciarse en 2 subpoblaciones, con patrones característicos en la producción de citocinas (56,57). La predominancia de las células Th1, las cuales producen interleucina 2 (IL-2) e INF- $\gamma$ , en respuesta a los antígenos de los parásitos resulta en una hipersensibilidad de tipo tardío y en la activación de macrófagos para eliminar a los parásitos intracelulares. Si la respuesta activa a las células Th2, las cuales producen interleucina 4 y 5 (IL4,IL5) la síntesis de anticuerpos se incrementa en especial los de clase IgG e IgE (91,57,77,13,14).

Los modelos de ratones infectados con Leishmania major, son un ejemplo de los efectos de estos dos fenotipos de células cooperadoras, en la resistencia a las infecciones por los parásitos intracelulares(44,76). Ratones BALB/c representan un fenotipo susceptible, en el cual L. major produce enfermedad sistémica y muerte. Las células T de estos ratones mostraron haber producido IL-4 pero poco INF- $\gamma$ . La cepa de ratones C3H es resistente a L. major y las células T de estos ratones producen INF- $\gamma$  y poca IL-4 (76).

En un modelo in vitro, las células de bazo de ratones inmunizados con Cryptosporidium parvum se enriquecieron en células T al pasar por una columna de

cromatografía por afinidad. La respuesta proliferativa de estas células fue arriba de 2 veces mas elevada que la respuesta de las células no enriquecidas. Tambien las células T se enriquecieron para los linfocitos CD4+ y para los CD8+. La respuesta de las células CD4+ enriquecida fue 4 veces mayor que para las células no enriquecidas, por otro lado las células CD8+ enriquecidas no respondieron al estímulo del antígeno de Cryptosporidium parvum. Las fracciones de sobrenadantes de estas poblaciones celulares enriquecidas, fueron ensayadas para detectar la producción de citoquinas. Los cultivos que tenían células CD4+ produjeron INF- $\gamma$  e IL-2 después de la incubación con antígeno de Cryptosporidium parvum. Ninguno de los cultivos produjo IL-4. Esta producción de INF- $\gamma$  e IL-2 y la nula producción de IL-4, es característica, como se describió anteriormente, de la subpoblación de células cooperadoras Th1. Estos datos indican que una subpoblación de linfocitos de ratón, consistentes con el fenotipo de células cooperadoras Th1, prolifera después de una estimulación in vitro con antígeno de Cryptosporidium parvum (32).

Investigaciones en modelos de ratones adultos han revelado la potencial respuesta inmune utilizando dos especies diferentes de Cryptosporidium, C. parvum y C. muris. El uso de estas dos especies del parásito ha facilitado el entendimiento de la respuesta inmune, ya que Cryptosporidium parvum es potencialmente infectante en ratones inmunocompetentes recién nacidos y en ratones adultos inmunocomprometidos mientras que la cepa RN 66 de C. muris si puede infectar ratones adultos inmunocompetentes. Con

el uso de estas dos especies se han podido realizar estudios comparativos entre las infecciones de adultos inmunocompetentes e inmunocomprometidos (51).

El curso de la infección por *C. muris* fue comparado en ratones inmunocompetentes (BALB/c), en ratones con deficiencias congénitas de Células T (denudos) y ratones con deficiencias en células T y B, Inmunodeficiencia combinada severa (SCID).

En los ratones BALB/c la liberación de los ooquistes declinó a los 32 días. En contraste en los ratones con SCID y en los atímicos desnudos congénitos se desarrolló una infección crónica con una elevada excreción en el número de ooquistes (51). El uso de los ratones con SCID como receptores en los experimentos de transferencia de células, han manifestado su valor en la investigación de papel que juegan las diferentes subpoblaciones de linfocitos, en la inmunidad a *C. muris*. La inyección en estos ratones de células histocompatibles de bazo y de nódulos linfáticos, provenientes de ratones no infectados BALB/c, les confirió la habilidad para recobrase de la infección. El efecto protector de las células donadas no se disminuyó por la deficiencia de las células B, al someterlas aún tratamiento con un anticuerpo monoclonal en contra del antígeno de las células B y en presencia de complemento, es posible que algunas células productoras de anticuerpos hubieran sobrevivido ha este tratamiento, contribuyendo al restablecimiento de la infección en estos ratones receptores (SCID) (51). Por otro lado la investigación en ratones recién nacidos con deplección de células B, tratados con anti- $\mu$ , ha reportado que las células B no son importantes en la inmunidad a *Cryptosporidium parvum* (80).

En contraste, se ha mostrado un mayor papel de las Células T en la inmunidad a *C. muris*. Los ratones nude, deficientes de células T, desarrollaron infección crónica. También los ratones SCID, a los que se les inyectaron células de nódulos linfáticos o de bazo pero con deficiencia de las Th-1, mostraron una excreción más prolongada de ooquistes que los ratones inyectados con células no fraccionadas (51). Los resultados de este estudio demuestran que la inmunidad a *C. muris* en ratones, envuelve a las Células T, indicando que las células B no son importantes.

Por el uso de estos modelos con ratones SCID como organismos infectables por *C. parvum* y *C. muris*, es posible llegar a caracterizar las células responsables del control inmunológico de este parásito en ratones adultos.

## **LAS CELULAS NATURAL KILLER**

Los cepas de ratones con SCID no tienen células B y T funcionales. Sin embargo, estos ratones tienen una función normal de las células Natural Killer (NK), y normal número de macrófagos y neutrófilos con actividad normal (91,89). Se cree que las células NK juegan un papel importante en la defensa en contra de la Criptosporidiosis. Estas células son consideradas como un sistema de defensa primario innato, que puede tener particular importancia en las infecciones o en la ausencia de respuesta por parte de las células T y B. Se ha mostrado la producción de interferón- $\gamma$  en las células NK de ratones con SCID, como crítica en la defensa del parásito intracelular *Listeria monocytogenes* (4). Finalmente los ratones recién nacidos tienen deficiencias en la actividad de las células NK y

en la producción de interferón- $\gamma$ , relacionando la edad con la severidad de la infección por Cryptosporidium parvum en ratones recién nacidos, explicándonos esto como una inmadurez de la actividad de las células NK (4).

En otros estudios no ha quedado claro el papel de las células NK, mientras que la cepa de ratones NK deficientes C57BL/6j-bg mostraron ser más susceptibles a la infección (20), la cepa deficiente de NK C3H/HeJ/beige no mostró incremento en la susceptibilidad a la infección (69).

Ratones con SCID se trataron con anti-asialo-GM1, un antisuero policlonal de conejo que reacciona con los componentes de la superficie de las células NK en ratones, y en presencia de complemento para generar la lisis de las NK. Después de probar la reducción significativa de la actividad de las células NK, los ratones se inocularon con ooquistes de Cryptosporidium parvum. De este experimento, a pesar de la virtual eliminación de la actividad de las células NK, los grupos de animales que se examinaron histopatológicamente no mostraron diferencias en la ocurrencia de la enfermedad con los grupos que se utilizaron como controles. Esto hace pensar en la participación de factores no inmunológicos en el tracto intestinal, independientes de la actividad de las células NK y de la función de las células T y B, en la interacción del hospedero con Cryptosporidium parvum. Adicionalmente la reducción de la actividad de las células NK fue hecha en el bazo, pudiendo estar intacta a nivel local en el sitio de la infección. Este trabajo concluyó que la actividad de las células NK, al menos la medida en el bazo, no juega un papel crítico

en la defensa de los ratones contra la infección por *Cryptosporidium parvum*, cuando hay ausencia de funcionalidad de las células B y T (74).

## CAPITULO IV

### DISCUSION

La infección por Cryptosporidium es persistente amenazando la vida en personas inmunocomprometidas con una vasta variedad de defectos inmunes, incluyendo la inmunosupresión debida a la administración de esteroides y agentes quimioterapéuticos, malignidades hematológicas, la deplección de las células T anterior al trasplante de médula ósea, la hipogamaglobulinemia y el SIDA. En las personas que cuentan con una función inmune normal Cryptosporidium puede causar diarrea de duración limitada y de curación espontánea.

Esta parasitosis está cobrando cada vez mas importancia debido a la alta incidencia que tiene en pacientes con SIDA. En los pacientes mexicanos con SIDA se ha observado una mayor frecuencia de las infecciones entéricas por Cryptosporidium e L. belli, que las neumonías por P. carini.

Existen muchos factores que influyen sobre la infección de esta coccidia como lo son las condiciones de urbanización, sanitización y agua potable, ya que se ha observado una mayor prevalencia en villas rurales improvisadas tanto de China como de Brasil puesto que como la mayoría de la infecciones entéricas estos factores aumentan las posibilidades de contraerla. Dentro de este aspecto cabe mencionar las condiciones y el desarrollo socioeconómico de las comunidades pero también la zona geográfica y la ubicación endémica

de las especies de parásitos. La educación en cuanto a buenas prácticas de higiene y preparación de alimentos se refleja en menores probabilidades de contagio como las demás enfermedades gastrointestinales.

El estado de nutrición se refleja en la competencia inmunológica, se ha observado cryptosporidiosis en niños de Filipinas que presentaron anemia por deficiencia de Hierro que al ser tratada, la diarrea cedió observándose el restablecimiento de la función inmune celular. Otros estudios han correlacionado al estado de mal nutrición por deficiencia de Hierro con la baja respuesta de la inmunidad mediada por células, particularmente con la función de los linfocitos, la fagocitosis y la actividad bactericida de los neutrófilos. *Cryptosporidium* puede causar mala absorción del hierro por su preferencia a parasitar el borde en cepillo de los enterocitos disminuyendo la absorción a través de la superficie de las células y la eficiencia de los mecanismos de transporte molecular.

En la base de datos clínicos y experimentales, está generalmente aceptado que la respuesta del sistema inmunológico tanto celular como humoral son requeridas para el control de la cryptosporidiosis. Los defectos en las células de pacientes con SIDA, la deplección de las células T en personas receptoras de trasplante de médula ósea y varios modelos animales (ratones con deplección de células CD4+ y ratones atímicos) sugieren que la pérdida de funciones de los linfocitos T conduce a una infección crónica por *Cryptosporidium*. Por otro lado, pacientes inmunocomprometidos que tienen hipogamaglobulinemia congénita o una deficiencia aislada en IgA pueden tener cryptosporidiosis severa, indicando que la inmunidad generada por las células B es también requerida para el control de esta infección.

Se ha demostrado que el uso de anticuerpos monoclonales es efectivo. La transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales (Ac.m 17.41) por vía oral reduce significativamente el número de Cryptosporidium en yeyuno, en íleon y colon pero no en el estómago quizá por el pH del estómago que disminuye la unión del anticuerpo con el epítope presente en el esporozoito. El tratamiento con anticuerpos monoclonales en pacientes con SIDA requiere de blancos específicos como son sistema biliar, estómago y de la modulación del pH ya que son sitios de infección por Cryptosporidium en este tipo de enfermos. El calostro hiperinmune obtenido por vacunación intramamaria de antígenos de Cryptosporidium en vacas preñadas, ha sido efectivo en 4 pacientes con deficiencias inmunes por diferentes causas recuperándose de la infección por esta coccidia entre los 3 y 5 días.

El papel que juegan los anticuerpos contra Cryptosporidium no está claro aunque los resultados de experimentos en modelos de ratones tratados para imposibilitarlos en producir anticuerpos no reflejan diferencia significativa en la frecuencia, intensidad y duración de la infección.

Los anticuerpos IgA en algunos pacientes HIV seropositivos se encuentran mas elevados que en personas con SIDA que cursan con Cryptosporidiosis crónica aunque la respuesta de anticuerpos la tengan mas elevada que los HIV seropositivos, pudiendo ser que los anticuerpos de clase IgA sean los responsables del control de la enfermedad o solo sean un marcador de una respuesta inmune efectiva en la superficie de la mucosa intestinal ya que tambien se han encontrado elevados niveles de IgA secretores en pacientes HIV seropositivos con cryptosporidiosis crónica a pesar de tener un conteo bajo de linfocitos CD4+.

En los niños de Filipinas como comente en parrafos anteriores se encontro una marcada respuesta inmune con la producción de anticuerpos contra la coccidia, en contraste la respuesta inmune celular se encontro disminuida. La infección se aclaró al mismo tiempo que se observó una mayor respuesta de la inmunidad celular por lo que se piensa que la respuesta inmune para Cryptosporidium al igual que en otras coccidias se trate de un efecto citotóxico celular dependiente de anticuerpo.

Resultados de estudios en cepas de ratones BALB/c tratados con anticuerpos monoclonales encontra de las células CD4+ y CD8+ y del interferón- $\gamma$  en varias combinaciones sugieren que ambos las células CD4+ y el interferón- $\gamma$  son requeridos para prevenir la iniciación de la infección, que las células CD4+ pueden limitar la duración del a la infección y que el interferón- $\gamma$  puede limitar su severidad. En estudios invitro de células se ha observado una mayor proliferación de células CD4+ y no se observa respuesta proliferativa al estímulo con antígenos de Cryptosporidium en las células CD8+. De estas células CD4+ se ovserva la producción de IL-2 y de interferón- $\gamma$  con la nula producción de IL-4, el cual es caracterfstico de la subpoblación de células cooperadoras Th1. También en la infección de ratones adultos con la cepa de *C. muris* la inmunidad envuelve a los linfocitos T subpoblación Th1.

Se ha determinado en modelos experimentales de ratones que la actividad de las células NK, al menos la medida en bazo, no juega un papel crítico en la defensa contra la infección de Cryptosporidium parvum, cuando hay ausencia de funcionalidad de células B y T.

Estudios de la respuesta inmune celular y humoral contra *Cryptosporidium* en un modelo animal de humanos con SIDA, como son monos infectados con el HIV o por el SIV (Virus de la Inmunodeficiencia en Simios), son necesarios para determinar la contribución relativa de los factores en forma individual y las disfunciones que llevan a una infección persistente por *Cryptosporidium*.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- La Cryptosporidiosis tiene una alta incidencia en pacientes con SIDA. En México se ha observado una mayor asociación de las infecciones entéricas por Cryptosporidium en pacientes con SIDA que la neumonías causadas por P. carinii e L. belli.
- La participación de la respuesta inmune humoral no es clara al no observarse diferencia significativa en la frecuencia, intensidad y duración de la infección en modelos de ratones normales y en ratones con deficiencias en su capacidad de generar anticuerpos.
- Los anticuerpos de clase IgA muestran resultados contradictorios pudiendo ser solo un marcador de una respuesta inmune efectiva en la superficie de la mucosa intestinal.
- La transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales ha sido efectiva reduciendo el número de Cryptosporidium en yeyuno, ileon y colon pero no en el estómago. Este tipo de tratamiento en pacientes con SIDA requerirá de blancos específicos como el sistema biliar, estómago y de la modulación del pH.

- En modelos experimentales se ha observado que la pérdida de función de los linfocitos CD4+ conduce a una infección crónica por Cryptosporidium. lo que hace sugerir que la respuesta inmune efectiva se oriente hacia este tipo de linfocitos.
- Se observa una mayor proliferación de los linfocitos CD4+, subpoblación Th1 productores de INF- $\gamma$  e IL-2, al estímulo con antígenos de Cryptosporidium. No se observa proliferación de linfocitos CD8+ bajo los mismos estímulos.
- Los linfocitos CD4+ disminuyen la duración de la infección y el INF- $\gamma$  la severidad en estudios evaluándolos por separado.
- La actividad de las células Natural Killer, al menos la medida en bazo, no juega un papel importante en la defensa contra esta infección.
- En la actualidad se requieren mayores estudios para evaluar la participación de la respuesta inmune humoral y celular contra la cryptosporidiosis en un modelo animal de humanos con SIDA, como podrían ser monos infectados con el HIV o por el SIV, para determinar la contribución relativa de los factores en forma individual y las disfunciones que llevan a una infección persistente por Cryptosporidium.

## CAPITULOVI

### BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, B.C. "Cryptosporidiosis en Idaho lambs: natural an experimental infections". Journal of the American Veterinary Medical Asociation. 181: 151-153. (1982).
2. Angus K.W., Sherwood D., Hutchinson G. and Campbell Y. "desinfectants on the infectivity of cryptosporidia for mice". Research in Veterinary Science. 33: 379-381.(1982).
3. Asbecks Van, B.S., Verhoef J. "Iron and host defence". Eur. J. Clin. Microbiol. 2:6-10.(1983)
4. Bancroft G.T., Schreiber R.D., Bosma G.C., Bosma M.J., and Unanue E.R. " A T cell independent mechanism of macrophage activation by interferon- $\gamma$ ". Journal of Immunology. 139:1104-1107. (1987).
5. Barriga A.G., Cardeña C.J., Estrada P.S., Padierna O.L., Cruz C.G., Ruiz S.D., Gómez C.G., Peredo L.V. " Cryptosporidiosis asociada con SIDA: informe de un caso". Infectologia 5:2: 33-36. (1985).
6. Bennet M., Baxby D., Blundell N., Gaskell C.J., Hart C.A., and Kelly D.F. "Cryptosporidiosis in the domestic cat". Veterinary Record. 116: 73-74. (1985).

7. Bjorneby J.M., Riggs M.W., and Perryman L.E. "Cryptosporidium parvum merozoites share neutralization-sensitive epitopes with sporozoites". *J Immunology*. 145:298-304. (1990).
8. Bjorneby J.M., Hunsaker B.D., Riggs M.W., and Perryman L.E. " Monoclonal antibody immunotherapy in nude mice persistently infected with Cryptosporidium parvum. *Infect. Immun.* 59:1172-1176. (1991).
9. Black R.E. Global problems of acute diarrhoea in young children. In "Infectious diarrhoea in the young". (S. Tzipori De.) *Excepta Médica International Congress series 674*, 3-8. Elsevier Amsterdam. (1985).
10. Brady E.M., Margolis M.L., Korzeniowsky O.M. " Pulmonary cryptosporidiosis in adquired immunodeficiency syndrome". *JAMA* 252:89-90. (1984).
11. Chandra R.K. "Nutrition, immunity and infection: present Knowledge and future directions". *Lancet*. 1:688-691. (1983).
12. Chavaria P., Valdovinos M.A., Robles D.G., Tena M., Pasquet A., y Wolpert E. "Alteraciones gastrointestinales en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida". *Rev. Inv. Clin. Méx.* 39:1:25-33. (1987).
13. Chen W.J., Harp A., and Hanssen A.G. "Requeriments of CD 4+ cells and  $\gamma$  interferon in resolution of established Cryptosporidium parvum infection in mice". *Infect. and Immunity*. 61:3928-3932. (1993).

14. Chen W.J., Harp A., and Havel E.A. "interferon- $\gamma$  functions in resistance to Cryptosporidium parvum infection in SCID mice. *Infect. and Immunity*. 61:3548-3551.(1993).
15. Chrisp C.E., Reid W.C., Suckow M.A., Rush H.R., Bush A. and Thoman M. "Cryptosporidiosis en Guinea pigs: an animal model". *Infect. Immun*. 58:674-679. (1990).
16. Cozon G., Biron F., Jeannin M., Canella D. and Revillard J.P. "Secretory IgA antibodies to Cryptosporidium in AIDS patients with chronic cryptosporidiosis. *J. Infect. Dis*. 169:3: 696-699. (1994).
17. Current W.L., Reese N.C., Ernst J.V. Bailey W.S., Heyman M.B. and Weinstein W.M. "Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: studies of an outbreak an experimental transmissin". *N. E. J. Med*. 308: 1252-1257. (1983).
18. D' Antonio R.G., Winn R.E. And Zajac R."Secuential acute gastroenteritis from contaminated drinking water with Norwalk virus and Cryptosporidium". *Clinical Research*. 33: 399A (Abstract). (1985).
19. Du Pont H.L. "Cryptosporidiosis and the healthy host". *N. E. J. Med*. 312:20: 1319-1320.
20. Enriquez F.J., and Sterling C.R. "Cryptosporidium infection in inbred strains of mice. *Journal of Protozoology*. 38: 100s-102s. (1991)

21. Fayer R., Andrews C., Ungar B.L.P., and Blayburn B. "Efficacy of hiperimmune bovine colostrum for prophylaxis in neonatal calves. *J. Parasitol.* 75: 393-397. (1989).
22. Fayer R., Gudry A., Blayburn B. "Immunotherapeutic efficacy of bovine colostrum immunoglobulins from a hyperimmunized cow against cryptosporidiosis in neonatal mice". *Infect. Immun.* 58:2962-2965. (1990).
23. Fayer R. "Immunogold labeling of stages of *Cryptosporidium parvum* recognized by immunoglobulins in hyperimmune bovine colostrum". *Journal of Parasitology* . 77:487-490. (1991)
24. Fayer R., Ungar L.P. "*Cryptosporidium* sp. and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.* 50: 458-483.(1986).
25. Flanigan T.P. "human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: protective immune responses". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50:5: 29-39. (1994).
26. Flanigan T., Whalen C., Tuner J., Soave R., Toerner J., Havlir Diane, and Kotler D. "*Cryptosporidium* infection an CD 4+ counts". *Annals of Internal Medicine.* 116:840-842. (1992).
27. Forgacs P., Tarhisi A', Ma,P."Intestinal and bronchial cryptosporidiosis in an immunodeficient homosexual man". *Ann. Inter. Med.* 99: 793-794. (1983).
28. Gardner A.L. "Intestinal Cryptosporidiosis: Pathophysiologic alterations and specific cellular and humoral immune responses in RNU/+ and RNU/RNU (Athymic) rats". *Am J. Trop. Med. Hyg.* 44: 49-62. (1991).

29. Godwin T.A., "Cryptosporidiosis in the Acquired immunodeficiency syndrome: an study of 15 autopsy cases. *Hum. Pathol.* 22:1215-1223. (1991).
30. González B.C., Reyes M.E., Conde G.C., Calderón J.E., "Cryptosporidiosis". *Infectologia.* 5:6: 140-145. (1985).
31. Harari M.D., West B. and Dwyer B. " **Cryptosporidium** as a cause of laryngotracheitis in an infant". *Lancet* i:1207. (1986).
32. Harp. J.A., Whitmire W.M., and Sacco R. "In vitro protoferation and production of  $\gamma$ - interferon by murine CD 4+ cells in response to **Cryptosporidium parvum** antigen".
33. Hart C.A., Baxby D. and Blundell N. "Gastroenteritis due to **Cryptosporidium**: a prospective survey in a Childrens hospital". *J. Infect.* 9: 266-270. (1984).
34. Heine J., Moon H.W., and Woodmansee D.B. "Persisten **Cryptosporidium** infection in congenitally athymic (nude) mice. *Infect. Immun. Dis.* 43:856-859. (1984).
35. Hoerr. F.J., Ranck F.M. and Hastings T.F. "Respiratory cryptosporidiosis in turkeys". *J. of the Am. Vet. Med. Ass.* 173: 1591-1593. (1978).
36. Hojlyng N., Molbak K. and Jepsen S. "Cryptosporidiosis in Liberian children". *Lancet* i:734. (1984).
37. Hunt D.A., Shannon R., Palmer S.R., Jephcott A.E."Cryptosporidiosis in an urban comunyti". *Brit. Med. J.* 289:29:814-816. (1984).

38. Janoff E. N. and Reller L.B. "Minireview Cryptosporidium species a Protean Protozoan". J. Clin Microbiol. 5:6: 967-975. (1987).
39. Joynson D.H., Walker D.M. Jacobs A., Dolby A. E. "Defect of cell-mediated immunity in patients with Iron deficiency anaemia". Lancet 2:1058-1059. (1972).
40. Knikev W.T., Lesourd B.M., McBryde J.L., Corriel R.N., "Cell-mediated immunity assessed by multitest CMI skin testing in infants and preschool children. Am J. Dis Child. 139: 840-845. (1985).
41. Kuhls T.L., Greenfield R.A., Mosier D.A., Crawford D.L., and Joyce W.A., "Cryptosporidiosis in adult and neonatal mice with severe combined immunodeficiency". J Commp. Pathol. 106: 399-410. (1992).
42. Kuhls T.L., Mosier D.A., Crawfor D.L., Griffis J. "Seroprevalence of cryptosporidial antibodies during infancy, Childhood, and adolescence". Clin Infect. Dis. 18:5: 731-735. (1994).
43. Laxer M. A., Alcantara A.K., Marivyl Javato-Laxer, Menorco D.M., Fernando M.T., and Ranoa C.P. " Immune Response to Cryptosporidiosis in Philippine children". Am. J. Trop. Med. Hyg. 42:2: 131-139. (1990).
44. Liewv F.V. " Funtional Heterogeneity of CD 4+ T-cells in Leishmaniasis". Immunology Today. 10:40-45. (1989).
45. Lillehoj H.S. "Effects of immunosupresion on avian coccidiasis: cylosporin A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity". Infect. Immun. 55: 1616-1621. (1987).

46. Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honingberg B.M., Leedals G.F., Loeblich A.R., Lom J., Lynn D., Merin Feld E.G., and Page F.C. "A newly revised classification of the protozoa". *J. Protozool.* 27:1: 37-58. (1980).
47. López Amador R. "Cryptosporidiosis". *Rev. Infect. Mex.* 6:8: 279-290. (1986).
48. Marcial M. A., and Madara J.L. "Cryptosporidium : cellular localization , structural analysis of absorptive cell-parasite membrane-membrane interactions in guinea-pigs, and suggestion of protozoan transport by M Cells. *Gastroenterology.* 90: 584-594. (1986).
49. Mata L., Bolaños H., Pizarro D. y Vives M. "Criptosporidiosis en niños de Costa Rica; Estudio transversal y longitudinal". *Rev. Biol. Trop.* 32:1: 129-135. (1984).
50. Mata L. "Cryptosporidium and others protozoa in diarrheal disease in less developed countries". *Pediatr. Infect. Dis.* 5. (1986).
51. McDonald V., R. Deer., S. Uni., M. Iseki., and G.J. Bancroft. "Immune Responses to Cryptosporidium muris and Cryptosporidium parvum in adult immunocompetent or immunocompromised (Nude and SCID) mice. *Infection and Immunity.* 60: 3325-3331. (1992).
52. Mead J.R., Arrowood M.J., Sidwell R.W., and Healy M.C. "Chronic Cryptosporidium parvum infections in congenitally immunodeficient scid and nude mice". *J. Infect. Dis.* 163:1297-1304. (1991).

53. Meisel J.L., Perera D.R., Meligro C., and Rubin C.E., "Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient". *Gastroenterology*. 70:6: 1156-1160. (1976).
54. Miller R.A., Bronsdon M.A., and Morton W.R. "Experimental Cryptosporidiosis in a primate model". *J. Infect. Dis.* 161: 312-315. (1990).
55. Moon H.W. et. al. *Microecol. Rev.* 15: 103-120. (1985).
56. Mossman T.R., Cherwinski H., M.W. Bond, M.A. Giedlin, and R.L. Coffman. "Two types of murine helpers T cells clone. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins". *Journal of Immunology*. 136: 2348-2357. (1986).
57. Mossman T.R., and R.L. Coffman. "TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties". *Annual Review of Immunology*. 7:145-173. (1989).
58. Navin R.T., and Junarek D.D. "Cryptosporidiosis: Clinical, Epidemiologic and Parasitologic Review". *Rev. Infect. Dis.* 6:313-327. (1984).
59. Ojeda Román F., Sifuentes J., y Macías H.A. "Estudio comparativo de cuatro métodos de diagnóstico de coccidias en heces". I.N.N. "Salvador Zubiran". Datos no publicados.
60. Osterholm, M.T., "Timing of symptoms and oocysts excretion in human Cryptosporidiosis". *N. Engl. J. Med.* 317:3:168-169. (1987).

61. Perryman L.E., and Bjorneby J.M. "Immunotherapy of criptosporidiosis in immunodeficient animal models". *J. Protozool.* 38: 98s-100s. (1991).
62. Perryman L.E., Kegerreis K.A., Mason P.H. "Effect of Oralli administered monoclonal antibody on persistent *Cryptosporidium parvum* infection in scid mice. *Infect. and Immun.* 61:11: 4906-4908. (1993).
63. Petersen Carolyn. "Celular Biology of *Cryptosporidium parvum*". *Parasitology Today.* 9:3: 87-91. (1993).
64. Petersen Carolyn. "Cryptosporidiosis in patients infected with the human immunodeficiency virus". *Clin. Infect. Dis.* 15: 903-909.(1992).
65. Pitlik S.D., Fainstein V. Garza D., Guarda L., Bolivar R., Rios D., Hopfer R.L., Mamsell P.A. " Human Cryptosporidiosis spectrum of disease: Report of six cases and Review of the literature. *Arch. Intern. Med.* 148: 2269-2275. (1983).
66. Ponce de León S., Macías E.A., Cruz A., Calva J., Tinoco J.C., Ruiz C., Ojeda F., Bobadilla M., Rolón A. M., Villalobos Y., Castillo A., Ruiz Palacios G.M. "Los primeros cinco años de epidemia de SIDA en México". *Salud Pública.* 30: 544-554.(1988).
67. Quintero Pinto Gloria. "Cryptosporidiosis". Tesis para la licenciatura de Q.F.B. Fac. de Química. (1-59). (1990).
68. Rahaman A.S.M., Sanyal S.C., Al-Mahmud K.A., Sobhan A., Hossain K.S. and Anderson B.C. "Cryptosporidiosis in calves and their handlers in Bangladesh". *Lancet* ii:221. (1984).

69. Rasmussen K.R., and Healey M.C. "Experimental Cryptosporidium parvum infections in immunosuppressed adult mice". *Infect. and Immun.* 60:1648-1659. (1992).
70. Reese N.C., Current W.L., Ernst J.V., and Bailey W.S. "Cryptosporidiosis of man and calf; a case report and results experimental infections in mice and rats". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31:226-229. (1982).
71. Riggs M.W., MacGuire T.C., Mason P.H., and Perryman L.E., "Neutralization-sensitive epitopes are exposed on the surfaces of infectious Cryptosporidium parvum sporozoites". *J. Immun.* 143: 1340-1345. (1989).
72. Riggs M.W., and Perryman L.E., "Infectivity and neutralization of Cryptosporidium parvum sporozoites". *Infect. Immun.* 55:2081-2087. (1987).
73. Rodríguez H.J., Canot B.A., Sanchez Martín. "Epidemiology and diagnosis of Cryptosporidium spp. parasitosis in children: usefulness of the serologic study". *Rev. Clin. Esp.* 194:5: 330-333. (1994).
74. Rohlman V.C., Kuhls T.L., Mosier D.A., Crawford D.L., and Greenfield R.A. "Cryptosporidium parvum infection after abrogation of natural killer cells activity in normal and severe combined immunodeficiency mice". *J. Parasitology.* 79:295-297. (1993).
75. Saxon A., and Weinstein W., "Oral administration of bovine colostrum anti-cryptosporidia antibody fails to alter the course of human cryptosporidiosis". *J. Parasitology.* 73:413-414. (1987)

76. Scott P., "INF- $\gamma$  modulates the early development of TH1 and TH2 responses in a murine model of cutaneous Leishmaniasis . J. of Imm. 147:3148-3155. (1991).
77. Sher A., and Coffman R.L., "Regulation of immunity to parasites by T-cells and T-cells derived cytokines. Annual Rev. of Immunology. 10:385-409. (1992).
78. Soave R., And Johnson W.D. Jr. "Cryptosporidiosis and Isospora belli infections". J. Infect. Dis. 157:2:225-229. (1988).
79. Speer C.A., Reduker D.W., Borgess D.E., Whitmire W.M., Splitter G.A., "Lymphokine-induced inhibition of growth of Eimeria bovis and E. papillata (Apicomplexa) in cultured bovine monocytes". Infect. Immun. 50: 556-571. (1985).
80. Tayhi-Kilani R., Sekla L., Hayglass K.T., "The role of the humoral immunity in Cryptosporidium ssp. infection. Studies with B cells-depleted mice". J. Immunol. 145: 1571-1576. (1990).
81. Trier J. S., Moxey P.C., Schimel E.M., "Chronic intestinal coccidiosis in man: intestinal morphology an response to treatment. Gastroenterology. 66:927. (1974).
82. Tzipori S., Angus K.W., Campbell I., and Allan F. "Diarrhea in lambs experimentally infected with Cryptosporidium isolated from calves. Am. J. Vet. Rest. 42: 1400-1404. (1981).
83. Tzipori S.. "Cryptosporidiosis in animals and humans". Microbiol. Rev 47:4:84-96. (1983).

84. Tzipori S., "Cryptosporidiosis in perspective". *Advances in Parasitology*. 27:63-129. (1988).
85. Tzipori S., and Campbell Y. "Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species". *J. Clin. Microbiol.* 14:455-456. (1981).
86. Tzipori S., McCartney E., Lawson F.H.K., Rowland A.C., and Campbell I., "Experimental infection of piglets with *Cryptosporidium*". *Res. Vet. Sci.* 31: 358-368. (1981).
87. Tzipori S., Robertson D., Coupen D.A., and White L. "Chronic cryptosporidial diarrhea and hyperimmune cow colostrum". *Lancet*. 2: 344-345. (1987).
88. Tzipori S., Smith M., Birch Ch., Barnes G., and Bishop R. "Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis". *Am. Trop. Med. Hyg.* 32:5: 931-934. (1983).
89. Tutt M.M., Schuter W., Kuziel W.A., Tucker D.W., Bennett M., Bosma M.J., and Kumar V. "T cell receptor genes do not rearrange or express functional transcripts in Natural Killer cells of scid mice". *Journal of Immunology*. 138:2338-2344. (1987).
90. Ungar B.L., Soave R., Fayer R., Nash T.E. "Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons". *J. Infect. Dis.* 153: 570-578. (1986).

ESTA TESIS HA SIDO  
SALIDA DE LA BIBLIOTECA

91. Ungar B.L., Kao T.C., Burris A., and Finkelman F.D. "Cryptosporidium infection in an adult mouse model. Independent roles for INF- $\gamma$  and CD4+ T lymphocytes in protective immunity". J. Immunol. 147: 1014-1022. (1991).
92. Vazquez T.O., Velazco C.O., Alvarez Chacon R. "Cryptosporidiosis. ¿Un problema frecuente en SIDA? Infectología. 8:5: 245-250. (1988).
93. Vetterling J.M., Jervis H.R., Merrill T.G., Sprinz H., "Cryptosporidium *ssp.* from the guinea pig *cavia porcellus*, with an imendation of the genus". J. Protozool. 18: 243-247. (1971).
94. Wakeling D., Grecis R.K., "Immunological Responses to intestinal parasite infection". Miller K., Nicklin S. eds. Immunology of the gastrointestinal tract Vol. II. Boca Ratón. FL:CRC press. 321-325. (1987).
95. Weitz J.C., Tassara R., Muñoz P., Mercado R., Atias A., "Cryptosporidiosis del aparato respiratorio". Rev. Med. Chile. 114:7: 691-692. (1988).
96. Whitmire W.M., And Harp J.A., "Characterization of Bovine celular and serum antibody responses during infection by Cryptosporidium parvum. Infect. and Immunity. 59:990-995. (1990).
97. Wiest Peter M., Johnson J.H. and Flanigan P.T. "Microtubule inhibitor block Cryptosporidium parvum: infection of a human enterocyte cell line". Infection and Immunity. 61: 11: 4888-4890. (1993).

98. Williams R.O. and Burden D.J., "Measurement of class-specific antibody against Cryptosporidium in serum and faeces from experimentally infected calves. Res. Vet. Sci. 43: 264-265. (1987).
99. Wolfson J.S., Richter J.M., Waldron M.A., Weber D.J., MacCarthy D.M. and Hopkins C.C. "Cryptosporidiosis in immunocompetent patients". New Eng. J. of Med. 312: 1278-1282. (1985).
100. Zu S.X., Fang G.D., Fayer R., and Guerrant R.L., "Cryptosporidiosis: Pathogenesis and Immunology". Parasitology Today. 8:1: 24-27. (1992).
101. Zu S.X., Li T.F., Barret L.J., Fayer R., Guerrant R.L., Su S.X., Roche I.K., "Seroepidemiologic study of Cryptosporidium infection in children from rural communities of Anhui, China and Fortaleza, Brazil". Am J. Trop. Med. Hyg. 51:1:1-10. (1994).