

39
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**"IMPLANTACION DE TECNICAS PARA EL
DIAGNOSTICO DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN EL
ESTADO DE TABASCO"**

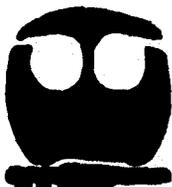
**TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A

SALVADOR FALCONI ROMERO



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

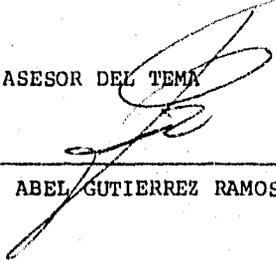
PRESIDENTE: Prof. Oscar Velazco Castrejón
VOCAL: Prof. Rodolfo Pastelín Palacios
SECRETARIO: Prof. Abel Gutiérrez Ramos
1er. SUPLENTE: Prof. Mayté Astigarraga Zavaleta
2o. SUPLENTE: Prof. Misaél González Ibarra

Sitio donde se desarrolló el tema:

Facultad de Química (U.N.A.M.) y U.J.A.T.

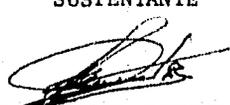
(Tabasco) y Fax del Nodo Tabasco (91-93-13-13-24)

ASESOR DEL TEMA



Q.F.B. ABEL GUTIERREZ RAMOS

SUSTENTANTE



SALVADOR FALCONI ROMERO

A MIS PADRES:

**SRA. CLELUBIA ROMERO DE LOS
SANTOS (Q.E.P.D.)**

**SR. SALVADOR FALCONI RODRIGUEZ
(Q.E.P.D.)**

GRACIAS:

**POR EL INMENSO APOYO Y
CONFIANZA QUE EN MI DEPOSITARON
PARA QUE SUS ESFUERZOS Y
SACRIFICIOS NO FUERAN EN VANO.
MI AGREDECIMIENTO ETERNO, DIOS
LOS TENGA EN SU GLORIA.**

A MIS HERMANAS:

**BLANCA
MARINA
ESTRELLA**

A MI ESPOSA MARGARITA

**POR EL GRAN ESFUERZO
COMPARTIDO EN LA REALIZACION
DE ESTE TRABAJO.**

A MIS HIJOS

**CHAVITO Y CESARIN LOS TESOROS
DE MI VIDA QUE ME IMPULSAN A
SEGUIR ADELANTE**

AGRADECIMIENTO

A TODAS LAS PERSONAS QUE FORMAN EL H. JURADO

**AL Q. F. B. ABEL GUTIERREZ RAMOS POR SU COMPRENSION Y LA VALIOSA
E IMPORTANTE AYUDA PRESTADA.**

**A TODAS LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA COLABORARON
PARA LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO.**

TEMA :

**IMPLANTACION DE TECNICAS PARA EL DIAGNOSTICO
DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN EL ESTADO DE TABASCO**

INDICE

	PAGINAS
CAPITULO I: INTRODUCCION	4
CAPITULO II: CLASIFICACION Y CICLO DE VIDA	12
CAPITULO III: EPIDEMIOLOGIA	20
CAPITULO IV: CUADRO CLINICO	25
CAPITULO V: COMPORTAMIENTO INMUNOLOGICO Y GRUPOS MAS SUSCEPTIBLES.	29
CAPITULO VI: DIAGNOSTICO DE LABORATORIO	36
CAPITULO VII: PARTICIPACION DE LA INMUNOLOGIA EN EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.	41
CAPITULO VIII: TRATAMIENTO	45
CAPITULO IX: CONCLUSIONES	47
CAPITULO X: BIBLIOGRAFIA	56

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCION

A pesar del gran número de enteropatógenos identificados en los últimos años, como agentes causales de gastroenteritis, se presentan aún infecciones entéricas cuya causa permanece indeterminada. Por ello, no es extraño que se continúe la búsqueda de agentes patógenos no descritos; por lo tanto se trata de relacionar parásitos de animales con infecciones de humanos. Un ejemplo de esto es el protozoario coccidio **Cryptosporidium**. El cual se ha demostrado que causa enteritis en varias especies animales y recientemente se ha relacionado con enteritis en humanos (24).

El protozoario **Cryptosporidium**, fue descrito por primera vez en 1907, por Tyzzer, quien lo observó en la mucosa gástrica de ratones asintomáticos (50); pero fue hasta el año de 1955 que se relaciono con diarrea grave en pavos infectados con este protozoario; desde entonces el parásito se ha observado en varias especies de animales como son: carneros, terneras, cerdos, cabras, ratones, conejos, serpientes, monos, pollos, pavos, gatos, perros, perrillos, venados, gansos, pericos y faisanes (2, 24, 33, 35, 43, 56, 60) También se ha encontrado **Cryptosporidium** infectando la traquea, la cloaca, la bolsa de fabricación y el saco conjuntival de las aves (56).

El primer caso de criptosporidiosis humana fue informado en 1976 y hasta 1982 solo se habían reportado 7 casos. Sin embargo a partir de 1982 se han incrementado considerablemente, por lo que el concepto de criptosporidiosis se ha transformado de una rara y larga infección asintomática a una importante causa de diarrea y enterocolitis en diversa especies animales, incluyendo al hombre (24,33,56-33, 56, 58) .

Cryptosporidium se ha reconocido recientemente como una causa importante de diarrea, tanto en personas inmunocompetentes, como en pacientes inmunodeficientes (59), pero más comúnmente la criptosporidiosis ocurre en manejadores de animales y en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA); o con alguna otra inmunodeficiencia (33).

En los diferentes casos estudiados se ha observado que los individuos parasitados con **Cryptosporidium** que tienen actividad inmunitaria normal, generalmente presentan diarrea autolimitada con duración aproximada de 5 días de curación espontánea; sin embargo pacientes con algunas anomalías inmunitarias desarrollan una enfermedad diarreica prolongada grave e incurable, que puede llevarlos hasta la muerte. Actualmente se ha relacionado al parásito con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (2, 24, 33, 35, 38).

La criptosporidiosis es una enfermedad que inicialmente se describió en animales domésticos, posteriormente en ganado vacuno y los primeros informes de casos humanos se describieron en manejadores de ganado, lo cual sugiere que la enfermedad es una zoonosis.

Las especies de **Cryptosporidium** son transmitidas por una variedad de mecanismos. La transmisión zoonótica fue inicialmente considerada la principal forma de infección humana, por las razones antes citadas.

Se ha encontrado en la actualidad que la principal vía de transmisión de **Cryptosporidium**, es sin lugar a dudas la vía oro-fecal, ya sea por contacto directo durante prácticas sexuales en las que exista contacto oral-anal), o indirecto, mediante agua, comida, fomites y otras superficies contaminadas. Los animales constituyen el reservorio más importante de la infección para los humanos y se piensa también que lo sean los homosexuales infectados (4).

Estudios recientes han permitido observar que **Cryptosporidium** es resistente a los antisépticos comunes (38); y a la cloración del agua potable (68).

Actualmente se ha descrito aproximadamente 11 especies de **Cryptosporidium** que causan infección tanto en animales como en el hombre (33); la primera especie descubierta fue **Cryptosporidium muris**, la cual fue descrita en 1907 por Tyzzer, quién encontró oocistos en heces y glándulas intestinales de ratones. Posteriormente se describió una nueva especie: **C. parvum** (Tyzzer, 1912) cuyos oocistos 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 oocistos y otras formas del parásito son similares o idénticas entre sí y con los descritos por Tyzzer, pero por el hecho de aparecer en otros vertebrados se les considero diferentes (33).

Las especies descritas de *Cryptosporidium* son:

- C. muris (Tyzzer 1910) en ratón.
- C. parvum (Tyzzer 1912) en ratón.
- C. meleagridis (Slavin 1955) (Levine 1980) en pavos.
- C. wairi (Vetterling et al 1971) en cobayos.
- C. anserinum (proctor y Kemp 1974) en gansos.
- C. bovis (Barker y Carbonell 1974) en terneras.
- C. agni (Barker y carbonell 1974) en ovejas.
- C. rhesi (Evine 1980) en monos rhesus.
- C. crotali (Triffit, 1925) en serpientes.
- C. serpentis (Levine 1980) en serpientes.
- C. nasorum (Hoover, Hoerr, Carlton, Heinsman y Ferguson (1981) en peces.

La lista de 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, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos, venados y gallinas (33,58).

La inoculación experimental exitosa de parásitos aislados de un huésped vertebrado en otros ha permitido demostrar su inespecificidad, así como la posible sinonimia de las especies descritas (33, 43, 56, 58, 60).

CAPITULO II.

CLASIFICACION Y CICLO DE VIDA

CLASIFICACION Y CICLO DE VIDA

CLASIFICACION: La clasificación taxonómica del género *Cryptosporidium* denota su estructura y su biología básica.

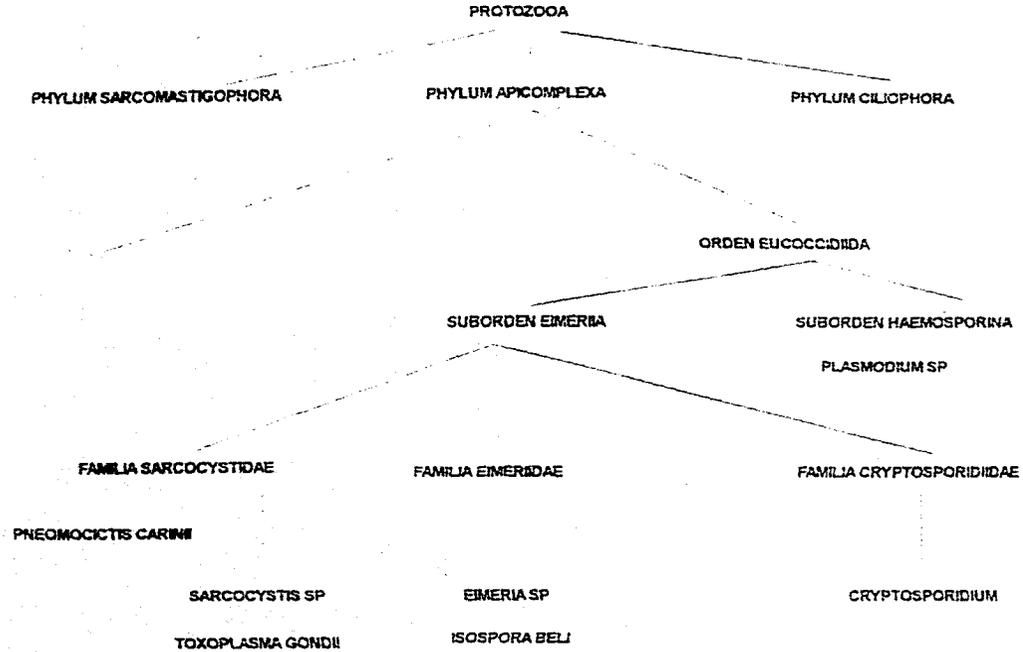
Las especies de *Cryptosporidium* pertenecen al Phylum Apicomplexa, pues al igual que otros parásitos tienen un complejo apical, pero carece de cilios y flajelos. Dado que *Cryptosporidium* tiene reproducción tanto sexual como asexual, es colocado en la clase Sporozoa; y en la subclase Coccidiasina, porque tienen pequeños gametos intracelulares, característica de los miembros de ésta subclase.

Las especies de *Cryptosporidium* son colocados en el orden Eucoccidiorida, por el desarrollo de merozoitos (primera y segunda generación) dentro de los esquizantes. *Cryptosporidium*, al igual que *Isospora*, *Sarcocystis* y *Toxoplasma* son miembros del Suborden Eimeriorina, debido a la producción de micro y macrogametocitos respectivamente. Por otro lado como los miembros de la familia Cryptosporidiidae los ejemplares del género *Cryptosporidium* se desarrolla en un nicho anatómico especial, justo debajo de la membrana de la célula huésped como un parásito intracelular pero extracitoplasmático.

Solamente un sólo huésped es requerido para el desarrollo del ciclo de vida (monoxeno completo) y de las especies de *Cryptosporidium* (24, 28, 53).

La figura No. 1 muestra la clasificación taxonómica de *Cryptosporidium*.

FIGURA No. 1
 POSICION TAXONOMICA DE CRYPTOSPORIDIUM



(TOMADO DE: NAVIN, R.T. Y JURANEK,D.O. REV.INFECT. DIS ,1964.)

CICLO DE VIDA

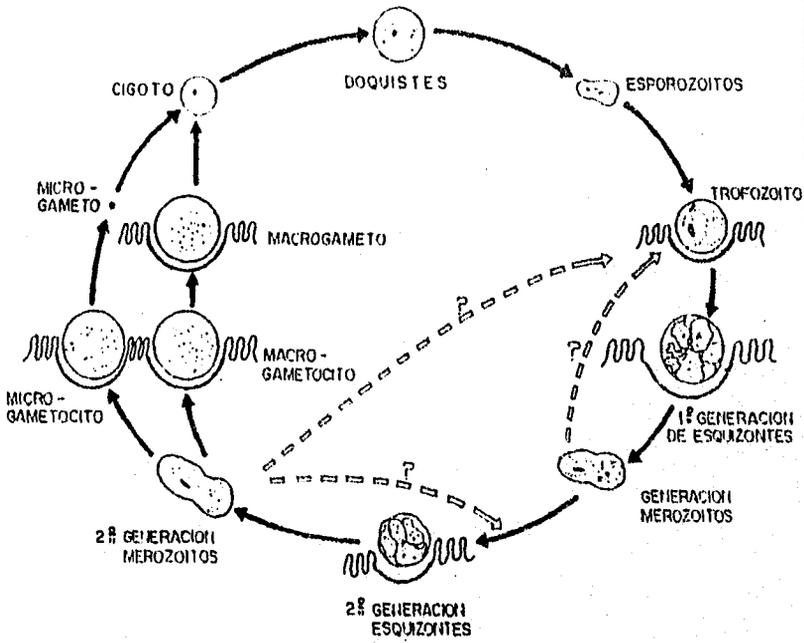
El ciclo de vida de *Cryptosporidium* se ha investigado en cricetos, terneras y membrana coriolanloidea del embrión de pollo, y parece seguir un patrón, dentro de las coccidias (2, 24).

Cryptosporidium es un parásito monoxeno y su fase infectante es el ooquiste maduro, pequeña formación redonda de 3 a 5 micras de diámetro, que se expulsa en las heces de animales enfermos y está listo para infectar otros animales (28).

Su ciclo biológico, el cuál se esquematiza en la Figura No. 2, está constituido por una fase asexual en la que se encuentra los estadios de trofozoitos, esquizontes y merozoitos; y una fase sexual representada por los macro y microgametos (37).

CICLO DE VIDA DE CRYPTOSPORIDIUM

FIGURA No. 2



Los ooquistes maduros contienen 4 esporozoitos en su interior, los cuales son liberados cuando los ooquistes son ingeridos por el huésped; el mecanismo por el cual son liberados se desconoce, pero parece ser, que el desenquistamiento se favorece por la digestión de la pared quística en el conducto gastrointestinal. Los esporozoitos liberados infectan células epiteliales del intestino delgado para transformarse en trofozoitos.

El trofozoito sufre tres divisiones nucleares para formar ocho merozoitos; a ésta estructura se le llama esquizonte de primera generación, posteriormente los ocho merozoitos formados son liberados e infectan otras células epiteliales. En éstos últimos los merozoitos alargados se redondean y sufren dos divisiones nucleares para formar el esquizonte de segunda generación, que contiene cuatro merozoitos de segunda generación.

Los merozoitos de segunda generación son liberados y vuelven a infectar células epiteliales, entonces sufren diferenciación sexual formando los micro y macrogametocitos que dan origen a los gametos. Los macrogametocitos presentan modificaciones y se convierten en microgametos; en tanto el microgametos sufre algunas divisiones nucleares y forman varios microgametos. El número de éstos no se conoce, pero se cree que son entre 12 y 16 (2,24,37).

Un microgameto se une con un macrogameto para formar un cigoto, el cual se desarrolla hasta formar un ooquiste, para así completar el ciclo de vida (37).

La existencia de dos generaciones de esquizontes, fue observada en estudios hechos en cobayos alimentados con heces que contenían ooquistes y posteriormente se buscaron las distintas fases del parásito en el conducto gastrointestinal de estos animales (64); los resultados se presentan en el cuadro No. 1.

CUADRO No. 1

Fases de *Cryptosporidium* en el conducto gastrointestinal.

FASE ENCONTRADA	TIEMPO DESPUES DE LA INOCULACION.
Trofozoitos	3 a 4 días
Esquizontes de ocho merozoitos	7 a 9 días
Esquizontes de cuatro merozoitos	11 a 14 días
Gametocitos	13 a 15 días

(Tomado de Vetterling, J. M. y cols. J. Protozool. 1971, 18, 243).

Se debe señalar que todo el ciclo reproductivo se desarrolla a nivel de las microvellosidades de la células epiteliales. Generalmente el desarrollo ocurre en el epitelio gastrointestinal, pero se ha observado que en aves y en personas inmunodeficientes, puede ocurrir en el epitelio traqueal (39).

GLICOCALIX (PARASITO/HUESPED ?)

MEMBRANA PLASMATICA PARASITARIA

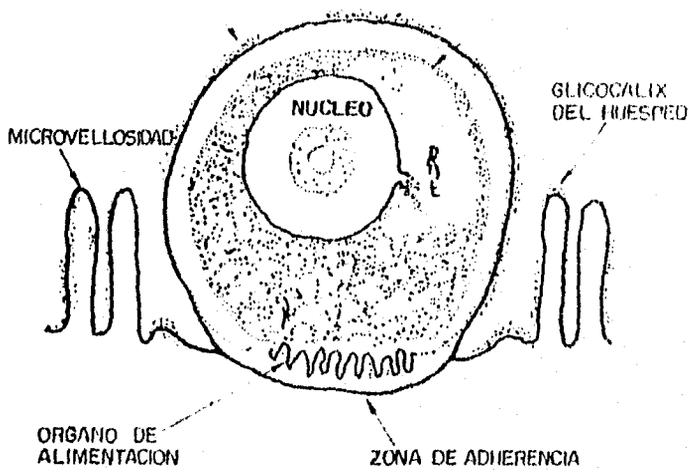


FIGURA No. 3

Observaciones en el microscopio electrónico demuestran que el trofozoito forma una zona de adherencia en la interfase con la célula huésped. En ésta zona se pueden reconocer pliegues membranosos fusionados con una banda densa formada por cuatro membranas distintas, se creía que estas membranas eran parte del parásito pero evidencias recientes sugieren que las dos membranas externas son originadas en el huésped, por lo que puede considerarse como parásito intracelular pero extraciplasmático (2, 24, 28, 61). Y es a través de ésta estructura donde se realiza el intercambio de material nutritivo (Figura No. 3).

CAPITULO III

E P I D E M I O L O G I A

EPIDEMIOLOGIA

En muchas partes del mundo se ha encontrado a **Cryptosporidium** asociado a enfermedades diarreicas, frecuentemente rivalizado en porcentaje con **Campylobacter**, **Salmonella** y **Shigella** sp, con **E. coli** enteropatógena y **Giardia lamblia** (28).

Cryptosporidium se distribuye por todo el mundo, incluyendo este y oeste de África (28), Centro y Sudamérica (8, 33), U.S.A. Australia (61), Europa (27), Asia (28) y México (19, 38, 63).

A partir de 1976 cuando fue reportado el primer caso de criptosporidiosis humana y hasta 1982, sólo se habían reportado 7 casos. Sin embargo a partir de 1982 el número de casos de criptosporidiosis se ha incrementado considerablemente.

En Nueva York, el primer caso de criptosporidiosis fue reportado en Agosto de 1981, en un homosexual con SIDA, el diagnóstico fue hecho por una biopsia intestinal. A partir de entonces se han reportado un gran número de casos (32).

En un estudio realizado en Melbourne, Australia por Tzipiri y cols, con 844 muestras colectadas durante el período de febrero de 1981 a junio de 1982, provenientes de pacientes con gastroenteritis, los resultados encontrados fueron : 36 (4%) pacientes con gastroenteritis y presentaron **Cryptosporidium** en sus evacuaciones, en cuanto a pacientes sin gastroenteritis no se les encontró **Cryptosporidium**. También se encontró la frecuencia de **Cryptosporidium** de febrero a mayo de 1981, fue más elevada en relación a los demás períodos también se observó en este estudio que era más común en los pacientes menores de 15 años.

En Bristol, Inglaterra se realizó un estudio en el periodo comprendido 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, resultando 43 pacientes con *Cryptosporidium* y de estos 24 eran menores de 5 años. La infección por *Cryptosporidium* fue la más común después de *Campylobacter* (27).

Por otro lado en Massachusetts, U. S. A., se llevó a cabo un estudio en el mismo periodo del primero de febrero de 1983 al 31 de enero de 1984 con personas inmunocompetentes, y de todas las edades, encontrándose 43 muestras con oocistos de *Cryptosporidium*, presentándose el mayor número de casos en niños de 4 años de edad y en adultos en las edades de 30-39 años (62).

Un estudio realizado en Costa Rica en 1982 demostró una frecuencia de 4.4 % en niños lactantes y preescolares con diarrea, sin embargo en los niños sin diarrea no se encontró este parásito. Todas las infecciones con *Cryptosporidium* ocurrieron de mayo a junio en la población urbana, y de junio a agosto en la población rural, indicando una marcada variación estacional (33).

En 1984, se observaron 2 distintos brotes de gastroenteritis en el periodo comprendido del primero de mayo y del 30 de julio entre los residentes de Braw Station, comunidad suburbana al noroeste de San Antonio, Texas, estos brotes se debieron a una contaminación fecal del agua.

En el primer brote 251 personas fueron positivas para *Cryptosporidium* y el segundo brote se encontraron ooquistes de este parásito en las muestras de 117 personas. Las edades fluctuaron de 1 a 72 años, con un promedio de 32 años, ninguno era inmunodeficiente, y no había una asociación entre propietarios o manejadores de ganado (68).

Janoff y Reller de la Universidad de Colorado en 1986, realizó una interesante recopilación de datos de pacientes con *Cryptosporidium* de 1978 a 1985, tanto en países en vías de desarrollo como en países desarrollados, ésta recopilación incluyó pacientes inmunocompetentes e inmunodeficientes (28).

En países en vías de desarrollo, en donde se estudiaron muestras consecutivas de heces de pacientes con diarrea, *Cryptosporidium* fue identificado en una proporción de 3 a 13%, utilizándose para su diagnóstico diferentes métodos, encontrándose la tasa más alta en la India, en niños menores de 3 años, y en personas de todas las edades, esta tasa se encontró en Bangladesh (25, 27, 33, 42), (Cuadro No. 2).

Por otro lado, en países desarrollados los estudios realizados en pacientes con diarrea, la prevalencia de *Cryptosporidium* fue de 0.6 a 7.3%, en donde la tasa más alta se observó en Estados Unidos (especialmente en Denver, Colorado), en pacientes de todas las edades, y en Gran Bretaña se encontró la tasa más alta en niños menores de 5 años (cuadro No. 3).

Tanto en países desarrollados, como en los que se encuentran en vías de desarrollo, los grupos donde ha encontrado mayor prevalencia de criptosporidiosis, comprende un gran número de personas inmunocompetentes. En Estados Unidos *Cryptosporidium* fue encontrado en un 28% entre homosexuales con SIDA, que tenían diarrea. Por otro lado en Haití se realizó un estudio en 131 pacientes con SIDA, de los cuales casi la mitad estaba infectado con *Cryptosporidium*; la mayoría de estos pacientes presentaban diarrea crónica.

CUADRO No. 2

Aislamiento de *Cryptosporidium* en muestras de heces de pacientes, en países en vías de desarrollo. 1978 - 1985

PAISES	TIPO DE POBLACION	No. DE ESTUDIOS	% DE CRYPTOSPORIDIUM
India	Menores de 3 años	682	13.1
Ghana	2 meses a 5 años	474	12.9
Sudáfrica	Niños hospitalizados	259	11.9
Venezuela	Menores de 2 años	120	10.8
Rwanda	Niños	193	10.2
Rwanda	Adultos	100	3.0
Bangladesh	Manejadores de ganado	165	3.5
Bangladesh	Otros pacientes	578	4.9
Brasil	Todas las edades	117	0.0
Liberia	6 meses a 5 años	278	7.9
Costa Rica	Preescolares	613	3.3
Tailandia	Menores de 10 años	410	3.2

Tomado de: Janoff E. N. and Reller L. B. J. Clin. Microbiol. p 969 (1987).

Porcentaje de *Cryptosporidium* en muestra de heces de pacientes con diarrea, en países desarrollados.
1982 - 1986-

PAISES	TIPO DE POBLACION	No. DE ESTUDIOS	% DE CRYPTOSPORIDIUM
Norte de Gales	10 años	196	2.5
	10 años	304	0.7
Dinamarca	Todas las edades	800	1.2
Australia	15 años	697	4.7
	15 años	187	1.6
Gran Bretaña	5 años	329	7.3
	5 años	528	3.5
U. S. A.	Todas las edades	582	4.3
Canadá	10 años	878	1.4
	10 años	568	1.1
Finlandia	Todas las edades	4,545	2.6

Tomado de: Janoff E.N. and Reller, L. B. J. Clin. Microbiol. p. 969 (1987).

Algunos reportes de Costa Rica, Bangladesh e India, describen que la tasa más alta de **Cryptosporidium**, se encuentran durante los meses más cálidos, húmedos y lluviosos (33, 34, 46).

En Florida en 1985, se presentó un brote de diarrea en el "Daycare-Center" (DCC), en donde se analizaron 84 muestras de niños entre las edades de 44 días a 5 años, de los cuales 49% resultó positivo para **Cryptosporidium** (51).

Por otra parte Ratman y cols., en 1986, reportaron que **Cryptosporidium** fue el segundo enteropatógeno más comúnmente identificado en 2,252 muestras de heces enviadas para examen rutinario, siendo **Giardia lamblia** el primero. De 19 pacientes positivos para **Cryptosporidium**, 18 reportaron diarrea (42)

Holly y Dover (26), examinaron 582 muestras de heces de diferentes individuos, encontrando 60 muestras con parásitos, de las 60 positivas 25 (42%) tenían **Cryptosporidium**, ocupando el primer lugar, seguido por **Giardia lamblia** (30%).

También en Filadelfia, U.S.A. se presentó un brote de diarrea en un centro de cuidado diurno, encontrándose **Cryptosporidium** en 13 de 20 niños, o sea en un 65% de niños sintomáticos y sólo un 3 (11%) de 27 niños asintomáticos (1).

En un estudio realizado en Guatemala en 1986, con 500 niños, tanto en el área urbana como en el área rural, de los cuales sólo la mitad tenían diarrea y la otra mitad eran testigos, sin sintomatología gastrointestinal. Se encontró que el 20.4% del grupo experimental, fueron positivos para *Cryptosporidium* y 11.5% del grupo control también fueron positivos para éste parásito. Encontrándose también que *Cryptosporidium* fue más frecuente en niños mayores de 5 años, en tanto en el grupo con diarrea, como en el grupo control (8).

En lo que se refiere a México, en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", entre el mes de julio de 1983 y mayo de 1987, se realizó un estudio en 69 pacientes con SIDA, que presentaban alteraciones gastrointestinales, encontrándose agentes infecciosos en el 58% de los casos, siendo los más frecuentes *Cryptosporidium* y *E. Histolytica*, seguidos por *Giardia Lamblia* e *I. Belli* (19).

En este mismo Instituto se estudiaron 425 muestras de materia fecal, de pacientes mexicanos con infección HIV, enviados al Laboratorio de Microbiología, de dicho Instituto, entre el período comprendido de mayo de 1985 a mayo de 1988, 256 muestras eran pacientes con SIDA, 15 pacientes con enfermedad constitucional por HIV, 9 serotipos HIV asintomáticos, 4 pacientes con adenopatía por HIV Y 133 pacientes desconocidos.

Los resultados obtenidos fueron 46 muestras positivas para *Cryptosporidium*, de los cuales 42 fueron casos con SIDA (38).

Por otro lado en 1988, en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de la Ciudad de México, los Dres. Vázquez Tsuji, Velazco Castrejón y Alvarez Chacón, realizaron un estudio de muestras de materia fecal de 22 pacientes con diagnóstico clínico y serológico de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), para la búsqueda intencionada de especies de **Cryptosporidium**. Encontrándose en sólo 2 de los casos ooquistes de **Cryptosporidium**, coexistiendo uno de ellos con *Giardia lamblia* (63).

Se ha observado que en los pacientes mexicanos con SIDA, son más frecuentes las infecciones entéricas por **Cryptosporidium** e *I. Belli*, que las neumonías por *Pneumocystis carinii* (40).

CAPITULO IV

CUADRO CLINICO

MANIFESTACIONES CLINICAS

En animales la enfermedad aguda se caracteriza por diarrea acuosa, anorexia y pérdida de peso, no se presenta criptosporidiosis crónica. Se ha observado que hay animales que resisten la infección o se curan espontáneamente, pero sin embargo otros mueren (56). Algunos factores influyen sobre las manifestaciones clínicas en animales son: especie, edad y estado inmunitario (24)

En cuanto a la especie, se ha observado que algunos mamíferos como las ratas, ratones y cobayos, no desarrollan diarrea, con la inoculación de ooquistes provenientes de ternera, mientras que especies jóvenes de simio, porcino, caprino y aves presentan los síntomas característicos de criptosporidiosis con el mismo inóculo (56).

Con respecto a la edad, experimentos realizados por Tzipori y cols, con carneros neonatos de distintas edades, libres de patógenos e inoculados con ooquistes de *Cryptosporidium* obtenidos de terneras enfermas, demostraron que la presencia de la enfermedad dependía de la edad del animal (Cuadro No. 4), encontrándose que los animales mientras más jóvenes eran, mayores problemas desarrollaban y los animales de mayor edad no presentaban manifestaciones clínicas (57).

En experimentos semejantes con lechones mayores de nueve días, se encontró que estos no desarrollaban la enfermedad (2). Esto sugiere que la presencia de la enfermedad depende de la edad del animal y que los animales adultos desarrollan inmunidad a la criptosporidiosis. (57).

Por otro lado, la importancia del estado inmunitario se demostró en estudios realizados en cinco potrillos árabes, con inmunodeficiencia combinada (humoral y celular) que murieron a los dos meses debido a diarrea grave, a estos animales se les encontró ooquistes adheridos a la pared del estómago, intestino, conductos biliares y pancreáticos, por lo que se cree que la inmunodeficiencia incrementó a la susceptibilidad a la infección, pues no hay casos de criptosporidiosis en potrillos normales (2, 24).

En aves se ha encontrado la infección en vías respiratorias altas, y se relaciona con algunos signos clínicos de gravedad variable, así mismo se han encontrado microorganismos en mucosa nasal y bronquial (57).

CUADRO No. 4

Relación entre edad y manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis en camero.

EDAD	MANIFESTACIONES CLINICAS
1 Día	Diarrea de moderada a grave
5 Días	Diarrea de moderada a grave
10 Días	Diarrea de moderada a grave
20 Días	Poca o sin diarrea
30 Días	Clinicamente sanos.

(Tomado de: Tzipori, S Y Cols, Am. J, Vet, Res. 1981)

En humanos la infección por **Cryptosporidium**, se divide clínicamente en dos categorías: a) Pacientes con función inmune normal y b) Pacientes inmunodeficientes, tales como los que tienen el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) o que reciben terapia inmunosupresora.

a) En individuos normales se presenta diarrea líquida, profusa, fétida, con presencia ocasional de moco, con duración de una a tres semanas, anorexia, dolor abdominal, cólicos, náuseas, fiebre y vómitos que ceden al tratamiento sintomático (57). Ocasionalmente presentan síntomas no específicos como: cefálea, mialgia, malestar general y debilidad, la diarrea y el dolor abdominal se exageran con el alimento (50).

A la examinación física habitualmente se encuentra deshidratación únicamente, en cuanto a las anomalías radiológicas no son específicas e incluyen la proyección de pliegues de la mucosa intestinal, y con desorden en la motilidad (50)

b) El desarrollo de la enteritis en la criptosporidiosis, comúnmente es insidioso y se incrementa severamente en pacientes inmunodeficientes, en éstos pacientes hay dolor abdominal, pérdida de peso excesiva, severa deshidratación, ocasionalmente estos pacientes tienen periodos con síntomas disminuidos, pudiendo aplazarse o disminuirse (50). En pacientes con daño inmunológico se presenta un síndrome coleriforme con gran pérdida de líquidos, tres litros o más al día, y la diarrea puede durar desde días, hasta años (37, 57).

La Fisiología de ésta gran pérdida de líquidos no se ha descrito bien, pero por los síntomas observados existe la posibilidad de que la causante de ella, sea una enterotoxina parecida a la del cólera, hasta ahora no identificada (2, 37, 57).

Se ha observado que pacientes con deficiencia nutricional, pueden presentar un curso de la infección semejante a pacientes con deficiencia inmune (4, 39).

Se han hecho pruebas de absorción intestinal en pacientes con criptosporidiosis, y en todos ellos se encontró esteatorrea, prueba de xilosa anormal e intolerancia a la lactosa, sugiriendo este daño a la mucosa del intestino delgado (19, 50). Los niveles séricos de fosfatasa alcalina y gamma Glutamyltranspeptidasa están elevados, pero los niveles séricos de transaminasas y bilirrubina son normales.

Radiológicamente en pacientes inmunodeficientes, se encuentra dilatación en los conductores biliares, en la pared del intestino y desorden en la motilidad (50).

Por otro lado se han descrito acortamiento de las vellosidades, criptas hipertróficas, disminución en la altura de las células absorptivas, pérdidas de la polaridad nuclear y vacuolización citoplásmica extensa (19, 55).

Cryptosporidium, al parecer tiene varios ciclos esquizogónicos en el paciente inmunodeficiente, por lo que la infección puede continuar en forma crónica por meses o años (37).

En los humanos a diferencia de los animales, se ha observado que la edad no es un factor determinante para la infección (24), sin embargo, el mayor determinante de la gravedad de ésta enfermedad en humanos, es el estado inmunitario del individuo (55, 56, 47), ya que la criptosporidiosis en pacientes inmunocompetentes es una enfermedad benigna, en donde el proceso es autolimitado y de corta duración, por lo que su curso es muy distinto al que tienen los pacientes inmunodeficientes, en los cuales puede ser determinante en la muerte del paciente

Pitlik y cols, en 1983 realizaron un estudio de criptosporidiosis humana, hicieron comparaciones entre pacientes inmunodeficientes y pacientes con función inmune normal, encontrándose diferencias importantes que se muestran en el cuadro No. 5.

La localización de **Cryptosporidium** es preferentemente intestinal, especialmente en el último tercio del yeyuno y el ileon, pero se ha constatado la posibilidad de colonizaciones más amplias, tomando también el intestino grueso, estómago, duodeno, conductos biliares y el aparato respiratorio de los mamíferos (28, 65), En algunos pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se ha encontrado **Cryptosporidium** en epitelios de bronquios y alvéolos (10, 21), también se ha encontrado en pacientes con hipogamaglobulinemia en epitelio traqueal y glándulas accesorias (56, 57).

CAPITULO V

COMPORTAMIENTO INMUNOLOGICO

Y

GRUPOS MAS SUSCEPTIBLES

COMPORTAMIENTO INMUNOLOGICO

A la fecha el comportamiento inmunológico de *Cryptosporidium* no es bien conocido. Se han realizado muy pocos estudios a este respecto, sin embargo, se cree que las células T tienen una importante participación en la respuesta inmune contra este protozooario, también parece estar involucrada la mucosa del intestino donde ocurre dicha reacción (22).

En experimentos donde se utilizaron ratones atímicos, con número insuficiente de linfocitos T, se observó que fueron incapaces de autolimitar el problema, mientras que en ratones blancos eutímicos, hubo únicamente infecciones transitorias (20).

Aunque los estudios realizados sugieren que es la participación de la inmunidad celular, la importancia para el control de la enfermedad, también se ha observado que la inmunidad humoral es requerida para eliminar la infección, ya que en pacientes con hipogamaglobulinemia, en los que se demostró la normalidad de la función de las células T, se ha observado que presentan una severa infección (3, 9, 12, 17, 20, 31, 47).

Recientemente en Venezuela, se han realizado estudios en ratones, para observar la respuesta inmunológica, encontrándose comparativamente con un grupo control, un mayor número de linfocitos T, cooperadores y células thy-1+ en las placas de peyer de animales infectados. Por otro lado, los macrófagos y las células dendríticas interdigitantes, también están aumentando considerablemente en las placas de peyer del yeyuno de los animales infectados (62).

GRUPOS MAS SUSCEPTIBLES

La criptosporidiosis en pacientes inmunocompetentes es un problema autolimitado, y tiene un curso muy distinto al que tiene en los pacientes inmunodeficientes.

En pacientes inmunocompetentes, no hay predominio de la enfermedad por algún sexo, y puede pasar asintomático o cursar espontáneamente sin infecciones asociadas.

Los grupos más afectados por *Cryptosporidium* en orden de frecuencia e importancia son:

- 1.- Pacientes Inmunodeficientes
 - a) Pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).
 - b) Pacientes con hipogamaglobulinemia.
 - c) Pacientes que reciben terapia inmunosupresora.

- 2.- Pacientes Inmunocompetentes
 - a) Manejadores de ganado.
 - b) Viajeros.

CUADRO No. 5

CRITOSPORIDIOSIS HUMANA

COMPARACION DE FORMAS CLINICAS EN PACIENTES INMUNODEFICIENTES E INMUNOCOMPETENTES

TIPO DE PACIENTE	No. DE CASOS INFORMADOS	EDAD MEDIA EN AÑOS	PREDOMINIO SEXUAL M. F.	CONTACTO CON ANIMALES	CASOS ASINTOMÁTICOS.	DURACION DE LA DIARREA	METODO DE DIAGNOSTICO	INFECCIONES ASOCIADAS	QUIMIOTERAPIA	RESULTADOS
INMUNOCOMPETENTE.	16	20.8	2.3	FRECUENTE	2	USUALMENTE DIAS.	LA MAYORIA POR EXAMEN DE HECES	NO	NO SE ADMINISTRA	TODOS LOS PACIENTES SE RECUPERARON.
INMUNODEFICIENTES	23	35.6	31.1	RARO	NINGUNO	USUALMENTE MESES	LA MAYORIA POR BIOPSIA INTESTINAL	FRECUENTES	NO EFICAZ	TODOS LOS PACIENTES FALLECIERON

TOMADA DE: PITLIK, S. D. Y COLS. ARCH. INTERN. MOD. 1983.

Cryptosporidium se ha reconocido recientemente como una causa importante de diarrea en personas inmunocompetentes e inmunodeficientes (53), pero más comúnmente ocurre en manejadores de animales y en pacientes con SIDA (54, 67).

En un estudio realizado a un grupo de viajeros escandinavos, visitando Leningrado, y otro estudio realizado en estudiantes americanos (USA), que habían viajado a México, se encontró a **Cryptosporidium** como causante de diarrea aguda (64).

Mata y cols., realizaron una revisión en 1984 de los pacientes con criptosporidiosis tanto en pacientes inmunodeficientes como en los inmunocompetentes, encontrando más incidencia dentro de los pacientes inmunodeficientes (Cuadro No. 6).

Cuadro No.6

Criptosporidiosis en el hombre

SALUD	SEXO	EDAD (AÑOS)	REFERENCIA
INMUNODEFICIENTES	M	48	Weinstein et. al 1981
	F	52	Stermmerman et. al 1980.
INMUNOSUPRESORES	M	39	Meisel et. al 1976.
	M	58	Weisburger et. al 1979.
INMUNOCOMPETENTES	F	4	Nime et. al 1976.
	M	27	Tzipori et. al 1980.

Tomado de: Mata et. al Rev. Biol. Trop. 1984.

CAPITULO VI

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Antes de 1978, todos los diagnósticos de criptosporidiosis, fueron efectuados por biopsias intestinales, ya que no se había detectado el parásito en heces. Posteriormente a esta fecha, el diagnóstico se ha efectuado principalmente por la detección de ooquistes en las heces (8).

Para establecer el diagnóstico de este parásito se pueden recurrir a varias técnicas apropiadas que pongan en evidencia la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* en la material fecal.

Se puede utilizar técnicas de concentración por flotación o sedimentación, tales como la de Faust y Ritchie, y recurrir a técnicas especiales específicas para *Cryptosporidium* como la de Sheeter, que es también de concentración y flotación y que se utiliza una solución de azúcar con densidad de 1.27 más densa que el peso específico de los ooquistes del parásito (63, 4). Además pueden utilizarse el método de concentración por sedimentación de Teleman-Miyagawa modificado éste método permite obtener un sedimento rico en ooquistes y sin presencia de material que impida la observación.

Cuando las preparaciones en fresco se observan al microscopio de contraste de fases son aún más discernibles, observándose que poseen una doble pared y una estructura interna formada por esporozoitos y cuerpos residuales que no son claramente visibles. Puede observarse que hay varios tipos de ooquistes: indemes, desenquistados, etc. (48, 63).

Para un diagnóstico de rutina rápido y específico, es de suma utilidad la observación de frotis en materia fecal teñidos con la técnica de Ziehl Neelsen modificada con dimetilsulfoxido (DMS), que es una técnica sencilla y específica para la detección de **Cryptosporidium**, que permite visualizar al parásito con objetivo seco débil e inmersión, pudiendo diferenciar entre los ooquistes del parásito y las levaduras circundantes, apareciendo **Cryptosporidium** como una estructura esférica o ligeramente ovoidal, de 4 a 6 micras de diámetro que por ser ácido-alcohol resistente, retiene el colorante de fucsina, apareciendo de color rojo rubí brillante, con diferentes grados de intensidad. Mientras que las levaduras, detritus alimenticios y el fondo se tiñen de verde intenso o azul dependiendo del colorante que se use como contrastes (44, 63).

Otra técnica utilizada es la tinción de auramina-rodamina (A-R), en donde los ooquistes de **Cryptosporidium** se tiñen amarillo brillante (fluorescente sobre un fondo oscuro), y se observan como una estructura circular de doble pared brillante e inclusiones densa y opacas en su interior (38).

Hoy en día se reconoce la tinción de Kinyoun como un método estándar para la identificación de **Cryptosporidium** (38), a la cual los ooquistes se observan de forma circular, con doble pared, con un halo alrededor del quiste y pequeñas inclusiones de color rojo oscuro en el interior.

Otras tinciones utilizadas para la identificación de **Cryptosporidium** son la tinción de Giemsa, Pas modificado y safranina (26, 63).

En cualquiera de las anteriores situaciones, la muestra de materia fecal deberá fijarse con formal al 10% o alcohol polivinílico para evitar contagios (38, 63).

Otra forma de diagnosticar ésta parasitosis, es recurriendo a la biopsia, los exámenes hispatológicos de cortes intestinales de yeyuno e ileon, incluidos en parafina y coloreados con hematoxilina-eosina o giemsa y observados al microscopio de luz y electrónico son muy útiles para identificar diversas fases del parásito (24, 63).

Cuando se requiere confirmar el diagnóstico coproparasitológico, se puede recurrir al examen de ooquistes al microscopio electrónico, utilizando la coloración negativa con ácido fosfolúngstico al 2, 2, 5% (ph 6.7), con técnica normalmente utilizada en los laboratorios para la investigación de enterovirus.

Al microscopio electrónico los ooquistes de **Cryptosporidium** se presentan también con formaciones redondeadas bien definidas, y con pliegues bien visibles sobre su superficie. Estas formaciones redondeadas cuando provienen de cortes histológicos, se les encuentran adheridas al borde de las microvellosidades de los enterocitos, o a la membrana plasmática donde se observa o simplemente se hallan libres en el lumen la banda intestinal. Las microvellosidades de los enterocitos presentan alteraciones en su longitud y forma, con atrofia y fusión entre ellas y desaparición de los mismos en el lugar de adherencia (44).

Otra manera, de hacer el diagnóstico, es dando de comer las heces sospechosas, sin preservadores, a animales de laboratorio recién nacidos, libres de patógenos, si la muestra es positiva, estos animales presentarían una enteritis grave con diarrea verdosa a los 4-5 días post-inoculación, muriendo a los 2-3 días de haber comenzado los síntomas, entonces se procede a la búsqueda de las distintas fases del parásito en el conducto gastrointestinal (2, 24, 44, 63).

Además de lo anterior se pueden recurrir a métodos inmunológicos como ELISA o Inmunofluorescencia indirecta (62, 63).

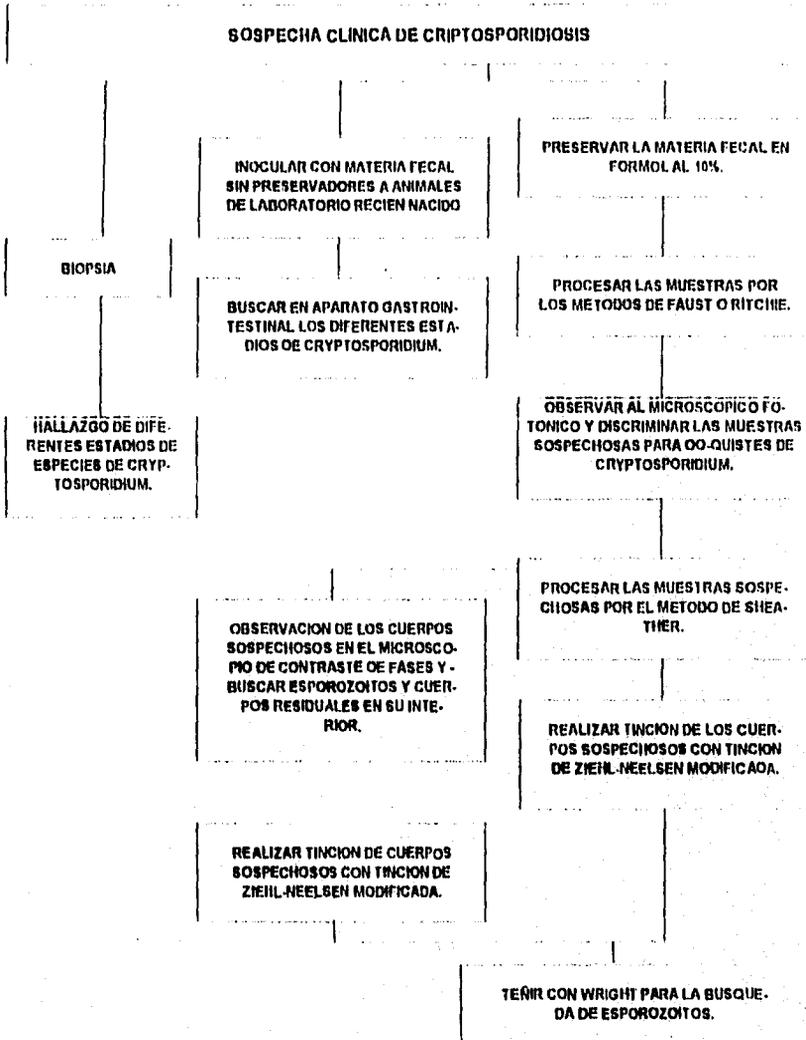
Investigadores del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de la ciudad de México, proponen una metodología protocolizada para llegar a un diagnóstico definitivo de certeza o de exclusión del padecimiento (figura No.4)

Por otro lado en el Instituto de la Nutrición "Salvador Zubirán". Francisco Ojeda y cols., realizaron un estudio comparativo de cuatro diferentes métodos para detectar **Cryptosporidium** en materia fecal y ver la eficacia diagnóstica de cada uno de ellos

Los métodos comparados fueron: La tinción de kinyoun, la tinción rápida de ácido-alcohol resistente modificada con dimetil sulfóxido (DMS), la tinción de auramina-rodamina (A-R) y la técnica de flotación de Sheeter.

FIGURA No.4

METODOLOGIA PROTOCOLIZADA PARA UN DIAGNOSTICO DEFINITIVO



Las muestras estudiadas fueron un total de 425, encontrándose **Cryptosporidium** en 46 muestras. Observándose que el método de sheatar detectó significativamente menos ooquistes, mientras que con la técnica de auramina-rodamina, se detectaron cuatro casos menos de **Cryptosporidium**, comparativamente con la técnica de kinyoun y dms, esto puede observarse en la tabla No. 7. (datos no publicados).

Por lo que la sensibilidad de DMS y Kinyoun fue de 100% y de auramina-rodamina fue de 76%, en tanto que la especificidad reportada fue 99.6 y 98.9% respectivamente.

De lo anterior se concluye que la tinción de kinyoun es el método más recomendable y que el método de DMS por su alta sensibilidad y especificidad, puede ser un método alternativo y confiable.

Cabe mencionar que el método de flotación de sheatar es mas costoso y laborioso que las tinciones de ácido-alcohol resistente, y la de kinyoun, además de que es menos sensible.

Tabla No. 7

**Relación de la comparación entre diferentes métodos en la detección de
Cryptosporidium en heces.**

Método	No. Total	No. Positivos	Porcentaje
Sheater	162	9	5.6
Kinyoun	307	29	9.4
Dimetil Sulfoxido Modificado	307	29	9.4
Auramina-Rodamina	307	25	8.1

**Tomado de: Ojeda R. Fco. y cols. Instituto Nacional de Nutrición "Salvador Zubirán".
Departamento de Infectología. (Datos no publicados).**

CAPITULO VII

PARTICIPACION DE LA INMUNOLOGIA

EN EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

PARTICIPACION DE LA INMUNOLOGIA EN EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de *Cryptosporidium* se establece por la demostración de diferentes estadios del parásito en cortes histológicos, o por la presencia de ooquistes en materia fecal. Las técnicas utilizadas para este fin incluye técnicas de tinción como la kinyoun, ziehl-neelsen modificada, auramina-rodamina, giemsa, etc., o bien técnicas de concentración como la de Sheater, ya descritas anteriormente.

Sin embargo en pacientes que excretan muy pocos ooquistes en la materia fecal, las técnicas utilizadas comúnmente pueden no ser suficientes, por lo que la implementación de nuevas pruebas diagnósticas han surgido rápidamente.

La participación de la inmunología en el diagnóstico de *Cryptosporidium* es de suma importancia, ya que ha permitido la implementación de técnicas con una alta especificidad y sensibilidad.

Actualmente la producción de anticuerpos monoclonales, ha resultado una excelente alternativa para el diagnóstico de laboratorio, en el caso de criptosporidiosis estos métodos son realmente útiles, ya que son altamente sensibles y específicas, por lo que pueden eliminar la posibilidad de falsos positivos y falsos negativos que ocurren con las técnicas de rutina para la detección de estos protozoarios (23).

Una técnica que ha resultado ser altamente específica, es la detección fluorescente de ooquistes de *Cryptosporidium*, en materia fecal usando anticuerpos monoclonales.

Charles Sterling y Michael Arrowood de la Universidad de Arizona, desarrollaron un método de Inmunofluorescencia Indirecta utilizando una inmunoglobulina M como anticuerpo monoclonal. Demostraron que esta método tiene una sensibilidad y especificidad del 100% comparada con la técnica de Zeihl-Neelsen modificada.

Este método fue comercializado por los laboratorios Meridian Diagnostics, como el **Merifluor Cryptosporidium Kit** (23, 45, 52).

Recientemente se han realizado algunos estudios comparativos en cuanto a sensibilidad, especificidad, tiempo requerido y costo, entre la prueba de Inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos monoclonales y la técnica de Zeihl-Neelsen modificada, por ser ésta última una técnica comúnmente utilizada por rápida y sensible.

En 1986, García L. y cols., del departamento de patología del Centro Médico de UCLA, compararon éstas dos técnicas para detectar ooquistes de **Cryptosporidium** en heces de 297 pacientes, resultando 99 muestras positivas de **Cryptosporidium**, mostrando todas ellas fluorescencia, los organismos fueron fácilmente visibles (4 a 6) con una fluorescencia verde-amarillenta sobre un fondo oscuro. Las 198 muestras restantes fueron negativas, todas las muestras positivas y negativas, fueron previamente confirmadas por la técnica de Ziehl-Neelsen modifica, en donde siete muestras consideradas previamente negativas por éste método fueron positivas para la técnica de anticuerpo monoclonal, siendo confirmadas como positivas después de una cuidadosa búsqueda por concentración de las muestras y tñiéndolas con la técnica de ácido-resistente, enfatizando la alta sensibilidad de la técnica de inmunofluorescencia (23).

Por otro lado Rusnak, J. y cols., del Centro Médico de USAF de San Antonio, Texas, realizaron un estudio similar con 119 muestras, la mayoría de estas fueron colectadas durante un brote epidémico de *Cryptosporidium* en San Antonio, Texas de 1984 a 1987. También ellos compararon la técnica de Ziehl-Nelsen modificada, con Inmunofluorescencia Indirecta utilizando el "Merifluor Cryptosporidium Kit". Los resultados obtenidos fueron: 58 muestras positivas por la técnica de anticuerpo monoclonal, mostrando todos ellos fluorescencia, sin embargo para la técnica de Ziehl-Nelsen modificada sólo 56 resultaron positivos. Esta discrepancia refleja una mayor sensibilidad de la inmunofluorescencia indirecta para detectar ooquistes de *Cryptosporidium* en heces (45).

Los dos grupos investigadores están de acuerdo en que la técnica de la Inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos monoclonales, ofrece una razonable alternativa debido a que es altamente sensible y específica, además de la simplicidad de su ejecución e interpretación de los resultados y su capacidad de proporcionar un diagnóstico definitivo de criptosporidiosis. En cuanto a su costo, el reactivo de Merifluor Kit fue mucho más alto (U. S. 1, 30 por muestras) comparativamente con la técnica de Zeihl-Nelseen modificada (U. S. 0.50 por muestra) (24, 45, 52).

Por otra parte Campbell en Alabama, en 1983 desarrollaron un método para la detección de anticuerpos en suero contra *Cryptosporidium* sp., utilizando la inmunofluorescencia indirecta. Ellos estudiaron un total de 33 pacientes con criptosporidiosis confirmada y los dividieron en 5 diferentes grupos para la detección de anticuerpos circulantes específicos para *Cryptosporidium*: estos grupos incluye tanto individuos inmunodeficientes, como inmunocompetentes. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla No. 8, en donde se observa que los títulos más altos fueron encontrados en el primer grupo que incluyen sujetos inmunocompetentes que habían tenido una criptosporidiosis confirmada y se habían recuperado, mientras que en los pacientes con SIDA y persistentes criptosporidiósicos los títulos fueron más bajos de 1:40 a 1:640 y en sujetos con hipogamaglobulinemia con función normal de células T y criptosporidiosis, no se detectaron títulos de anticuerpos.

A la mayoría de los pacientes se les hizo un seguimiento de sus títulos de anticuerpos por un largo período y se observó que los títulos se mantenían altos después de 360 a 400 días de haber padecido la infección, sobre todos en pacientes del grupo 1.

TABLA No. 8

Títulos de Anticuerpos circulantes contra *Cryptosporidium* de varios grupos de sujetos utilizando Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

NUMERO DE SUJETOS CON TITULOS IFI

GRUPO	No. DE PRUEBAS	TITULOS										
			10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	
I. Recuperados	12		0	0	1	3	3	3	1	0	1	
II. Expuestos con infección no detectada.	4		3	0	1	0	0	0	0	0	0	
III.- Pacientes con exposición no conocida.	10		2	0	0	0	0	0	0	0	0	
IV.- Pacientes con SIDA y prolongada infección.	5		0	0	1	2	0	1	1	0	0	
V.- Hipogamaglobulinemia con prolongada infección.	2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tomado de: Campbell P.N. and Current W.L. Journal of Clinica Microbiology 1983.

CAPITULO VIII

TRATAMIENTO

TRATAMIENTO

Hasta el momento no se ha encontrado un tratamiento adecuado para la criptosporidiosis, se han probado una gran variedad de terapias, aun sin éxito (2, 24, 56).

En personas inmunocompetentes donde la infección se autolimita, solo se les administra un tratamiento de apoyo para la rehidratación y el alivio sintomático, ya que se curan espontáneamente de la criptosporidiosis (2, 33, 56, 57).

Sin embargo, en los sujetos inmunodeficientes en donde si es necesario la administración de tratamiento adicional, ninguno de los medicamentos ensayados, tanto en la criptosporidiosis humana, como en la criptosporidiosis experimental, ha demostrado ser eficaz (24, 33, 45, 49, 57).

Se han probado más de cuarenta antimicrobianos, incluyendo coccidiostáticos y otros compuestos antiprotozoarios, antibióticos de amplio espectro y antihelmínticos, pero ningún esquema ha sido eficaz.

El cuadro No. 9 muestra algunos de los medicamentos que han sido probados en la criptosporidiosis humana y experimental pero sin ninguna eficacia.

CUADRO No. 9

**AGENTES ANTIMICROBIANOS QUE SE HAN INFORMADO COMO INEFICACES
CONTRA INFECCIONES POR CRYPTOSPORIDIUM.**

MEDICAMENTOS USADOS EN EL TRATAMIENTO DE CRIPTOSPORIDIOSIS HUMANA.			MEDICAMENTOS USADOS EXPERIMENTAL- MENTE EN TERNERAS Y RATONES.	
WEINSTEN Y COLS	SLOPER Y COLS	STEMMERMANN Y COLS	TERNERA MOON Y COLS	RATON TZIPORI Y COLS
Sulfisoxazol	Mepacrona	Metronidazol	Amprolium	Etopabate
Primetamina	Colistina	Sulfametoxazol	Sulfedimidina	Nicarbanza
Metronidazol	Oxitetraciclina	Trimetopim	Dimetridazol	Sulfaguinoxalina
Cloroquina	Metronidazol	Primetamina	Mtronidazol	Furaltadona
Primequina	Piperazina	Sulfadiazina	ipronidazol	Enteroito-N
Loperamida	Tiobendazol	Levamisol	Quinacrina	Sulfametazina
Pentemida	Ampicilina	Antifericina D	Monensin	Trinamida
Sulfateidina	Eritromicina	Colesiframina	Lasolecida	Amptol
	Penicilina			Fenamidina
	Trimetopim			Zooquin
	Sulfametoxazol			Haloluginesa
	Gentamicina			Salinomicina
	Cloxacilina			Emtri
	Carbenicilina			Apronocida
				Amotallom

(Tomado de: Tzipori S. Microbiol. Rev. 1983.

La mayoría de las pruebas farmacéuticas han sido realizadas en animales, en los cuales las especies de *Cryptosporidium* son causa común de morbilidad (3), produciendo algunos de ellos reducción en la excreción de ooquistes, y experimentalmente en ratones hay evidencia histológica sin infección (3, 59).

En humanos el tratamiento con diferentes drogas ha tenido muy poco éxito.

Más promeedor ha sido el uso de la espiramicina, un antibiótico macrólido, en donde un número considerable de pacientes han mostrado mejoría (14, 18, 28, 41). El mecanismo de acción de la espiramicina contra las especies de *Cryptosporidium* no es conocido. El mejoramiento clínico puede ser por efecto directo sobre el protozooario, o puede deberse a los efectos sobre los copatógenos (41).

El tratamiento con Difluorometil-ornitina un inhibidor de la síntesis de polimixina, que tiene actividad contra varios protozoarios, ha sido también asociado con el mejoramiento clínico en numerosos pacientes con SIDA y criptosporidiosis. Sin embargo la toxicidad hacia la médula ósea y hacia el área gastrointestinal, son un impedimento significativo para el uso de esta droga (28, 49, 50).

Por otro lado se han hecho una gran cantidad de trabajos sobre el tratamiento de esta coccidia en los pollos. Como la mayoría de estos agentes son coccidiostáticos, el tratamiento necesita ser prolongado, se han utilizado drogas comunes con las usadas en humanos. Se ha pensado que debe prestarse especial atención a las drogas usadas para los animales como quinolinas, ionoforos y análogos de tiamina (7). Hay una preparación veterinaria llamada Amprolito, aparentemente efectiva en animales, y quizá puede ser eficaz en humanos (6).

Hasta ahora lo que se le puede ofrecer al paciente con criptosporidiosis es el tratamiento de soporte, el cual difiere según la magnitud y duración de la diarrea. Debe mantenerse un nivel electrolítico en caso de deshidratación con una solución glucosada que contenga sodio, bicarbonato y potasio. La hidratación intravenosa es necesaria después del vómito recurrente, acidosis severa, hipocalcemia, hipopotasemia y niveles bajos de magnesio.

La administración de agentes antidiarréicos no específicos como loperamida, kaopectate, y colestiramina, han resultado efectivos en la disminución de la diarrea en la criptosporidiosis. La alimentación parenteral es útil, pues ayuda a disminuir el número de evacuaciones.

La rehidratación y la reducción de agentes inmunosupresores tales como los esteroides, son comúnmente el principal soporte de la terapia (41).

Los ooquistes de **Cryptosporidium** son resistentes a los desinfectantes comunes como yoduros, ácidos crislíco, hipoclorito de sodio, cloruro de benzalconio, (13), y los aldehídos (3). La viabilidad de los ooquistes puede ser mantenida de 9 a 12 meses in vitro (15).

Los métodos efectivos para la inactivación de los ooquistes incluyen la exposición a temperatura bajo 0° centígrados por 30 minutos (13), también el tratamiento con fenol al 10%, amoniaco al 5%, son eficaces.

La prevención de la infección puede lograrse, evitando la exposición al agua no tratada y a vegetales no cocidos, esto hay que evitarlo cuando uno viaja. También es importante tomar precauciones cuando se está en contacto con personas o animales infectados por **Cryptosporidium**.

CAPITULO IX

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El estado de Tabasco por su localización geográfica y por su clima, sobre todo en los meses más cálidos, húmedos y lluviosos, se presentan las tasas más altas de criptosporidiosis, esto ha despertado el interés de implementar técnicas de diagnóstico para esta protozoosis en el estado, y así realizar una búsqueda intencionada para descartar esta parasitosis. Las técnicas propuestas para este trabajo son: Tinción de kinyoun, Zeihl-Nelsen modificada, auramina y rodamina, Giemsa o técnicas de concentración como la de Sheater. Los estudios comparativos en cuanto a sensibilidad, especificidad, tiempo requerido y costo arrojaron que la técnica de zeihl-nelsen modificada es una técnica comúnmente utilizada por rápida y sensible. El método de flotación de sheater es más costoso y laborioso y además menos sensible, por lo que proponemos la tinción de kinyoun por ser tan sencillo, fácil de montar y económico es el método más recomendable, y que el DMS por su alta sensibilidad y especificidad, puede ser un método alternativo y confiable.

Sin embargo es pacientes que excretan muy pocos ooquistes en la materia fecal, las técnicas señaladas anteriormente pueden no ser suficientes, por lo que el advenimiento de la producción de anticuerpos monoclonales, ha resultado una excelente alternativa para el diagnóstico de laboratorio.

Debido a la cantidad de afecciones diarreicas que proliferan en el estado, y en las que en la mayoría de los casos no se logra detectar el agente etiológico, existe el interés de establecer un cuadro clínico especificado del parásito causante para hacer un diagnóstico certero de la enfermedad.

Esto es importante desde el punto de vista que tiene en la actualidad enfermedades inmunodeficientes, ya que la criptosporidiosis tiene una prevalencia extremadamente elevada en individuos con alguna inmunosupresión en el organismo, o sea el **Cryptosporidium** se puede señalar como el clásico ejemplo de un parásito oportunista, ya que tiene preferencias sobre personas con alguna inmunosupresión en el organismo.

Por otro lado, aunque la detección de la criptosporidiosis llevado a cabo por procedimientos no invasivos, ha incrementado el diagnóstico, no ha mejorado el pronóstico, ya que desafortunadamente no se ha identificado tratamiento efectivo. El progreso para controlar la criptosporidiosis requerirá de un conocimiento mejor en cuanto a su tratamiento, y quizá lo mas importante, un entendimiento y prevención de la inmunodeficiencia de los pacientes con criptosporidiosis.

CAPITULO X
BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alpert, G. Bell, L.M. Kirkpatrick, C. E. "Outbreak of Criptosporidiosis in a Day Care Center". "Pediatrics" 77/152-157, (1986).
- 2.- Amador López R. "Criptosporidiosis". Rev. Infec. Mex. 6/8/279-290 (1986).
- 3.- Angus, K. W. Hutchinson, G. Campbell, I. and Snodgrass. "Prophylactic effects of anticoccidial drugs in murine criptosporidiosis". vet. rec. 114/166-168 (1984).
- 4.- Barriga, A. G., Cardeña, C. Estrada, P. S., Padiera, O. I., Cruz, C. G., Ruiz S. D. Gómez, C. G. Peredo, L.V. "Criptosporidiosis asociada con sida, informe de un caso" "Infectología 5/2/33-36 (1985).
- 5.- Baxby D., Blundell, N., and Hart, C. A. "The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces" J. Hyg, Camb. 93/2/317-323. (1984).
- 6.- Berk, R.N., Wall, S.D. Mcardie, C.B. McCutchan, J.A. Clementt, A.R., Rosenblum, J.S. Premkumar, A., and Megibow, A.J., "Criptosporidiosis of the stomach and small intestine in patients with AIDS." Am J.Roentgenol, 143/549-554 (1984).
- 7.- Berkowitz, C.D., and Seide, J.S., "Spontaneous resolution of criptosporidiosis in a child with acquired immunodeficiency syndrome". Am. J.Dis.Child 139/967 (1985).

- 8.- Blanco R.R., Samayoa, J.C., "Diarrea y Cryptosporidium en Guatemala". Bol. Med. Hop. Infan. Mex. 45/3/139-142 (1988)
- 9.- Booth, C.C., Shavin, G., And Doormashkin R.R. "Immunodeficiency and Criptosporidiosis (Clinico pathological conference), Br. Med. J. 281/1123-1127 (1980).
- 10.- Brady E.M., Margolis, M.L., Korzannlnwsky, O.M. "Pulmonary Criptosporidiosis in acquired immune deficiency syndrome", Jama 252/89-90 (1984).
- 11.- Bronsdon, M.A., "Rapid dimethyl sulfoxide-modified acid-fast stain of cryptosporidium oocysts in stool specimens. "J. Clin. Microbio 19/6952-953 (1984).
- 12.- Campbell, P. Current, W.L., Demonstration fo serum antiboides to cryptosporidium sp in normal and immunodeficient humans whit confirmed indection", J.Clin microbiol 18/1/165-169 (1983).
- 13.- Campbell, I.Tzipori.S.Hutchinson, G., and angus, k.w., "effect of desinfetans on survival of cryptosporidium, oocysts" vet. rec. 111414415 (1982).
- 14.- Collier, A.C., Miller, R.A., and meyers, J.D., criptosporidiosis after marrow transplantation, person-to-person transmlsion and treatment with spiramycin". Ann. Intern. med. 101/205-206 (1984).
- 15.- Currel, W.L., and haynes, l.b., "Complete development of cryptosporidium in cell culture". Science 224/603/605 (1984).
- 16.- Current, W.L., and long, p.l. development of human and calf criptosporidium in chicken embryos. J. infect. dis 148/6/1108-1113 (1983).

- 17.- Current, W.L., reese, n.c. Ernest, J.V. Bailey, W.S., Heyman M.B. and weinstein., w.m. "Human criptosporidiosis in inmunocompetent and inmunodeficient persons", N.Engl. med. 308/21/1252-7 (1983).
- 18.- Chandraselar, P.H. "Cure", of chorinc criptosporidiosis during tratment with asidothymidine in a paciente with the acquired immune deficiency syndrome" am. j. med. 83/2/187 (1987).
- 19.- Chavarria, P. Valdovinos, M.A.Robles, D., Glena, M. Pasquel a, wolpert, e., "Alteraciones gastrointestinales en el sindrome de inmunodeficiencia adquirida" Rev. Invest. clin (Méx.), 39 supl 25-33 (1987).
- 20.- De Hovitz, J.A. Pape, J.W., M.Boncy, and w.e. Jhonson, Jr. "Clinical manifestation and therapy of isospora belli infection in patients with the adquired immunodeficiency syndrome 2. N. engl. j. med. 31587-90 (1986).
- 21.- Forgacs, P. Tharsis, A., MA. P. "Intestinal and bronchial criptosporidiosis in an inmunodeficient homosexual man."ann. tern. med. 99/793-794 (1983).
- 22.- García, S.L. Bruckner, D.A., Brewre, T.C. y Shimizu, R.Y. "Tecchniques for the recovery and identification of criptosporidium oocysts from stoll specimens." J. Clin Microbiol, 18/1/119-121 (1987).
- 23.- García, S.L. Brewer, T.C. and Bruckner, D.A. "Fluorescence detection of criptosporidium oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibiodes ", J, Clin Microbiol, 25/1/119-121 (1987).

- 24.- González B.C., Reyes M.E., Conde G.C., Calderón J.E. "Criptosporidiosis". *Infectologia* 56/140-145 (1985).
- 25.- Harth, C.A., D.Baxby, and N.Blundell. "Gastroenteritis due to cryptosporidium a prospective survey in a childrens hospital. " *J Infect.* 9/264-270 (1984).
- 26.- Holley, H.P., Dover, C., "Cryptosporidium: common cause of parasitic diarrhea in otherwise healthy individuals". *Brit med. J.* 289/29/814-816 (1984).
- 27.- Hun, D.A. Shannon, R., Palmer S.R. Jephcott, A.E., *Cryptosporidiosis in an urban community.* " *brit, med. j.* 289/29/814-816 (1984).
- 28.- Janoff, E.N. and Jellerl b. "minireview-cryptosporidium, species, a protean protozoan. " *brit. med. j.* 289/29/814-816 (1984).
- 29.- Jokipl.L., Pohjola, Jokipii Amm. "cryptosporidium a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms" *lancet* 2/358-61 (1983).
- 30.- Kim, Ch. W., Chemotherapeutic effect of arprinocid in experimental criptosporidiosis, " *j. parasit,* 733663-666 (1987).
- 31.- Lasse,K.T.,Lewin,K.L. Ryninz, F.V., cryptosporidium enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinemia, " *hum. patol.* 10/2/235-240.
- 32.- Ma.P., and soavc r. "three-step stool examination for criptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea, " *j. infect. dis* 147/5/824 (1983).

- 33.- Mala, L. Bolaños, H. Pizarro, D. y vives m. "criptosporidiosis en niños de costa rica: estudio transversal y logintudinal 12. rev. biol. trop. 32/1/129-135 (1984).
- 34.- Mathan, M.N.S. Venkatesean, R. George, and m. matthew., cryptosporidium and diarrhea in southern indian children. lancet 11/1172-1175 (1985).
- 35.- Meisel, J.L., Perera, D.R., meligro, c. and rubin c.e. "overcheming watery diarrhea associated with cryptosporidium in a immunosuoocresses patient. "gastroenterology 70/6/1156-1160 (1976).
- 36.- Nachamkin, I., Jones, A., Hasyn, H., "Routine parasitological examination for cryptosporidium. "J. inf.dis 154/2/369-370 (1986).
- 37.- Navin, R.T., and juranek D.D. "Criptosporidiosis clinical, epidemiologic, and parasitologic review", rev. infec. dis 6/313-327 (1984).
- 38.- Ojeda Román F. Sifuentes, J. y Macias, H.A., Estudio comparativo de cuatro métodos de diagnóstico de coddidia en heces. "I.N.N." "Salvador Zubirán" (Datos no publicados).
- 39.- Osterholm, M.T., "Timing of symptoms and oocysts excretion in human criptosporidiosis". N.Engl. J. Med. 317/3/168-169 (1987).
- 40.- Ponce de León, S. Macias, E.A. Cruz A., Calva, J. Tínocho, J.C. Ruiz, C. Ojeda, F. Bobadilla, M. Rolón, A.L., Villalobos, y Castillo, A. Ruiz Palacios, G.M. "Los primeros cinco años de epidemia de SIDA en México. "Salud Pública. 30/544-554 (1980).

- 41.- Portnoy, D. Whiteside, M.E., Buckley, I.E., and McLeod, D.I. "Treatment of intestinal cryptosporidiosis with spiramycin". *ann intern. med.* 1101/202-204 (1984).
- 42.- Ratman, S.J. Paddock, E. Macdonald., D. Whitty, M. Jung., and R. cooper. "ocurrence of cryptosporidium oocysts in fecal samples submitted for routine microbiological examination "J.Clin Microbiol 22/402-404 (1985).
- 43.- Reese, N.C. Current, W.I. Ernst.J.V., and Bailey, W.S. "Criptosporidiosis of man and calf. a case report and results of experimental infection in mice and rats. "Amer.J. Trop Med., Hyg 31/226-229 (1982).
- 44.- Rossnigo, C.E., "Técnicas de diagnóstico de la criptosporidiosis en la diarrea neonatal. "vet. arg. 3/28/768-775 (1986).
- 45.- Rusnak, J. Hadfield, T.L. Rhodes, M.M. and Gaines, J.K., "Detection of cryptosporidium oocysts in human fecal specimens by an indirect. immunofluorescence assay with monoclonal antibodies. "j. clin microbiol. 27/5/1135-1136 (1989).
- 46.- Shahid, N.S. A.Rahman., B.C.Anderson., L.J. Mata, and s.c. sanyal, criptosporidiosis in banglades. "br. med. j. 290/114-115 (1985).
- 47.- Slope, K.S. "Chorin malabsorption due to criptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency "gut 23/80-82 (1982).
- 48.- Soave, R. Armstrong, D., cryptosporidium and criptosporidiosis "reviw. infect. dis 8/1012 (1986).

- 49.- Soave, R. Danner, R.L. Honing, C.L. Ma. P., Hart, C.C., Nash, T., and roberts r.b.
"criptosporidiosis in homosexual men". *Ann. intern me.* 100/504-511 (1984).
- 50.- Soave, R. and Johnson, W.D.Jr. "criptosporidiosis and isospora belli infections", *infect. dis* 157/2/225-229 (1988).
- 51.- Sterh-Green, J.K., Mccaig, L. Reimsen, H.M. Rains, C.S., Fox, M., and juranek d.d.
"shedding of oocysts in immunocompetent individuals infectec with, cryptosporidium",
am. j. trop. med. hyg 36/2/338-342 (1987).
- 52.- Sterling R.S. and Arrowood, M.J., "Detection of criptosporidiosis sp. intection using a
direct. immunofluorescent. assay". *pediatr. infect. dis* 5/suppl 139-142 (1986).
- 53.- The committe on systematics and evolution of society of protozoologists, "a newly
revised classification of the protozoa" *J. protozoll* 27/1/37-58 (1980).
- 54.- The new englands journal of medicine. "criptosporidiosis and the healthy hosts.
"editorials. 312/20/1319-1320 (1981)
- 55.- Trier, J.S., Moxey, P.C., Schimmel, E.M. "Chronic intestinal coccidiosis in man,
Intestinal morphology and response to treatment. "gastroenterol. 66/927 (1974).
- 56.- Tzipori, B. "criptosporidiosis in animals and humans. *microbiol rev.* 47/4/84-96 (1983).

- 57.- Tzipori, S. Angus, K.W. Campbell, T. and Allan F. Diarrhea in lambs experimentally infected with cryptosporidium isolate from calves. "Amer. J. Vet. Res. 42/1400-1404 (1981).
- 58.- Tzipori, S. and Campbell, I., "Prevalence of cryptosporidium antibodies in 10 animal species", J.Clin. Microbiol, 14/455-456 (1981).
- 59.- Tzipori, S. Campbell, I., and Angus, K.W. "The therapeutic effect of 16 antimicrobial agents on cryptosporidium infection in mice", Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci 60/187-190 (1982).
- 60.- Tzipori, S. McCartney, E. Lawson, G.H.K., Rowland, A.C., and Campbell, I., "Experimental infection of piglets with cryptosporidium". Res. vet. sci 31/358-368 (1981).
- 61.- Tzipori, S. Smith, M. Birch, Ch., Barnes, G., and Bishop R., "Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis am, J. Trop. Med. Hyg 32/5/931-934 (1983).
- 62.- Ungar, B.L., Soave R. Fayer, R. Nash, T.E., "Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to cryptosporidium in immunocompetent immunodeficient patients", J. Infect. Dis 153/3/570-577 (1986).
- 63.- Vazquez, T.O. Velazco, C.O. Alvarez, Ch. R., "Cryptosporidiosis, ¿Un problema con Sida? Infectologia 8/5/245-250 (1988).

64.- Vetterling, J.M., Jervis, H.R., Merrill, T.G. Sprinz, H. *Cryptosporidium niari* sp. from the quinea pig *cavia porcellus*, with and inmedation of the genus." *J. Protozool* 18/243-247 (1971).