

60



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA.**

PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* EN PACIENTES
INFECTADOS POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA
HUMANA EN EL HOSPITAL GENERAL REGIONAL No. 25 DEL
IMSS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARIA DEL CARMEN RUBIO GAMA

25-265

ASESORES. Q.F.B. ROBERTO GONZÁLEZ MELÉNDEZ
Q.F.B. MÁXIMO BENÍTEZ CARREÑO
Q.F.B. CONSUELO GUZMÁN ALVAREZ



MÉXICO, D.F.

JUNIO DEL 2001



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
PLANTEL: " ZARAGOZA"**

**PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* EN PACIENTES
INFECTADOS POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA
HUMANA EN EL HOSPITAL GENERAL REGIONAL No. 25 DEL
IMSS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARIA DEL CARMEN RUBIO GAMA

**ASESORES: Q F B ROBERTO GONZÁLEZ MELÉNDEZ
Q F B MÁXIMO BENÍTEZ CARREÑO
Q F B CONSUELO GUZMÁN ALVAREZ**

MÉXICO, D.F

JUNIO DEL 2001

**NUNCA DESMAYES
EN LO QUE EMPRENDAS
AÚN A COSTA
DE LOS TRABAJOS
MÁS DUROS
Y DE LOS MAYORES
SACRIFICIOS**

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

Q.F.B. Roberto Cruz González Meléndez
Q.F.B. Consuelo Guzmán Álvarez

Por su gran apoyo y paciencia

A mis sinodales:

Q.F.B. Maria de las Mercedes Zamudio Durán
Q.F.B. José Oscar González Moreno
Q.F.B. Victor Hugo Becerra López

Por hacer un espacio y leer con todo cuidado el trabajo presentado, enriquecerlo con sus conocimientos y por su valiosa aportación en la elaboración del mismo.

A todos mis profesores:

Que siempre me ayudaron a despejar mis dudas e impulsaron a seguir adelante.

Así como mi eterna gratitud a la Dra: **Raquel Gomez** por hacerme participe de sus conocimientos y su gran sabiduría, que ha contribuido enormemente en está etapa de mi formación profesional y por brindarme la oportunidad de saborear los frutos de la investigación. Gracias.

DEDICATORIAS

**A mis padres: Leonardo Rubio González
Isabel Gama Olvera**

**Dedico con cariño y respeto este trabajo y con un inmenso agradecimiento por todo el gran apoyo brindado, ya que sin su ayuda nunca lo hubiera logrado
Gracias Papas.**

A mi Hijo: Max Orlando Benítez Rubio

**Por permitirme de su tiempo, por entenderme y darme la oportunidad de superarme, y por ser un hijo maravilloso del cual estoy orgullosa.
Gracias Corazón.**

A mi esposo: Máximo Benítez Carreño

**Por su gran apoyo incondicional, ya que gracias a sus palabras y acciones nunca me permitió claudicar. Por que de el aprendí que todo sacrificio vale la pena y que no importa cuanto tiempo pase para obtener lo que uno quiere.
Te Amo Máx. Gracias por darme la oportunidad de lograr uno de mis más grandes anhelos.**

A mis hermanos: Eduardo, Gabriel, Lourdes, David, Laura.

Por estar siempre conmigo.
Los quiero mucho Gracias.

A mis amigas: Carmen Ramírez, Guadalupe Téllez, Martha
Herrera, Hilda Sotres, Catalina Castillo, Ana Berta de los Santos.

Por que con su ejemplo he aprendido que es lo que se debe y no
se debe hacer en esta vida, además de que de ellas he recibido
toda su fe y todo su respeto así como una gran amistad.
Gracias Chicas.

POR FIN LO LOGRE.....

INDICE

Resumen	1
Introducción	3
Marco Teórico, Generalidades	7
Historia natural de la infección por VIH	9
Datos históricos del parásito	11
Taxonomía	13
Descripción Morfológica de <i>Cryptosporidium parvum</i>	14
Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium parvum</i>	16
Patogénesis de la enfermedad diarreica por <i>Cryptosporidium parvum</i>	19
Epidemiología de la enfermedad	23
Manifestaciones clínicas	27
Diagnóstico clínico	30
Tratamiento	35
Planteamiento del problema	37
Hipótesis	38
Objetivos	39
Diseño de investigación	40
Material	43
Técnicas	45
Análisis estadístico	49
Resultados	50
Discusión de resultados	58
Conclusiones	62
Referencias	63
Anexos	68

RESUMEN

La enfermedad diarreica tanto aguda como crónica es una de las principales complicaciones que sufren los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Se calcula que el 30% de los pacientes procedentes de países en vías de desarrollo como son: América Latina, África y Haití, presentan diarrea en algún momento de la enfermedad. Entre los agentes patógenos responsables de la diarrea se encuentra *Cryptosporidium parvum*, el cual se informa en algunas series como la primera causa de diarrea en pacientes infectados por el V.I.H. El cual invade las células epiteliales del tracto digestivo (incluyendo la vía biliar) y respiratorio.

La enfermedad del tracto gastrointestinal causada por *Cryptosporidium parvum*, en pacientes infectados por el V.I.H., se manifiesta generalmente con diarrea ya sea aguda o crónica que evoluciona con periodos de exacerbación y remisión. Generalmente se asocia con pérdida de peso y debilidad que lleva al deterioro y muerte de algunos pacientes. La severidad y evolución de la enfermedad esta estrechamente relacionada con el número de células T CD4.

Más de 100 fármacos diferentes han sido ensayados para el tratamiento y prevención de la infección de *Cryptosporidium parvum*, pero desafortunadamente los resultados no han sido del todo favorables, ya que la dosis necesaria para atacar a este parásito es toxica para los pacientes.

Debido a este problema es importante realizar estudios epidemiológicos e identificar los factores de riesgo, esto nos obliga hacer énfasis en las medidas preventivas más que en las curativas.

Para determinar la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, transversal y descriptivo en el que se incluyeron 150 muestras de materia fecal de pacientes infectados por el V.I.H. Se identificó a *Cryptosporidium parvum* mediante la técnica de concentración de Sheather's y la tinción de Kinyoun.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

De los 150 pacientes incluidos 137 fueron varones 13 mujeres con una media de 31 años.

TIEMPO DE LA INFECCIÓN POR V.I.H.	PACIENTES
Menos de 5 años de evolución	67.8%
5 a 10 años de evolución	25.06%
Más de 10 años	33.96%

CUENTA DE CÉLULAS CD4	PACIENTES
Más de 500/mm ³	33.96%
De 200 a 500/mm ³	41.5%
Menos de 200/mm ³	24.54%

Los pacientes infectados por *Cryptosporidium parvum* fueron 6, de los cuales 3 presentaron diarrea, y todos presentaron cuenta de células CD4 menor de 200/mm³.

Obteniendo con esto una prevalencia de 4.0%.

Concluyendo con esto lo siguiente:

La prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en el Hospital General Regional # 25 del IMSS se encuentra en el límite bajo de acuerdo a los datos reportados en la bibliografía, por lo tanto podemos decir que los pacientes que acuden a este servicio tienen un control antiviral adecuado además de llevar a cabo las medidas profilácticas necesarias.

INTRODUCCIÓN

Los organismos del género *Cryptosporidium* son parásitos protozoarios similares a los coccidios que crecen y se reproducen dentro de las células epiteliales de los órganos digestivos y de la zona respiratoria de los vertebrados. Fue descrito por primera vez en 1907 en ratones, pero considerado insignificante durante casi 50 años. 1,2

Fue vinculado con enfermedades gastrointestinales de pavos jóvenes en 1955, asociado con diarrea bovina en 1971. 3

Durante muchos años sólo se les concedió importancia como agentes patógenos causantes de enfermedad en animales recién nacidos. 4

En 1976 se informaron los dos primeros casos de infección por *Cryptosporidium parvum* en humanos, el primer caso fue de una niña de 3 años previamente sana, quien presentó diarrea severa la cual se auto limitó. El segundo se presentó en un hombre con pénfigo buloso, después de haber recibido tratamiento por 5 semanas con cortico esteroides y ciclosporina; en este último caso la diarrea desapareció dos semanas después de suspender la ciclosporina. Ambos casos tenían en común que procedían de áreas rurales de Estados Unidos y tenían contacto cercano con animales domésticos (perros, gatos y vacas). En ninguno de los dos casos fue posible establecer la fuente de contacto con el parásito.5,6

En agosto de 1981 en Nueva York, por medio de biopsia se identificó el primer caso de infección por *Cryptosporidium parvum* como causante de diarrea en un hombre homosexual, con el entonces recién descrito Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida.7

Cryptosporidium parvum afecta a individuos de todas las edades, siendo mayor la incidencia en la población de niños menores de 2 años. Lo anterior puede estar en relación con una mayor transmisión fecal oral, con la ausencia de defensas adquiridas por previa exposición o la inmadurez de su estado inmune. Los síntomas más comunes son: diarrea, dolor y calambres en el estómago. La diarrea puede ser abundante y líquida. Esta infección también puede causar pérdida de apetito y vómito.8

El diagnóstico es realizado a través de la identificación del parásito por medio de técnicas de tinción ácido alcohol resistente o por medio de biopsia intestinal. 9.

La vía más frecuente de infección con *Cryptosporidium parvum* es la oral-fecal. quienes practiquen sexo oral-anal, y los que estén en contacto cercano con personas ya infectadas.

En personas con un sistema inmunológico no comprometido, la infección puede presentarse sin que se experimenten síntomas o los síntomas desaparecen por sí solos, aproximadamente en 30 días. Aunque, en niños y adultos inmunocomprometidos, esta infección puede causar una enfermedad severa y durar mucho tiempo.10

El aumento en la infección del Virus de la Inmunodeficiencia adquirida ha resultado en un aumento de la Criptosporidiosis . En las personas V.I.H. positivo puede causar una peligrosa deshidratación y desnutrición.

La enfermedad del tracto gastrointestinal causada por *Cryptosporidium parvum*, en pacientes infectados por el V.I.H. se manifiesta generalmente con diarrea ya sea aguda o crónica que evoluciona con periodos de exacerbación y remisión. Generalmente se asocian con pérdidas de peso y debilidad que lleva al deterioro y muerte en algunos pacientes. La severidad y evolución de la enfermedad está estrechamente relacionada con el número de células T CD4 y CD8. 11

La cuenta de CD4 menor a 200, define la presencia de SIDA de acuerdo a la clasificación (CDC 1993), e indica un riesgo alto de infecciones oportunistas. Cuentas mayores a 500, en cambio sugieren una etapa relativamente temprana o no muy activa de la enfermedad.11

La OMS ha determinado una clasificación de la infección por el V.I.H. en los adultos. La clasificación es básicamente clínica y comprende cuatro estadios(1 al 4). Dentro de cada estadio, los pacientes se pueden subclasificar en 3 subgrupos (A, B, C) según la cifra de linfocitos CD4.12

MARCO TEORICO

Actualmente la criptosporidiosis es un problema de salud pública que necesita la atención social que implica la participación conjunta del químico clínico, médico y paciente.

El éxito del buen control de la criptosporidiosis radica en una identificación etiológica certera, es aquí donde el equipo de salud debe tener conocimiento y manejo de criterios y técnicas, los cuales en algunos casos pueden ser inadecuados, lo que trae como consecuencia fracasos terapéuticos.

GENERALIDADES.

Los datos de prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en los pacientes infectados por el V.I.H. son limitados. En un estudio realizado entre 1983 y 1992 en Los Angeles(California) en el que se incluyeron 16,953 pacientes infectados por el V.I.H. se presentaron 638(3.8%) casos de diarrea cuyo agente causal fue *Cryptosporidium parvum*. La prevalencia de criptosporidiosis fue mayor en aquellos pacientes que adquirieron la infección del V.I.H. por contacto sexual(3.9%) contra otros factores de riesgo(2.6%) lo mismo que en emigrantes procedentes de México(5.2%) contra nacidos en los Estados Unidos (3.8%). En Londres la prevalencia entre los individuos infectados por el V.I.H. fue de 5% aumentando hasta 21% en aquellos con SIDA.

Los enfermos pueden presentarse desde sintomáticos (portadores sanos) hasta aquellos gravemente comprometidos dependiendo del grado de inmunosupresion del paciente. El sintoma más frecuente es la diarrea. En un estudio se demostró la presencia de cuatro patrones de diarrea.3

PASAJERA	CRÓNICA	FULMINANTE	SINTOMATICA
28.7%	59.7%	7.8%	3.9%

Fuente:<http://www.nimia/552e.diarrea>. Febrero 2001

La diarrea se asocia a perdida de peso, dolor abdominal, vomito y fiebre. El parásito se localiza más frecuentemente en la parte distal del intestino delgado(íleon), aunque también puede comprometerse el colón. El compromiso de la vía biliar es hasta del 10% en pacientes con SIDA. Rara vez afecta páncreas, estomago y epitelio respiratorio. Más de 100 fármacos han sido ensayado para el tratamiento y prevención de la infección por *Cryptosporidium parvum* desafortunadamente los resultados no han sido favorables excepto con el uso de Paromomicina, Espiramicina y Nitazoxanide que han logrado una mayor estabilidad del paciente, además del buen control antiviral.

HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR VIH-1 Y DEL SIDA.

Datos recientes basados en cultivos virales cuantitativos de plasma y células mononucleares de sangre periférica apoyan la hipótesis de que el VIH-1, desde el momento en que infecta a un paciente, prolifera de una forma continua, aunque ha velocidades diferentes según el estadio evolutivo de la infección. Habría que distinguir: a) una fase precoz o aguda de varias semanas de evolución; b) una fase intermedia o crónica, con replicación viral activa, aunque a velocidad baja, de varios años de duración, y c) una fase final o de crisis que clínicamente correspondería a lo que denominamos complejo relacionado con el SIDA (CRS) y luego SIDA.^{3,4}

FASE PRECOZ O AGUDA

La evolución a partir de este momento es relativamente independiente del mecanismo de transmisión, aunque la dosis infectante y sobre todo la virulencia intrínseca de la cepa y quizá también la capacidad de respuesta del huésped podrían tener importancia. El paciente infectado persistirá asintomático o presentará un cuadro clínico caracterizado por un síndrome mononucleósico hasta en un 30-40% de los casos, aunque a menudo pase inadvertido. Paulatinamente a los 20-30 días del contagio, en la mayor parte de pacientes ira apareciendo antígeno p24 circulante(2-6 semanas). El cultivo viral muestra títulos muy altos en plasma, y una elevada proporción de linfocitos CD4 están infectados (hasta de 1 de cada 10-100 linfocitos). Luego irán apareciendo los diferentes tipos de anticuerpos (1-3 meses) e inmunidad celular, lo que coincidirá con la desaparición del antígeno p24 y un descenso drástico del título de virus circulantes y células infectadas. A lo largo de este proceso agudo puede haber una inmunodepresión transitoria, capaz incluso de facilitar la aparición o reactivación de determinadas infecciones oportunistas.⁴

DATOS HISTORICOS DEL PARÁSITO

Los organismos del género *Cryptosporidium* son parásitos protozoarios similares a los coccidios que crecen y se reproducen dentro de las células epiteliales de los órganos digestivos y de la zona respiratoria de los vertebrados. Fue descrito por primera vez en 1907 en ratones, pero considerado insignificante durante casi 50 años. Fue vinculado con enfermedades gastrointestinales de pavos jóvenes en 1955, asociado con diarrea bovina en 1971.

Durante muchos años sólo se les concedió importancia como agentes patógenos causantes de enfermedad en animales recién nacidos.^{5,6}

En 1976 se informaron los dos primeros casos de infección por *Cryptosporidium parvum* en humanos, el primer caso fue de una niña de 3 años previamente sana, quien presentó diarrea severa la cual se auto limitó. El segundo se presentó en un hombre con pénfigo buloso, después de haber recibido tratamiento por 5 semanas con corticoesteroides y ciclosporina; en este último caso la diarrea desapareció dos semanas después de suspender la ciclosporina. Ambos casos tenían en común que procedían de áreas rurales de Estados Unidos y tenían contacto cercano con animales domésticos (perros, gatos y vacas). En ninguno de los dos casos fue posible establecer la fuente de contacto con el parásito.

A partir de la década de los 80, se ha informado en la literatura múltiples brotes de diarrea por *Cryptosporidium* en diferentes comunidades, siendo la contaminación del agua la fuente principal de la infección. El brote más grande ocurrió en Milwaukee en 1993, donde aproximadamente 403,000 personas tuvieron contacto con el parásito.⁷

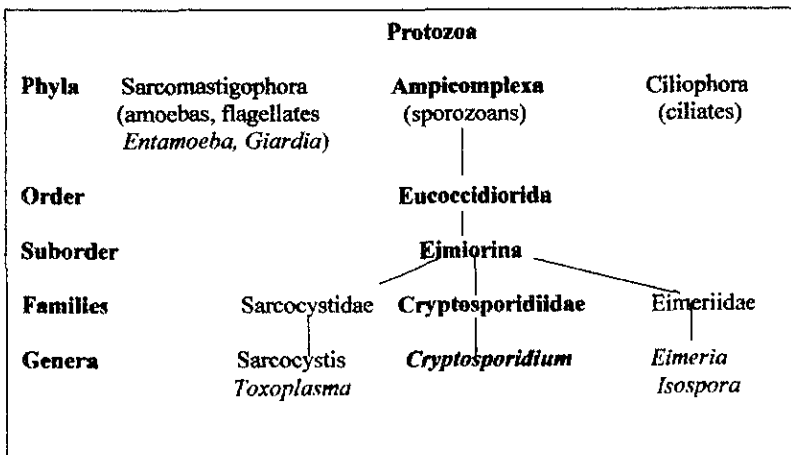
En agosto de 1981 en Nueva York, por medio de biopsia se identificó el primer caso de infección por *Cryptosporidium parvum* como causante de diarrea en un hombre homosexual, con el entonces recién descrito Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida. En 1982 concomitante con el inicio de la pandemia causada por la infección de VIH, el CDC informó que 14 de 21 pacientes VIH positivos, con diarrea y ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en las heces, fallecieron por este evento.

Para 1983, la infección por *Cryptosporidium parvum* fue incluida como enfermedad oportunista definitoria de SIDA. En 1986 3.6% de los pacientes con SIDA informados al CDC, habían tenido Criptosporidiosis y la tasa mortalidad de este grupo alcanzo 61%.

TAXONOMIA

Desde el punto de vista taxonómico *Cryptosporidium* es un género del filo de protozoos Ampicomplexa, clase Sporozoasida, subclase Coccidiasina a la cual se hace referencia con el termino de coccidios, como son las especies más estrechamente relacionadas *Iso spora* y *Eimeria*, que también se desarrollan en epitelio gastrointestinal y respiratorio. Incluye muchas especies que parásitan principalmente a los animales domésticos y pocos son los que parásitan a los humanos, este parásito pertenece a la familia Criptosporidae que abarca solo el género *Cryptosporidium*. Según Barer y Wrigh (1990) hay por lo menos cuatro especies de *Cryptosporidium* bien definidas, dos que infectan a los pájaros (*Cryptosporidium baileyi* y *Cryptosporidium meleagridis*) y dos a los mamíferos (*Cryptosporidium muris* y *Cryptosporidium parvum*). El *Cryptosporidium parvum* es la única especie que infecta a los seres humanos, también infecta a los vertebrados, incluyendo a los animales del campo.^{8,9}

Las especies del tipo *muris* (Tyzzer 1912) infectan las glándulas gástricas de los roedores y varias especies de mamíferos, pero no infectan a los seres humanos. Una segunda especie *Cryptosporidium parvum* (Tyzzer (1912) infecta el intestino pequeño de una amplia gama de mamíferos, incluyendo seres humanos, y es la especie zoonótica responsable de Criptosporidiosis.



Fuente: Levin ND 1989

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium parvum, es un parásito protozoo coccídico diminuto, intracelular, son observados como cuerpos esféricos de 2-4 micras en la superficie de la mucosa o libre en las criptas.

Cuando se tiñe con las técnicas de acidorresistente se ven de color rojo brillante. Cuando se observan en microscopio electrónico, el aspecto es típico y se puede observar también a los trofozoítos, esquizontes, a los microgametos y a los macrogametos.¹⁰

Contiene proteínas de superficie, las glicoproteínas y los fosfolípidos son fuertemente inmunogénicos, estas moléculas se encuentran en esporozoítos y merozoítos, son antigénicas de ello depende el éxito del parásito para convertirse rápidamente y de inundar el ambiente con ooquistes. Cada núcleo haploide del esporozoito contiene 8 cromosomas 10.1-10.4 millones de pares de DNA, 35 moléculas Kilobase circulares extracromosomal característica típica de la mayoría de los Ampicliomplexos.

Los ooquistes son estables en las excretas y resistentes a agentes químicos (ooquistes de pared gruesa); han sido encontrados en el medio ambiente. Los ooquistes de pared delgada no son excretados en las heces, sin embargo poseen una capacidad auto infectiva.^{10,11}

CARACTERÍSTICAS EVOLUTIVAS DE *Cryptosporidium parvum*

PROFOZOITO (OVID)	ESQUIZONTE	MEROZOITO	MICROGAMETO	MACROGAMETO	OOQUISTE
De 5 a 6 micras	De 5 a 5 micras	De 2 a 5 micras	De 4 a 5 micras	De 4 a 5 micras	De 3 a 6 micras
Esférico	Esférico	Por 0.4 micras	Núcleo grande	Membrana vesicular	Esférico
Núcleo	6 a 8 merozoitos	Doble membrana	Anillo polar de microtúbulos	Gránulos densos	4 esporozoitos
Nucleolo	Doble membrana delgada	Reticulo endoplasmático con ribosomas unidos		Granulaciones polisacaridas	Doble membrana
Citoplasma abundante		Aparato de Golgi			Residuo en el citoplasma
Reticulo endoplasmático					
Membranas vitreas					

Fuente Soave R. 1990

CICLO BIOLÓGICO DE *Cryptosporidium parvum*

El ciclo vital de *Cryptosporidium* solo requiere de un huésped (ciclo vital monoxeno), para un completo desarrollo.

El ciclo vital del *Cryptosporidium* inicia con la ingestión de los oocistos, en general transmitidos a través de alimentos o aguas contaminadas por heces de personas o animales infectados, los cuales dan el inicio al primer estadio del ciclo vital que es la exquistación que se realiza o se logra mediante el contacto con el jugo gástrico y las sales biliares en este primer estadio, se liberan cuatro esporozoitos móviles (presentan una característica forma de bananos), los esporozoitos invaden las células epiteliales del intestino delgado principalmente, localizándose sobre las microvelocidades del mismo.¹²

Más tarde se produce el desarrollo dentro de una vacuola parasitófora superficial, compuesta por dos células del huésped y dos membranas derivadas del parásito. Por lo tanto, *Cryptosporidium* es intracelular pero extracitoplasmático. Esto se diferencia de otros coccidios como *Eimeria* e *Isoospora*, cuyos estadios de evolución se localizan en una vacuola parasitófora ubicada profundamente en la región peri nuclear de las células parasitadas.

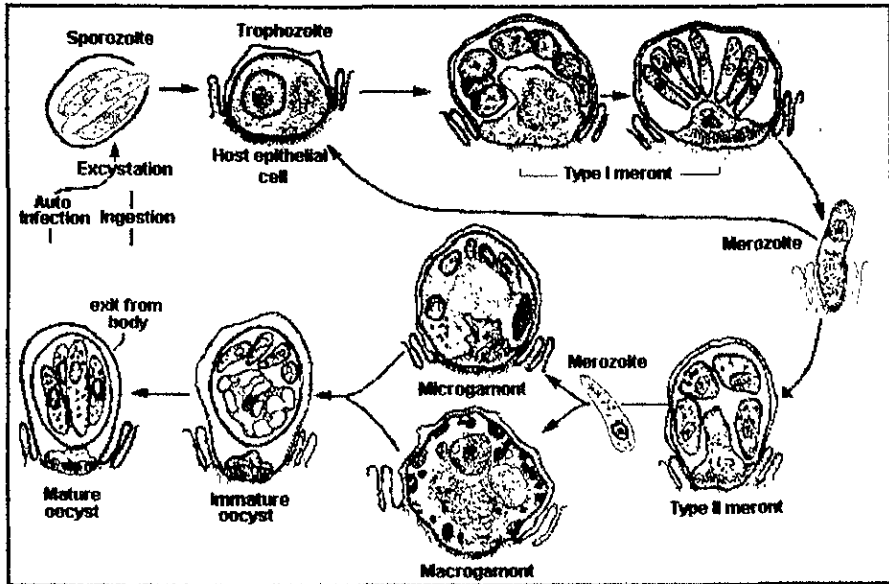
Una vez que los esporozoitos se establecen en las células epiteliales se diferencian en trofozoitos uninucleares. Luego ocurre un numero predecible de divisiones nucleares con producción de merozoitos por un proceso de multiplicación asexual, conocido como merogonia o esquizogonia. Se desarrollan dos tipos de merontes o esquizontes. El tipo I, que contiene 8 núcleos y origina igual número de merozoitos cuando esta maduro; cada uno de estos, después de su liberación en la luz intestinal, invade otra célula epitelial donde se desarrolla y puede dar origen a un meronte tipo II, el cuando madura, origina 4 merozoitos, o reciclar, y dar origen a otro meronte tipo I.

El ciclo asexual es seguido por una fase sexual en la cual los merozoítos de la segunda generación provenientes de los merontes tipo II, que no reciclan, invaden nueva células epiteliales y originan estadios sexuales femeninos(macrogametos) o masculinos(microgametos). Los primeros sufren considerables transformaciones, incluyendo el desarrollo de cuerpos formadores de pared y la acumulación de alimento se reserva, antes de ser considerados macrogametos maduros. Por un proceso que involucra división celular, los microgametos dan origen a un número desconocido de microgametos, pero se cree que son de 14 a 16, los cuales fertilizan los macrogametos dando origen a la formación del cigoto.

Los cuerpos formadores de pared en los macrogametos se unen para formar una pared alrededor del cigoto y dan origen al ooquiste, el cual esporula insitu, por lo que ya son infectantes cuando son liberados en las heces.

Alrededor del 80% de los ooquistes forman una pared gruesa, dura y resistente con dos capas, y son liberados al medio ambiente donde diseminan la infección. Estudios experimentales realizados con ratones infectados, han demostrado que el 20% restante de los ooquistes desarrollan una pared delgada, con solo una unidad de membrana, la cual se rompe tan pronto los ooquistes salen de los enterocitos, quedando libres los cuatro esporozoitos, los cuales invaden nuevas células epiteliales y reinician un nuevo ciclo. Sin embargo estos quistes de pared fina, también pueden ser excretados con las heces. La existencia de este ciclo de autoinfección donde están involucrados estos ooquistes de pared delgada y los merontes tipo I, es los que explicaría el desarrollo de infecciones severas en huéspedes expuestos a un pequeño número de ooquistes de pared gruesa, y las infecciones intensas y persistentes que se observan en pacientes inmunodeficientes, sin exposición exógena a repetición a los ooquistes de pared gruesa.⁸⁻⁹

CICLO BIOLÓGICO DE *Cryptosporidium parvum*.



Fuente: Omar A. Khan, 21202

PATOGENESIS DE LA ENFERMEDAD DIARREICA POR

Cryptosporidium parvum.

La patogénesis de la diarrea asociada al *Cryptosporidium* aun no esta bien entendida. Existen al menos 3 hipótesis para explicar el mecanismo por el cual se produce la diarrea; es probable que estos tres mecanismos se mezclen entre sí y aunados a la interacción huésped parásito determinen la presencia de la enfermedad.

1. Respuesta secretora del huésped provocada por la infección de *Cryptosporidium*.

Después de la invasión de los enterocitos por el parásito las células epiteliales liberan citoxinas (tales como interleucina 1, 3 y 8) las cuales activan los fagocitos presentes en el área y algunos procedentes de la lámina propia de los vasos sanguíneos vecinos. Los fagocitos activados liberan factores solubles que aumentan la secreción intestinal de cloruros y agua e inhiben la absorción. Algunos mediadores inflamatorios tales como histamina, serotonina y adenosina afectan a la secreción y absorción por acción directa sobre las células epiteliales. Las prostaglandinas (principalmente la E2, leucotrienos, y el factor activador de plaquetas actúan sobre los nervios entéricos para inducir secreción intestinal y alteración en el transporte de sodio y potasio.¹²⁻¹⁵

2. Daño en la arquitectura del epitelio intestinal, provocada por la invasión de *Cryptosporidium*.

La invasión del parásito a las células del epitelio intestinal lleva a un daño en la estructura del mismo, provocando alteraciones en la absorción.

Los cambios histopatológicos observados más frecuentemente son: atrofia de las vellosidades con o sin hiperplasia de las criptas, se observa además aumento del número de leucocitos en la lámina propia del epitelio.¹⁷

El número de organismos que infectan la mucosa determinan la intensidad de la diarrea. En pacientes con infección por el VIH existe una asociación directa entre la magnitud de la infección intestinal por *Cryptosporidium* (medida por el porcentaje de mucosa intestinal invadida y el número de quistes excretados en las heces). Y la mala absorción de algunos pacientes reduciendo la magnitud de la infección con algunos medicamentos.

En los pacientes con VIH el problema se agrava ya que sus mecanismos de defensa están alterados y no pueden reducir o limitar el número de parásitos.

3. Producción de una enteró toxina por el *Cryptosporidium*.

Existen algunos estudios que sugieren la presencia de una enteró toxina propia del parásito, pero aun no ha sido posible confirmar esta hipótesis. Garza y Col, demostraron que el sobrenadante de monocapas intestinales infectadas con *Cryptosporidium parvum* cultivado, estimulan un aumento en la corriente dependiente de cloro, cuando se agrega a la superficie serosa del íleon de conejo puesto en la cámara de Ussing desafortunadamente otros grupos no han logrado reproducir estos resultados. Guarino y Cols demostraron la presencia de actividad enteró toxica presente en las heces tanto de terneros como de humanos infectados con *Cryptosporidium parvum*, la cual podría ser responsable de la diarrea secretora en humanos.¹⁵⁻¹⁸

Las lesiones patológicas macroscópicas no son destacables y se encuentra *Cryptosporidium* en las biopsias o la necropsia de los pacientes inmunocomprometidos en todo el tracto gastrointestinal desde el esófago hasta el recto, el sistema hepatobiliar y el árbol respiratorio; en los pacientes inmunológicamente sanos, de quienes hay menos datos, los microorganismos en general están limitados al intestino, incluido el apéndice en los niños.

Histopatológicamente, *Cryptosporidium* se halla dentro de las células epiteliales. En el intestino puede haber atrofia, aplanamiento, fusión o pérdida de las vellosidades, hiperplasia de las criptas y alargamiento; los cambios inflamatorios incluyen la infiltración de la lámina propia con linfocitos neutrofilos, plasmocitos y macrófagos.^{16,17,18}

Como se observa en los siguientes esquemas:

EPIDEMIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD

Cryptosporidium parvum es un parásito ubicuo en la naturaleza. Ha sido informado como causante de enfermedad en los 6 continentes. Afecta a individuos de todas las edades siendo mayor la incidencia en la población de niños menores de 2 años. Lo anterior puede estar en relación con una mayor transmisión fecal oral, con la ausencia de defensas adquiridas por previa exposición o la inmadurez de su estado inmune. La manifestación clínica más importante de la enfermedad es diarrea, la cual es autolimitada en los pacientes inmunocompetentes; en los pacientes la diarrea puede ser tan severa y abundante que simula la producida por el Cólera, convirtiéndose en una causa importante de morbilidad. La infección parece tener un comportamiento estacional, siendo mayor su prevalencia En los meses de finales de verano y otoño donde predominan el calor, la humedad y las lluvias.¹⁹

Los datos de prevalencia de estudios geográficos en diversos grupos de poblaciones se basan en la detección de la excreción activa de ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales. A pesar de que no se puede comparar en forma absoluta los diferentes estudios, la prevalencia parece ser mayor en los países menos desarrollados, lo que probablemente se relacione con la falta relativa de agua no contaminada e instalaciones sanitarias adecuadas, el hacinamiento habitacional y algunas veces, la existencia de reservorios animales muy cerca de los lugares de residencia de los seres humanos.²⁰

Los datos sobre la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) son limitados. Las cifras del 3-4% dadas a conocer por los CDC en 1996 reflejan la cantidad de pacientes con SIDA con infección por *Cryptosporidium* en el momento que fueron informados a los CDC y no la cantidad total de personas HIV positivas que están infectadas o aquellas que finalmente se infectan. En un solo estudio en Colorado, el 2% de un total de 1172 pacientes HIV positivos tenían criptosporidiosis.²¹

Entre el 11 y el 21% de los pacientes con SIDA que presentaron diarrea en los Estados Unidos y Europa excretaron ooquistes de *Cryptosporidium*, el enteropatógeno más común en dos series.²²⁻²⁵

No está claro hasta qué punto la criptosporidiosis es una causa significativa de morbilidad y mortalidad sobre la expectativa de vida de personas infectadas por HIV. La infección por *Cryptosporidium* se transmite de persona a persona, de animal a persona y a partir del medio ambiente, en particular por el agua. La ingestión de tan sólo 10 ooquistes puede dar como resultado la infección, si bien la exposición previa y el estado inmunológico también influyen en la susceptibilidad del huésped.³⁰⁻³¹

La transmisión entre los habitantes de la misma casa y los familiares, las parejas sexuales, los niños en guarderías y sus cuidadores y los trabajadores de la salud y sus pacientes está bien establecida y puede ser subapreciada por que los síntomas clínicos a veces son leves y la excreción de ooquistes puede durar hasta mucho después de la desaparición de los síntomas.¹²⁻³²

La diseminación puede ocurrir por contacto de las manos con la boca o por elementos contaminados como pañales o ropa blanca. A menudo los familiares infectados se detectan después de un caso índice; por ejemplo, en una epidemia que se produjo en una guardería, en el 71% de las familias con un niño sintomático hubo más familiares infectados.³³ Se produjo una probable diseminación intra familiar a la madre y los hermanos 16 días después de la infección inicial de tres miembros de la familia expuestos a un ternero supuestamente infectado.³⁴ Se ha informado la diseminación de *Cryptosporidium* entre parejas sexuales, tanto heterosexuales como homosexuales.²²⁻³⁷

Puede ocurrir la transmisión de animal a persona (zoonótica) por mascotas caseras y animales de laboratorio y de granja. En 1982 se describió la primera epidemia de diarrea asociada con *Cryptosporidium* en personal que manipulaba terneros infectados.³⁹ Se ha implicado a animales de granja, en particular bovinos y ovino, en forma directa o a través de un medio ambiente contaminado.

La transmisión a través del agua se sospechó inicialmente en 1983 por casos relacionados con viajes, en primer lugar cuando se halló en forma retrospectiva que 12 de 14 pacientes finlandeses no relacionados que estaban excretando ooquistes de *Cryptosporidium* se habían enfermado en los 12 días siguientes a la visita en forma separada a Leningrado, y más tarde, en un estudio prospectivo, cuando se halló que 9 de 34 estudiantes finlandeses evaluados por criptosporidiosis antes de viajar a Leningrado estaban infectados al regresar.⁵⁵⁻⁵⁶ Se han descrito más casos relacionados con viajes en personas que han visitado el Caribe, Egipto, la isla Mauricio, México, Nepal y Nueva Guinea.¹⁵⁻³⁶⁻⁵⁶

En México se realizó un estudio en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubiran entre 1993 y 1995 estudiando a 228 pacientes que presentaron diarrea encontrando así 72 pacientes con *Cryptosporidium* 55 hombres y 17 mujeres edad promedio de 36 años máxima 72 años, mínima 17 años.

Los factores de riesgo para infección por VIH se distribuyen así:

Homosexuales	Heterosexuales	Transfusiones previas	Factor de riesgo desconocido
40	16	13	3

Fuente: INN. Salvador Z. 1995

El diagnóstico de Criptosporidiosis se realizó solo por examen coproparasitoscópico en 51 pacientes, por biopsia intestinal 6 y en 15 pacientes ambos fueron positivos. En todos los pacientes excepto en uno, la infección por VIH (ELISA positivo) se determinó antes del diagnóstico de criptosporidiosis con un tiempo promedio de 15.8 meses. En 27 pacientes el hallazgo de infección por VIH y *Cryptosporidium* se hizo simultáneamente, siendo en ellos la criptosporidiosis, el primer evento definitorio de SIDA.⁴⁰

**ESTADISTICA DE NUMERO DE CASOS
ENCONTRADOS EN AGUA PARA BEBER EN
AMERICA. EN 1994**

Parásito	1984	1985	1986-1988	1989-1990	1991-1992	1993-1994	Total
<i>Cryptosporidium parvum</i>	117		13,000		3,551	403,246	419,914
<i>Cyclospora cayentanensis</i>				21		23	44
<i>Giardia lamblia</i>	879	741	1,169	697	123	385	3,994
<i>Entamoeba histolytica</i>	4						4

MANIFESTACIONES CLINICAS

El periodo de incubación, al parecer es corto, generalmente fluctúa de 1 a 21 días. Los síntomas, evolución y pronóstico dependen del estado inmunológico del paciente.

INDIVIDUOS INMUNOCOMPETENTES

Los síntomas clínicos incluyen náuseas, fiebre ligera, calambres abdominales, anorexia y de 5 a 10 evacuaciones, la cual puede ser seguida por constipación, algunos pacientes pueden presentar diarrea otros pueden tener relativamente algunos otros síntomas, particularmente en el curso de la infección en pacientes con diarrea acuosa típica, las muestras contienen muy poca materia fecal, principalmente contienen agua y moco.

Los ooquistes están atrapados en el moco, y el diagnóstico procede después de realizar un muestreo adecuado. Generalmente un paciente con un sistema inmunológico normal tendría limitada la infección, sin embargo, pacientes que están inmunocromprometidos pueden tener una infección crónica con un amplio intervalo de síntomas (desde sintomático a severo).³⁷⁻⁴¹

Ocasionalmente estos pacientes requieren de suero por dos semanas, en infantes y aquellos pacientes que pierden fluidos excesivos por más de tres semanas.

INDIVIDUOS INMUNOCOMPROMETIDOS

La duración y severidad de la diarrea depende del estado inmune del paciente principalmente en pacientes inmunocomprometidos quienes no pueden detener la infección la enfermedad puede llegar a ser progresiva con el tiempo y las secuelas pueden ser de un factor mayor que lo conlleve a la muerte. El tiempo y la severidad de la enfermedad también puede depender de la habilidad para eliminar la inmunosupresión. En estos pacientes, las infecciones por *Cryptosporidium parvum* no son siempre confinados al aparato gastrointestinal si no que, existen síntomas adicionales (problemas respiratorios, colecistitis, pancreatitis, hepatitis) han sido asociados con infecciones extra intestinal.³⁹

Datos en una pequeña serie de pacientes indican que aquellos con cuentas de células CD4 de 180 células /mm³ es más clara la infección con *Cryptosporidium parvum* superior de 7 días a un mes estos datos son importantes en la predicción del proceso natural de infección y el diseño de la terapéutica.

Los pacientes con inmunodeficiencias reversibles generalmente se recuperan cuando la causa de la inmunosupresión se elimina; tal es el caso de aquellos que reciben tratamiento inmunosupresor por trasplantes o cáncer, con infecciones virales asociadas, como sarampión, citomegalovirus, o varicela y desnutridos, especialmente niños.⁴³

En pacientes con SIDA, la criptosporidiosis se considera la infección oportunista entérica de más significación: numerosos casos se han registrado en la literatura. En ellos la severidad del cuadro clínico depende del grado de afectación de los linfocitos inductores CD4. La diarrea puede ser severa, crónica, persistente, con pérdida de fluidos a menudo excesiva y se han observado hasta 17 litros de diarrea acuosa por día lo cual resulta en deshidratación, des balance hidro- electrolítico, desnutrición y pérdida excesiva de peso. Puede producir el desenlace fatal.

Con excepción de la observación del parásito en biopsias, heces u otros especímenes, no existen hallazgos característicos de laboratorio. Se han observado en algunos casos eosinofilia, pruebas anormales de mala absorción y hallazgos radiográficos no específicos, tales como, pliegues de la mucosa intestinal prominentes, niveles hidroaéreos, asas intestinales distendidas y desórdenes de motilidad.^{33,47}

DIAGNOSTICO CLINICO

El diagnostico diferencial de la criptosporidiosis incluye otras causas de diarrea acuosa, tales como, *Giardia lamblia*, *Isospora belli*, *Microsporidium*, *rotavirus* y *Escherichia coli* enterotoxigénica. Sin embargo es difícil el diagnostico clínico de la enfermedad diarreaica producida por *Cryptosporidium parvum* por que existen pocos rasgos que la diferencien de la causada por otros enteropatógenos 42

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Diagnostico Parasitológico: El diagnostico de la criptosporidiosis se hace por la detección de los ooquistes en las heces, y ocasionalmente por la observación de estos u otros estadios evolutivos en secreciones y biopsia intestinal.

Anteriormente la identificación de *Cryptosporidium* en humanos se hacia mediante el examen de biopsia de intestino o tejidos obtenidos en necropsias en el microscopio de luz o electrónico éste último a menudo fue necesario para confirmar el diagnóstico.

Micrografia electrónica de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en el intestino



Fuente: VET Parasitol 1999

Existen numerosas técnicas para teñir o concentrar los ooquistes en especímenes fecales, esputo o bilis, pero no existe consenso acerca de cual de ellas es la mejor. Para el diagnóstico, las heces u otra muestra de fluidos corporales pueden ser suministradas frescas o preservadas en formol al 10% o en formalina- ácido acético acetato de sodio. Las muestras frescas o preservadas pueden ser examinadas por diversos métodos de concentración o tinción que ayudan a la identificación de los ooquistes.

El número de estos en las heces fluctúa, por lo que se recomienda examinar por lo menos tres especímenes. Cuando las heces son formadas es recomendable examinar múltiples muestras por que usualmente contienen pocos ooquistes.⁴³

Los métodos de concentración son importantes sobre todo en pacientes asintomáticos con escaso número de ooquistes, y en estudios epidemiológicos, debido a las fluctuaciones en el número de organismos y al hecho de que la sensibilidad de las técnicas de diagnóstico depende de la consistencia de las heces; solo las diarreicas usualmente contienen suficientes ooquistes para ser fácilmente identificados.⁴⁴⁻⁴⁶

Técnicas de concentración. Estas incluyen la sedimentación con formalina éter y formalina acetato de etilo y la flotación en solución de sucrosa de Sheather's, sulfato de Zinc con una gravedad específica de 1.18 o 1.20, y solución saturada de cloruro de sodio con una gravedad específica de 1.27. Algunos autores no han encontrado diferencias entre cuatro de estas técnicas y otros consideran que la solución de azúcar de Sheather's es mejor que la de formalina y éter y la flotación en cloruro de sodio. Con dicha técnica se pueden identificar de inmediato los ooquistes, que se tiñen de rozado; pero después de 15 minutos se empiezan a colapsar y pierden su forma esférica. Las otras técnicas de concentración requieren coloración para la identificación del coccidio.⁴⁷⁻

48

Cuando se usan métodos de concentración por sedimentación se aconseja centrifugar a 500 x g, por lo menos 10 m, ya que los ooquistes son muy pequeños y con un tiempo menor, muchos de ellos pueden permanecer en el sobrenadante.

Técnicas de coloración. Una gran cantidad de estas técnicas se han usado para demostrar los ooquistes del parásito en heces, pero con la coloración hematoxilina férrica y la tricrómica, no son aceptables para la identificación del coccidio.

Las técnicas de ácido alcohol resistente son las más ampliamente usadas y generalmente son las de elección para el laboratorio de diagnóstico clínico y facilitan la identificación, diferenciando los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar, por que aquellos se tiñen de rojo por ser ácido alcohol resistente mientras que las últimas no lo son, por lo que aparecen de color azul.

Otros métodos de tinción usados son: Giemsa, safranina, azul de metileno, ácido peryódico de Schiff, coloración de Gram, metanamina plata y nigrosina. Estos dos últimos son técnicas de coloración negativa por que no tiñen los ooquistes.⁴⁶⁻⁴⁹

Entre las tinciones fluorescentes usadas están uramina carbol fucsina, auramina rodamina, y acridina naranja. Con ellas no es posible detallar con precisión la estructura del ooquiste.

Diversos estudios han hecho comparaciones entre varias técnicas de diagnóstico de *Cryptosporidium* en especímenes fecales. Uno recomienda preservar la muestra en formol al 10% concentrarla y luego tefir en concentrado con una técnica de coloración modificada de Ziehl Neelsen, otro recomienda un examen con solución de yodo, y luego concentración con la técnica de flotación en sucrosa de Sheather's y otro considera la tinción de ácido alcohol resistente modificada como la mejor.

Diagnostico Inmunológico: Se ha usado la técnica de inmunofluorescencia directa, utilizando anticuerpos específicos monoclonales y policlonales marcados con fluorescencia, para la identificación de los ooquistes, es un método sensible.⁵⁰

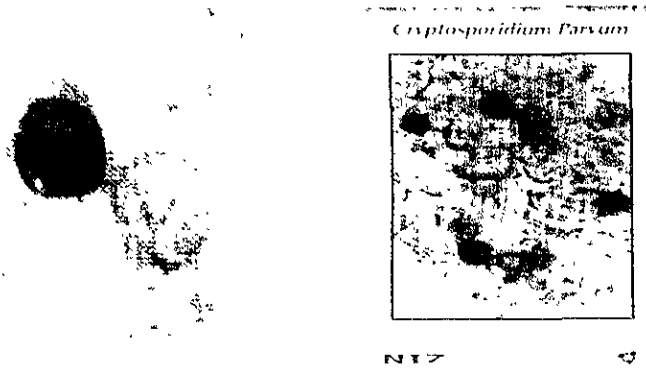
La prueba inmunoenzimática (ELISA) para detectar los ooquistes en heces, es de mucha utilidad clínica ya que es un método rápido y fácil de leer, y muy sensible y específico en el caso de heces diarreicas, pero tiene uso limitado en estudios epidemiológicos para el diagnóstico de enfermedad asintomática.

Existe una prueba inmunofluorométrica para la determinación de coproanticuerpos contra el parásito, que al parecer tiene la sensibilidad inherente de un inmunoensayo.

En pacientes con criptosporidiosis se ha conseguido una seropositividad para anticuerpos IgG o IgM, o para ambos en el 95% de los casos, en el momento en que buscan atención médica, y 100% a las dos semanas. Algunos estudios indican que más del 50% de los individuos sin infección conocida, tienen anticuerpos específicos, lo cual sugiere que la infección, alguna vez en la vida es común.⁴⁹⁻⁵⁰

Diagnóstico Electroforético: Recientemente se usó por primera vez el patrón electroforético de las isoenzimas para diagnosticar y diferenciar especies del parásito. Los zimodemas de la fosfoglucomutasa y la isomerasa de la glucosa fosfato claramente diferenciaron a *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium muris* y a *Cryptosporidium baileyi*. Los aislados de *Cryptosporidium parvum* obtenidos de diferentes especies animales, mostraron la misma movilidad del único aislado humano fue claramente diferente a la de los aislados procedentes de animales.⁵⁰⁻⁵³

Ooquistes de *Cryptosporidium parvum* con la técnica de tinción de Kinyoun



Fuente: Weber Bryan 1998

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

La prevención de la criptosporidiosis supone la vigilancia de los mecanismos a través de los cuales puede transmitirse. La publicación de Mayo de 1999 sobre Recomendaciones para la Prevención de Infecciones Oportunistas en las personas infectadas con el VIH ofrece las siguientes recomendaciones específicas.

- Las personas seropositivas deben ser informadas y aconsejadas sobre las distintas vías de transmisión del *Cryptosporidium parvum* (incluyendo el contacto directo con adultos y niños, con animales infectados, la ingestión de agua y de comida contaminada, y el contacto con agua contaminada durante la realización de actividades deportivas).
- Las personas seropositivas deben evitar el contacto con heces humanas y animales, deberán evitar las relaciones sexuales que pueden resultar en exposición oral a las heces (por ejemplo los contactos ano-orales).
- En general deberán evitarse los animales con diarrea, los perros y gatos de menos de 6 meses de edad ni deberán adoptarse animales abandonados.
- Las personas seropositivas no deben beber agua de ríos o lagos.
- La infección puede resultar también de tragar agua durante las actividades lúdico deportivas.
- Los pacientes deberán tener en cuenta que el hielo fabricado a partir de agua de grifo contaminada también puede ser fuente de infección.
- Debido a la posibilidad de transmisión por fómites, algunos especialistas recomiendan que las personas infectadas con el VIH y especialmente las más inmunosuprimidas, no compartan una habitación con pacientes afectados de criptosporidiosis.

Por otro lado no existe en la actualidad ningún fármaco que se pueda recomendar para la profilaxis primaria o secundaria de esta infección(no existen medicamentos efectivos para prevenir la criptosporidiosis)

Tratamiento:

No se conoce un tratamiento antimicrobiano efectivo para curar la infección por *Cryptosporidium parvum* pero sin embargo se puede recomendar un régimen de Paromomicina, cabe señalar que los estudios realizados de tratamientos que incluyen Paromomicina sólo han podido demostrar mejoras modesta, pero no la cura de la criptosporidiosis.

Otro régimen que hasta ahora a obtenido resultados alentadores y puede recomendarse consiste en Nitazoxanida. Regímenes alternativos incluyen tratamientos octreotide, azitromicina o atovacuona. El calostrum bovino hiperinmune se está estudiando para probar si puede aumentar la producción de inmunoglobulinas naturales en el cuerpo que combatan la criptosporidiosis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad diarreica tanto aguda como crónica es una de las principales complicaciones que sufren los pacientes infectados por el V.I.H.^{8,9} Entre los agentes patógenos responsables de la diarrea se encuentra *Cryptosporidium parvum*, el cual se sabe es la primera causa de diarrea en pacientes infectados por el VIH, invadiendo las células epiteliales del tracto digestivo(incluyendo la vía biliar) y respiratorio.¹¹

La mayoría de los datos de prevalencia de infección por *Cryptosporidium parvum*, se ha obtenido de estudios hechos en diferentes poblaciones con diarrea, en las cuales se ha identificado el parásito en las heces por medio de diferentes tinciones.^{13,15} La prevalencia de la enfermedad varía de país a país siendo un factor importante el grado de desarrollo.^{12,13}

Las razones más importantes que justifican el desarrollo de este trabajo son:

La gran importancia que ha alcanzado en esta última década *Cryptosporidium parvum* como agente causal de enfermedad en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, además de los pocos estudios realizados en México.

Por lo tanto por medio de este estudio se determina la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en pacientes Infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en el Hospital General Regional # 25 del IMSS, para tomar medidas preventivas que ayuden a detener este problema.

HIPÓTESIS

Se espera que entre un 5 y 15% de los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en la zona oriente de la ciudad de México, este infectado por *Cryptosporidium parvum* en algún momento de la enfermedad

DISEÑO DE INVESTIGACION

EL estudio se realizo en el Laboratorio de Análisis Clínicos en la sección de Microbiología, del Hospital General Regional # 25 del IMSS.

En la clínica de SIDA se informo a los pacientes de el estudio "Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en pacientes infectados por Virus de la Inmunodeficiencia Humana".Se les solicitó su consentimiento por escrito(anexo3) y se les solicitaron muestras de heces

Se recopilo información de los expedientes clínicos de cada uno de los pacientes que participaron en el estudio. Obteniendo a si el diagnostico de VIH, cuenta de células CD4, sexo, edad, preferencia sexual, tiempo de desarrollar la enfermedad.

Las muestras se analizaron mediante la Técnica de Concentración de Sheather's y la Tinción de Kinyoun.

TIPO DE ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, transversal y descriptivo.

POBLACION

150 muestras fecales de pacientes confirmativos de V I H, de la zona Oriente de la ciudad de México.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Todas las muestras de heces, de pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana que lleguen del mes de Diciembre del 2000 al mes de Febrero del 2001.

CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes Hombres y Mujeres infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
- En cualquier estadio de la enfermedad
- Que cuenten con determinación de células CD4
- Que desee participar en el estudio

VARIABLES

Dependiente.- Presencia de *Cryptosporidium parvum*

Independiente.-Infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Variable	Definición	Operacional
Sexo	Características fenotípicas del sujeto	Masculino, femenino de acuerdo al expediente del paciente
Edad	Edad cronológica referida por el paciente	Medida en años intervalos por quinquenios 15-20, 21-25, 26-30, 31-35, etc
Estadio clínico	Estadio 1: asintomático Estadio 2: presencia de síntomas Estadio 3: encamado menos del 50% Estadio 4: encamado más del 50%	Subgrupo A.-CD4 > 500 mm ³ Subgrupo B.- CD4 200-500 mm ³ Subgrupo C.- CD4 < 200 mm ³
Infección por V.I.H.	Pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana	Determinación de Anticuerpos contra V.I.H. (prueba de ELISA)
Infección por <i>Cryptosporidium parvum</i>	Pacientes infectados por <i>Cryptosporidium parvum</i>	Identificación del parásito por Tinción de Kinyoun

MATERIAL

- Frascos de plástico de boca ancha
- Tubos de ensayo de 16 x 150 mm
- Grapas para tubos de ensayo de 16x 150
- Aplicadores
- Portaobjetos
- Pipetas Pasteur
- Matraz aforado de 2 lt
- Lápiz diamante
- Mechero
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml
- Guantes de cirujano
- Marcador de tinta permanente
- Espátula
- Probeta graduada de 500 ml
- Cubre bocas
- Vasos de pp de 100 ml
- Perillas para succión de líquidos en pipetas
- Gasas estériles

REACTIVOS

- Colorantes Azul de Metileno, Fucsina,
- Sacarosa
- Alcohol ácido
- Agua destilada
- Xilol
- Aceite de inmersión
- Fenol
- Tween 80
- Fosfato dibasico
- Fosfato de potasio
- Cloruro de sodio
- Cloro al 15%

EQUIPO

- Centrifuga
- Microscopio óptico
- Potenciómetro
- Autoclave
- Balanza analítica
- Refrigerador

Procedimiento de la Técnica de Sheather's.

Se homogenizo la muestra y se tomo 1 g aproximadamente de materia fecal

Depositar a un tubo de 16x150

Agregar 9 ml de PBS estéril, mezclar y filtrar a través de una gasa a otro tubo de 16x150.

En un tubo por separado se colocan 5 ml de sacarosa(madre), y 5 ml de PBS mezclar perfectamente. (dilución 1:2)

En otro tubo se hizo una dilución 1:4 con sacarosa madre y PBS

En un tubo se colocaron 5 ml de la dilución 1:2 y sobre esta la dilución 1:4 con mucho cuidado de no mezclar

Se colocaron las heces filtradas sobre la dilución 1:4

Se centrifugo a 3700 r.p.m. 30 min

Se descarto con una pipeta la fase superior y se recupero la intermedia

Se agrego 10 ml de PBS y se centrifugo a 3000 r.p.m 10 min

Se decanto y se resuspendio el paquete en 10 ml de PBS centrifugando nuevamente.

Se decanto y se coloco una gota del sedimento en un portaobjetos y se tiño por la técnica de Kinyoun.

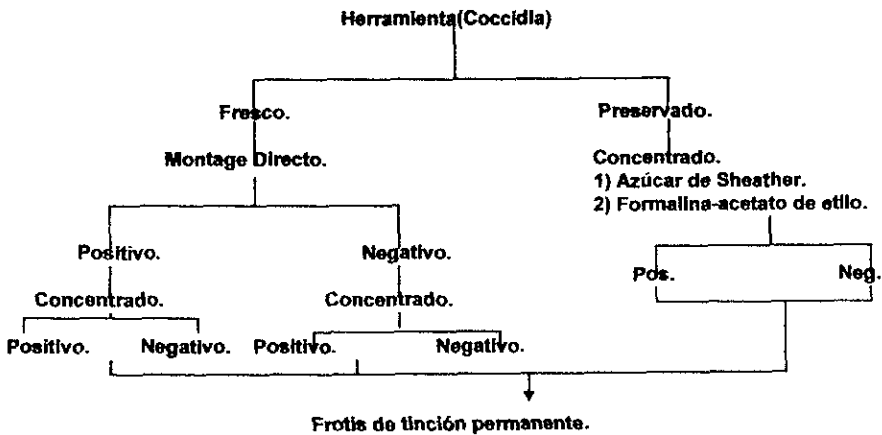
Procedimiento de la Técnica de Tinción de Kinyoun

- Fijar la laminilla con metanol
- Agregar fucsina básica 5 minutos, cuidando que el frotis no se seque.
- Lavar con agua corriente y decolorar con alcohol ácido al 1% hasta quitar el exceso de colorante 2 minutos aproximadamente.
- Lavar con agua corriente
- Agregar colorante de contraste (azul de metileno) durante 1-2 minutos
- Lavar con agua corriente y dejar secar
- Observar la laminilla con objetivo de 100X.

Interpretación:

Cryptosporidium parvum se tiñe de rojo y el fondo es azul

TÉCNICA DE SHEATER 'S.



- Frotis de tinción permanente.
- 1) Ácido resistente modificada.
 - 2) Ácido resistente de Kinyou.
 - 3) Otras ácido resistentes modificadas.

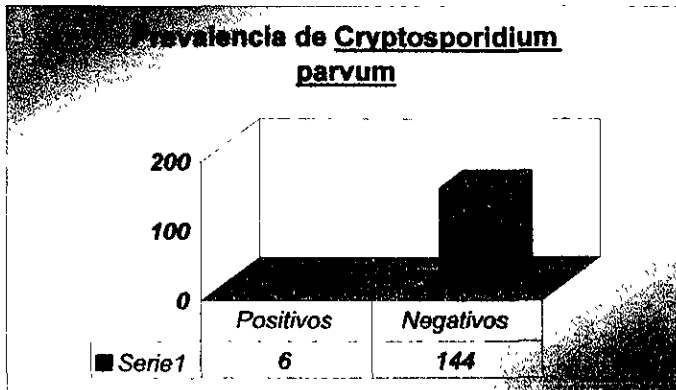
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó estadística descriptiva y estadística inferencial estudiadas mediante la prueba de ji-cuadrada (χ^2), para determinar la relación entre las variables.

RESULTADOS

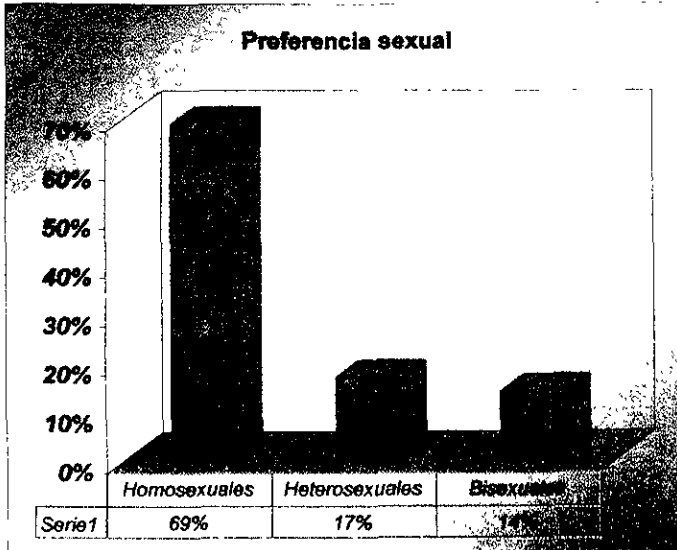
Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes graficas:

Grafica 1.



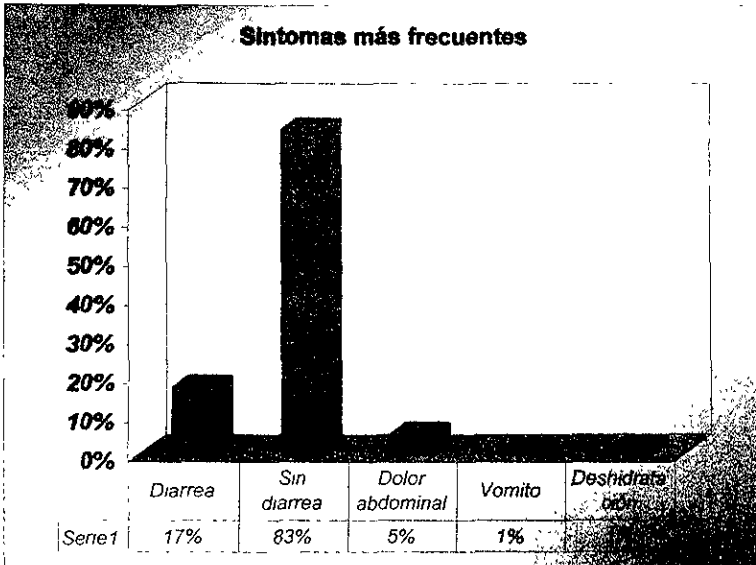
En esta grafica se observa que la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* es muy baja; ya que solo un 4% de los pacientes tuvieron este parásito. Debido a que los pacientes tratados en este Hospital llevan a cabo su tratamiento antiviral de forma adecuada así como las medidas preventivas para evitar así la infección.

Grafica 2.



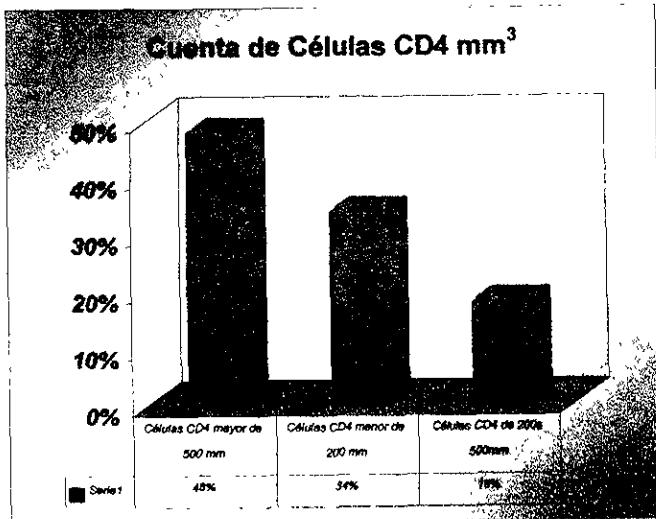
En esta grafica podemos observar que de los 150 pacientes incluidos en el estudio la mayoría son varones homosexuales, y por lo mismo la practica sexual (oral anal) es más frecuente, por lo cual hay mayor riesgo de infectarse por *Cryptosporidium parvum*. Ya que los pacientes que fueron infectados por este parásito son 5 varones homosexuales y solo una mujer heterosexual.

Grafica 3.



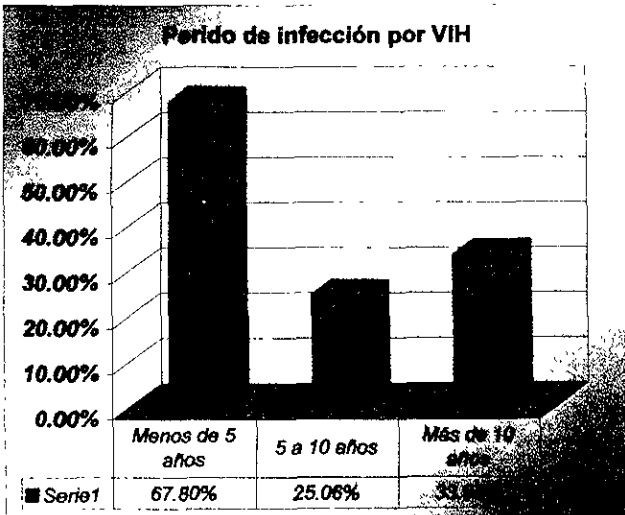
De acuerdo a lo señalado en la grafica 3; de los 150 pacientes los que presentaron diarrea fueron solo el 17%, de estos con dolor abdominal, vomito y deshidratación solo fue la minoría, De los 17% con diarrea solo 2.04% presento la infección Esto significa que la causa de la diarrea no es por culpa de *Cryptosporidium parvum* si no que la diarrea puede ser causada por otro agente patógeno o bien por el medicamento que están ingiriendo.

Grafica 4



En esta grafica se observa que la mayoría de la población estudiada cuenta con células CD4 arriba de 500 mm³, esto significa que los pacientes que se atienden en este Hospital son pacientes con una buena atención médica, que mantienen sus sistema inmunológico estable, para así evitar el ataque de agentes oportunistas como es *Cryptosporidium parvum*. De ahí la baja prevalencia de este parásito, ya que se sabe que la cuenta de células CD4 esta estrechamente relacionada con la infección.

Grafica 5



La grafica 5 Nos señala que la mayoría de la población atendida en este Hospital lleva poco tiempo con la infección por VIH, esto se toma en cuenta ya que el estadio clínico de la enfermedad se relaciona con la infección los pacientes que tienen más de 10 años con el padecimiento suelen ser los que por el deterioro de su sistema inmunológico se encuentren en la etapa final de la enfermedad, en donde son muy susceptibles a ser atacados por cualquier agente oportunisto como lo es *Cryptosporidium parvum*.

TABLA 1

		Cryptosporidium parvum	
		SI	NO
DIARREA	SI	3/1	22/24
	NO	3/5	122/120

Hipótesis:

Ho: La diarrea es dependiente de la presencia de *Cryptosporidium parvum*

Ha: La diarrea es independiente de la presencia de *Cryptosporidium parvum*

$$X^2_{\text{tab } 0.99(1)} = 6.62$$

$$X^2_{\text{cal}} = 47.42$$

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, por lo tanto la diarrea es independiente de la presencia de *Cryptosporidium parvum*

TABLA 2

	<i>Cryptosporidium parvum</i>	
	SI	NO
Cuenta de CD4 >500	0/2.04	51/48.96
200 A 500	0/2.48	62/59.52
<200	6/1.48	31/35.52

Hipótesis

H₀: La presencia de *Cryptosporidium parvum* es dependiente de la cuenta de CD4

H_a: La presencia de *Cryptosporidium parvum* es independiente de la cuenta de CD4

$$X^2_{\text{tab } 0.99} = 9.12$$

$$X^2_{\text{cal}} = 100$$

Conclusión:

Se rechaza hipótesis nula se acepta hipótesis alterna, por lo tanto la presencia de *Cryptosporidium parvum* es independiente de la cuenta de CD4

Tabla 3

Numero de muestras estudiadas	Muestras Positivas	Muestras diarreicas	Pacientes con cuenta de células CD4 menor a 200/ mm ³ con Criptosporidiosis	infección por VIH de 5 a 10 años
150	6	3	6	6

La tabla 3: Señala que no todos los pacientes que fueron positivos para *Cryptosporidium parvum* tuvieron diarrea en el momento de recolectar la muestra, cabe señalar que la diarrea pudo haber sido remitente y que los pacientes no presentaban ni síntomas ni signos que pudieran orientar al médico a solicitar el estudio para búsqueda de este parásito, además señala la relación que existe entre la cantidad de células CD4 con la presencia de *Cryptosporidium* y el tiempo de evolución con la enfermedad; ya que este es un factor determinante para tener la infección y también al aumentar la células CD4 la infección se auto limita.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La identificación de *Cryptosporidium parvum* es, dentro del diagnóstico parasitológico, una parte considerable del trabajo de laboratorio especializado, ya que su identificación requiere de técnicas modificadas que no tienen una gran difusión.

Dada la importancia que ha tomado el *Cryptosporidium parvum* en pacientes con VIH, se ha tenido la necesidad de buscar un método que sea accesible y rápido debido ha que hay laboratorios que no cuentan con la forma de detectar este parásito.

No obstante, a pesar de ser un método sencillo tiene el inconveniente de que las muestras a estudiar son de pacientes con VIH, a los cuales todavía se les tiene cierto temor al trabajar con ellas. Como consecuencia de ello se debe concientizar al personal de laboratorio para ayudar a este tipo de pacientes y así tengan una calidad de vida mejor.

Este trabajo no tiene como objetivo concientizar al personal de laboratorio, pero sí, el dejar un método rápido y confiable como es la técnica de Sheater's, para ser utilizado en el HGR No 25 del IMSS

Además de lo anterior, el objetivo del presente trabajo es determinar la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* y la asociación que existe entre esta y el estadio clínico del paciente, de esta forma tener parámetros para analizar y comparar con lo descrito hasta el momento en la literatura.

La diarrea es uno de los problemas más graves a los que se enfrentan los pacientes infectados por el VIH y especialmente aquellos que viven en países como México.

En la literatura se manifiesta a *Cyptosporidium parvum* como el principal agente causal de diarrea con una prevalencia del 5- 15% en países en vías de desarrollo.

En este estudio realizado en el Hospital General Regional No 25 del IMSS la prevalencia fue de 4% el diagnóstico se hizo por coproparasitoscópico mediante la técnica de concentración de Sheater's y la tinción de Kinyoun, técnicas que hasta el momento continúan siendo estándares para este fin.

El diagnóstico de infección por VIH, se hizo mediante la técnica de Elisa y confirmatoria de Western Blot (esta se realiza en Banco de Sangre del HGR No 25 IMSS) y la cuenta de células CD4 en el Hospital de Especialidades del Centro Médico la Raza. Confirmando así que todos los pacientes que ingresaron al estudio contara con estos datos, recopilados del expediente clínico.

La mayoría de los pacientes cuentan con menos de 5 años de tener el padecimiento, lo que nos hace pensar que muchos de ellos buscan atención médica temprana, es posible además que la búsqueda de infección por VIH por parte del médico se este realizando lo más rápido posible. De esta forma, al momento del hacer el diagnóstico de criptosporidiosis el estado inmunológico de los pacientes esta estable (cuenta de células de CD4 mayores a $500/\text{mm}^3$) dando con esto un margen del pronostico de la infección a largo plazo.

Los síntomas y signos de la enfermedad están de acuerdo con los informados en la literatura siendo diarrea continua e intermitente las más frecuentes, aunque a veces el médico confunda estos con la presencia de otros agentes patógenos, y de un tratamiento equivocado antes de esperar los resultados del laboratorio, y con ello llevar al paciente a un mal pronostico.

Uno de los pacientes positivos tuvo diarrea intermitente, se le dio tratamiento antiamebiano, que en realidad no ataca a *Cryptosporidium parvum*, pero si daña aun más la mucosa intestinal causando con ello daños irreversibles y en este caso la muerte del paciente

Además es posible que por el mecanismo de reinfección (tanto del intestino, como del medio ambiente) estos pacientes desarrollan síntomas tardíamente cuando el numero de parásitos aumenta (mayor compromiso de la mucosa intestinal) y su sistema inmune se deteriora.

La duración de la diarrea, mayor de 30 días en la mayoría de los casos tanto en su presentación continua como intermitente, conduce a pérdida de peso importante (promedio de 14.2 Kg.) asociada a desnutrición, factores que influirán tardíamente en la evolución de la enfermedad.

Sería importante realizar estudios prospectivos para determinar el manejo de estos pacientes ante el grave riesgo de complicaciones futuras que conducen a la muerte.

La falta de tratamiento adecuado para este parásito nos obliga a hacer énfasis en las medidas preventivas más que en las curativas. De aquí la importancia de realizar estudios epidemiológicos e identificar los factores de riesgo para la infección por *Cryptosporidium parvum* en esta población.

Así como el diagnóstico oportuno de este parásito, para que el médico pueda proporcionar un tratamiento adecuado evitando así un desenlace fatal.

Los indicadores indirectos disponibles del estado inmunológico (avance de la infección por VIH) del paciente, son la cuenta total de leucocitos y número de células CD4 se asocian de forma importante con la infección por *Cryptosporidium parvum* siendo quizás estas las responsables de la vida del paciente.

La muerte de uno de los pacientes que fue dos semanas después del diagnóstico, nos confirma la importancia y trascendencia de la enfermedad gastrointestinal provocada por *Cryptosporidium parvum* . Desafortunadamente con este trabajo no es posible ayudar al tratamiento del paciente, por eso es necesario y de suma importancia realizar estudios para encontrar el medicamento que logre una erradicación del parásito y además no sea toxico para el paciente.

CONCLUSIONES

- ◀ Para que el *Cryptosporidium parvum*, que es un parásito oportunista se pueda manifestar es necesario que el paciente tenga un conteo de células CD4 menor a 200 mm^3
- ◀ No es necesario que el paciente curse con diarrea para que se manifieste la presencia de *Cryptosporidium parvum* en las muestras fecales.
- ◀ Si existe una asociación entre la presencia de *Cryptosporidium parvum* y el estadio clínico del paciente infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana.
- ◀ Los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana atendidos en el Hospital General Regional No 25 del IMSS, tienen un buen control en cuanto a infecciones provocadas por *Cryptosporidium parvum* ya que la prevalencia de este parásito es baja. Por lo tanto la atención médica que obtienen es buena.
- ◀ Los resultados nos demuestran que los objetivos se cumplieron, ya que la prevalencia obtenida con respecto a la señalada en la Hipótesis se acerca al límite bajo de esta.

REFERENCIAS

1. The Fate of *Cryptosporidium parvum* Oocysts ingested by dung Beetles and their possible role in the dissemination of cryptosporidiosis. Blaine A. Mathison and Oleg Ditrich. *J. Parasitol* 85(4) 1999
2. Nosocomial outbreak of cryptosporidiosis in AIDS patients. Ravin P. Lundgren JD, Kjaeldgaard P, et al *Br Med J.* 1991, 302:277-80
3. SF.AIDS.Fdn. Noticias Positivas 6/96 Cryptosporidiosis. http://wwwsfaf.org/noticias_positivas/cripto.htm.
4. Diarrea infoRed.SIDA.Nuevo México.Hoja Número 552 E.<http://www.nmia.com/-hiucc/552e.diarrhea.htm>.
5. Guía Práctica del SIDA Clínica, Diagnóstico y Tratamiento 2a. edición. J.M. Gatell Artigas, B. Clotet Sala. Masson Salvat *Medicina.* 1992
6. Criptosporidiosis en humanos Revision. Leonor Chacin Bonilla. Instituto de Investigaciones clinicas Facultad de Medicina Universidad de Zulia, Apartado 1151, Maracaibo Venezuela. *Invest Clin* 36(4) 207-250 1995.
7. Prevalence of enteric pathogens in homosexual men with and without acquired immunodeficiency syndrome. Laughon BE, Druckman DA, Vernon A, et al. *Gastroenterology* 1990; 94:984-993
8. Cryptosporidiosis in México. Soave R, Ruiz J, Farrocha C, et al *Proc. 34 th Annu. Meet. Am. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1990, abst.204
9. The taxonomy of sarcocystis (Protozoa, Ampicomplexa) species, *Journal of Parasitology* V. 72, 1997.
10. Lecture in infections Disease Epidemiology Johns Hopkins School of Public Health, Black, R, 1996.
11. Centers for Disease Control Cryptosporidiosis assessment of chemotherapy of modes with acquired immune deficiency Syndrome (AIDS) *MMWR* 31: 589. 1982.

12. Improved Purification Methods for Calf-Derived *Cryptosporidium parvum* Oocysts Using Discontinuous Sucrose and Cesium Chloride Gradients. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta G.A. 303341-3724
13. JoKliK/ willett/AMOS/ wilfer Microbiology 2a. Reimpresión 20 Edición Oct. 1998. Editorial Panamericana.
14. Criptosporidiosis in patients with AIDS. Dis Bissuel F, Cotte Y, Rabodonirina M et al . 1995, 18. 1
15. Proliferative responsiveness of lymphocytes from *Cryptosporidium parvum* -exposed mice to two separate antigen fractions from oocysts. Moss DM Lammie PJ. AMJ Trop Med Hyg 1995 49:393-401.
16. A double blind placebo controlled study of nitazoxanide in the treatment of cryptosporidial diarrhoea in AIDS patients in México J. F, Rossignol, H Hidalgo, M Ferregrino, F Higuera.
17. Intestinal Protozoa and liver parasites sporozoa order: Eucoccidiida. *Cryptosporidium parvum* a Revieww of cryptosporidiosis. Omar A Khan, Asóciate Faculty, Dep of International Health, Maryland 21202-4024 USA.
18. Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas. Mendell, Douglas Bennett. 1991;334-336
19. Sporadic cryptosporidiosis in children . LANCET Casemore Dp, Jackson B. V 2: 679,1996.
20. Comparison of endogenous development of three islots of *Cryptosporidium* in sucking mice. Journal of Protozoology V33 1996.
21. Family outbreak of cryptosporidiosis. Ribiero CD, Palmer SR Br Med J. 1996:292:377
22. Cryptosporidiosis afer marrow transplantation. Person-to person transmisión and treatment with spiramycin. Collier AC, Miller RA Meyers JD Ann Intern Med. 1989 101:205

23. Brote de criptosporidiosis en un centro de recuperación nutricional. Weitz JC Tassara R. Mercado TMR, et al. Rev Chil Pediatr. 1993,58:50.3
24. Chickenpox and infection with cryptosporidiosis. Stehr Grees JK Juranek DJ Mc Caig L. Am J dis Child 1996 140:1213
25. Ocurrance of *Cryptosporidium* in home daycate centers in west central Colorado. Diers J, McCallister Gl, J parasitol 1995, 75 637
26. Spiramycin is not efective in treating diarrhea in infants Wittenberg DF , Miller NM Van den Eden J, Infec Dis 1992:159 131-2
27. En viromental aspects of *Cryptosporidium* species: A review Smith HV, J Roy Soc. Med 1997:83 629-31
28. A waterborne oubreak of criptosporidiosis in normal hosts. D' Antonio RG Winn RE Taylor JP et al. Ann Intern Med. 1995 103:886-8
29. Centers for Disease Control and Prevention. Swimming-associated cryptosporidiosis. Los Angeles Conuntry MMWR. 1995, 30 343-5
30. Current W,L, et al 1993, Human cryptosporidiosis immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an oubreak and experimental transmission New England Journad of Medicine 308:1252-1257
31. *Cryptosporidium spp* and Cryptosporidiosis Microbiological Review Fayer R and Ungar B.L.P 1996:50: 458-483
32. Human cryptosporidiosis .Current W.L Reese N.C. Ernst J.V. Bailey WS Alabama. Morbid Mortal Weekly Rep 31: 252-254 1997.
33. Comparison of endogenous development of three islotes of *Cryptosporidium* in sucking mice. Journal of Protozoology V33 1996
34. Understanding intestinal spore forming protozoa; criptosporidia, microsporidia, isospora and cyclospora, Annals of internal Medicine V 124 1998 Goodgame RW

35. Three step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. Ma P Soave R. *Journal of Infectious Diseases* V 147 1998
36. Acute enterocolitis in human being infected with the protozoan *Cryptosporidium* Nime FA Burek JD page DI Yardlet JH *Gastroenterology* V 70 1999
37. Ungar B. Cryptosporidiosis in human In Dubey JP Speer Ca Fayer eds, CRS Press 1999
38. *Cryptosporidium* a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. Jokip L Jokip MM *Lancet* 2: 358-360 1996
39. *Cryptosporidium* : A common cause of parasitic diarrhea in otherwise healthy individuals *J Clin Microbiol* 23: 1109-1113 1996
40. Criptosporidiosis gastrointestinal en pacientes infectados por el VIH, descripción y análisis de 72 casos en el Hospital Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"
41. Rapid and sensitive method for the quantitation of microbiology Bradford MM 1998 72-248-54
42. Isolation of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites using discontinuous sucrose and isopycnic percoll gradients J Arrowood MJ *J Parasitol* 1996 73 314-9
43. Enzyme linked immunoelectrotransfer bio analysis of cryptosporidiosis Moss DM Benett SN *trop med Hyg* 1998: 58 110
44. Identification of *Cryptosporidium parvum* oocyst sporozoite antigens recognized by infected and hyperimmune lambs *Vet Parasitol* 1999 53:159
45. Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons. Ungar B.L.P. Soave R Fayer R, Nash TE *J infect Dis* 153:570-578 1996
46. Serologic evidence of *Cryptosporidium* infection in US volunteers before and during Peace Corps service in Africa. Ungar B.L.P Mulligan M Nutman TR. *Arch intern Med* 149: 897 1999

47. Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. Weber Bryan RT Jura Nek DD J Clin Microbiol 30: 2869 2873 1998
48. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens evidence for low sensitivity of current diagnostic methods Weber R Bryan RT Bishop H.S. Sullivan JJ Juraneck, J Clin Microbiol 29: 1323- 1327. 1997
49. Anonymous Classification system for human T-lymphotrophic virus type III/lymphadenopathy-associated virus infection MMWR 1993, 35:334
50. Experimental cryptosporidiosis in a primate model. Miller RA Bronsdon Ma Morton WR J infect Dis 1998, 161: 312-315
51. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in Broder S, Meriggan TC and Bolognesi Ungar BLR. Textbook of AIDS medicine, Blatimore Williams & Wilkins; 1998: 323
52. Seroprevalence of cryptosporidial antibodies during infancy, childhood, and adolescence. Kuhls TL Moiser DA, Crawford DL. Clin Infect Dis 1997;18, 731
53. Cryptosporidiosis In Tsieh Sun Progress in Parasitology, Faningan TP and Soave R. Springer Verlag 1998: 1-20
54. The latest and greatest *Cryptosporidium* research. Position paper of the American Water works Roberson JA Bruno J. Association, 1997
55. UNAIDS, Global Programme on AIDS, 1996.

ANEXO 1

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Preparación de solución madre de sacarosa.

500 g de azúcar (sacarosa cristales)

320 ml de agua destilada (disolver)

9 ml de fenol

0.5 ml de Tween 80

Disolver todo y mezclar(esterilizar)

Preparación de PBS

Solución A

13.73 g de fosfato dibasico Na_2HPO_4 aforar a 600 ml con agua destilada
homogenizar y retirar 30 ml para quedar 570 ml

Mezclar la solución A y B agregar 17 g de Cloruro de sodio homogenizar
y esterilizar.

(al final debe tener un pH de 7.2)

Preparación de los colorantes de la tinción de Kinyoun

Carbolfucsina; disolver 4 g de fucsina básica en 20 ml de etanol, 90-95% y añadir 100ml de fenol al 9% (9 g de fenol disuelto en 100 ml de agua destilada), añadir de 5 a 6 gotas de tergitol No. 7 y mezclar bien.

Alcohol ácido: añadir lentamente 3 ml de HCL concentrado a 97 ml de etanol 90-95%, en este orden puede haber desarrollo de calor.

Azul de metileno: Disolver 0.3 g de cloruro de azul de metileno en 100 ml de agua destilada.

ANEXO 2

PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* EN PACIENTES INFECTADOS POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.

Registro _____

Nombre _____

Edad _____ Sexo _____

Fecha _____ Estado civil _____

Factores de Riesgo

	Si	No
Homosexual	()	()
Heterosexual	()	()
Bisexuales	()	()

	Si	No
Presenta diarrea duración _____	()	()
Dolor intestinal	()	()
Cuenta de linfocitos CD4 _____		

Tiempo de

ANEXO 3**PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* EN PACIENTES
INFECTADOS POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA**

Nombre _____

Dirección _____

Teléfono _____

Desea participar en el estudio SI () NO ()

Firma de consentimiento para traer muestra de heces para la identificación de *Cryptosporidium parvum* al Laboratorio del Hospital General Regional # 25 del IMSS.