

Hospital Infantil de Morelia.
“Eva Sámano de López Mateos”

Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología.

TESIS

“Casos de coccidias en el Hospital Infantil de Morelia”

ASESOR:

Q.F.B. Guadalupe Eréndira Orozco Mosqueda.

CO-ASESOR:

Q.F.B. Sandra Ma. Suárez Moreno

PARA OBTENER EL TITULO DE QUIMICO FARMACOBIOLOGO

TESISTA:

p.Q.F.B. Orlando Alfonso Martínez Loya.

Morelia, Michoacán. Octubre 2007

DEDICATORIA.

A mi esposa y a mi hijo.

AGRADECIMIENTOS.

A la Q.F.B. Guadalupe Eréndira Orozco Mosqueda
por todo su tiempo y conocimiento invertidos en
esta investigación, así como por su amistad y apoyo.

A la Q.F.B. Sandra María Suárez Moreno
y al personal que integra el Laboratorio de Investigación
en Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil “Eva Sámano de Lopez
Mateos”

Al Dr. José Luís Martínez Toledo.

Y a todas las personas que me brindaron su apoyo incondicional
para poder llegar a este momento.

INDICE.

	PAGINA.
INTRODUCCIÓN.	1
CYCLOSPORA CAYETANENSIS ANTECEDENTES.	2
DESCRIPCIÓN DEL PARÁSITO	4
CICLO BIOLÓGICO	6
PATOGENIA	8
EPIDEMIOLOGÍA	9
MANIFESTACIONES CLÍNICAS	10
DIAGNÓSTICO	11
TRATAMIENTO	12
CRYPTOSPORIDIUM SPP. ANTECEDENTES	13
DESCRIPCIÓN DEL PARÁSITO	15
CICLO BIOLÓGICO	19
MANIFESTACIONES CLÍNICAS	21
PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA	22
RESERVORIOS	25
DIAGNÓSTICO	26
TRATAMIENTO	27
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
JUSTIFICACIÓN	29
OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
METODOLOGÍA.	35
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	35
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	35
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	35
FUENTE DE INFORMACIÓN	35
MATERIAL Y MÉTODOS	36
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN	50
CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFÍA	54
APÉNDICE I	57
APÉNDICE II	65

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias son de gran importancia para el mundo y contribuyen de manera significativa a los problemas médicos, sociales y económicos. Como resultado de la mejoría de la sanidad y del mejor control de los insectos huéspedes, la incidencia de enfermedades parasitarias ha disminuido, especialmente en países desarrollados. Con el aumento de los viajes en el mundo, la posibilidad de observar distintas infecciones parasitarias en los visitantes o los ciudadanos que regresan ha aumentado.

Sin embargo, en los últimos años, desde el advenimiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y sus complicaciones gastrointestinales el panorama ha cambiado y han aparecido una gran gamma de nuevas enfermedades infecciosas cuyos agentes causales son: virus, bacterias y protozoarios, llamadas emergentes, denominadas así por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Georgia por haber tenido un incremento o amenaza de incremento en un futuro. ⁽¹⁾ Dentro de los parásitos emergentes se encuentran entre otras, las Coccidias intestinales: *Cryptosporidium spp*, *Isospora belli* y *Cyclospora cayetanensis*, así como *Blastocystis hominis* y *microsporidias*. ⁽¹⁾

Las coccidias son protozoarios que pertenecen al Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoa. Poseen características comunes: La fase infectante es el ooquiste, habitan en tubo digestivo (duodeno y parte del yeyuno), tienen ciclo de vida monoxeno es decir que se desarrollan en un solo huésped, tienen reproducción sexual y asexual, actúan dañando a las células de borde de cepillo de la mucosa intestinal (enterocitos). Las manifestaciones clínicas que provocan estas coccidias, el diagnóstico y el enfoque terapéutico son muy similares. En la actualidad se consideran como agentes patógenos de importancia médica pues son capaces de provocar enfermedad a paciente inmunocomprometidos y a pacientes en edades extremas de la vida. Las infecciones de estas coccidias en pacientes inmunocompetentes suelen ser asintomáticas o con síntomas autolimitados, pero en pacientes inmunocomprometidos causan diarrea acompañada de deshidratación y malestar general, poniendo en riesgo mortal a este tipo de pacientes. ⁽¹⁾

***Cyclospora cayetanensis*.**

ANTECEDENTES.

En 1870 *Cyclospora cayetanensis* se notificó en el intestino de topos. ⁽²⁾

El género *Cyclospora* fue creado por Scheneider en 1881 para designar a un parásito hallado en los miriápodos, al que denominó *Cyclospora glomerica*.

El ciclo vital de *Cyclospora caryolítica*, parásito de los enterocitos del intestino delgado del Topo, fue descrito por Schaudinn en 1902. ⁽³⁾

La primera descripción de este organismo en humanos fue realizada por Ashford en 1979, quién observó en las heces de tres pacientes de Papúa Nueva Guinea; la existencia de elementos esféricos, algunos de ellos esporulados y con cuatro esporozoitos, lo que le sugirió que podría tratarse de una nueva especie del género *Isospora*. ⁽³⁾

Posteriormente entre 1983 y 1986, Soave, en Haití, descubrió en las heces de pacientes con VIH un organismo ácido-resistente cuyo tamaño era intermedio entre el *Cryptosporidium* y la *Isospora belli*, denominándolo *Crypto-gigante*. Desde 1985, el Dr. Naranjo del laboratorio de parasitología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, había observado estos microorganismos y los describía como objetos similares al *Cryptococcus muris* ⁽⁴⁾

Durante la década de los '90, aparecen una serie de publicaciones sobre la incidencia y epidemiología de este parásito. Se demuestra que afecta a niños y adultos tanto inmunocompetentes como inmunodeprimidos. ⁽⁴⁾

En 1990 Long y Cols. Realizaron estudios de microscopía electrónica de los ooquistes, y observaron internamente estructuras semejantes a cuerpos tilacoides típicos de la cianobacterias por lo que propusieron la denominación CLB (*Cyanobacterium* like body). ⁽⁵⁾ Un brote en Chicago fue asociado con el consumo de agua potable en los dormitorios de una residencia médica. ⁽⁶⁾

A partir de 1991, con el conocimiento del parásito y el cuadro clínico causado por el mismo, se inicia el registro de brotes. ⁽⁵⁾ En 1992 agua potencialmente contaminada fue asociada epidemiológicamente en casos descritos en Nepal; en uno de los casos los ooquistes fueron aislados en el agua utilizada en la casa del paciente. ⁽⁶⁾ En 1994 soldados británicos de una base militar en Pokhara Nepal presentaron Ciclosporiasis, los ooquistes fueron aislados del agua de consumo compuesta por agua de río más agua municipal adecuadamente clorada. ⁽⁶⁾

En 1993 Ortega y colaboradores le dieron el nombre de *Cyclospora cayetanensis* a los CLB. ⁽⁵⁾

Durante este mismo año, organismos esféricos de 8 a 10 micrómetros de diámetro fueron observados en las heces de una mujer peruana de 65 años de edad, presentaba diarrea crónica severa. ⁽⁶⁾

En 1993 Merontes tipo I (asexuales) fueron descritos en enterocitos de yeyuno en humanos. ⁽⁷⁾

El primer brote reportado por Huang en 1995 en un hospital de Chicago, comprometió a personal médico y auxiliar y se relacionó con agua estancada en un tanque que había sufrido una avería en el sistema de bombeo. ⁽⁴⁾

En 1997 dos tipos de Merontes y una etapa sexual fueron observados en los enterocitos de yeyuno extraídos en una biopsia de pacientes infectados excretando ooquistes. ⁽⁷⁾

En 1997 se describe en Chile y en Cuba ⁽⁴⁾, en Costa Rica se reporta en 1999. Para el año 2000 se describe en Uruguay ⁽⁸⁾, 2003 en Turquía y 2004 en Australia ⁽⁴⁾.

En los países desarrollados como Estados Unidos y Canadá, la ciclosporiasis se presenta como episodios epidémicos bien definidos. ⁽⁴⁾

DESCRIPCIÓN DEL PARÁSITO.

CLASIFICACIÓN:

Subphylum: Apicomplexa.

Subclase: Coccidiassina.

Orden: Eucoccidiorida.

Familia: Eimeriidae.

Genero: Cyclospora.

Especie: cayetanensis

Cyclospora cayetanensis se considera un patógeno emergente en la enfermedad diarreica aguda, por lo cual es motivo de investigación en diferentes países, donde se considera como endémico. ⁽²⁾ Las especies pertenecientes al género *Cyclospora* pueden afectar a distintos animales entre ellos el hombre, y se diferencian de otros coccidios intestinales por la producción de ooquistes. ⁽³⁾

El parásito presenta dos formas: una forma inmadura – no esporulada, y una forma madura - esporulada. Ambas formas presentan una envoltura fibrilar de 63 nm de espesor. En el interior de la forma inmadura, se observan unos gránulos similares a los cuerpos tilacoides de *Cyanobacterium*, mientras que la forma madura contiene dos esporoquistes (3.3 – 4.4 micrómetros x 5.5 – 7.1 micrómetros.) con dos esporozoitos (1.06 – 1.34 micrómetros x 8 – 10 micrómetros) cada esporoquiste, con un área apical estructuralmente compleja, similar al conoide de los coccidios, con rophtrias y micronemas. ⁽³⁾

Para que el ooquiste de *Cyclospora* pueda diferenciarse y volverse infeccioso es necesario que tenga suficiente humedad y una temperatura óptima de 25° C por un periodo de 7 a 15 días. ⁽⁶⁾

El examen microscópico en fresco a partir de heces no conservadas permite la observación de unas estructuras esféricas de 8 – 10 micrómetros, hialinas no refráctiles, que contienen una mórula de color verdosa, de aproximadamente 6 – 7 nanómetros de diámetro con varios glóbulos de aspecto lipídico de unos 2 micrómetros, dispuestos en racimo o roseta. La morfología interna es observable en las heces recién emitidas y se conserva únicamente manteniendo las heces en agua, ya que los conservadores provocan la coalescencia de los glóbulos intramorulares dando lugar a cuerpos mal definidos. ⁽³⁾ FIG. 1.

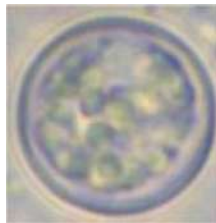


FIGURA 1. TOMADO DE www.cdfound.to.it/HTML/cyc1.htm.

Cyclospora puede ser identificada cuando la muestra es teñida en un frotis usando la tinción de Ziehl – Neelsen o Kinyoun, debido a la capacidad ácido resistente de este organismo. Esta técnica es muy fácil de visualizar cuando se usan muestras clínicas. ⁽⁶⁾ FIG. 2.

Una útil y distinguible característica es su autofluorescencia, para esto se hace uso del microscopio de fluorescencia para muestras frescas o preservadas en formalina o dicromato de potasio. Esta técnica es más sensible que la observación de preparaciones fijadas y teñidas. Cuando los ooquistes son expuestos a la luz ultravioleta (con un filtro de 365/10nm, espejo dicróico de 400 nm y filtro de barrera de 420 nm) autofluorescen de color azul. ⁽⁶⁾ FIG. 3.

En el laboratorio los ooquistes son inducidos a esporular in Vitro⁽⁹⁾, mediante incubación en dicromato de potasio al 2.5%. Algo característico de *Cyclospora cayetanensis* es que los ooquistes no esporulados después de ser excretados no son infectocontagiosos sino que requieren de días o semanas y un ambiente húmedo y cálido para que este parásito esporule, el periodo de incubación suele ser de una semana aproximadamente. ⁽¹⁾ Por lo tanto se sugiere que la transmisión persona a persona es poco probable, siendo el agua y los alimentos las fuentes más frecuentes de infección. ⁽⁹⁾

En condiciones in Vitro también se ha demostrado que los ooquistes esporulados son llevados a la exquistación cuando son sometidos a Sales biliares y Taurocolato. ⁽⁷⁾ Demostrando esto que en los humanos la exquistación es favorecida en la primera porción del intestino delgado denominada duodeno, en donde se vierten las sales biliares durante el procesamiento del bolo alimenticio.

A continuación, cuando los ooquistes esporulados son ingeridos, la acción del ácido gástrico y de enzimas producidas en el intestino, liberan a los esporozoitos y estos invaden el epitelio intestinal. ⁽⁶⁾

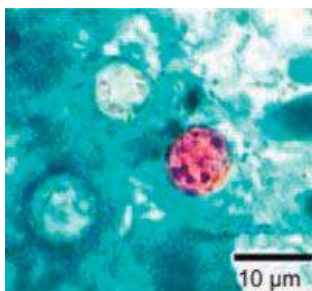


FIGURA 2. TOMADO DE www.cdfound.to.it/HTML/cyc1.htm

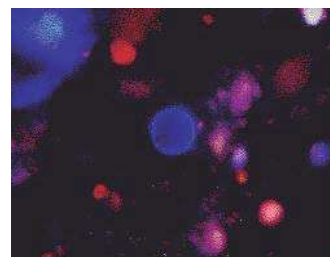


FIGURA 3. TOMADO DE www.cdfound.to.it/HTML/cyc1.htm

CICLO BIOLÓGICO.

Este organismo realiza un ciclo vital enteroepitelial y monoxénico, funcionalmente complejo, con alternancias de ciclos de reproducción asexual esquizogónico o merogónico, y de reproducción sexual, esporogónico o gamogónico.

El ciclo asexual se inicia tras la ingestión de los ooquistes maduros diferenciados, y sigue las siguientes etapas:

- a) Exquistación de los ooquistes en el duodeno y liberación de cuatro esporozoitos por ooquiste.
- b) Fijación de los esporozoitos en la membrana de los enterocitos del intestino delgado e internalización.
- c) División esquizogónica de los esporozoitos en el interior de las vacuolas parasitóforas localizadas en el polo luminal y formación de meronte tipo I conteniendo de 8 a 12 merozoitos.
- d) Liberación de los merozoitos, infección de nuevos enterocitos e inicio de nuevos ciclos esquizogónicos.
- e) En un momento dado, la esquizogonia genera merontes tipo II, con cuatro esporozoitos gamontes.
- f) El ciclo de reproducción sexual da inicio con la liberación de los merozoitos gamontes y se caracteriza por:
- g) Penetración de merozoitos gamontes en enterocitos y su diferenciación en microgameto y macrogameto.
- h) Maduración de los gametos en macrogametocito (hembra) y microgametocito (macho) y posterior fecundación.
- i) Transformación del cigoto, es decir, el macrogametocito fecundado en el Ooquiste inmaduro. FIG. 4.

Estos ooquistes inmaduros son los que se liberan hacia la luz intestinal y que contienen un esporoblasto, y en el cual la esporulación o maduración se lleva a cabo en el exterior del tubo digestivo. ⁽³⁾

Los individuos con cyclosporiasis excretan entonces estos ooquistes inmaduros en sus heces, los cuales, no están diferenciados ni son infecciosos.

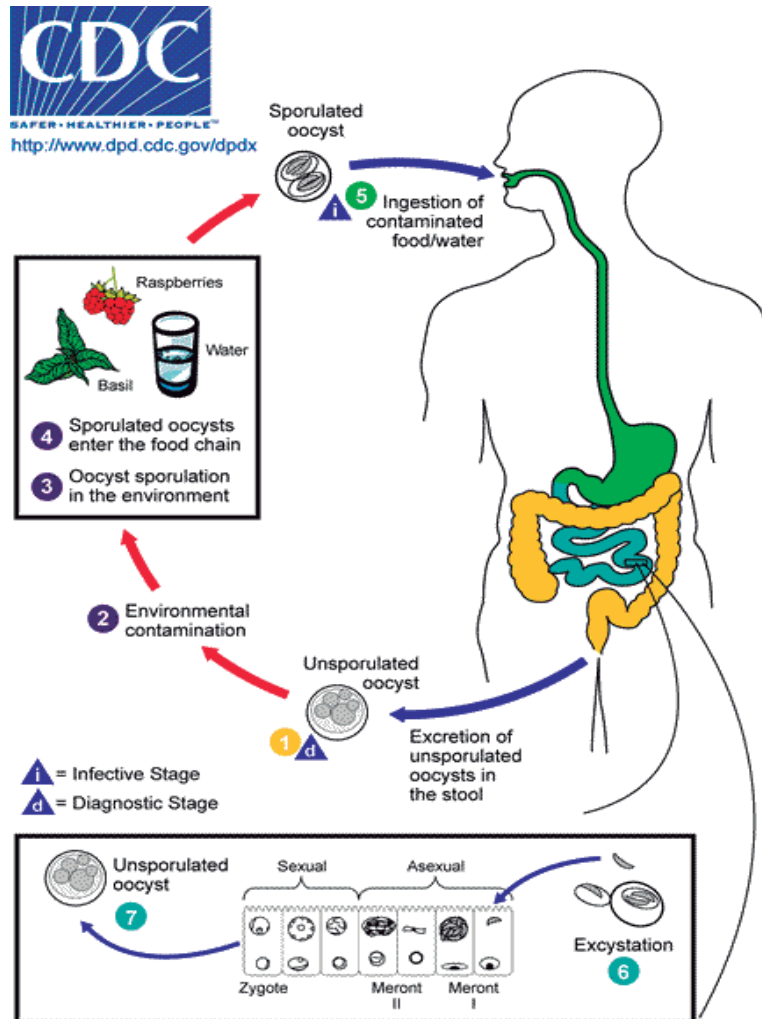


FIGURA 4. CICLO BIOLÓGICO *Cyclospora cayetanensis*.
 TOMADO DE: www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/cyclosporiasis.htm

PATOGENIA.

El hombre adquiere la parasitación como consecuencia de ingestión de los ooquistes maduros, con posterior liberación de esporozoitos y su fijación e internalización en los enterocitos yeyunales.

El mecanismo íntimo de estos eventos es aún desconocido, pero se supone que es similar al de otros Apicomplexa:

- 1) Reconocimiento intercelular, fijación a través del conoide y formación de la unidad móvil esporozoito – enterocito.
- 2) Liberación del contenido de las rophtrias e invaginación de la membrana de los enterocitos, facilitada por los movimientos de deslizamiento, flexión y torsión de los esporozoitos.
- 3) Fusión de la membrana invaginada, localización de los esporozoitos en el interior de vacuolas parasitóforas de origen celular, cerca del polo luminal, y su multiplicación cíclica

El estudio histopatológico de biopsias de intestino delgado procedentes de pacientes con Ciclosporiasis ha permitido la observación, en todos los casos, de alteraciones similares, de gravedad variable:

- 1) Reacción inflamatoria difusa y crónica, con infiltrado polimorfonuclear-neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas de la lámina propia.
- 2) Aplastamiento, atrofia parcial o pérdida de vellosidades e hiperplasia de las criptas. Estas evidencias, unidas a la ausencia de invasión tisular han sugerido la posibilidad de que este proceso estuviese mediado por una enterotoxina.⁽³⁾

EPIDEMIOLOGÍA.

Ha sido encontrado en hospederos inmunocompetentes, en brotes institucionales y comunitarios, portadores asintomáticos y en pacientes con compromiso del sistema inmune.⁽⁹⁾ Su distribución es mundial pero existen países donde es endémico, como Nepal, Haití y Perú. En otros lugares aparece en forma aislada, generalmente en sujetos que han viajado a zonas endémicas.⁽⁴⁾

La infección por *Cyclospora* ha sido reportada en casi todo el continente de América, el Caribe, Sudeste de Asia, Nepal, India, Bangladesh, África, Australia, Inglaterra, Canadá y el este de Europa.⁽¹⁰⁾

Es importante señalar que brotes epidémicos como en la mayoría de series clínicas reportadas, la aparición de casos de ciclosporiasis coincide con la época de mayor precipitación pluvial, entre los meses de abril y mayo.⁽⁹⁾

En Perú se presenta en verano (enero-mayo), mientras que en Nepal la máxima frecuencia se localiza antes de la época de lluvias torrenciales y clima templado (mayo-septiembre), esta estacionalidad es coincidente con lo observado en Guatemala. En E.U.A los casos por *Cyclospora* han sido mayormente reportados entre mayo-agosto, coincidiendo con los meses en los que se importan las frambuesas desde Guatemala.⁽⁶⁾

MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

En los individuos inmunocompetentes, la infección sintomática presenta características similares a las de cualquier patógeno no invasor del intestino delgado, con un perfil sindrómico indiferenciable del de otros coccidios intestinales.

El periodo de incubación es variable, de 1 a 14 días, aunque por término medio suele ser de una semana.

Se manifiesta como una diarrea autolimitada de dos a seis semanas de duración en inmunocompetentes. Es una diarrea acuosa con extrema fatiga, anorexia, dolores abdominales, flatulencia y fiebre con pérdida de peso. Los ooquistes de este microorganismo son excretados por unos 23 días promedio durante el periodo de estado.⁽⁸⁾

En los pacientes inmunodeprimidos, el cortejo sintomático es similar al observado en los pacientes inmunocompetentes aunque, a diferencia de estos, en los que el proceso es autolimitado, en los primeros es más insidioso y prolongado en el tiempo, con tendencia a la cronificación, y siempre revistiendo una mayor gravedad.

Aunque *Cyclospora cayetanensis* es un patógeno intestinal primario, también ha sido relacionado con la producción de Colecistitis alitiásica en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana, y con los síndromes de Reiter y de Guillain Barré. También se ha descrito una infección broncopulmonar en un paciente excretor de ooquistes fecales.⁽³⁾

DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico de ciclosporiasis se basa en la búsqueda directa de ooquistes en muestras de materia fecal por medio de examen directo, concentración con formol éter, coloración de Zielh Neelsen modificada y autofluorescencia empleando filtros dicromáticos de 365 nm y 450 a 490 nm, para observar la fluorescencia azul o verde, respectivamente. ⁽⁹⁾

Las tinciones diferenciales se utilizan para demostrar la característica ácido alcohol resistencia de los ooquistes de este organismo. Mediante la tinción de Ziehl Neelsen modificada o kinyoun, los ooquistes se observan como estructuras esféricas de 8-10 micrómetros, unas veces incoloras, otras de color rosado o rojo intenso de aspecto moteado, mientras que con fluorocromos (auramina rojo de tiazina) aparecen como esférulas de pared fluorescente en grado variable. ⁽³⁾

Cyclospora no puede multiplicarse ni propagarse en medios de cultivo o de enriquecimiento, y puede ser aislada de muestras de agua potable o agua de riego usando el método convencional ICR (Information Collection Requirements Rule) o el método 1623 descrito por la agencia de Protección ambiental de Estados Unidos. ⁽⁶⁾

El agua es filtrada con filtros convencionales o filtros Gelman (Envirocheck sampling capsule), los lavados son concentrados por centrifugación o por floculación usando Carbonato de calcio o Ácido Sulfámico. Ambos procedimientos han sido usados exitosamente en Perú y Guatemala.

En muestras de agua, alimentos y heces una parte se conserva en dicromato de potasio para determinar la esporulación. ⁽⁶⁾

En la actualidad se utilizan anticuerpos monoclonales para inmunofluorescencia directa y la detección del agente por reacción en cadena polimerasa (PCR). ⁽⁸⁾

TRATAMIENTO.

La dosificación y la duración del tratamiento dependen de la edad y el estado inmunológico de los pacientes.

En los pacientes inmunocompetentes, la duración será de 7 días; en los adultos se administrarán 160 mg. de Trimetoprima (TMP) más 800 mg. de Sulfametoxazol (SMX) por vía oral cada 12 horas, y en los niños, 5 mg. de trimetoprima más 25 mg. de sulfametoxazol/ Kg, por vía oral, cada 12 horas. ⁽³⁾

En casos de recidiva, se repite otra serie de 7 días y si se comprueba que el paciente sigue eliminando ooquistes en las heces, especialmente en el caso de pacientes inmunodeprimidos que presentan los cuadros más severos y rebeldes, se indica un tratamiento de mantenimiento de 3 días a la semana por 3 a 4 meses ⁽⁴⁾

En algunos de estos casos es necesario someter al paciente a una profilaxis secundaria con Cotrimoxazol 3 veces a la semana mientras perdure el estado de inmunosupresión. ⁽³⁾

Actualmente se está utilizando ciprofloxacina (500 mg), 2 veces al día y por el mismo período de tiempo, como una droga alternativa en pacientes intolerantes al cotrimoxazol. ⁽⁴⁾

***Cryptosporidium* spp.**

ANTECEDENTES.

Se considera que *Cryptosporidium* es la tercera causa de enfermedad gastrointestinal dentro de los protozoos tanto en países industrializados como en vías de desarrollo. El centro para el control y prevención de enfermedades (CDC) de Atlanta, clasifica a *Cryptosporidium parvum* como enfermedad o agente de categoría B, con lo cual cae en el segundo grupo de mas alto potencial de amenaza biológica. Poniendo eso en perspectiva, ya que la categoría A de amenazas incluye: ántrax y smallpox. ⁽¹¹⁾

En 1907, Tyzzer describió por primera vez este parásito en las criptas gástricas de ratones de laboratorio asintomáticos. ⁽¹²⁾ Llamándole *Cryptosporidium muris* e incluyó en su descripción el ciclo de vida y forma de transmisión.

En 1910 se propuso *Cryptosporidium muris* el cual fue descrito detalladamente y en 1912 se reporta *Cryptosporidium parvum* con estadíos de desarrollo sólo en el intestino delgado de ratones y ooquistes pequeños. ⁽¹³⁾

En 1912 Tizzer propuso el género *Cryptosporidium*, describiendo a la vez una segunda especie: *Cryptosporidium parvum* que encontró en el intestino delgado de ratones de laboratorio, describió los ooquistes morfológicamente y los estadios de desarrollo, este mismo autor reportó años después un aislamiento de *Cryptosporidium parvum* en heces de pollo. ⁽¹⁴⁾

Slavin en 1955 reporta *Cryptosporidium meleagridis* en pavos. ⁽¹³⁾

En 1971 *Cryptosporidium* spp. fue reportado asociado a diarreas de bovinos por Panciera. ⁽¹³⁾

El primer caso de criptosporidiosis en humanos fue reportado por Nime y col. en 1976 en un paciente femenino de tres años y medio, con inmunocompromiso secundario a sarampión. ⁽¹²⁾ desde ese momento es reconocido ampliamente como patógeno en todo el mundo.

En 1977 Brownstein informan por primera vez en forma completa *Cryptosporidium* en reptiles. En 1982, son reportados por el CDC de Atlanta, los casos de 21 hombres con criptosporidiosis y SIDA en seis ciudades. ⁽¹³⁾

A partir de este año es implicado como uno de los más importantes agentes oportunistas en pacientes con SIDA. ⁽¹²⁾

En 1982 Goebel y Braendler estudiaron la fase sexual y proporcionaron una descripción detallada de la ultraestructura de la microgametogonia, microgametos, macrogametos y del inicio de la fecundación en ratones experimentalmente infectados, confirmando la localización intracelular y extracitoplasmática de *Cryptosporidium*. ⁽¹³⁾

En 1985, Upton y Current concluyen que sólo dos especies de *Cryptosporidium* afectan a mamíferos: *C. parvum*, de ooquistes pequeños (seres humanos y terneros) y *C. muris*, con ooquistes más grandes (ratones). ⁽¹²⁾

En 1987 Báez de Borges estudian la criptosporidiosis en Venezuela. ⁽¹³⁾

Las epidemias mejor documentadas han ocurrido en Inglaterra y Estados Unidos de América. En el primer país se estudiaron 25 epidemias entre 1988 y 1998, y también se encontró que fue la cuarta causa de diarreas (13%). Entre tanto, en E.U.A se analizaron 12 epidemias desde 1985. ⁽¹⁵⁾

En 1990, ocurre la aplicación de técnicas moleculares en la identificación de especies lo que contribuye a la clasificación, complejidad y conocimiento de especies y especificidad de hospedadores de *Cryptosporidium*

También se reportan aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en humanos y en 1991, Current & Garcia establecen la criptosporidiosis como una de las infecciones entéricas más comunes en el humano. En 1993 *Cryptosporidium* es reconocido como problema de salud pública asociado al agua de consumo en U.S.A. ⁽¹³⁾

El brote más grande ocurrió en Milwaukee, Wisconsin, en los Estados Unidos en 1993 donde se calcula que 400 000 personas se infectaron con *Cryptosporidium* y 100 de ellas murieron. ⁽¹⁵⁾

En 1994, se reporta que un solo ooquiste es capaz de producir infección al hombre. ⁽¹⁶⁾

En 1995, Bruzual y Arcay estudian la criptosporidiosis experimental y la influencia de agentes inmunosupresores sobre el ciclo biológico de *Cryptosporidium* y la diseminación tisular ⁽¹³⁾

La (Food and Drug Administration) FDA de E.U.A., en 1997 describe a *Cryptosporidium parvum* como un parásito unicelular y a su vez, intracelular obligado. ⁽¹⁴⁾

En 2001 Chacín-Bonilla reporta estudios realizados en el Estado Zulia (Venezuela) que sugieren que la transmisión antroponótica es dominante, lo que favorece el predominio del genotipo humano. ⁽¹⁷⁾

En 2002, Arcay señala a *Cryptosporidium* como agente ubicuo en la naturaleza debido a asociaciones ecológicas y al agua como su principal agente de diseminación. ⁽¹³⁾

DESCRIPCIÓN DEL PARÁSITO.

El genero *Cryptosporidium* es uno de alrededor de 300 géneros que incluyen 4800 especies nombradas en el Phylum Apicomplexa. Hay 16 especies de *Cryptosporidium* y cerca de 40 criptosporidia sin nombre, llamados genotipos, basados en el rRNA u otras diferencias en la secuencia genética. Un genotipo es una descripción temporal, no una taxonomía. La mayoría de estudios sobre la biología, morfología, bioquímica, huéspedes preferidos, inmunología, patogenicidad, fisiología, y prevalencia han sido dirigidos sobre *C. parvum*, una especie de importancia médica y veterinaria, debido a que tiene una amplia distribución geográfica, infecta a varias especies, produce varios ooquistes haciéndolo fácilmente obtenible, y puede ser desarrollado y estudiado in Vitro o in vivo.⁽¹⁸⁾

CLASIFICACION:

Phylum: Apicomplexa
Orden: Eucoccidiorida.
Suborden: Eimeriorina.
Familia: Cryptosporiidae.
Genero: Cryptosporidium.
Especie: parvum.

Este parásito es el causante de la criptosporidiosis, enfermedad considerada principalmente una parasitosis gastrointestinal cuya principal vía de contagio es la fecal-oral siendo el agua un importante agente para su diseminación.

En esta infección el estado inmunológico del individuo afectado es fundamental, siendo las especies pertenecientes a este género responsables de cuadros gastrointestinales y la severidad va a depender de varios factores: del hospedador, como son competencia inmunitaria, edad y estado nutricional, del número de parásitos causantes de la infección y del medio ambiente, ya que los ooquistes mantienen su infectividad durante un tiempo relativamente largo.⁽¹⁸⁾

Datos sobre *Cryptosporidium parvum* se han generalizado y extendido a otros en su género. Información en la secuencia genética, basada principalmente en el gen SSUrRNA, se ha convertido en esencial para definir nuevas especies incluyendo: *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. canis*, *C. galli*, *C. hominis* y *C. suis*.

El genoma de *Cryptosporidium* carece de genes mitocondriales, genes para el ciclo de Krebs, y aquellos para síntesis de novo, incluyendo ácidos grasos, aminoácidos y nucleósidos, indicando esto que un huésped es esencial para el suministro de sus nutrientes. El genoma de *C. parvum* y *C. hominis* difiere en la mayoría de las vías metabólicas de otros Apicomplexa, explicando porque drogas dirigidas para *Plasmodium*, *Toxoplasma* y *Eimeria* fallan en el tratamiento de criptosporidiosis.⁽¹⁸⁾

Históricamente dos parásitos morfológicamente distintos, del tracto gastrointestinal de ratones fueron originalmente descritos por Ernest E. Tyzzer (*Cryptosporidium muris* y *Cryptosporidium parvum*). Más tarde se pensó que estas coccidias parasitaban a todos los mamíferos incluyendo el ganado. Sin embargo, esto ha cambiado y en la actualidad la transmisión humano-humano es asociada a *Cryptosporidium hominis*.⁽¹⁹⁾

En muchas áreas, *C. hominis* y *C. parvum* son responsables de alrededor de 90% de los casos de criptosporidiosis en humanos. En países en desarrollo, *Cryptosporidium hominis* es responsable de la mayoría de los casos en humanos, mientras que en países Europeos y Nva. Zelanda *Cryptosporidium parvum* es responsable ligeramente de mas infecciones en humanos que *Cryptosporidium hominis*.⁽²⁰⁾

Diferencias geográficas y estacionales en la distribución de *C. parvum* y *C. hominis* han sido observadas en países como Inglaterra y Nva Zelanda, con *C. parvum* más frecuente en primavera y en áreas rurales y *C. hominis* mayormente observado en el otoño y en áreas urbanas y en viajeros.⁽²⁰⁾

En Holanda, se aisló ADN de muestras de heces, positivas para *Cryptosporidium* y mediante determinación del genotipo se encontró que 69% correspondía a *Cryptosporidium hominis*, 21% a *Cryptosporidium parvum*, 9% *Cryptosporidium hominis*/ *Cryptosporidium parvum* mezclados y 1% *Cryptosporidium felis*.⁽²¹⁾

Análisis moleculares en la epidemiología de la infección en humanos muestran a *C. hominis* con picos en otoño. Para humanos y ganado *C. parvum* fue encontrado de forma constante a través del año.

C. hominis no ha sido aislado en ganado, indicando que la vía de transmisión humano-humano puede ocurrir y causar infección. Dada la alta prevalencia de *C. parvum* en humano y ganado, la transmisión zoonótica puede ocurrir.

En ganado solamente *C. parvum* ha sido encontrado.⁽²¹⁾

El género *Cryptosporidium* está formado por ooquistes que miden entre 4.5 – 5.0 micrómetros de diámetro⁽¹⁴⁾, los cuales son los más pequeños de los coccidios y se describen dos tipos: uno de pared gruesa que sale al exterior con las heces, resistente y transmisible por vía oral y el otro de pared delgada que posee una unidad de membrana simple, responsable de la infección endógena o autoinfección.⁽¹³⁾

Se han identificado nuevas proteínas incluyendo: proteínas de superficie (glicoproteínas y lipoproteínas) potencialmente involucradas en la interacción parásito – célula huésped, evasión de la inmunidad por proteínas tipo ATPasas involucradas en el transporte catiónico, y trombospondina relacionada con las proteínas de adhesión.⁽¹⁸⁾

La identificación de 9 proteínas y el descubrimiento de moléculas conteniendo N-acetil-galactosamina en la superficie de los ooquistes, indican la complicada estructura química de la pared de estos.⁽¹⁸⁾

Los estadios del ciclo de vida del parásito incluyen ooquistes maduros e inmaduros, esporozoítos, trofozoítos, esquizontes tipo I (de primera generación), esquizontes tipo II (de segunda generación), merontes o gamontes, merozoítos, progametocitos que son los precursores de las células sexuales diferenciadas, llamadas microgametocitos y macrogametocitos además de cigotos.⁽¹³⁾

Los esporozoítos tienen forma generalmente curva con la parte anterior ligeramente punteada y la parte posterior está redondeada y presentan un núcleo prominente en el tercio posterior del cuerpo.

Las formas intracelulares de trofozoítos son redondas u ovales y miden de 2 a 2.5 micrómetros de diámetro. Existen estadios transitorios de esporozoítos y merozoítos a merontes.

Estos estadios de desarrollo se presentan en el interior de una vacuola rodeada por la membrana celular del hospedero.⁽¹⁴⁾

Los trofozoítos se caracterizan además por tener un gran núcleo que mide de 1.0 a 1.3 micrómetros de diámetro, con un gran nucleolo y por la ausencia del complejo apical, estructura que caracteriza a esporozoítos y merozoítos.

Los merozoítos tipo I y II son morfológicamente iguales, curvos con la parte anterior redondeada y la posterior punteada, miden aproximadamente 5 x 1 micrómetros, contienen una vesícula nuclear, retículo endoplásmico y diversos gránulos no definidos. Como en la mayoría de los merozoítos coccidia, en la parte anterior se encuentran organelos tales como conoides, anillo polar, vacuolas y micronemas, pero no contienen cuerpos retractiles, mitocondria, microporos ni gránulos de polisacáridos.

Los microgametos son aparentemente de vida corta, ya que no es fácil encontrarlos.⁽¹⁴⁾

En estadios tempranos, los microgametos contienen partes condensadas de Acido nucleico, ribosomas, retículo endoplásmico y vacuolas delimitadas por membrana. Entre 14 y 16 microgametos se desarrollan a microgametocitos que pueden medir de 4 – 5 micrómetros de diámetro.

Los microgametos maduros de *Cryptosporidium sp.* (0.95 por 0.4 micrómetros) tienen forma de cuña con un polo apical dilatado y cubierto externamente por una membrana doble, que cubre una membrana interna del polo apical. Además, en el polo apical se presenta un anillo polar a partir del cual se extienden los microtúbulos en un arreglo paralelo, presentan un núcleo compacto lleno de cuerpos alargados y una mitocondria adyacente.⁽¹⁴⁾

Los macrogametos son casi esféricos, contienen un núcleo grande y sencillo, retículo endoplásmico que se encuentra rodeado por una membrana doble llamada cutícula. Debajo del citoplasma de los microgametos se encuentra un organelo de alimentación. Estos parásitos son esferas intracelulares minúsculas (2-5 micrómetros), que se encuentran justamente debajo del epitelio mucoso del estómago o intestino.

Los ooquistes son la forma infecciosa pues son estos los que son evacuados en las heces. ⁽¹⁴⁾ FIG.5,6.

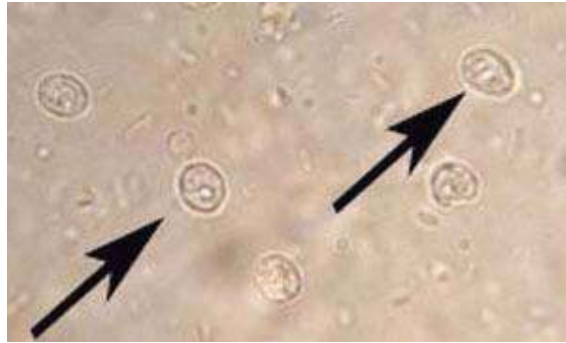


FIGURA 5. OOQUISTES DE *Cryptosporidium parvum*.
www.dpd.cdc.gov/dpdx/html



FIGURA 6. OOQUISTES MADUROS DE *Cryptosporidium parvum*.
www.dpd.cdc.gov/dpdx/html

CICLO BIOLÓGICO.

La infección es transmitida por la ingestión de ooquistes maduros, los cuales son infectivos inmediatamente después de ser eliminados en las heces.

Su transmisión ha sido relacionada a la ingestión de aguas contaminadas con materia fecal, a la ingestión de alimentos contaminados y a la transmisión persona a persona.⁽²²⁾

Aunque el desarrollo generalmente ocurre en el epitelio gastrointestinal, hay otras superficies que pueden llegar a ser infectadas, particularmente la vesícula biliar y los conductos pancreáticos y biliares. La primera etapa del desarrollo llamada exquistación se inicia con la liberación de cuatro esporozoitos a través de una hendidura que se abre a lo largo de una comisura en la pared del ooquiste. La comisura es una especie de grieta que se extiende desde un polo hasta un tercio de la mitad de la circunferencia del ooquiste. Al debilitarse la comisura por efecto de las enzimas producidas por este organismo se separan los márgenes y se forma una abertura a través de la cual se escapan los esporozoitos.

Cada esporozoito es capaz de infectar un enterocito⁽¹⁾

Desde la exquistación los esporozoitos abren la superficie de las células epiteliales del hospedero, sin penetrar en el citoplasma. Cuando los ooquistes se alojan en el intestino delgado las microvellosidades se doblan formando una cavidad membranosa alrededor del parásito. Esto es seguido de un desarrollo de la membrana en el sitio de fusión con la base del parásito entre la membrana plasmática de este y la membrana del hospedero, lo que la deteriora y forma un organelo para su alimentación, quedando perfectamente plegado y en contacto directo con el citoplasma de la célula del hospedero, formando una vacuola parasitófora.⁽¹⁴⁾

El esporozoito se transforma en un trofozoito esférico, con un núcleo prominente (merogonio), dando inicio la etapa llamada merogonia. El trofozoito se multiplica asexualmente en seis u ocho merozoitos tipo I. El merogonio al romperse, libera los merozoitos de la vacuola parasitófora, los cuales atacan a células no infectadas y pueden así repetir el ciclo de reproducción asexual o bien derivar en merogonios tipo II o merontes. Cada merozoito tipo I produce cuatro merozoitos tipo II (gametogonios), que parasitan nuevas células no infectadas, dando inicio a la reproducción sexual.

La mayoría de los merozoitos tipo II forman macrogametos (femeninos), y el resto son microgametos (masculinos), los cuales por división nuclear dan origen a microgametos no flagelados. Los microgametos liberados fecundan a los macrogametos que se encuentran fijados al intestino, formando ooquistes diploides que sufren una transformación esporogónica, produciéndose cuatro esporozoitos haploide de cada ooquiste y que son excretados en las heces.

⁽¹⁴⁾ FIG.7.

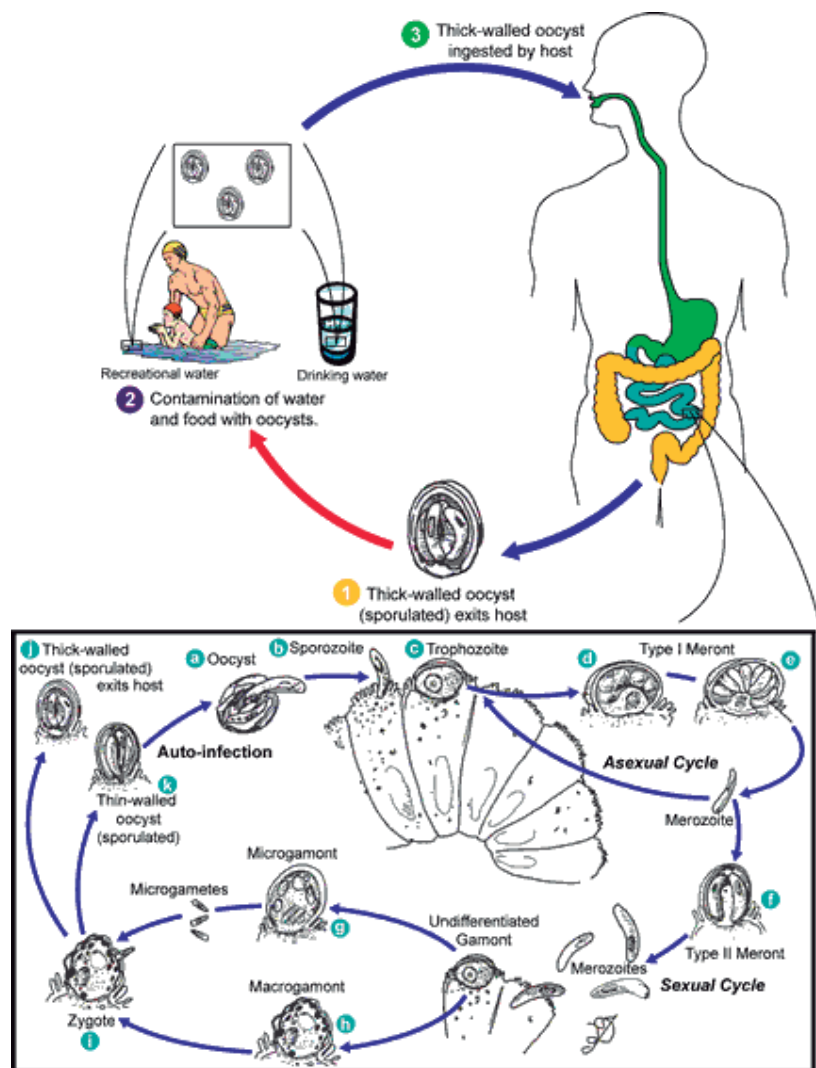


FIGURA 7. CICLO BIOLÓGICO *C. spp.*
TOMADO DE:
www.dpd.cdc.gov/dpdx/htm

MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Las infecciones con *Cryptosporidium* pueden ser separadas en dos grupos:

- Pacientes con funciones inmunes intactas que desarrollan una diarrea acuosa profusa, con dolor epigástrico, náusea, calambres epigástricos y anorexia, es autolimitante y dura de 10 a 15 días.⁽¹⁴⁾
- Pacientes inmunocomprometidos, como los enfermos de SIDA o aquellos que reciben medicamentos inmunosupresores, desarrollan una infección más severa y prolongada durante algunas semanas, meses o años.⁽¹⁴⁾

La severidad de los síntomas está relacionada con la cantidad de ooquistes en las evacuaciones.⁽¹⁴⁾

El periodo de prepatencia (tiempo entre la infección y la eliminación de ooquistes), varía de 2 a 14 días, en la mayoría de los animales domésticos mientras que el periodo de patencia (duración de la excreción de ooquistes), es variable dentro de las diferentes especies de hospedadores, desde varios días a varios meses. En humanos inmunocompetentes, estimando la fecha de infección accidental, se ha calculado un periodo de prepatencia entre 5 y 28 días, con una media de 7,2 días y un periodo de patencia que puede oscilar entre 8 y 31 días, aunque pudiera prolongarse de forma intermitente. En los pacientes con SIDA la eliminación de ooquistes puede ser indefinida.⁽¹³⁾

La dosis infectiva 50 de *Cryptosporidium* spp. en humanos, es aproximadamente de 132 ooquistes, aunque un voluntario fue infectado con tan solo 30. Parece que tanto el hombre como los animales tienen distintos grados de susceptibilidad a este parásito y el inóculo probablemente puede variar de un individuo a otro.⁽¹³⁾

La diarrea acuosa voluminosa que se observa, especialmente en pacientes inmunodeficientes y su persistencia después de eliminar la ingesta oral, así como la infrecuente presencia de eritrocitos y leucocitos en heces, hablan a favor de la posibilidad de un mecanismo secretor mediado por una toxina.⁽¹³⁾

Ocasionalmente se presentan síntomas no específicos, como malestar, anorexia y neuralgia.

La diarrea es la mayor causa de muerte por esta enfermedad, principalmente en los niños de países subdesarrollados, aunque se desconoce realmente su morbilidad y mortalidad.⁽¹⁷⁾

En una mayor frecuencia los individuos VIH positivos para *Cryptosporidium* se asocian con afecciones biliares y vómito, luego del primer año de infección.⁽²³⁾

El pronóstico para los pacientes con SIDA es 100% negativo ya que *Cryptosporidium* representa para ellos el enteropatógeno más riesgoso, llegándoles a producir entre 6 y 17 litros de heces por día, generalmente estos pacientes mueren, aunque se han reportado casos de recuperación espontánea.⁽¹⁴⁾

PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA.

Cryptosporidium reside en el borde de las criptas vellosas, dentro de la membrana exterior limitante de las células epiteliales de la mucosa del aparato digestivo, en especial en la superficie de las vellosidades del intestino delgado inferior. ⁽¹⁴⁾

Aún no se comprende a la perfección el mecanismo por el que *Cryptosporidium spp.* produce diarrea en el humano. La arquitectura de las vellosidades de la mucosa intestinal usualmente permanece normal, pero pueden ocurrir alteraciones histológicas inespecíficas. Se ha observado atrofia leve o moderada de las vellosidades, aumento de tamaño de las criptas e infiltrado inflamatorio de la lámina propia, con polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas. En infecciones severas pueden observarse anomalías morfológicas duodenales intensas, con aplastamiento de las vellosidades.

La susceptibilidad aumentada de los enfermos de SIDA a la criptosporidiosis grave es evidencia de la importancia del sistema inmunitario.

Además, el sistema inmunitario del hospedador, en respuesta mediada por citoquinas estimuladas por el parásito invasor, ejerce efecto amplificador sobre la respuesta secretoria. Los macrófagos que infiltran la lámina propia secretan factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el cual estimula los fibroblastos y otras células de la lámina propia para producir prostaglandina E₂ (PGE₂) la cual potencia la secreción de cloro (Cl⁻) e inhibe la absorción de cloruro de sodio (NaCl). En el caso de que la respuesta del hospedador fuese predominantemente de infiltrado de linfocitos polimorfonucleares, tendríamos estimulación de la síntesis de prostaglandinas y otros productos derivados de los neutrófilos como radicales libres de oxígeno o intermediarios de monofosfato de adenina monocíclico (AMPc), los cuales también estimulan la secreción intestinal.

La diarrea podría ser debida a mala absorción debida a la atrofia de las vellosidades intestinales con la consiguiente disminución del área de absorción y de las enzimas del borde en cepillo de los enterocitos. La absorción alterada de grasas y carbohidratos puede desempeñar un papel importante, especialmente en los pacientes con SIDA. ⁽¹³⁾

Cryptosporidium parvum induce apoptosis en el epitelio biliar por un mecanismo dependiente de Fas/ FasL (los linfocitos T citotóxicos al reconocer al antígeno expresa ligando de Fas; la interacción ligando de Fas con Fas de la superficie celular induce apoptosis de la célula que expresa Fas) que implica las vías autócrina y parácrina. ⁽¹²⁾

Se han estudiado los efectos de ataque e invasión producidas por *C. parvum*, encontrando que los epítopes (determinantes antigénicos) Gal/ GalNAc de glicoproteínas epiteliales de la membrana apical y las lectinas de la superficie del esporozoito, específicas para Gal/ GalNAc, están implicadas en el mecanismo de anclaje a las células epiteliales intestinales y biliares, y para que se produzca la invasión de las células del huésped por *C. parvum* se requiere la actina.⁽²⁴⁾

La infección por *Cryptosporidium* spp. en el hospedador inmunocompetente es generalmente autolimitada y deja en el sujeto inmunidad sólida ante la re-infección. Todo lo contrario ocurre en el paciente con deficiencias linfocitarias o de gammaglobulinas, congénitas o adquiridas, donde pudieran ocurrir infecciones graves crónicas; estos hechos sugieren que ambos mecanismos, celular y humoral de defensa están implicados en la resolución de la infección y en el desarrollo de la inmunidad.⁽¹³⁾

Gracias a que las inmunoglobulinas IgM, IgG, IgA, IgE específicas para *Cryptosporidium* han sido detectadas en suero humano, se ha encontrado que individuos con SIDA presentan un incremento de la producción de IgG durante la cryptosporidiosis crónica, lo que hace evidente que la respuesta humoral por si sola no proporciona la inmunidad necesaria.

Diez muestras de suero obtenidas de pacientes inmunocompetentes, recolectadas en diferentes momentos después de la infección, mostraron un aumento cuádruple en el título de anticuerpos IgA, IgG, IgM e IgE. El mayor incremento se dió en IgE y el menor en IgG.

Un análisis de la región de las microvellosidades de la mucosa intestinal donde se localiza al parásito permite apreciar, en pacientes con SIDA con alta producción de IgG e IgM, su incapacidad para eliminar la infección. Parece ser que las secreciones de IgA, en cooperación con un mecanismo mediado por células, son necesarias para eliminar la infección de la mucosa intestinal y producir resistencia inmunológica en el hospedero. Por medio de microscopía electrónica del intestino de ratas jóvenes infectadas con *C. parvum* se observó la migración de la masa de células inmunocompetentes del huésped (eosinófilos, neutrófilos y macrófagos) en el lumen intestinal, así como algunos linfocitos. Las células inmunocompetentes incluidas dentro del fagosoma con diferentes estadios endogénicos de *C. parvum*. Los macrófagos con vacuolas parasitarias extracitoplásmicas típicas formadas por *C. parvum* también se observaron en el lumen intestinal. En la superficie de los macrófagos se apreciaron casi todos los estadios de *C. parvum*, sin embargo, no se encontró en la lámina propia de las vellosidades intestinales ningún macrófago con parásitos. Se desconoce el sitio de infección de los macrófagos y se sugiere que es muy probable la sobrevivencia de *C. parvum* dentro de los macrófagos.⁽¹⁴⁾

C. parvum no infecta el tejido más allá de la superficie del epitelio intestinal.⁽¹⁴⁾

Estudios hechos por Argenzio y colaboradores en un modelo animal de criptosporidiosis en cerdos demostraron la destrucción de las vellosidades vacuoladas del ápice epitelial, acompañada por una reducción de aproximadamente el 50% del transporte de glucosa acoplado al cotransporte de sodio, lo que provoca una unión transicional del epitelio, en el cual aumenta el metabolismo de la glutamina que lleva a un intercambio de sodio, donde se acopla el transporte de cloruros. Así, la glutamina provoca la absorción neutra del cloruro de sodio aparentemente inhibiendo las prostaglandinas en el epitelio intestinal de los cerdos infectados.

La destrucción de la barrera funcional de la mucosa aumenta fuertemente la permeabilidad al manitol y la absorción ha sido documentada durante la infección sintomática activa en niños y adultos infectados con SIDA. ⁽¹⁴⁾

Las infecciones persistentes y severas observables en los sujetos infectados por el VIH/SIDA y en roedores atímicos de experimentación sugieren que los linfocitos T CD⁴⁺ son indispensables para controlar la infección y proteger contra las reinfecciones. En estos pacientes, la disminución de estas células parece también estar presente en la mucosa del intestino delgado donde ocurre la reacción inmunológica contra el parásito. Hallazgos recientes confirman estas observaciones demostrando la participación del sistema inmune mucosal en general y el sistema inmune intestinal en particular, lugar de mayor replicación viral, persistencia y pérdida de LT CD4+ en individuos infectados por VIH ⁽²⁵⁾

RESERVORIOS.

Cryptosporidium presenta una amplia distribución en diferentes organismos tales como: primates superiores, mamíferos, aves, reptiles y peces; a los cuales infecta, además el agua es su principal vehículo de transmisión. ⁽¹⁵⁾

Hasta hace poco se consideraba que sólo los genotipos bovinos y humanos de *C. parvum* infectaban al hombre. Sin embargo, recientemente se han descrito infecciones sintomáticas con *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium meleagridis* y el genotipo parecido a *Cryptosporidium parvum* aislado de perros, en pacientes con SIDA y en niños inmunocompetentes. Esto sugiere que los parásitos zoonóticos podrían jugar un papel importante. ⁽²⁶⁾

Los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* permanecen infectivos cuando son expuestos a una temperatura cercana a los 67.5° C/ min. pero se vuelven no infectivos después de la exposición a una temperatura del agua de 72.4° C o superiores por 1 minuto. Los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* también se vuelven no infecciosos después de la exposición a 64.2° C o más durante 2 minutos o por periodos mayores. ⁽¹⁴⁾

Las principales causas de contaminación para que se produzca una criptosporidiosis es el consumo de agua contaminada, de alimentos crudos o mal cocinados, llevarse objetos a la boca que han sido contaminados con las heces de una persona o animal infectado y por contacto directo con los desechos de animales infectados. Los posibles contaminantes son agua o leche contaminada sin hervir o pasteurizar, la transmisión de persona a persona y los alimentos contaminados. ⁽¹⁴⁾

DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico clínico de la criptosporidiosis intestinal es difícil porque existen pocas características diferenciales de otras patologías diarreicas, por lo que debe confrontarse con otras posibles etiologías de diarrea acuosa y, entre las más frecuentes a considerar tenemos las producidas por: *Giardia intestinalis*, *Isospora belli*, *Cyclospora cayetanensis*, *Microsporidium*, rotavirus, otros virus entéricos y *Escherichia coli* enterotoxigénica.

Para el diagnóstico, las heces u otras muestras de fluidos corporales pueden ser remitidas al laboratorio frescas o preservadas en formol al 10%, o en formalina-ácido acético-acetato de sodio.

El diagnóstico se efectúa por demostración de ooquistes en la muestra fecal, para lo cual se procede a la coloración del extendido fecal por el método de Ziehl Neelsen modificado o de Kinyoun. FIG.8. Estas técnicas son las más ampliamente usadas y generalmente, son las de elección por el laboratorio de diagnóstico clínico y facilitan la identificación, diferenciando los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar; los ooquistes se tiñen de rojo por ser ácido-alcohol resistentes, mientras que las levaduras no toman esta coloración. También se ha utilizado una nueva técnica de tinción tricrómica y ácido alcohol para la detección simultánea de *Cryptosporidium* y especies de *Microsporidias* en heces.

Se han desarrollado técnicas rápidas de inmunoanálisis enzimático (ELISA) e inmunofluorescencia directa, las cuales son de gran utilidad diagnóstica. Se trata de métodos con alta sensibilidad y especificidad en casos de heces diarreicas, pero tiene uso limitado para estudios epidemiológicos y diagnóstico de casos asintomáticos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) caracterizada por su gran sensibilidad y especificidad, es de gran utilidad para el diagnóstico y estudios taxonómicos, aunque su uso está restringido a algunos laboratorios. (13)

La tinción de Giemsa no diferencia los ooquistes de *Cryptosporidium* de las levaduras, pero es mejor que la ácido rápido para mostrar los detalles morfológicos y también ayuda cuando hay pocos microorganismos.

Otras tinciones que pueden ser utilizadas son las fluorescentes, estas incluyen el naranja de acridina, auramina - rodamina, que tiñe solo los ooquistes, y la carbofucsina, la cual puede distinguir entre levaduras y *Cryptosporidium*.

Las pruebas de Inmunofluorescencia directa, que utilizan anticuerpos monoclonales de tipo IgG marcado con fluoresceína específicos para el antígeno de la pared del ooquiste de *Cryptosporidium*, han sido utilizados en algunos laboratorios. (14)

FIGURA 8.
TOMADO DE:
www.dep.state.pa.us/depl/.../wsm-dwm/fppe/mpa.htm

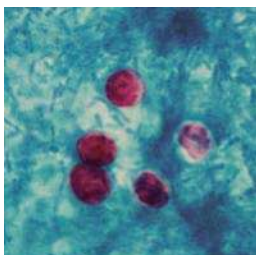
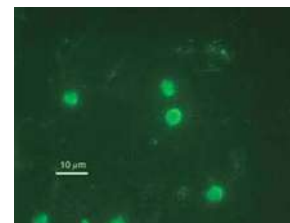


FIGURA 9.
TOMADO DE:
http://www.epa.gov/nerlcwww/cpt_seq2.htm



TRATAMIENTO.

En los pacientes inmunocompetentes, el tratamiento es sintomático. En los inmunodeprimidos sin SIDA, es suficiente tratar la causa de la inmunosupresión. En pacientes con SIDA, se han empleado antirretrovirales, espiramicina, y macrólidos como roxitromicina, critromicina y azitromicina. Últimamente se está prescribiendo un aminoglucósido oral (paramomicina), a razón de 500 mg. 4xdx4 semanas.⁽¹²⁾

También en pacientes inmunocomprometidos, el Trimetoprim sulfametoxazol y la Espiramicina han sido efectivos. A estos pacientes se les tiene que rehidratar constantemente.⁽¹⁾

Algunos investigadores estudian una enzima que permite a *Cryptosporidium parvum* reproducirse, llamada dihidrofolato reductasa–timidylato sintetasa (DHFR-TS), la cual es una enzima particularmente importante por que *Cryptosporidium parvum* la necesita para vivir. Se trata de descubrir como la enzima es ensamblada y poder así determinar como inhabilitarla. Si la enzima es desactivada el parasito no puede reproducirse y la enfermedad es curada.⁽¹¹⁾

Actualmente se estudia la eficacia de material liofilizado de yema de huevo que contiene anticuerpos anti – *Cryptosporidium*.⁽¹⁾

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En nuestro medio, el conocimiento que se tiene acerca de las coccidias emergentes es poco, la búsqueda de estos protozoarios en pacientes con síntomas gastrointestinales no se hace de rutina y el diagnóstico no es oportuno, aumentando así el deterioro del paciente. Aunado a esto, se ignoran datos importantes, tales como: Frecuencia, distribución por sexo y grupos etarios, prevalencia en niños inmucomprometidos y sanos, cuadro clínico, estacionalidad y asociación con otros parásitos.

Con esta investigación se pretende establecer las características más relevantes y contribuir así a la búsqueda intencionada e identificación de estos protozoos en los niños que acuden al Hospital Infantil de Morelia "Eva Sámano de López Mateos".

JUSTIFICACIÓN.

Se considera que en E.U.A., los protozoos parásitos podrían ser los responsables de cerca de 7% de las 672 epidemias originadas desde 1946 a 1980 por el consumo de agua.⁽¹⁵⁾

Además en este mismo país se encontraron ooquistes de *C. parvum* en 97% de las muestras en distintas fuentes de agua; 83% eran de manantiales y en 27 a 28% en muestras de agua para consumo humano. La mayor concentración de ooquistes se vio en aguas de libre circulación agrícola donde hay una alta influencia de la ganadería.⁽¹⁵⁾

Los brotes de criptosporidiosis por el consumo de agua, mejor documentados muestran un impacto importante en la salud pública de comunidades tanto en países industrializados como en desarrollo. El brote más grande ocurrió en Milwaukee, Wisconsin, en los Estados Unidos en 1993 donde se calcula que 400 000 personas se infectaron con *Cryptosporidium* y 100 de ellas murieron. Un evento igualmente perturbador ocurrió en Kitchener Waterloo, Ontario.⁽¹⁵⁾

En 1996 se informó en E.U.A. de la presencia de tres brotes en la primavera y verano de ese año. La CDC informó 1465 casos distribuidos en E.U.A. y Canadá y más de 1600 casos en 1997.⁽⁵⁾

En los años de 1994 y 1995 se realizó un estudio en la ciudad de Hermosillo, Sonora, México, en el agua tratada para consumo humano, en las fuentes de abastecimiento, tanques de almacenamiento y agua de la llave donde se encontraron ooquistes viables de *Cryptosporidium parvum*.⁽¹⁴⁾

Maldonado-Camargo y col en 1998, analizaron 31 granjas de México para determinar la prevalencia y factores de riesgo en la diseminación de *C. parvum* por ganado, encontrando que el 93.5% de las granjas tenían uno o más terneros que eliminaban ooquistes.⁽¹⁴⁾

Ortega y col. (1997) realizaron la búsqueda de *Cyclospora cayetanensis* y *Cryptosporidium parvum* en frutas y vegetales en una zona de Perú. Encontraron que el 1.8% de los vegetales contenían ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*, y en 14.5% se observó la presencia de ooquistes de *C. parvum*, por lo que concluyen que los vegetales y frutas pueden ser una ruta de transmisión de estos protozoos y sugieren que el simple lavado no elimina completamente los ooquistes de estos protozoarios.⁽¹⁴⁾

En Costa Rica durante el 2001 y 2002 se realizó un estudio en frutas y vegetales frescos de consumo humano para determinar el riesgo de transmisión por estos, encontrando a *Cryptosporidium spp.* en todos los productos excepto en las fresas. La lechuga presentó el mayor porcentaje de positividad (24%) y se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la estación lluviosa (24%) y la seca (4%). *Cyclospora cayetanensis* únicamente fue aislado a partir de la lechuga con una prevalencia del 4%.⁽²⁷⁾

Ortega y colaboradores, en el año de 1993 en Perú, encontraron que infecciones por *Cyclospora* y *Cryptosporidium* ocurrieron al mismo tiempo durante el año (abril a junio) y afectaron principalmente a niños de entre uno y dos años de edad. ⁽¹⁴⁾

La prevalencia de las coccidias *C. cayetanensis* y *C. parvum* resultó baja, 1.5% y 0.6% respectivamente en un estudio realizado en la Habana Cuba a 456 niños de 1 a 5 años de edad. ⁽²⁸⁾

En un estudio realizado de enero 2002 a junio 2004 en pacientes con diarrea crónica; se examinaron 380 muestras de heces, obteniendo: 89 (23.4%) positivos para *C. cayetanensis* y 7 (1.8%) para *Cryptosporidium spp.* La incidencia de *Cyclospora* se observó con picos en enero, abril y diciembre, mientras que *Cryptosporidium* tuvo un pico en el mes de agosto. ⁽²⁹⁾

En una evaluación realizada en Venezuela entre julio 2003 y abril 2004 a habitantes de una comunidad indígena, se determinó una prevalencia global de coccidios de 13.1%, siendo *C. cayetanensis* el más prevalente (11.9%), afectando más al grupo de 0 a 9 años (68.4%). El mayor número de casos (57.9%) se evidenció en el sexo masculino.

De los infectados por *C. cayetanensis* solo dos tenían diarrea en el momento del estudio. *C. parvum* se observó en un solo caso, lo mismo que para *I. belli*. ⁽³⁰⁾

En E.U.A se han realizado estudios de frecuencia de aislamiento de *Cyclospora cayetanensis*, con cifras que van del 0.2% al 10.9%, porcentajes que varían de acuerdo a la población estudiada y al método diagnóstico de laboratorio empleado. ⁽¹⁴⁾

En Philadelphia, Pennsylvania, el 10 de junio del 2000 se reporta un brote de ciclosporiasis en personas que acudieron a una fiesta y consumieron pastel de frambuesa. Al pastel se le practicó Reacción en Cadena Polimerasa (PCR) y se determinó la presencia de ADN de *Cyclospora cayetanensis*. ⁽³¹⁾

En Venezuela, investigadores del Hospital Pediátrico Universitario "William Soler", analizaron 7 956 muestras, entre enero del 2000 y julio del 2001, resultando el 0.2% de *Cyclospora cayetanensis*.

El grupo de niños en que se observó mayor número de casos positivos fue el de entre 2 y 7 años (45%), 60% eran del sexo masculino y 40% del femenino. Las manifestaciones clínicas fueron: diarrea acuosa en 85%, en 15% se observó que esta alternaba con constipación, fiebre y decaimiento; 45% presentaron vómitos y anorexia; el dolor abdominal se evidenció en 35%. ⁽²⁾

En un estudio realizado en México, dirigido para la búsqueda de *Cyclospora cayetanensis*; se encontró una frecuencia de 0.38% de 522 pacientes con diarrea. ⁽¹⁴⁾

En un estudio realizado en el Instituto Nacional de Pediatría de México en enero de 1996 a diciembre de 1997 se estudiaron 10 pacientes (4 meses a 12 años) en cuyas muestras fecales se encontraron ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*.

50% de los pacientes fueron de sexo femenino y 50% masculino. En 70% de los pacientes se encontró antecedente de convivencia con animales domésticos (perro, gato, gallina, perico). La sintomatología mas frecuente fue: diarrea acuosa verdosa, con presencia de moco, sin sangre, explosiva, hiporexia, náusea, vómito, dolor abdominal de localización epigástrica, meteorismo y fiebre; 45% presentaron diarrea prolongada de tipo intermitente, con mas de dos semanas de duración, se determinaron azúcares reductores en heces resultando positivos en 60% de los pacientes.

Además cursaban con enfermedades de evolución crónica como tuberculosis sistémica, infección por VIH, linfocitosis hemofagocita familiar, leucemia linfoblástica aguda y hepatitis crónica activa. ⁽³²⁾

Se tienen reportes de criptosporidiosis en todo el mundo, pero sobre todo en regiones tropicales: se presenta mayor prevalencia en los países pobres y sobre todo en poblaciones rurales. La prevalencia reportada para 1986 en Europa fue de entre 1 y 2% de los casos estudiados, y en el caso de Norteamérica la prevalencia no asociada con brotes de criptosporidiosis fue de entre 0.6 y 4.3%, pero en Asia, Australia, Centroamérica y Sudamérica la prevalencia alcanzó valores entre 10 y 20%. ⁽¹⁶⁾

De los primeros 58 casos de criptosporidiosis descritos en humanos en 1984, 69% fueron pacientes con deficiencias inmunológicas, quienes contrajeron diarrea severa o irreversible; 83% tenía SIDA; 55% de estos 40 pacientes con deficiencias inmunológicas murieron. ⁽¹⁴⁾

En Venezuela se estudiaron 78 niños con diferentes estados inmunológicos (inmunocompetentes e inmunodeprimidos).

C. parvum dentro de los protozoarios patógenos ocupó el tercer lugar, con 3 (6,1%) casos: 2 (4,1%) en Desnutridos y 1 (2,0%) en niños sanos.

Además se detectó sólo en los niños menores ó iguales a 2 años. ⁽³³⁾

La prevalencia para *Cryptosporidium spp.*, en enfermos con VIH en diferentes ciudades de diversos países varía entre 3% y 6%. ⁽²³⁾

En 1998, en pacientes pediátricos hospitalizados con edad promedio de 11 meses, se detectó 3.8% (21/553) de casos con *Cryptosporidium spp.* ⁽¹⁶⁾

En Australia, Wolfson y cols. encontraron a *Cryptosporidium parvum*; presente en el 4.1% de 884 pacientes hospitalizados por gastroenteritis, siendo esta infección más común durante el verano. Reportes similares fueron hechos en Costa Rica y Finlandia. ⁽¹⁴⁾

En Inglaterra se estudiaron 25 epidemias entre 1988 y 1998 y se encontró que *C. parvum* fue la cuarta causa de diarreas (13%) con una prevalencia mayor en niños entre 1 y 5 años. ⁽¹⁵⁾

En Perú se analizaron 79 muestras de heces de niños con edades entre 7 meses y 7 años. Resultando 7.6% de muestras positivas para *Cryptosporidium sp.* Mediante la tinción de Kinyoun y esporulación en bicromato de potasio al 2.5%. ⁽¹⁶⁾

En Colombia, por medio de modificaciones a la técnica de coloración de Ziehl – Neelsen, en heces de niños sanos, la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* fue de 32.3%, en niños con cáncer la cifra fue de 42%. Mediante pruebas de ELISA de niños sanos de 2 centros de salud la prevalencia fue de 4 y 5.8%. ⁽²³⁾

En este mismo país se encontró una prevalencia para *C. parvum* de 83.3% determinada por serología, mientras que por edades se determinó en el grupo de 0 a 14 años una prevalencia de 10.7%, de 15 a 30 años, 20% y en mayores de 30 años, 28.3%. ⁽¹⁵⁾

En Guatemala se encontró un porcentaje de positividad para *Cryptosporidium* de 20.4% en 250 pacientes.

La prevalencia de *Cryptosporidium* fue mas alta en los niños mayores de 5 años (27.6%). El grupo de niños con diarrea y *Cryptosporidium* en heces tuvieron más vómitos, dolor abdominal y diarrea que en el grupo de niños con diarrea pero sin el protozooario. Los días de duración de la diarrea fue de 4.2 ± 1.5 días en el grupo con *Cryptosporidium*. ⁽³⁴⁾

En Brasil se determinó que más de 18.7% de las diarreas en infantes se debían a *C. parvum*. ⁽¹⁵⁾

Se calcula que en México el 2.3% de los niños mayores de 3 años sufren criptosporidiosis. ⁽¹⁴⁾

Existen reportes donde aseguran haber encontrado ooquistes en la comunidad de Soledad, San Luís Potosí, en un 32% de las muestras de heces recolectadas utilizando el método convencional de flotación con sulfato de zinc. ⁽¹⁴⁾

En el Hospital Infantil de México, se examinaron a 34 niños con desnutrición de segundo o tercer grado, con edades entre 2 y 24 meses de vida.

No hubo predominancia en cuanto al sexo. Los niños con *Cryptosporidium* tenían un déficit ponderal de 29.3%. Los pacientes que mostraron azúcares reductores positivos en heces no aumentaron de peso durante su estancia. Los niños duraron en promedio 54.6 días con diarrea; el tiempo de estancia hospitalaria fue de 68 días y la fiebre estuvo presente en 93%.

Se observó un mayor número de muertes en el grupo de los niños con *Cryptosporidium* (n= 2) que en el de controles (n= 0).⁽³⁴⁾

Díaz y colaboradores en 1999 realizaron un estudio en niños de hasta 5 años de edad que presentaron cuadro diarreico, donde se encontró una incidencia mayor de *Cryptosporidium* que de *Giardia lamblia*.⁽¹⁴⁾

OBJETIVO GENERAL.

Conocer la frecuencia y distribución de las coccidias *Cryptosporidium spp.* y *Cyclospora cayetanensis*, en niños que acuden al Hospital Infantil de Morelia "Eva Sámano de López Mateos".

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 1) Determinar la frecuencia de *Cryptosporidium spp.* y *Cyclospora cayetanensis*.
- 2) Conocer la distribución por sexo y grupos etarios.
- 3) Correlacionar los casos con pacientes inmunocomprometidos.
- 4) Enlistar los síntomas encontrados en los pacientes con coccidias.
- 5) Describir la estacionalidad de las coccidias.
- 6) Conocer la asociación de las coccidias con otros parásitos intestinales.

METODOLOGÍA

Este es un estudio de tipo Retrospectivo Descriptivo Transversal.

En este trabajo se estudiaron muestras de heces remitidas al Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología, de 6551 niños que acudieron al Hospital Infantil de Morelia, del servicio de consulta externa y hospitalizados con síntomas gastrointestinales, a las que se realizó examen coproparasitológico en fresco con solución salina isotónica (ssi) y yodo-lugol; de concentración por flotación (Técnica de Faust), por sedimentación (Técnica de Ritchie) y tinciones permanentes (Kinyoun), así como micrometría, para demostrar la presencia de parásitos, en el periodo comprendido entre 1º de Enero de 2000 al 31 de Diciembre de 2006.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Niños menores de 15 años, de ambos sexos, con molestias gastrointestinales, a quienes se les realizó búsqueda de parásitos intestinales por las técnicas antes mencionadas y se demostró la presencia de coccidias intestinales.

Niños con las características anteriores y que además eran pacientes inmunocomprometidos; señalando que el estado de inmunocompromiso era debido a alguno de los siguientes padecimientos: Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), sepsis, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), adenomegalia, desnutrición, meningoencefalitis, Guillen Barré y síndrome nefrótico.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Niños a quienes se les realizó exámenes coproparasitológicos, pero no se demostró la presencia de parásitos intestinales.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Pacientes mayores de 16 años remitidos al Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología.

FUENTES DE INFORMACIÓN:

Las fuentes de información son los expedientes clínicos, libreta de registro de muestras y tarjetas de trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Las muestras fecales son llevadas al laboratorio acompañadas de una solicitud donde se indica el tipo de estudio que se requiere, con datos como: nombre del paciente, edad, sexo, fecha de solicitud, diagnóstico presuntivo, número de expediente, servicio de procedencia y el nombre del médico que solicita el estudio.

Se recibieron las muestras de heces frescas de niños menores de 2 años en cucharilla rectal y/o frasco de vidrio o plástico limpio, de niños mayores de 2 años en frasco de vidrio o plástico limpio, de boca ancha con tapadera y correctamente etiquetado con la identificación del paciente, depositándolas en un contenedor especial, posteriormente se realizó un examen cuidadoso de la muestra para observar la presencia de moco, sangre o cualquier otra característica de la materia fecal. Además se recibieron muestras en frasco limpios de boca ancha con formol al 10%, para la conservación de las muestras que no podían ser remitidas de forma inmediata al laboratorio.

Las muestras fueron procesadas por examen coproparasitológico en fresco con solución salina isotónica y yodo lugol, por técnicas de concentración por sedimentación con formol – eter (Técnica de Ritchie) y flotación con Sulfato de Zinc (Técnica de Faust). Puesto que estos parásitos son ácido alcohol resistentes se realizó tinción permanente (Tinción de Kinyoun). Así mismo, fue necesario medir las formas de los parásitos observados para una mejor diferenciación y diagnóstico de las coccidias, haciendo uso de la micrometría.

(APENDICE I,II)

RESULTADOS.

Del 1º de enero 2000 al 31 de diciembre 2006, se remitieron al Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología un total de 6,551 pacientes, para la búsqueda de parásitos, resultando 49.4% (3,238) de casos positivos para algún patógeno (GRAF.1); de estos, 55 (1.69%) casos correspondieron a *Cryptosporidium spp* y 45 (1.38%) a *Cyclospora cayetanensis* (GRAF.2), observándose su variación anual (TABLA I).

GRÁFICO 1. NIÑOS CON PARÁSITOS PATÓGENOS.
HOSPITAL INFANTIL 2000 - 2006

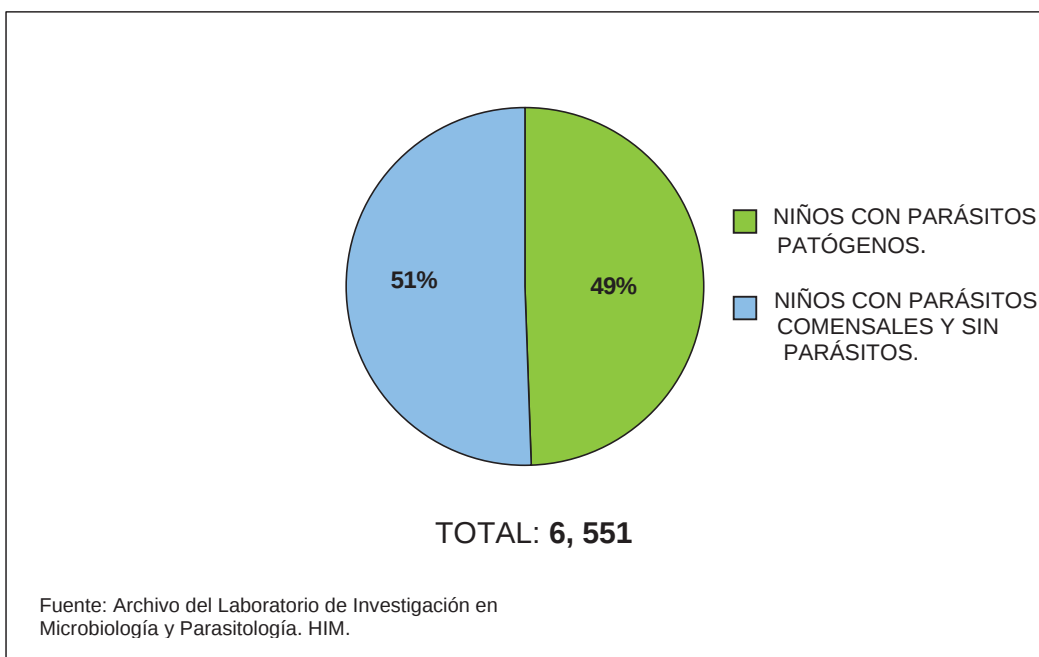
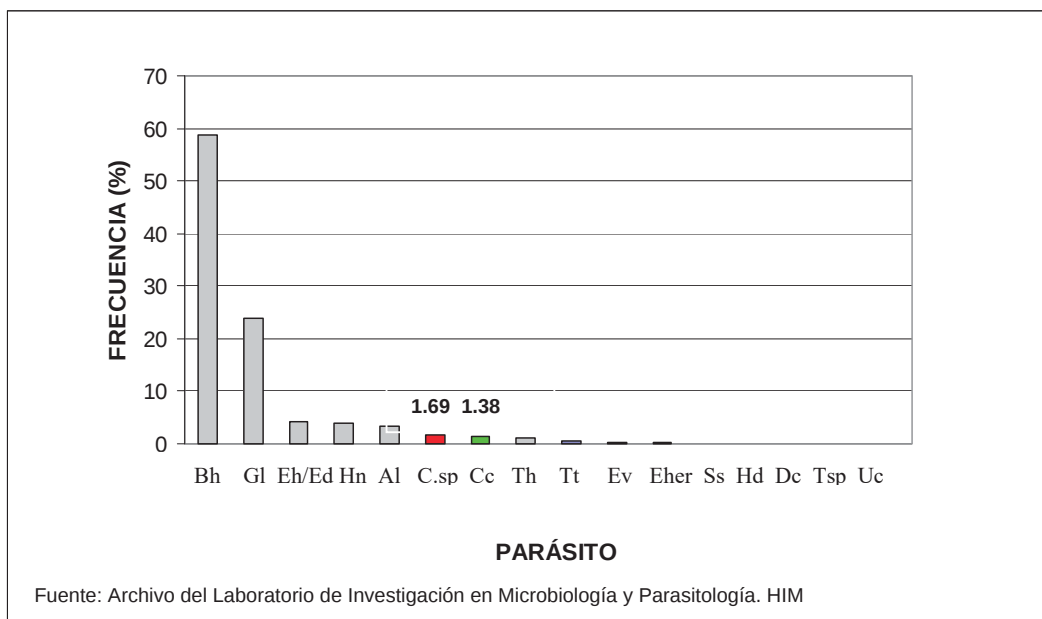


GRÁFICO 2. FRECUENCIA DE PARÁSITOS PATÓGENOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA. 2000 – 2006.



ABREVIATURA	NOMBRE DEL PARÁSITO	ABREVIATURA	NOMBRE DEL PARÁSITO
Bh.	<i>Balstocystis hominis</i>	Tt.	<i>Trichuris trichiura</i>
Gl.	<i>Giardia lamblia</i>	Ev.	<i>Enterobius vermicularis</i>
Eh.	<i>Entamoeba histolytica</i>	Eher.	<i>Entamoeba histolytica eritrofaga.</i>
Ed.	<i>Entamoeba dispar</i>	Ss.	<i>Strongyloides stercoralis</i>
Hn.	<i>Hymenolepis nana</i>	Hd.	<i>Hymenolepis diminuta</i>
Al.	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Dc.	<i>Dipylidium caninum</i>
C. spp.	<i>Cryptosporidium spp.</i>	Tsp.	<i>Taenia sp.</i>
Cc.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Uc.	<i>Uncinarias</i>
Th.	<i>Trichomonas hominis</i>		

TABLA I. CASOS DE COCCIDIAS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA 2000 – 2006.

AÑO	PACIENTES CON <i>Cryptosporidium spp.</i>	PACIENTES CON <i>Cyclospora cayetanensis</i>
2000	13	1
2001	4	4
2002	16	1
2003	6	14
2004	8	8
2005	1	12
2006	7	5
TOTAL	55	45

Fuente: Archivo del Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología. HIM.

De los casos encontrados con *Cryptosporidium spp*, 54.5% pertenecían al sexo masculino y 45.4% al sexo femenino, mientras que para *Cyclospora cayetanensis* 60% fue para el sexo masculino y 40% para el sexo femenino

(TABLA II).

TABLA II. DISTRIBUCIÓN DE COCCIDIAS POR SEXO Y SU VARIACIÓN ANUAL.

	<i>Cryptosporidium spp.</i>		<i>Cyclospora cayetanensis.</i>	
AÑO	MASCULINO	FEMENINO	MASCULINO	FEMENINO
2000	7	6	0	1
2001	1	3	1	3
2002	8	8	1	0
2003	4	2	9	5
2004	7	1	4	4
2005	1	0	9	3
2006	2	5	3	2
TOTAL	30 (54.5%)	25 (45.4%)	27 (60%)	18 (40%)

Fuente: Archivo del Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología. HIM.

El grupo etario con mayor número de casos reportados con *Cryptosporidium spp.* fue el de niños menores de 5 años (87.2%), especialmente los menores de 1 año (23.6%). Los casos de *Cyclospora cayetanensis* se observaron en niños entre 2 y 5 años (55.5%); con una mayor frecuencia en los de 2 años (28.8%) (GRAF. 3).

La media de la edad en años, para el grupo de niños infectados con *Cryptosporidium spp* fue de 2.9 y para el grupo de pacientes con *Cyclospora cayetanensis* la media fue de 5.5 (TABLA III).

GRÁFICO 3. DISTRIBUCIÓN DE COCCIDIAS POR GRUPOS ETARIOS
2000 – 2006.

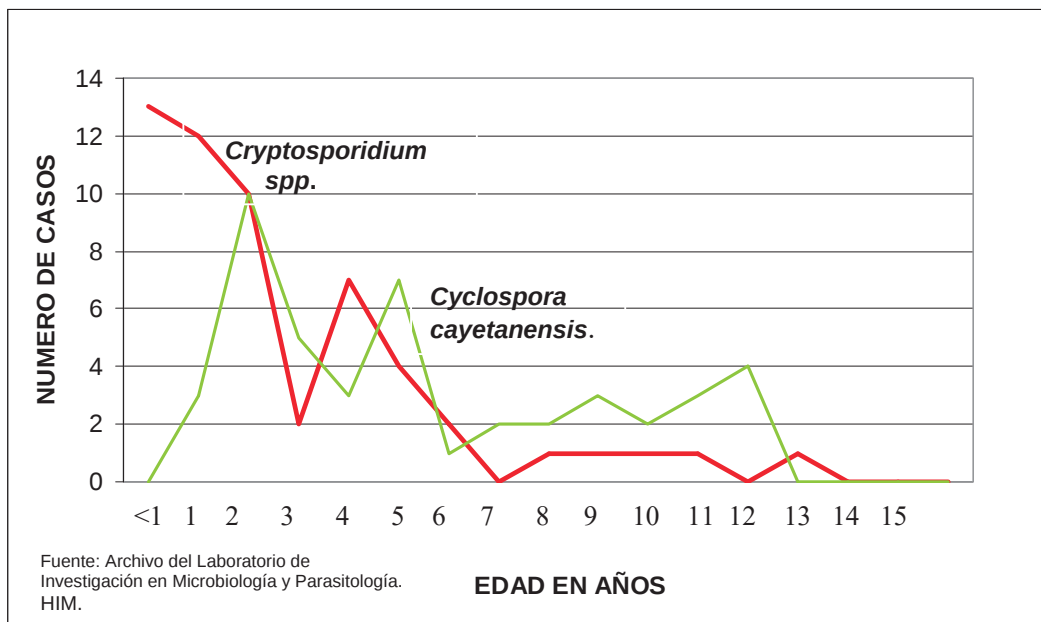


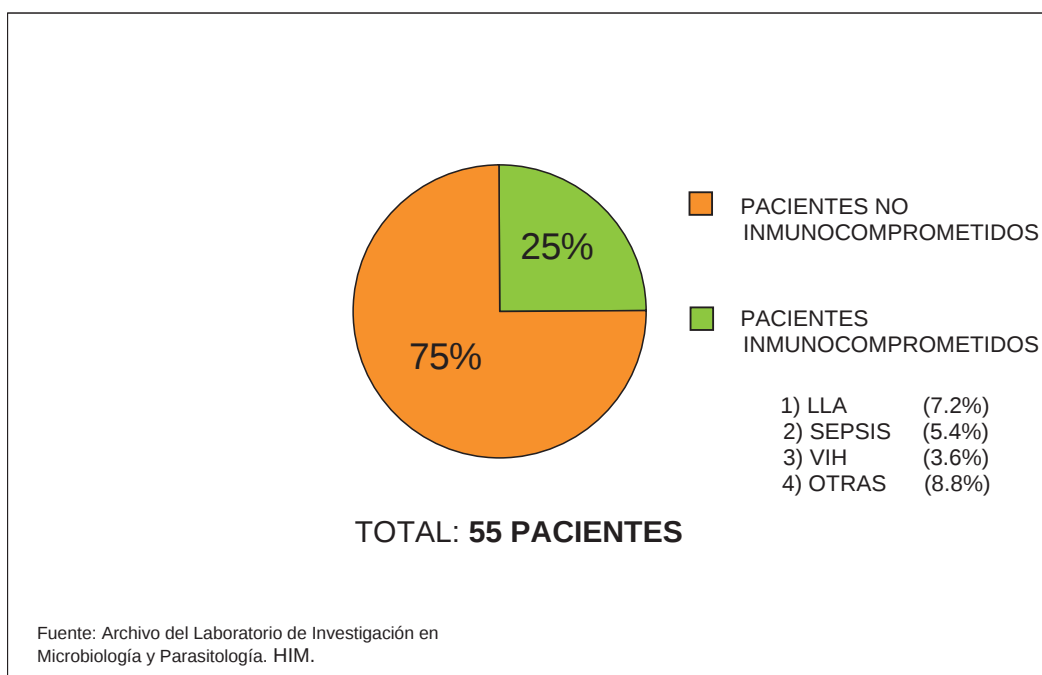
TABLA III. MEDIDAS DESCRIPTIVAS.
GRUPOS ETARIOS.

MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL.	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
MEDIA ($\bar{x}$)	2.9	5.5
MEDIANA	2	5
MODA	< 1	2

MEDIDAS DE DISPERSIÓN	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
RANGO (R)	12.1	11
DESVIACIÓN ESTÁNDAR (S)	2.7	3.5
VARIANZA(S^2)	7.2	12.2
COEFICIENTE DE VARIACIÓN. (C.V. %)	93.1	63.6

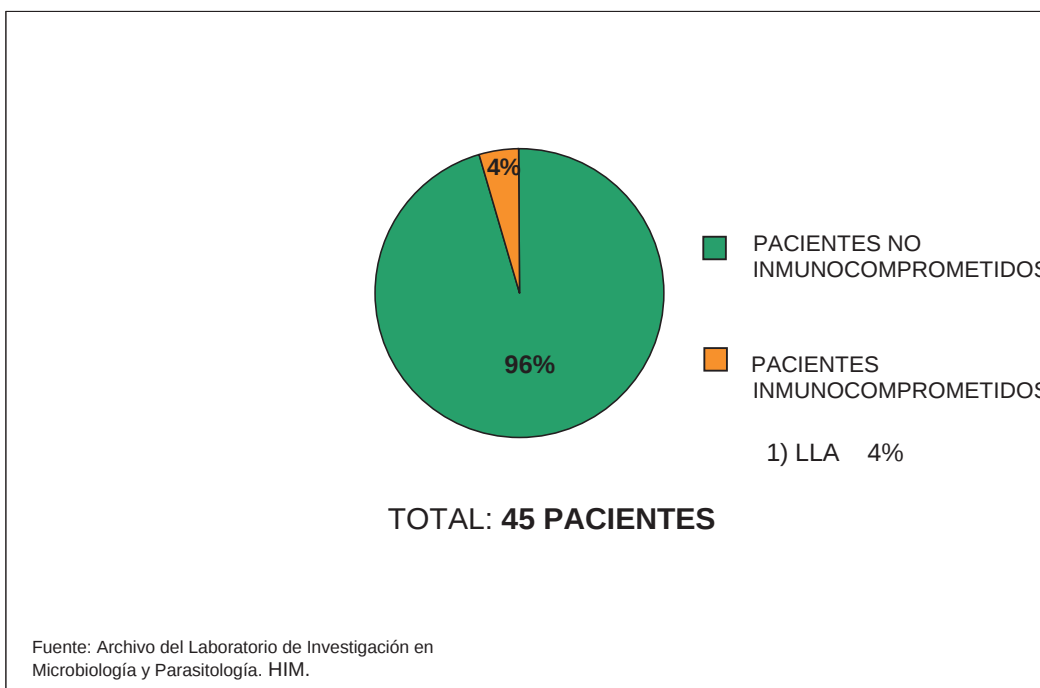
Con respecto a la asociación de *Cryptosporidium spp.* y pacientes inmucomprometidos, obtuvimos que 25% correspondió a pacientes que tenían diagnóstico de alguna inmunodeficiencia y 75% fueron pacientes sin este tipo de diagnóstico (GRAF. 4).

GRÁFICO 4. *Cryptosporidium spp.* ASOCIADO A PACIENTES A PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA.



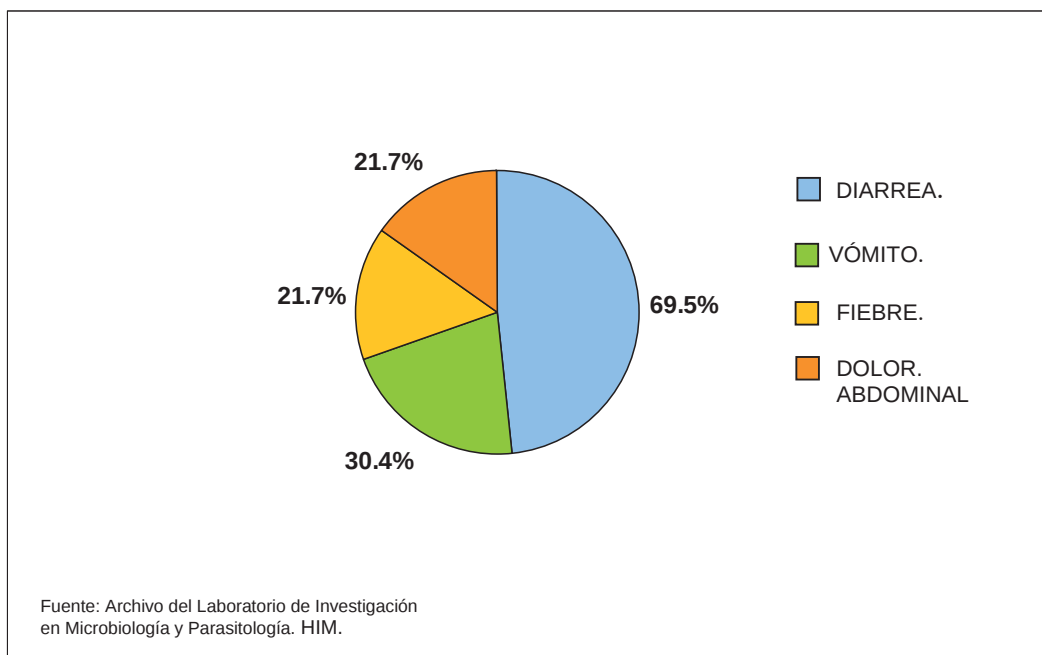
De los pacientes con *Cyclospora cayetanensis*, 96% fueron pacientes sin diagnóstico de este tipo y el 4% restante eran pacientes con diagnóstico de inmunodeficiencia (GRAF. 5).

GRÁFICO 5. *Cyclospora cayetanensis* ASOCIADO A PACIENTES INMUCOMPROMETIDOS DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA.



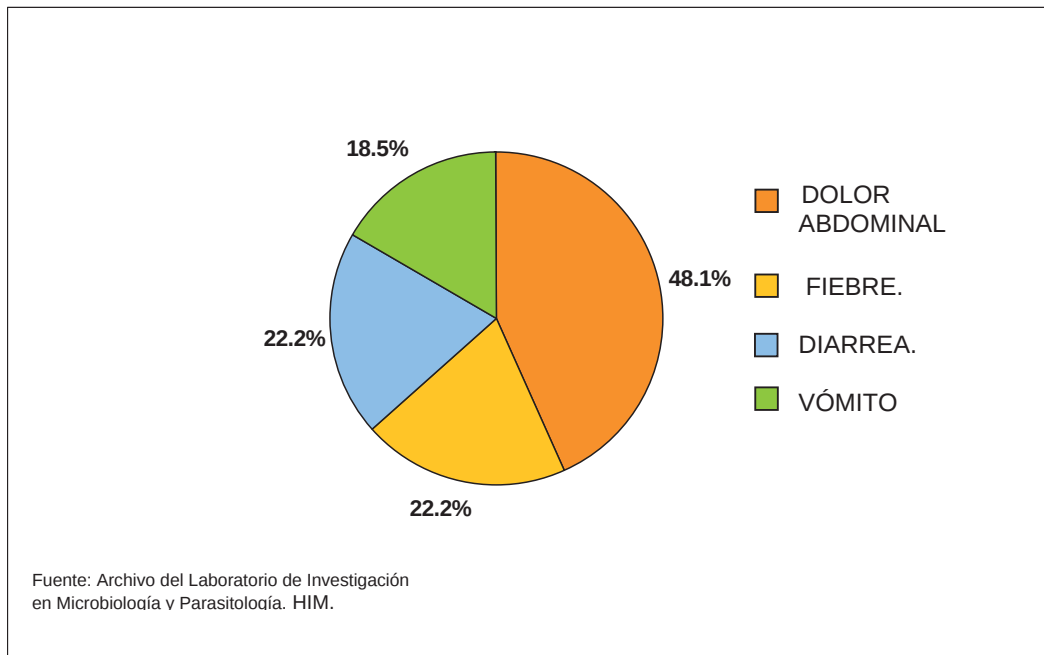
Los síntomas más frecuentemente encontrados en los casos de *Cryptosporidium spp.*, fueron: Diarrea (69.5%), Vómito (30.4%), Fiebre (21.7%) y Dolor abdominal (21.7%) (GRAF. 6).

GRÁFICO 6. SÍNTOMAS ASOCIADOS A *Cryptosporidium spp.* EN PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA 2000 -2006.



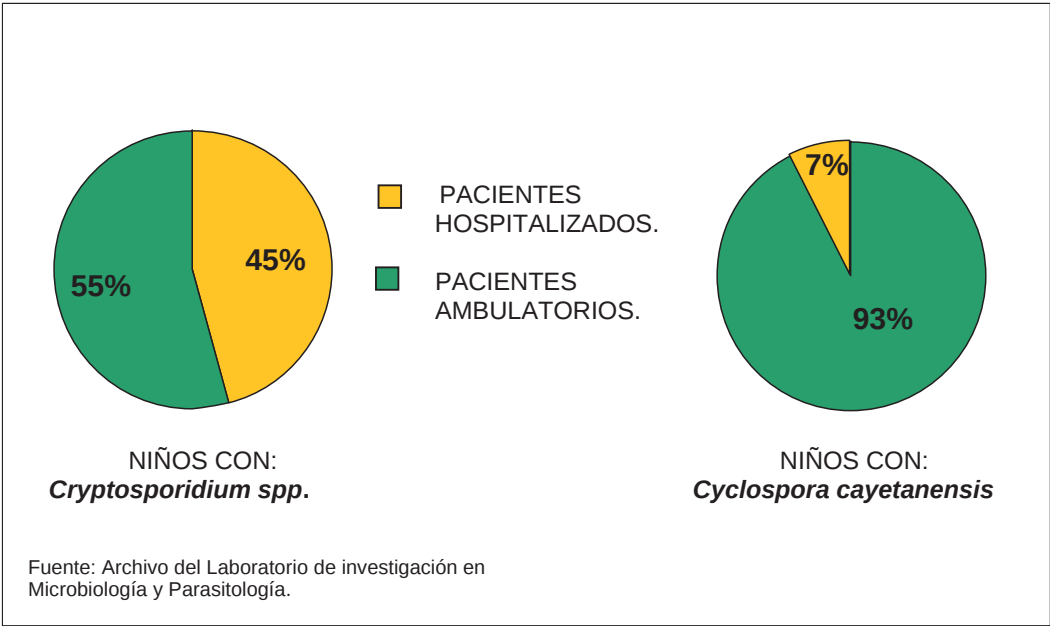
Esto en contraste con lo observado en *Cyclospora cayetanensis*, en donde el dolor abdominal fue el síntoma más frecuente (48.1%), seguido de Fiebre (22.2%), Diarrea (22.2%) y Vómito (18.5%) (GRAF. 7).

GRÁFICO 7. SÍNTOMAS ASOCIADOS A *Cyclospora cayetanensis* EN PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA 2000 -2006.



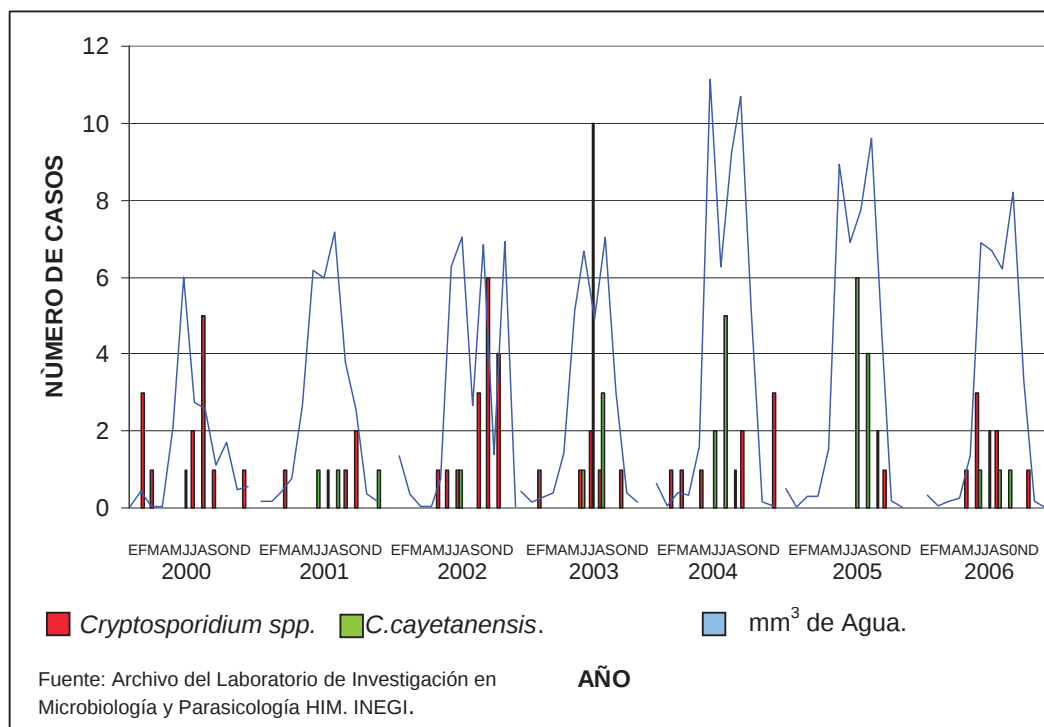
De los niños diagnosticados con *Cryptosporidium spp.* el 45% estaban hospitalizados, mientras que para *C. cayetanensis* sólo 7% lo estaban (GRAF. 8)

GRÁFICO 8. CASOS DE COCCIDIAS ASOCIADOS CON EL SERVICIO DE PROCEDENCIA.



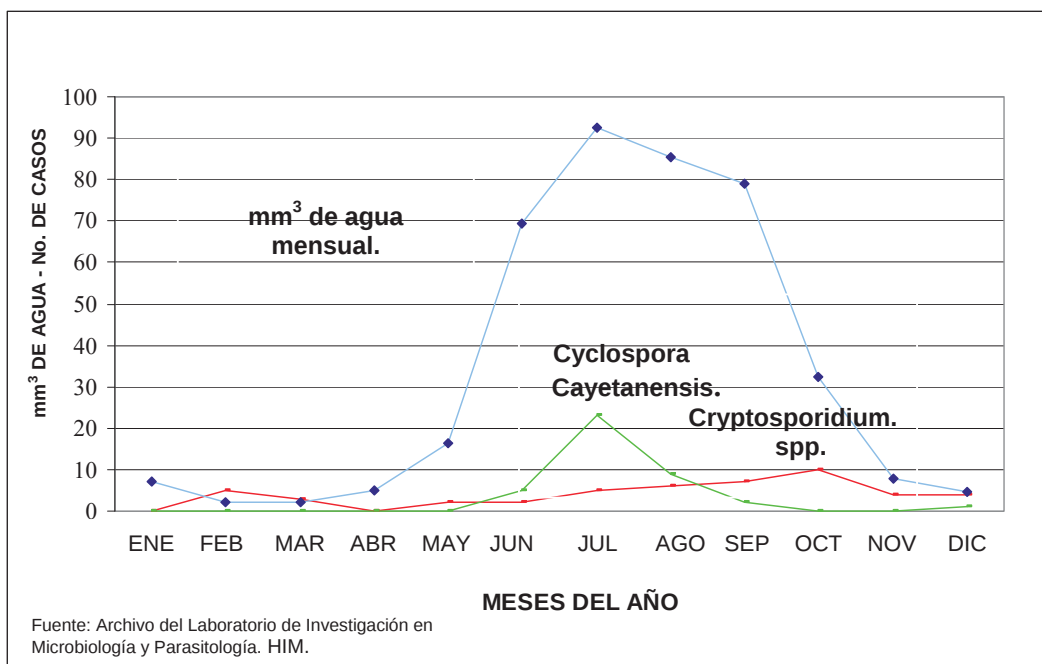
Con respecto a la estacionalidad, se observa que los casos de *Cryptosporidium spp.* no tienen una marcada estacionalidad, a diferencia de *Cyclospora cayetanensis* ya que la mayoría de los casos se presentaron entre junio y septiembre (GRAF. 9).

GRÁFICO 9. ESTACIONALIDAD DE COCCIDIAS EN NIÑOS DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA.



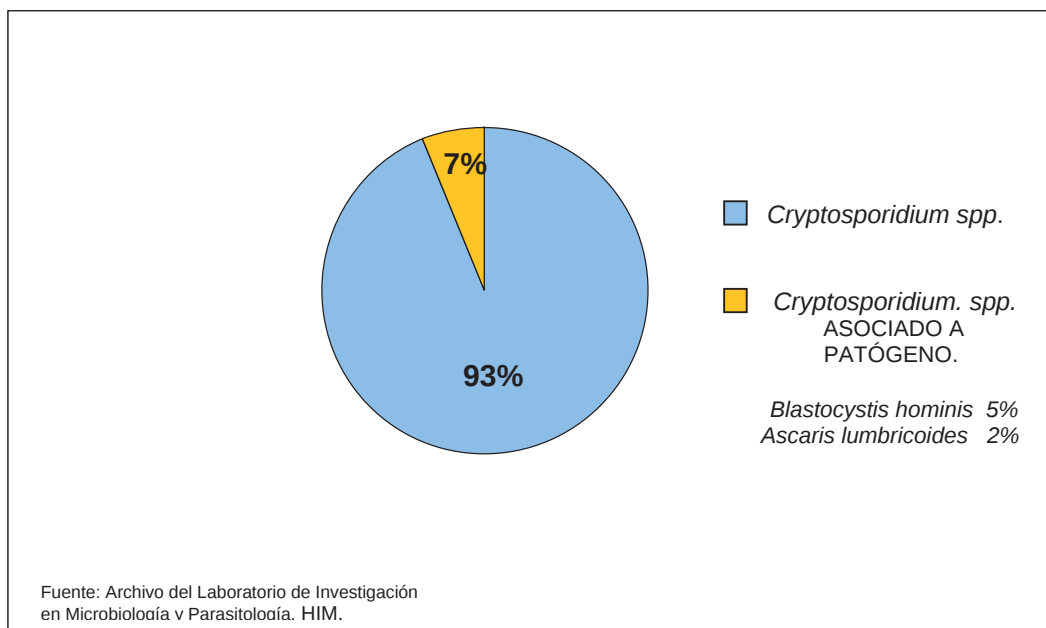
De mayo a octubre se registró la mayor precipitación pluvial, en donde hubo 66.6% de los casos de *Cryptosporidium spp.* y 97.5% de los de *Cyclospora cayetanensis* (GRAF. 10).

GRÁFICO 10. ASOCIACIÓN DE CASOS DE COCCIDIAS Y PRECIPITACIÓN PLUVIAL.



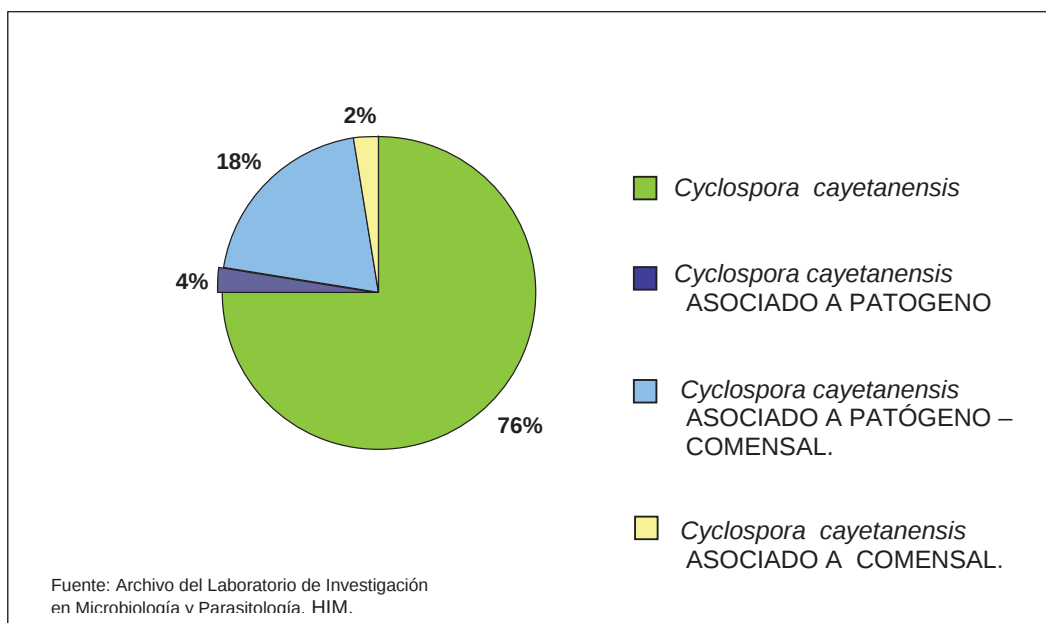
En relación al aislamiento de estas coccidias y su asociación con otros parásitos, tenemos que en 93% se encontró a *Cryptosporidium spp.* como único agente parasitario, y asociado a otros patógenos en 7% (*Blastocystis hominis* 5% y *Ascaris lumbricoides* 2%) (GRAF. 11).

GRÁFICO 11. AISLAMIENTO DE *Cryptosporidium spp.* Y SU ASOCIACIÓN CON OTROS PARÁSITOS.



Cyclospora cayetanensis se aisló como único parásito en 76%, asociado a patógeno en 4% (*Giardia lamblia*), y asociado a patógenos y comensales en un 18% (*Blastocystis hominis* – *Entamoeba coli* 12.5%, *Blastocystis hominis* – *Endolimax nana* 7.5%) y a comensales en un 2% (*Endolimax nana*) (GRAF. 12).

GRÁFICO 12. AISLAMIENTO DE *Cyclospora cayetanensis* Y SU ASOCIACIÓN CON OTROS PARÁSITOS.



DISCUSIÓN.

La frecuencia encontrada para *Cryptosporidium spp.* es de 1.69% (55 casos) y para *Cyclospora cayetanensis* de 1.38% (45 casos), entre los patógenos (3,238); a diferencia de Capó y col. quienes encontraron 30% de muestras positivas de un total de 170 muestras de heces, siendo *Cryptosporidium spp.* el mas frecuente 35 (20.58%) y *Cyclospora cayetanensis* en 6 (3.53%).⁽³⁵⁾

A sí mismo Devera y col. reportaron a *Cyclospora cayetanensis* con una prevalencia de 11.9% y a *Cryptosporidium spp.* con una prevalencia de tan solo 0.62%.⁽³⁰⁾

Elster y col. reportan también a *Cyclospora cayetanensis* con una prevalencia de 23.4% y 1.8% para *Cryptosporidium spp.* de un total de 380 muestras de heces estudiadas.⁽²⁹⁾

De los casos encontrados con *Cryptosporidium spp.*, 58.3% pertenecían al sexo masculino y 41.7% al sexo femenino, Arango y col. encontraron que de 173 niños infectados por *Cryptosporidium spp.*, el 56.1% eran del sexo masculino y 45.9% del femenino.⁽³⁶⁾ Mientras que para *Cyclospora cayetanensis*, 60% fue para el sexo masculino y 40% para el sexo femenino. Tutaya y col. demostraron que de una población de 100 niños infectados con coccidias, el 57% de los afectados eran del sexo femenino (36/63).⁽³⁷⁾

El grupo etario con mayor número de casos reportados con *Cryptosporidium spp.* fue el de niños menores de 5 años (87.2%), especialmente los menores de 1 año. Rodríguez y col. en España, observaron que en un grupo de 21 niños infectados por *Cryptosporidium parvum* las edades oscilaban entre 0 y 5 años.⁽³⁸⁾

Los casos de *Cyclospora cayetanensis* se observaron en niños menores de 5 años (55.5%).

En un estudio realizado en Cuba, por A. Núñez, el grupo de edad mayor de 4 años fue el más afectado por *Cyclospora cayetanensis*, mientras que *Cryptosporidium parvum* afectó más a los lactantes.⁽³⁹⁾

Con respecto a la asociación de *Cryptosporidium spp.* y pacientes inmunocomprometidos, obtuvimos que 25% correspondió a pacientes que tenían diagnóstico de alguna inmunodeficiencia y 75% fueron pacientes sin este tipo de diagnóstico. Se ha demostrado a *Cryptosporidium parvum* en 40% de niños inmunocompetentes y en 42% en niños con compromiso del sistema inmune, aceptando que la inmunosupresión es el principal factor asociado al desarrollo de la infección.⁽³⁶⁾

Pettoello demostró una prevalencia de 6.4% para *Cryptosporidium spp.* en niños italianos inmunodeficientes, Hernández reporta una prevalencia de 4.8% en pacientes VIH positivos y de 42% en niños con cáncer.⁽²³⁾

De los pacientes con *Cyclospora cayetanensis*, el 96% fueron pacientes sin diagnóstico de este tipo y el 4% restante presentaban diagnóstico de inmunodeficiencia.

Los síntomas más frecuentes asociados a *Cryptosporidium spp.*, fueron: Diarrea 69.5%, Vómito 30.4%, Fiebre 21.7% y Dolor abdominal 21.7%, siendo la diarrea el dato más importante, coincidiendo esto con lo observado por Rodríguez y col. en un brote por *Cryptosporidium parvum* de 21 niños, donde el 100% de los afectados tenía diarrea, 14 (67%) dolor abdominal, 6 (29%) fiebre y 4 (19%) vómitos. ⁽³⁸⁾ Arango y col. publicaron que los niños infectados con *Cryptosporidium parvum* presentaban los siguientes síntomas: 38.7% diarrea, vomito 32.4% y dolor abdominal 32.2%. ⁽³⁶⁾

Esto en contraste con lo observado en *Cyclospora cayetanensis*, en donde el dolor abdominal fue el síntoma más frecuente con 48.1%, seguido de Fiebre 22.2%, Diarrea 22.2% y Vómito 18.5%. En un estudio realizado por Martínez Silva, los síntomas encontrados en un grupo de pacientes fueron: diarrea (85%), vómito (45%), dolor abdominal (35%) y fiebre (15%). ⁽³⁾ Montoya-Palacio y Col., observaron en un grupo de 31 pacientes positivos para *Cyclospora cayetanensis*, los siguientes síntomas: diarrea (100%), deshidratación (100%), dolor abdominal (83.9%), fiebre (54.8%) y vómito (48.4%). ⁽⁹⁾

En relación a la estacionalidad de estos parásitos, se observa que las infecciones por *Cryptosporidium spp.*, se distribuyeron en la mayoría de los meses en los años del periodo estudiado; con picos entre los meses de agosto – octubre. En tanto que *Cyclospora cayetanensis* predomina en los meses de junio a septiembre, con un máximo de casos en julio (57.5%). En países tropicales y subtropicales existe asociación estacional entre la aparición de brotes diarreicos producidos por *Cyclospora cayetanensis*, y los meses calidos del año con temperaturas que oscilan entre 20 y 25° C, es decir en los meses de junio a agosto. ⁽³⁾

Fernández y col. observaron la incidencia de *Cyclospora* con picos en enero, abril y diciembre, mientras que *Cryptosporidium* con un pico en el mes de agosto. ⁽²⁹⁾

Los casos de coccidias presentaron un leve aumento en los meses con registro de lluvias abundantes (mayo – octubre), durante este lapso de tiempo se presentaron 66.6% de los casos de *Cryptosporidium spp.*, acentuándose esto para *Cyclospora cayetanensis*, pues hubo 97.5% de los casos en este periodo. En Nepal, la aparición de *Cyclospora cayetanensis* coincide con la de las lluvias monzónicas. ⁽³⁾

En relación al aislamiento de estas coccidias y su asociación con otros parásitos, tenemos que en 93% se encontró a *Cryptosporidium spp.* como único agente parasitario, y asociado a otros patógenos en 7%.

Cyclospora cayetanensis se aisló como único parásito en 76%, asociado a patógeno en 4%, asociado a patógenos y comensales en un 18% y a comensales en un 2%. Datos similares fueron reportados por Tutaya y col. quienes encontraron que 7 de 10 casos de coccidiosis (*Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora cayetanensis*), estaban asociados a otros parásitos, siendo más comunes los protozoarios *Blastocystis hominis* y *Entamoeba coli*.⁽³⁷⁾

Devera y Col. demuestran que de 19 casos de Cyclosporiasis, 89.5% estuvieron asociados a *Entamoeba coli*, 10.5% a *Giardia lamblia*, y 10.5% a *Blastocystis hominis* y en cuanto a helmintos se refiere, los casos se asociaron en 36.8% a *Ascaris lumbricoides*, a *Hymenolepis nana* en 15.8%, *Strongyloides stercoralis* en 10.5% y *Trichuris trichiura* en 5.3%.⁽³⁰⁾

Botero reporta la asociación de *Cyclospora cayetanensis* con *Entamoeba histolytica/dispar* en 2 casos (6.45%), 1 (3.2%) asociado a *Hymenolepis nana* y 2 (6.45%) a parásitos intestinales no patógenos en 31 casos con *Cyclospora cayetanensis*.⁽⁹⁾

CONCLUSIONES.

La frecuencia de las coccidias estudiadas es del 3%, siendo *Cryptosporidium spp.* un poco mas frecuente que *Cyclospora cayetanensis*.

En pacientes del sexo masculino se presenta un mayor número de casos de infección por estas coccidias. Es 10% mayor para el caso de *Cryptosporidium spp.* y 20% para *Cyclospora cayetanensis*.

Los pacientes menores a 5 años, representan el grupo más susceptible de infección por estas coccidias.

El estado inmunocomprometido de los pacientes estuvo asociado a la infección por *Cryptosporidium spp.*, siendo esta relación mayor para los afectados por *Cryptosporidium spp.* que para los afectados por *Cyclospora cayetanensis*.

Se debe sospechar de la presencia de estas coccidias cuando en los pacientes pediátricos se presente: vomito, diarrea, fiebre y dolor abdominal.

Los casos reportados por estas coccidias son más frecuentes durante los meses más lluviosos, por tanto, la búsqueda intencionada de estos protozoarios debe aumentar durante este tiempo.

Cuando existe infección por *Cryptosporidium spp.* podemos esperar que los síntomas presentados son provocados por este coccidio, pues la asociación de este con otros parásitos es mínima, al contrario de *Cyclospora cayetanensis* que se asocia más con otros parásitos que también son patógenos y que pueden causar cierto malestar.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Olay G. Parasitosis emergentes. Importancia clínica de las coccidias intestinales.
www.carpermor.com.mx/publicaciones/E3-parasitosis-emergentes_coccidias.pdf
- 2.- Silva MI. *Cyclospora cayetanensis*. Presentación de 20 casos. Hospital Pediátrico Universitario "William Soler". Revista Cubana Pediatría 2002. 74(2): 178-81
- 3.- García A., Guerrero A., Magraner J. Cyclospora y Cyclosporiasis. 2003
http://www.seimc.org/control/revi_para/cyclospora.htm
- 5.- Burstein Alva S. Cyclosporiasis: una parasitosis emergente(1). Aspectos clínicos y epidemiológicos.
Rev. Gastroenterol. Perú 2005; 25(4).
- 5.- Cascante CT. *Cyclospora cayetanensis*: descripción del primer caso en el Hospital San Rafael de Alajuela.
Acta Médica Costarricense 2002; 44(2).
- 6.- Ortega YR. *Cyclospora cayetanensis*. Agentes patógenos transmitidos por alimentos. Ma. Refugio Torres Vitela y Alejandro Castillo Ayala Editores. 2002; (2): 233-41.
- 7.- Sterling RC., Ortega YR. Emerging infectious diseases. *Cyclospora*: an enigma worth unraveling.
The New England Journal of Medicine 2000;5(1): 48-53.
- 8.- Salvatella IR., Balleste R., Puime A., Rodríguez G., Eirale C., Calegano L. *Cyclospora cayetanensis* en Uruguay. Agente de diarrea del viajero, adquirida en el exterior.
Rev. Med. Urug. 2002;18(2).
- 9.- Botero Garces J., Montoya-Palacio N., Bargull IJ., Castaño-Gonzalez A. Brote epidémico por *Cyclospora cayetanensis* en Medellín Colombia.
Rev. Salud Pública 2006. 8(3): 258-268.
- 10.- Ramírez Castillo R., Castillo L. Una visión sobre coccidias intestinales y diarrea. Facultad de Ciencias Médicas de Granma, Manzanillo Cuba.
http://www.monografías.com/trabajos16/isospora_ydiarrea/isosporay_diarrea.htm
- 11.- Knapp S. Enzyme architecture. Dartmouth Faculty 2003
<http://www.dartmouth.edu/dartfac/features/enzyme.htm>
- 12.- Tello Casanova R. Coccidiosis.
Rev. Diagnóstico 2003;39(3).
- 13.- De la Parte Perez MA., Bruzual E., Brito A., Hurtado MP. *Cryptosporidium* spp. y criptosporidiosis. Rev. Soc Ven Microbiol 2005;25(1).
- 14.- Diaz ME., Felix EA., Haro VM. *Cryptosporidium parvum* y criptosporidiosis. Agentes patógenos transmitidos por alimentos. Ma. Refugio Torres Vitela y Alejandro Castillo Ayala Editores 2002(2): 205-232.
- 15.- Solarte Y., Peña M., Madera C., Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. Colombia Médica, 2006 ;37(1): 74-82.
- 16.- Huiza A., Espinoza I., Rojas R., Sevilla C., Alva P., Verastegui R., Quispe E., Romualdo E., Angeles Z., Candiotti J., Huapaya P. Detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales.
Universidad Mayor de San Marcos. An Fac Med. Lima 2004; 65(4): 239-242.

- 17.- Chacin Bonilla L. Importancia de las diferentes especies y genotipos de *Cryptosporidium* en Salud Pública. *Investig. Clin.* 2001; 42(2): 83-85.
- 18.- Fayer R. Advances in *Cryptosporidium* research. II Internacional *Giardia* and *Cryptosporidium* conference 2007.
- 19.- Slapeta J. Centenary of the genus *Cryptosporidium*: from morphological to molecular species identification. II Internacional *Giardia* and *Cryptosporidium* conference 2007.
- 20.- Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis in humans. II Internacional *Giardia* and *Cryptosporidium* conference 2007.
- 21.- Wielinga P.R., de Vries A., Mank T., Mars J., Kortbeek L.M., Van der Huyesen J.W.B. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in humans and cattle in the Netherlands. II Internacional *Giardia* and *Cryptosporidium* conference 2007.
- 22.- Luna S., Ryes L.L., Chinchilla M., y Catarinella G. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* en aguas superficiales de Costa Rica. *Parasitología Latinoamericana* 2002;57(1-2).
- 23.- Siuff M., Angulo M., Velasco C.A., Lopez P., Dueñas V.H., Rojas C. Relación entre los niveles de carga viral y los niveles de linfocitos CD4 en el diagnóstico de *Cryptosporidium spp.* en heces de niños de la Clínica Pediátrica de VIH/SIDA del Hospital Universitario. *Colombia Médica*, ene-mar 2006;37(1):15 - 20.
- 24.- Chen X.M. and LaRusso N.F. Mechanisms of attachment and internalization of *Cryptosporidium parvum* to biliary and intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2000. 118(2): 368-379.
- 25.- Veazey R.S. & Lackner A.A. HIV swiftly suts the immune system. *Nature Medicine* 2005; 11(5): 469-70.
- 26.- Xiao L., Bern C., Limor J., Sulaiman I., Roberts J., Checkley W., Cabrera I., Gilman RH., LAL A.A. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Perú. *J. Infect Dis.* 2001; 183: 492-497.
- 27.- Calvo M., Carazo M., Arias M.L., Chavez C., Monge R. y Chinchilla M. Prevalencia de *Cyclospora sp.*, *Cryptosporidium spp.*, microsporidios y determinación de coliformes fecales en frutas y vegetales frescos de consumo crudo en Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)*.2004;54(4).
- 28.- Mendoza D., Nuñez Fernandez F.A., Escobedo Carbonel A.A., Pelayo L., Fernandez M., Torres Idavoy D., Cordovi RA. Parasitosis intestinales en 4 círculos infantiles de San Miguel del Padrón, ciudad de la Habana Cuba, 1998. *Ver. Cubana Med. Trop.* 2001; 53(3): 159-193.
- 29.- Elster C., Fernández S., Cárdenas M., Bracho A. Prevalencia de microsporidia y coccidias en pacientes con diarrea crónica (enero 2002-junio 2004). *Sociedad Venezolana de Microbiología. Capítulo Sucre. XXIX Jornadas Venezolanas de Microbiología "Dr. Vidal Rodríguez Lemoine"* Cumaná 9-11 nov. 2005.
- 30.- Devera R., Blanco Y., Cabello E. High prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among indigenous people in Bolivar state Venezuela. *Cadernos Saúde Pública*, 2005;21(6).
- 31.- HO AY., Lopez AS., Eberhart Mg., Levenson R., Finkel BS., da Silva AL., Roberts JM., Orlandi PA., Jonhson CC., Herwaldt BI. Outbreak of ciclosporiasis associated with imported raspberries, Philadelphia Pennsylvania 2000. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(8): 783-788.

- 32.- Vazquez O. y Col. Diagnóstico y tratamiento de infección por *Cyclospora cayetanensis* en pacientes pediátricos. Rev. Gastro. Perú. 1998; 18: 116-120.
- 33.- Lozano C., Díaz G., Rodríguez-Rivero Z., Peña C., Cuenca E., Calch M., Molero E. Prevalencia de enteroparásitos en niños inmunocomprometidos e inmunocompetentes. Kasmera 2002;30(2).
- 34.- Martínez AS. Y Col. Características clínicas de la diarrea crónica asociada a *Cryptosporidium*. Bol. Med. HIM. 1999;56(8): 435-439.
- 35.- Capó de Paz V., Bringuez MB., Viamonte VB., Suarez LC., Rodríguez MA., Martínez AZ. Diagnóstico de coccidias y microsporas en muestras de heces diarreicas de pacientes cubanos seropositivos al VIH: Primer reporte de microsporas en Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical, 2003;55(1).
- 36.- Arango M., Rodríguez Ad. MD, Prada EN. MD. Frecuencia de *Cryptosporidium spp.* en materia fecal de niños entre un mes y trece años en un hospital local Colombiano. Revista Colombia Médica, 2006;32(2).
- 37.- Tutaya R., Blanco Y., Sandoval M., Alcalá F., Aponte M., Devera R. Coccidios intestinales en habitantes del barrio 6 de noviembre, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. Revista Biomédica. 2006;17(2): 152-154.
- 38.- Salinas P., Rodríguez E., Peña A.J., Tango MA., Pérez MA., Maldonado JM., Rodríguez DMJ. Brote de criptosporidiosis en Guadarrama (Comunidad autónoma de Madrid) Revista Española de Salud Pública. 2000;74(5-6).
- 39.- Nuñez FA., Gonzalez OM., Bravo J.R., Escobedo A.A., Gonzalez I. Parasitosis intestinales en niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, la Habana, Cuba. Rev. Cub. Med. Trop. 2003;55(1).
- 40.- Tay LJ., Velasco CO., Lara AR., Gutiérrez QM. Parasitología Médica. Francisco Méndez Cervantes Editor. 1998: 87-90.
- 41.- Diagnóstico de Laboratorio de infecciones Gastrointestinales. Publicación Técnica del INDRE 1994.
- 42.- Anuario Estadístico Michoacán de Ocampo. INEGI. (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) Edición: 2000-2006.

APÉNDICE I

1. - EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO DIRECTO:

MATERIAL:

- Porta objetos 7.5 x 2.5 cm
- Cubre objetos 24 x 50 mm
- Aplicadores de madera
- Hisopos
- Parafina-vaselina 1:1
- Pipeta Pasteur con bulbo de goma

REACTIVOS:

- Solución salina isotónica 0.85% (ssi)
- Solución yodo-lugol
- Frasco con cloro como desinfectantes para descartar el material.

EQUIPO:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica para derretir la parafina

EQUIPO DE SEGURIDAD PERSONAL:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubre bocas

PROCEDIMIENTO:

- 1.-Colocar 1 gota de solución salina isotónica ó yodo lugol en el centro del portaobjetos.
- 2.-Con el aplicador, tomar la muestra, calculando más o menos 1.5 a 2 mg. de heces y hacer una suspensión uniforme con la gota de ssi o yodo-lugol.
- 3.-Cubrir la preparación con el cubreobjetos.
- 4.-Con un hisopo limpiar las orillas del cubre objetos para quitar el exceso de muestra.
- 5.-Sellar la preparación con parafina.
- 6.-Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X. ⁽⁴¹⁾

2. - METODO DE CONCENTRACION POR FLOTACION CON ZnSO_4 . (TECNICA DE FAUST).

MATERIAL:

- Portaobjetos 7.5x2.5 cm.
- Cubreobjetos 22x22 mm.
- Tubos de ensaye 13x100.
- Pipetas pasteur con bulbo de goma.
- Matraz Erlenmeyer 500 ml.
- Probeta 1000 ml.
- Pizeta con agua.
- Vaso de plástico de 100 ml.
- Embudos de plástico de 5.0 cm de diámetro.
- Gasa en cuadros de 16X16 cm.
- Abatelenguas de madera.
- Aplicadores de madera.
- Hisopos
- Asa bacteriológica con aro de 5mm de diámetro doblada con un ángulo de 90°.
- Gradilla.
- Parafina-vaselina 1:1

REACTIVOS:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de sulfato de zinc, densidad 1,180
- Frasco con cloro como desinfectante para descartar el material.

EQUIPO:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica
- Centrifuga
- Densímetro

EQUIPO DE SEGURIDAD PERSONAL:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubre bocas

PROCEDIMIENTO:

- 1.-Con un aplicador, tomar una muestra de heces de aproximadamente 1 gramo, hacer una suspensión 3:1 con agua en un vaso de plástico pequeño.
- 2.-Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo de ensayo utilizando un embudo de plástico.
- 3.-Centrifugar el tubo a 2500 rpm durante un minuto.
- 4.-Descartar el sobrenadante.
- 5.-Añadir nuevamente agua al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra.
- 6.-Volver a centrifugar a 2500 rpm por un minuto.
- 7.-Descartar el sobrenadante.
- 8.-Al sedimento se agregan unos pocos mililitros de sulfato de zinc y agitar con un aplicador hasta suspender totalmente el sedimento, agregar más solución de sulfato de zinc hasta un centímetro abajo del borde del tubo de ensayo, sin dejar de agitar.
- 9.-Centrifugar a 2500 rpm durante un minuto.
- 10.-Sacar el tubo cuidadosamente de la centrífuga y colocarlo en la gradilla.
- 11.-Remover una o dos asadas de la película superficial y colocarlas sobre un portaobjetos, esterilizar el asa por flameo.
- 12.-Colocar una gota de yodo lugol.
- 13.-Colocar el cubreobjetos mezclando ambas gotas.
- 14.-Sellar la preparación con parafina.
- 15.-Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objetivo de 10X y confirmar con 40X. ⁽⁴¹⁾

3. - MÉTODO DE CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACIÓN (FORMOL-ETER)

MATERIAL:

- Portaobjetos 7.5x2.5 cm.
- Cubreobjetos 22x22 mm.
- Tubos cónicos de 15 ml.
- Pipeta pasteur con bulbo de goma.
- Taponos de hule.
- Pizeta con agua.
- Vasos de plástico de 100 ml.
- Embudos de plástico de 5 cm. de diámetro.
- Gasa en cuadros de 16X16 cm.
- Abatelenguas de madera
- Hisopos
- Gradilla
- Parafina-vaselina 1:1.

REACTIVOS:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de formol al 10%
- Eter
- Frasco con cloro como desinfectante.

EQUIPO:

- Microscopio compuesto
- Parrilla
- Centrifuga
- Vortex

EQUIPO DE SEGURIDAD PERSONAL:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubre bocas

PROCEDIMIENTO:

- 1.-Con un aplicador, tomar una muestra de heces de aproximadamente 1 ó 2 gramos y hacer una suspensión 3:1 en un vaso de plástico.
- 2.-Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo cónico de 15 ml. utilizando un embudo de plástico.
- 3.-Centrifugar el tubo a 2,500 rpm durante un minuto
- 4.-Descartar el sobrenadante.
- 5.-Añadir 10 ml. de formol al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra y dejar reposar por 5 minutos.
- 6.-Agregar 1 ml. de éter.
- 7.-Tapar el tubo y agitar vigorosamente en el vortex durante 15 segundos.
- 8.-Retirar cuidadosamente el tapón del tubo cónico, realizando esto lejos de la cara.
- 9.-Centrifugar a 2,500 rpm por un minuto.

- 10.-Al final de la centrifugación se obtienen 4 capas: Sedimento, formol, detritus y éter.
- 11.-Con un hisopo desprender el tapón de detritus de todo alrededor y decantar los sobrenadantes de un solo movimiento de tal manera que solo quede el sedimento.
- 12.-Con un hisopo limpiar las paredes del tubo cónico.
- 13.-Mezclar el sedimento con formol y con ayuda de una pipeta pasteur transferir el sedimento a un portaobjetos y agregar una gota de lugol, mezclar perfectamente y colocar un cubreobjetos.
- 14.-Con un hisopo limpiar el exceso de muestra alrededor del cubreobjetos.
- 15.-Sellar la preparación con parafina.
- 16.-Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objeto de 10x y posteriormente con el objetivo de mediana resolución para confirmar las estructuras de los quistes.⁽⁴¹⁾

4. - TINCIÓN DE KINYOUN

MATERIAL:

- Portaobjetos 7.5 x 2.5 cm.
- Aplicadores de madera
- Pipetas pasteur con bulbo de goma

REACTIVOS:

- Fucsina básica
- Alcohol - ácido al 10%
- Verde brillante al 1%

EQUIPO:

- Microscopio compuesto

PROCEDIMIENTO:

- 1.-Elaborar un frotis de materia fecal con ssi, dejar secar.
- 2.-Fijar con metanol y al calor.
- 3.-Cubrir la preparación con fucsina básica por 3 minutos, Evitar que la preparación se seque.
- 4.-Enjuagar suavemente con agua la llave.
- 5.-Decolorar con alcohol ácido al 10% por 5 segundos.
- 6.-Colocar verde brillante al 1% por 30 segundos
- 7.-Lavar con agua y dejar secar
- 8.-Observar a inmersión. ⁽⁴¹⁾

5. - MEDICIÓN MICROSCÓPICA DE PARÁSITOS Y SUS PRODUCTOS.

La medición de los parásitos y sus productos es un recurso valioso para precisar el tamaño de los huevos y de los parásitos en los estadios de su evolución y permite una mejor diferenciación de ellos y un adecuado diagnóstico. Se puede realizar con un micrómetro ocular u ocular micrométrico y el micrómetro objetivo.

Principio:

Los micrómetros oculares están grabados con una escala fija que consiste en 50 líneas paralelas. Cada división del micrómetro ocular representa diferentes medidas según el poder de resolución del juego de objetivos utilizados en un microscopio compuesto, por lo tanto para cada juego de oculares y objetivos utilizados, la escala ocular se debe comparar con una escala calibrada conocida. Es importante recordar que una vez efectuada la calibración con un determinado juego de oculares y objetivos, éstos no pueden ser intercambiados con los componentes correspondientes de otro microscopio.

Coefficiente micrométrico:

Es una cifra que expresa la equivalencia en μm de una división de la escala del micrómetro ocular al emplear cada objetivo del microscopio. Suele denominarse “factor” y la operación para obtenerlo “calibración del microscopio”. El coeficiente micrométrico es inversamente proporcional al poder de amplificación de los objetivos utilizados. Habitualmente se obtienen 3 coeficientes micrométricos para cada microscopio usando un solo ocular micrométrico y los objetivos 10X y 45X (seco débil y seco fuerte) y de 90X o 100X (de inmersión), pero puede hacerse cualquier combinación de ocular y objetivo. Para obtener el coeficiente micrométrico hay que seguir la siguiente técnica.

MATERIALES:

Micrómetro ocular de escala fija:

Es un pequeño disco de vidrio de 12 mm de diámetro, en el cual puede verse grabada una escala de mm, dividida en 50 partes y generalmente numerada de 10 en 10. Este disco se coloca sobre el diafragma de cualquier ocular, transformándolo así en ocular micrométrico. Cada división de esta escala mide 100 μm .

Ocular micrómetro de platina con divisiones de 01 y 0.01 mm:

Es esencialmente similar al micrómetro, pero la lente va montada sobre un corto tubo que puede acortarse o alargarse a voluntad por deslizamiento en el tubo externo, permitiendo así enfocar con toda precisión la escala micrométrica intercalada en él.

Micrómetro objetivo:

Es un portaobjetos en cuyo centro se halla grabada una escala de 1 o 2 mm, dividida en 100 o 200 partes, cada división mide 10 μm .

Microscopio compuesto estándar.

PROCEDIMIENTO:

- 1.-Retirar el ocular del microscopio. Si se utiliza un microscopio binocular, se acostumbra a retirar el ocular X10 derecho.
- 2.-Desenroscar la lente superior del ocular e insertar la oblea del micrómetro de modo que se apoye en el anillo del diafragma dentro del ocular. Colocar el micrómetro con el lado grabado hacia abajo. El micrómetro se manipula con paño para lentes y se debe evitar por todos los medios que algún hilo quede adherido a la superficie.
- 3.-Reinsertar el ocular. Al observar a través del ocular, la escala del micrómetro aparece como una serie de divisiones alineadas.
- 4.-Colocar el micrómetro de platina bajo el objetivo del microscopio que se ha de calibrar. Enfocar la escala del micrómetro de platina que se ve como una serie de divisiones de 0.1 y 0.01 mm.
- 5.-Ajustar el micrómetro de platina de modo que la línea "0" de la escala del micrómetro ocular se superponga exactamente con la línea "0" de la escala del micrómetro de platina.
- 6.-Sin efectuar ninguna otra manipulación, observar ambas escalas y hallar el próximo par de líneas que coincidan exactamente.

CÁLCULOS:

El objeto de la calibración es determinar cuanto mide en μm cada división de la escala ocular cuando se calibra contra la escala del micrómetro objetivo. Por ejemplo, si 40 unidades de la escala ocular equivalen a 0.09 mm de la escala del micrómetro de la platina y cada división del ocular es igual a $0.09\text{ mm}/40$, o sea 0.00225 mm . Dado que hay $1000\text{ }\mu\text{m}$ en cada milímetro, cada división del micrómetro ocular en la calibración ilustrada es igual a 0.00225×1000 o sea $2.25\text{ }\mu\text{m}$. Este mismo cálculo sirve para calibrar cualquier juego de oculares y objetivos, sustituyendo los números adecuados. ⁽⁴¹⁾

APÉNDICE II PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

1.- REACTIVOS PARA EXAMEN CPS.

A) SOLUCIÓN SALINA ISOTÓNICA:

Se mezclan 8.5 g de Cloruro de Sodio (NaCl) en 1000 mL de agua destilada. Mezclar y guardar en frasco rotulado y tapado.

B) SOLUCIÓN DE YODO LUGOL MADRE:

Se mezclan 2.5 g de yodo en cristales, 5 g de Ioduro de potasio en 50 mL de agua destilada hasta la disolución completa de los cristales. Guardar en frascos ámbar rotulados. Para utilizar, diluir 0.5 mL de esta en 5 mL de agua destilada y mantener en frasco gotero rotulado.

2.- REACTIVOS PARA LA TINCIÓN DE KINYOUN.

A) FUCSINA BÁSICA:

Se funden 8 g de Fenol y se agregan 4 g de Fucsina, se homogeniza en baño maría a 60° C, se saca la mezcla del baño y se agregan 20 mL de alcohol etílico al 5%, se agita 5 minutos y enseguida se agregan 100 mL de agua destilada. Se deja en baño maría 15 minutos para completar la homogenización, se almacena en frasco obscuro con tapón esmerilado.

B) ALCOHOL ACIDO:

En un matraz Erlenmeyer se agregan 100 mL de alcohol etílico químicamente puro y se añade lentamente 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4).

C) VERDE BRILLANTE:

Mezclar 1 g del colorante en 100 mL de agua destilada. ⁽⁴¹⁾