

Escuela Químico Farmacéutico Biólogo  
 con Estudios Incorporados a la UNAM

3  
 27

Criptosporidiosis en Pacientes Adultos  
 con Síndrome de Inmunodeficiencia  
 Adquirida

**T E S I S**

Que para obtener el título de  
 QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P r e s e n t a

Angélica Varela González

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## I N D I C E

	Pags.
CAPITULO I.	
Introducción .....	1
CAPITULO II.	
Generalidades .....	6
CAPITULO III.	
Parte Experimental .....	50
CAPITULO IV.	
Discusión .....	65
CAPITULO V.	
Conclusiones .....	69
CAPITULO VI	
Referencias bibliográficas ....	70

## **CAPITULO I.**

### **INTRODUCCION.**

Planteamiento del problema.

La Criptosporidiosis como causa de gastroenteritis representa un gran problema en el paciente inmunocomprometido; especialmente para los casos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), se tienen reportes de otros países, donde la frecuencia de Criptosporidiosis es variable, pero desconocemos cuál es la situación real para estos casos en nuestro país. - Se plantea como problema a estudiar mediante este trabajo, el aislar Cryptosporidium en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida atendidos en el Hospital General de México.

Objetivos.

Aislar e identificar Cryptosporidium en pacientes de la -  
Clínica de SIDA del Hospital General de México.

Conocer la proporción en que se presenta la Criptospori--  
diosis en pacientes adultos con SIDA atendidos en dicha ins---  
titución.

Correlacionar las manifestaciones clínicas del paciente -  
adulto con SIDA, con la presencia de Cryptosporidium en el ---  
tubo digestivo.

Hipótesis.

La Criptosporidiosis es frecuente como infección y causante de diarrea crónica en pacientes adultos con SIDA que asisten al Hospital General de México.

Consideramos que la técnica más práctica para la identificación de ooquistes de Cryptosporidium, a partir de materia fecal es la concentración (mediante las técnicas de Sheater y Faust modificada) y la tinción con ácido-alcohol resistente de Kinyoun.

### Introducción.

Cryptosporidium es un nuevo agente patógeno humano, asociado con enteritis severa y quizá colecistitis en pacientes inmunocomprometidos, particularmente aquellos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), y diarrea autolimitada en el huésped inmunocompetente. Aunque la prevalencia de la enfermedad en el humano no es conocida, recientes estudios (1,2,3,4,5,10,11,12,14,18,21,22,23,24,32,33,36) sugieren que es una causa común de diarrea en el mundo particularmente en gente joven. Los mecanismos patogénicos por los que Cryptosporidium causa enteritis y los factores de defensa del huésped humano-escenciales para la erradicación de este parásito, no han sido perfectamente delineados (1).

El diagnóstico de Criptosporidiosis puede ser ahora hecho por métodos no invasivos como las técnicas de tinción ácido-fuerte en muestras fecales como una forma rápida y segura de confirmarlo.

Aunque una gran cantidad de agentes terapéuticos han sido ensayados para esta enfermedad, actualmente no hay terapia efectiva para controlar la infección.



Epidemiológicamente la Criptosporidiosis se considera de origen zoonótico. Dada la naturaleza ubicua del parásito en el hombre y su aparente capacidad para cruzar barreras de especie y huéspedes, implica que el reservorio de la infección para el hombre es grande. Los ooquistes son estables en las excretas y resistentes a agentes químicos; han sido encontrados en el medio ambiente. Estos factores implican que varias rutas de transmisión son posibles. La extensión de persona a persona ha sido también reportada (2).

Durante el periodo de 1976 - 1981, los primeros siete casos de Criptosporidiosis humana fueron reportados (1). Debido a que cinco de los pacientes eran inmunocomprometidos, el protozooario fue considerado oportunista, y la enfermedad de ocurrencia rara. De 1981 a 1982, cuarenta y siete casos adicionales fueron descritos por los Centros para el Control de Enfermedades (1), particularmente involucrando pacientes con SIDA. El número de casos reportados actualmente, más de quinientos, han despertado el interés por la enfermedad y la microbiología del parásito (1).

## **CAPITULO II.**

### **GENERALIDADES.**

### Antecedentes históricos.

Cryptosporidium fue primeramente descrito en 1907 por --- Tyzzer, que observó el organismo en la mucosa gástrica de ratones asintomáticos. La enfermedad como tal fue asociada directamente al parásito en 1955, cuando Slavin (3) reportó diarrea severa en pavos infectados por Cryptosporidium.

La Criptosporidiosis en humanos fue primeramente reportada en 1976 por Nime (4,18), en un niño de tres años de edad con enterocolitis aguda severa autolimitada, diagnosticada mediante biopsia rectal.

El primer caso de Criptosporidiosis en México, fue reportado en 1985 en el Hospital de Infectología del Centro Médico-"La Raza" en un paciente homosexual masculino asociada con - - SIDA (5).

### Taxonomía.

La ubicación taxonómica de Cryptosporidium está en el --- Phylum Apicomplexa dentro del orden Eucoccidiida y constituye la familia Cryptosporidiidae y hasta el momento es el único -- género de ésta. Fig. 1 (3,6,7).

Cryptosporidium cuenta con 11 especies, pero ninguna diferencia morfológica ha sido detectada entre ellas, y la diferenciación se basa en el huésped en donde el parásito fue observado (20). Tal diferenciación confirma que las especies de Cryptosporidium son huésped - específicas (3,5). Sin embargo, el parásito es un esporozoario poco común por varias razones: las etapas endógenas muestran que aparentemente son parásitos extracelulares unidos primariamente a la mucosa gástrica intestinal y rectal de varias especies animales, incluyendo al hombre, mamíferos, aves y reptiles, encontrados también en la superficie epitelial del aparato respiratorio y vesícula biliar (19).

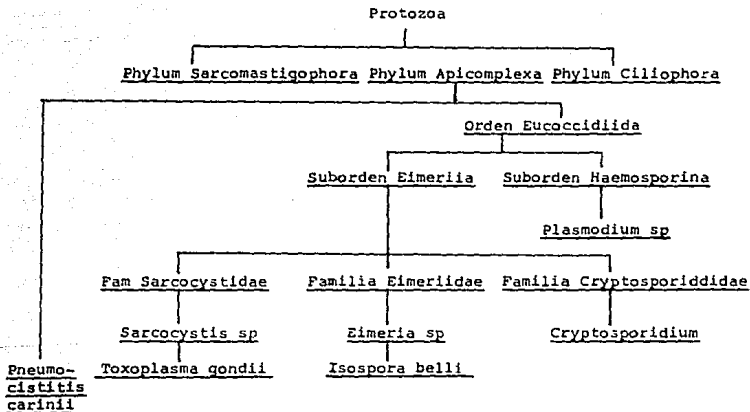
Convencionalmente se ha considerado que cada especie era diferente y que no afectaban a otros animales. Los estudios de infecciones cruzadas en varios grupos de trabajadores han rechazado este concepto. La mayoría de las publicaciones recientes de Cryptosporidium, han sugerido que este parásito no se restringe a una especie en particular o a una superficie epitelial específica.

Current y Long (2) infectaron embriones de pollo con Cryptosporidium aislados de humanos y corderos con lo que esos autores sugirieron que Cryptosporidium tiene poca especificidad

de huésped y que los corderos y otros animales domésticos pueden ser una fuente de infección potencial para el hombre.

Figura 1.

Taxonomía de la familia Cryptosporididae



Ciclo de vida.

El ciclo de vida de Cryptosporidium ha sido investigado -- en terneras y membrana corioalantoidea de embrión de pollo, y -- parece seguir el patrón descrito para otras coccidias como -- Toxoplasma gondii.

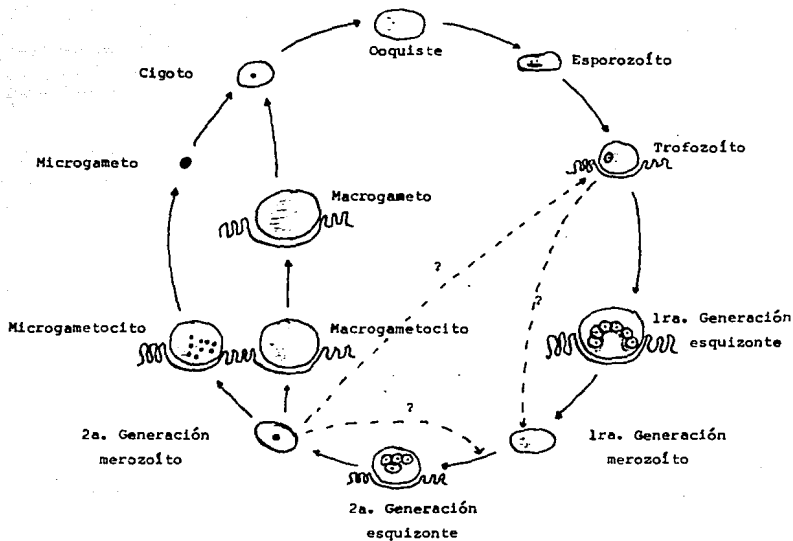
Cryptosporidium es un parásito monoxeno, es decir sólo -- necesita un huésped para desarrollar su ciclo de vida (Fig. 2).

Su fase infectante son los ooquistes maduros que se ex--- pulsan en las heces de animales enfermos y están listos para -- infectar a otros animales, sin que sufran transformación exter na alguna (3,8).

Al ser ingeridos los ooquistes liberan esporozoítos, po-- siblemente el desarquistamiento se favorezca por la digestión-- de la pared quística en el conducto gastrointestinal del nuevo huésped.

Figura 2.

Ciclo de vida de Cryptosporidium



Los esporozoítos liberados infectan células epiteliales - del intestino delgado para transformarse en trofozoítos.

Se debe señalar que los trofozoítos y todos los demás esta días del parásito se encuentran únicamente en la superficie de varias membranas epiteliales, nunca dentro del citoplasma de - estas células o debajo de la capa epitelial. Generalmente el desarrollo ocurre en el epitelio gastrointestinal, pero en las aves puede ocurrir en el epitelio traqueal.

Se ha observado con microscopio electrónico que el trofozoíto forma una zona electrodensa en su interfase con la célula huésped y que el citoplasma del trofozoíto es rodeado por - cuatro membranas distintas. El origen de estas membranas no se ha establecido, pero las últimas evidencias indican que las -- dos membranas más externas son originadas por el huésped. Si la membrana la origina el huésped, la localización del trofozoíto es intracelular pero extracitoplásmica (Fig. 3) (1,3,4,- 6,7,8,9).



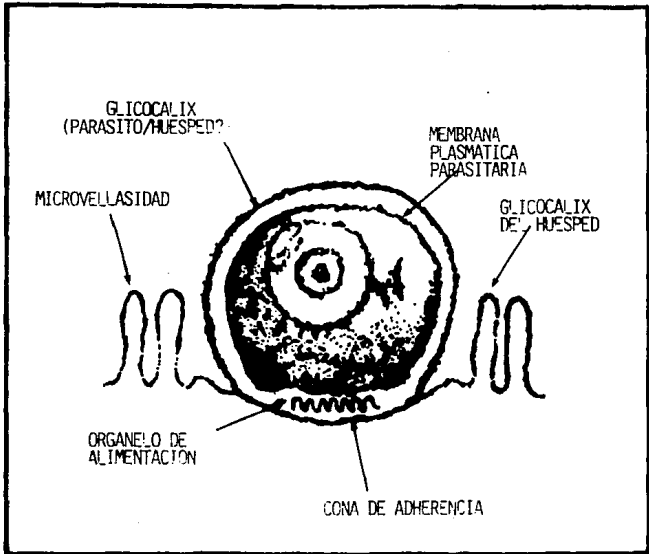


FIG. 3 ESTRUCTURA DEL TROFOZOITO DE CRYPTOSPORIDIUM.

TOMADO DE AVILA, E. L. AISLAMIENTO DE *CRYPTOSPORIDIUM* EN DEFECACION PEDIATRICA. TESIS RECEPTORIAL, U. MOTOLINIA. PAG. 20. 1988. CON AUTOFOTOCOPIACION.

En la fase siguiente los trofozoítos sufren tres divisiones para formar ocho merozoítos; esta estructura se llama esquizonte de primera generación, posteriormente los ocho merozoítos formados son liberados e infectan otras células epiteliales. En estas últimas cambian de forma, se redondean y sufren dos divisiones nucleares para formar el esquizonte de segunda generación, que contiene cuatro merozoítos de segunda generación. La existencia de dos generaciones de esquizontes fue hallada en estudios hechos en cobayos infectados con heces que contenían ooquistes de Cryptosporidium y posteriormente se buscaron las distintas fases del parásito en el conducto gastrointestinal de estos animales; los resultados se presentan en el cuadro 1 (3,6,7).

Cuadro 1

Fases de Cryptosporidium en el conducto gastrointestinal.

Fase hallada	Tiempo después de la inoculación.
Trofozoíto	3 a 4 días
Esquizonte de ocho merozoítos (esquizonte de 1a. generación)	7 a 9 días
Esquizonte de cuatro merozoítos (esquizonte de 2a. generación)	11 a 14 días
Gametocitos	13 a 15 días

Los merozoítos de segunda generación son liberados y ---- vuelven a infectar células epiteliales, entonces sufren diferenciación sexual formando los microgametocitos y los macrogameto-  
citos que dan origen a los gametos. Los macrogametocitos pre-  
sentan pequeñas modificaciones y se convierten en macrogametos,  
a su vez, los microgametocitos efectúan divisiones nucleares y  
forman varios microgametos. El número exacto de microgametos -  
no se conoce, pero se considera que pueden ser de 12 a 16.

Un microgameto se une a un macrogameto para formar el ci-  
goto y éste se desarrolla hasta formar un ooquiste, para así -  
completar el ciclo de vida (1,2,3).

Muchos parásitos del Suborden Eimeria tienen un solo ci-  
clo de esquizogonia en un huésped, es decir, cada fase del ci-  
clo de vida sólo se desarrolla a la fase siguiente, pero que -  
la Criptosporidiosis crónica pueda prolongarse por meses o --  
años, sugiere que *Cryptosporidium* en huéspedes inmunodeficien-  
tes puede sufrir múltiples ciclos de esquizogonia. (2,8,9).

La manera en que la primera o segunda generación de mero-  
zoítos puede reiniciar la esquizogonia se desconoce, pero tres  
camino posibles se muestran en la Fig. 2.

### Morfología.

Cryptosporidium es un protozooario que presenta diferentes etapas en su ciclo de vida. Mediante microscopía electrónica de transmisión fue posible reconocer las siguientes etapas:

- 1.- Merozoíto móvil.- Liberado cuando se rompe el esquizonte, protuye entre las microvellocidades y llega a unirse a las células epiteliales, mediante un proceso no determinado. - Antes de redondearse o alargarse, parece penetrar mediante un proceso de invaginación y erosión debajo de la superficie de la membrana celular que posteriormente vuelve a unirse para formar una membrana sobre de él, éste llega a ser un trofozoíto móvil.
- 2.- Trofozoíto.- Mide aproximadamente 1.5 a 6  $\mu m$  de diámetro, apareciendo como un cuerpo esférico con núcleo ; nucleolo, citoplasma abundante y retículo endoplasmático. Esta rodeado de cuatro membranas unitarias. Una vez dentro de la célula huésped, la adaptación citoplasmática toma lugar en este sitio de contacto. Esto indica el desarrollo de un verdadero mecanismo de alimentación del parásito, desarrollando formas vegetativas del organismo para madurar en esquizontes Fig. 4 (2,8,10).

3.- Esquizonte.- Marcada proliferación citoplásmica sigue al desarrollo del sitio de unión y el trofozoíto redondeado se somete a división nuclear, transformándose en un esquizonte primitivo. Dos divisiones nucleares posteriores (haciendo tres en total) acompañadas por yemas citoplásmicas que se forman en la doble membrana produciendo un esquizonte maduro. Cuando esto sucede el esquizonte contiene ocho merozoítos completamente formados, unidos a un pequeño cuerpo residual rodeado por una doble membrana delgada. A través de una ruptura de esta pared delgada, los merozoítos se escapan dentro de la luz intestinal para unirse a otra célula mucosa o ser evacuados con las heces. Fig. 5-(2,8).

4.- Merozoíto maduro.- Mide aproximadamente  $2 - 5 \mu$  por  $0.4 \mu$  de ancho. Está rodeado por una doble membrana y dentro de ella se encontraron las siguientes características citoplásmáticas: retículo endoplásmico con ribosomas unidos al mismo, aparato de Golgi y organelos específicos como en otros coccidios. Fig. 6 (8,10).

5.- Microgameto.- Contiene un núcleo grande, una mitocondria y un anillo polar de microtúbulos. Casemore y Sand (2) - especulan que éste puede ser el equivalente a un flagelo-

y que probablemente produzca la fuerza motriz, haciendo -- posible al microgameto transformarse en macrogameto. Sin embargo no ha sido demostrado que la causa de su movimiento sea el filamento flagelado, por lo que se considera que la locomoción sea efectuada por una forma de flexión y deslizamiento. Una alternativa es que el anillo representa la estructura conoide encontrada en otros coccidios que se considera ayuda en la penetración.

- 6.- Microgametocito.- Se consideró similar de tamaño a un esquizonte. Se distingue claramente de los esquizontes y de los macrogametocitos por los microgametos regulares unidos a su periferia. Estos poseen un núcleo denso y compacto y están unidos alrededor de un cuerpo residual grande y más homogéneo. Fig. 7 (8,10).
  
- 7.- Macrogametocito.- Se consideró similar de tamaño a un esquizonte primitivo, pero sin evidencia de división nuclear. El citoplasma con retículo endoplásmico rugoso, vacuolado y con gránulos prominentes de polisacáridos y fosfolípidos, precursores para una pared gruesa del ooquiste. Fig. 8 -- (8,10).
  
- 8.- Macrogameto.- Posee granulaciones de polisacáridos, gránulos densos y una membrana vesicular. Fig. 9 (9).

9.- Ooquiste.- Son cuerpos con una doble membrana, miden aproximadamente de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro, con una división celular, teniendo una estructura interna de cuatro formas que corresponden a esporozoítos, con un residuo especial en el interior del citoplasma que no es claramente visible.

Los ooquistes se colorean de un tono de color rojo brillante de diferentes grados de intensidad, algunos conteniendo mínimas granulaciones (técnica de Kinyou). Fig. 10 (1,10).

#### Patogenia.

La infección es iniciada por el organismo formando una -- unión estable con la superficie de la mucosa intestinal. A -- diferencia de muchos enteropatógenos bacterianos, este proceso probablemente no es mediado por organelos extracelulares (factores de colonización) pero puede proceder mediante el reconocimiento de célula a célula en la superficie de la membrana. -- La microscopía electrónica del ileon de corderos infectados de -- mostró filamentos delgados e irregulares teñidos de rojo extendiéndose desde el glicocalix del parásito al de la célula huésped. Tal unión de superficies cargadas electronegativamente -- puede facilitarse por la acción de "unión" de cationes divalentes, o más probablemente, por la unión azúcar-azúcar de proteínas (lectinas). La adherencia de E. histolytica se sabe que --

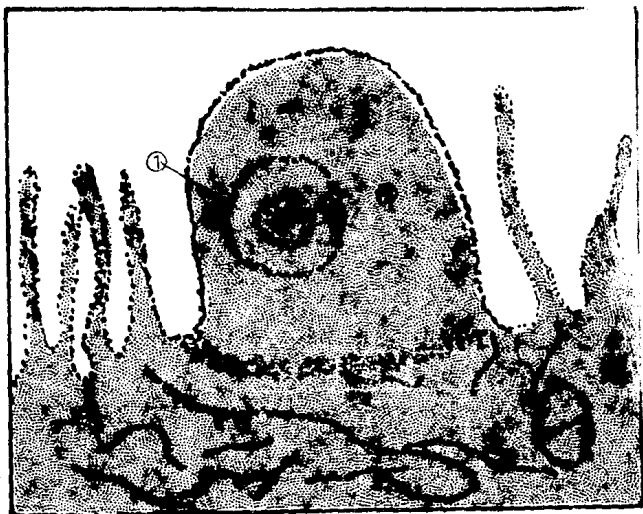


FIG.4TROFOZOITO

1= NUCLEOLO

2= NUCLEO

3= CITOPLASMA

TOMADO DE AVILA, E. S. AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RE-  
CEPCIONAL, U. MOTOLINIA, PAG.  
9, 1988, CON AUTORIZACION.



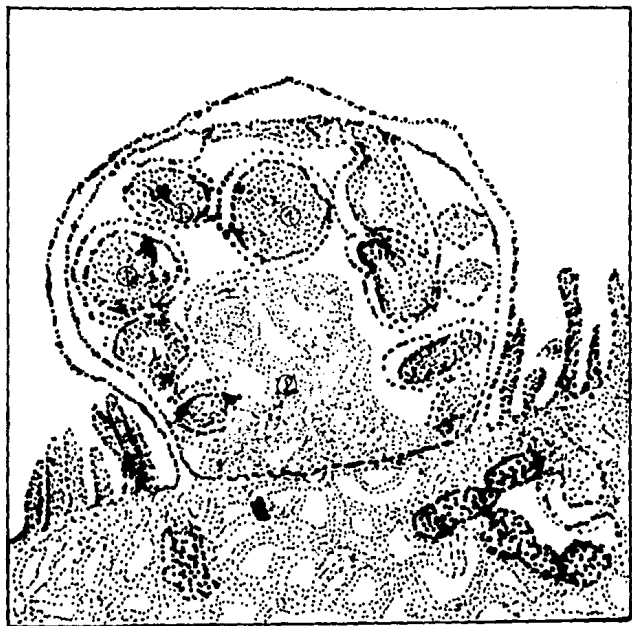


FIG. 5 ESQUIZONTE

1= MEROZOITOS VERIFORMES

2= CITOPLASMA GRANULAR

TOMADO DE AVILA, E.: AISLAMIENTO DE CRYPTOSPOIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RE-  
CEPCIONAL. U. MOTOLINIA, PAG.  
10, 1988, CON AUTORIZACION.

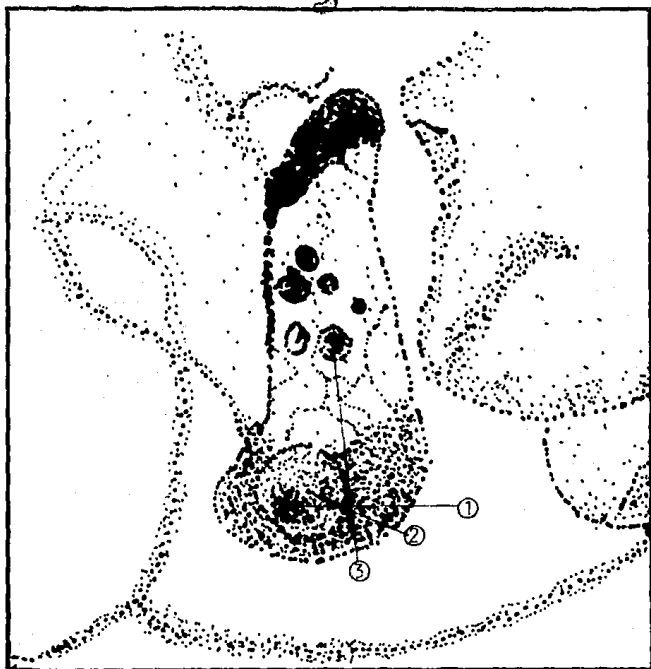


FIG. 6 MEROZOITO

1= NUCLEOLO

2= NUCLEO

3= CUERPOS ELECTRODENSOS

TOMADO DE AVILA, E.: AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RECEPCION: U. MOTOLINIA, PAG. 11, 1986. CON AUTORIZACION.

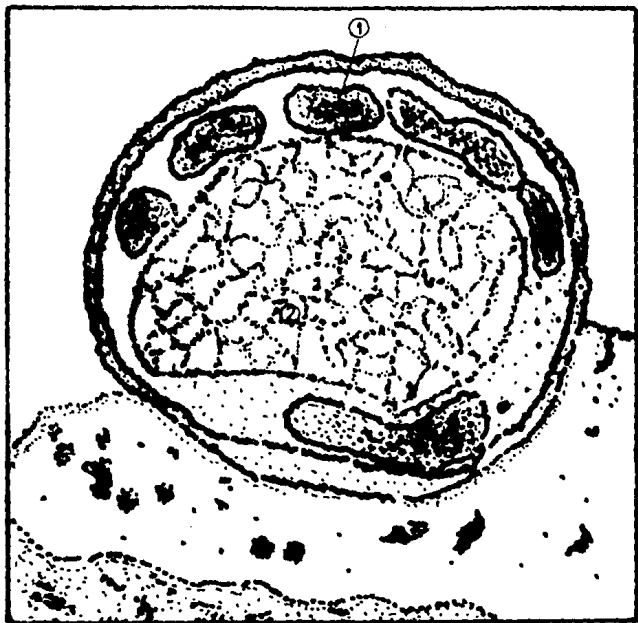


FIG. 7 MICROGAMETOCITO

1= NUCLEO

2= RETICULO ENDOPLASMATICO

TOMADO DE AVILA E.: AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RECEPTORIAL. U. MOTOLINIA, PAG. 12 1988. CON AUTORIZACION.

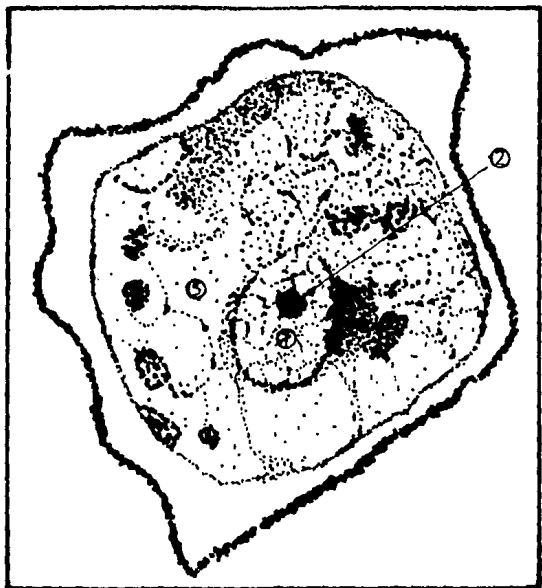


FIG 8 MACROGAMETOCITO

1= VACUOLA

2= GRANULOS DE FOSFOLIPIDOS

3= RETICULO ENDOPLASMATICO RUGOSO

TOMADO DE AVILA, E.: AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RE-CEPCIONAL. U. MOTOLINIA. PAG. 13. 1988. CON AUTORIZACION.

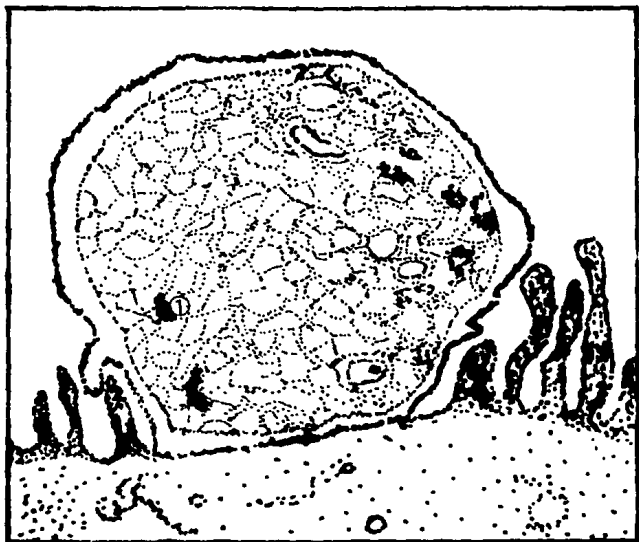


FIG.9 MACROGAMETO

1= GRANULACIONES DE POLISACARIDOS

TOMADO DE AVILA, E.: AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RE-  
CEPCIONAL. U. MOTOLINIA, PAG.  
14, 1988. CON AUTORIZACION.

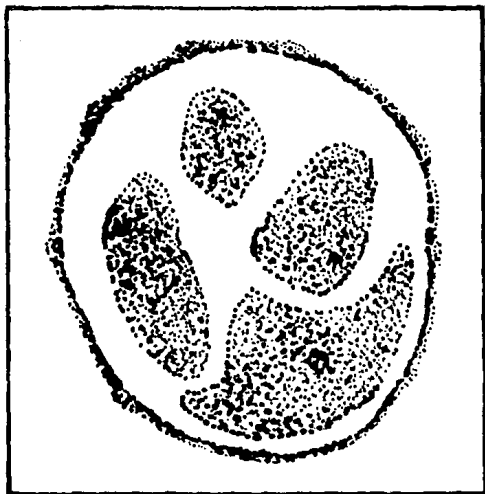


FIG. OOCISTE  
1= ESPOROZOITOS

TOMADO DE AVILA, E.; AISLAMIENTO DE CRYPTOSPORIDIUM EN POBLACION PEDIATRICA. TESIS RECEPTACIONAL, U. MOTOLINIA. PAC. 15, 1988. CON AUTORIZACION.

es mediada por este mecanismo. Posiblemente, proteínas similares pueden ser esenciales para que Cryptosporidium colonice la superficie mucosa.

La fase de unión es seguida por penetración dentro de la célula epitelial. Esta relación inicial huésped-parásito probablemente influya mucho en el cambio de apariencia de las vellosidades. La infección grave con Cryptosporidium produce depresiones o cráteres dentro de la superficie mucosa. Varios investigadores describen cambios gruesos en la arquitectura de las vellosidades afectadas por parásitos. Falta de desarrollo y fusión de las vellosidades fueron comúnmente reportados, junto con edema y degeneración de enterocitos. Esto, junto con la localización predominante de Cryptosporidium en el intestino delgado posterior, comprenden probablemente los factores enteropatógenos más importantes.

Las relaciones entre los síntomas principales de la enfermedad y los eventos fisiopatológicos descritos, son probablemente multifactoriales. Una proliferación importante de Cryptosporidium principalmente en el huésped inmunocomprometido, conduce a la mala digestión, mala absorción y diarrea acuosa profusa. El intestino delgado posterior es eficiente en la absorción neta de líquidos, por lo que grandes cantidades de - - -

Cryptosporidium adheridos a las vellocidades, probablemente -- alteran su función normal. Este mecanismo se ha sugerido en -- la sintomatología de la Giardiasis. En consecuencia, la dis-- tribución del Cryptosporidium dentro del intestino puede ser -- crucial en la producción de los síntomas de la enfermedad.

La diarrea acuosa es la expresión sintomática mayor de la Criptosporidiosis e indica un aumento apreciable en el conteni-- do luminal de agua. Esto puede reflejar una deficiencia en el paso de agua y nutrientes de la luz intestinal al plasma (ab-- sorción) o una acumulación neta de líquido en el que el agua y electrolitos llegan a la luz intestinal desde el plasma (secre-- ción), o ambas. La diarrea secretoria generalmente se asocia-- a bacterias productoras de enterotoxinas. Sin embargo, la li-- beración de una toxina durante la esquistogonia que pudiera cau-- sar un estado secretorio no se ha logrado demostrar con Crip-- tosporidiosis. La inoculación con heces contaminadas con el -- parásito en células sensibles a toxinas, no produjo efecto --- citotóxico (21,9). La descarga de metabolitos tóxicos directa-- mente desde el parásito al enterocito infectado, junto con la-- reacción difusa de la lámina propia, pueden proporcionar un me-- canismo patojénico. Una reducción en la superficie mucosa de-- absorción y una disminución de muchas enzimas acuosas pueden -- ser responsables de la pérdida de la capacidad de absorción -- del intestino delgado, produciendo una diarrea osmótica. (1).



Posiblemente las evacuaciones que son reportadas en la --  
Criptosporidiosis resultan de la fermentación bacteriana de nu-  
trientes no absorbidos.

El organismo no destruye a la célula huésped. Los cam- -  
bios morfológicos que ocurren (pérdida o degeneración de las -  
microvelocidades en la zona de unión) se considera que causa-  
una mala digestión, malabsorción y diarrea (22,1).

El vómito puede exacerbar la pérdida de líquido producida  
por la diarrea. En algunos pacientes este puede ser el sínto-  
ma predominante con poca o ninguna evacuación diarreica. El -  
mecanismo para este efecto emético no está claro, pero formas  
criptosporideales endógenas han sido detectadas en el estómago  
(2).

La severidad de la Criptosporidiosis en pacientes inmu-  
comprometidos, puede indicar que la inmunidad funcional celu-  
lar y humoral son necesarias para resolver la infección. Aun-  
que los anticuerpos sistémicos se consideran que no juegan pa-  
pel en esta enfermedad, debido a la posición superficial del -  
organismo en la mucosa, anticuerpos circulantes para Cryptos-  
poridium han sido detectados.

Esta respuesta de anticuerpos no es única para Cryptosporidium, se conoce, por ejemplo que se producen anticuerpos locales y sistémicos contra G. lamblia, E. coli y Vibrio cholerae. Campbell y Current (2) concluyeron que la infección por Cryptosporidium puede no provocar inmunidad protectora, pero sí -- reducir la severidad de infecciones subsecuentes.

### Patología.

En humanos Cryptosporidium se ha encontrado en faringe, - esófago, estómago, duodeno, yeyuno, ileon, apéndice, colon y recto. Siendo la zona del yeyuno la más afectada (3).

En 1983 se reportó en un paciente homosexual de 33 años, - mediante colecistectomía, la presencia de Cryptosporidium en - el árbol y vesícula biliar (4).

Recientemente el espectro de la Criptosporidiosis ha ---- sido agrandado al incluir algunas formas diseminadas. Los organismos típicos ya han sido encontrados en la mucosa traqueal en un niño de 12 años con hipogammaglobulinemia. Esta infección extendida a la traquea fue también descrita en pavos por Hoerr y cols. En 1984, Brady y cols. presentan un caso en que Cryptosporidium fue identificado en una muestra de biopsia pulmonar en un paciente con SIDA (19).

Histológicamente las lesiones intestinales por Cryptosporidium son inespecíficas y se caracterizan por atrofia de leve a moderada de las vellocidades intestinales, aumento en el diámetro de las criptas, así como infiltrado de células mononucleares de leve a moderado de la lámina propia, también fueron identificados abscesos en las criptas en forma ocasional (2,3,4,8,9,14,17).

La biopsia rectal demostró una mucosa eritematosa con pequeñas ulceraciones focales, inflamación de la lámina propia por células inflamatorias agudas y crónicas y la presencia de un exudado fibroso sobre la superficie, donde hubo células epiteliales cuboides en lugar de las células columnares usuales; células de Goblet que mostraron mucina diseminada. Los parásitos aparecieron como cuerpos basófilos, esféricos u ovoides, densos, que en su mayor parte estuvieron unidos al borde en cepillo de las células epiteliales de las criptas. Pocos de ellos se encontraron libres en la luz de las criptas, pero ninguno fue visto dentro del citoplasma de las células (9,18,21).

Los hallazgos patológicos de la Criptosporidiosis biliar-  
están basados en casos reportados de la infección en pacientes con SIDA, los organismos se encontraron en la bilis y adheridos

al epitelio de los conductos y vesícula biliares, encontrándose a este nivel edema, infiltración linfocítica y destrucción de la mucosa subyacente, así como estenosis del ánfula de --- Vater. Esta patología no ha sido reportada en humanos inmunológicamente normales con Criptosporidiosis (1,11).

En biopsia pulmonar abierta se encontró neumonitis intergicial y trofozoítos de Cryptosporidium en el exudado inflamatorio alveolar teñido con la técnica de Kinyoun (19).

Pohlenz estudió el aspecto de la relación huésped parásito. El contacto inicial entre el organismo y el glicocálix -- del huésped es la causa del acortamiento o ausencia de las microvelocidades directamente debajo del parásito. La unión -- incluye la fusión del parásito envuelto con la membrana plasmática de la célula epitelial. Este autor sugiere que la envoltura que rodea al Cryptosporidium no se origina en el huésped, sino que más bien se desarrolla independientemente de la síntesis directa del parásito, del material de su membrana y -- el glicocálix. Sin embargo, debido a que la estructura circundante es morfológicamente similar a la del glicocálix de la -- célula huésped y contigua con la membrana plasmática de la misma, algunas gentes han postulado que los organismos son envueltos por la membrana epitelial apical. Tal es el caso, la célula huésped rodea al parásito, la envoltura se fusiona y --

forma una doble membrana alrededor del mismo.

El organismo no destruye a la célula huésped. Los cambios morfológicos que ocurren (pérdida a degeneración de las microvellocidades en la zona de unión) se considera que causa una mala digestión, malabsorción y diarrea (22).

#### Manifestaciones clínicas.

Clínicamente la infección por Cryptosporidium puede manifestarse en forma diferente en huéspedes inmunocompetentes y en inmunocomprometidos. Por lo tanto la severidad de la enfermedad se determina por el estado inmunológico del paciente.

En pacientes inmunocompetentes, los síntomas intestinales pueden estar ausentes o iniciarse de 5 a 14 días después de la infección, éstos generalmente tienen una duración de 5 a 10 días, pero pueden permanecer hasta 30 días. La excreción de ooquistes ha sido reportada desde el primero hasta el 18avo. día (16,22).

Los síntomas clínicos se caracterizan por: anorexia, diarrea acuosa profusa sin sangre y debilidad (todos ellos en el 100% de los pacientes), náuseas (67%), calambres abdominales -

(67%), flatulencia y vómito (47%). Los síntomas fueron más variables en niños, siendo la diarrea el síntoma más común (90%). Tanto en niños como en adultos la Criptosporidiosis fue generalmente más severa que la gastroenteritis viral, pero fue siempre autolimitada. La mayoría de los pacientes que fueron seguidos con exámenes de muestras fecales, la diarrea tuvo resolución y Cryptosporidium desapareció del excremento (4,6,7,12,16,22,23).

En pacientes inmunocomprometidos, los síntomas de enteritis criptosporidial por lo general se desarrollan insidiosamente y aumentan en severidad conforme la función inmune del paciente se va deteriorando progresivamente.

Los pacientes presentan un síndrome coleriforme con pérdidas de grandes cantidades de líquido que llegan comúnmente de 1 a 25 litros al día, teniendo la diarrea una duración de 2 semanas hasta años.

Otras manifestaciones clínicas de Criptosporidiosis en pacientes inmunocomprometidos incluyen: anorexia, náusea, vómito, dolor abdominal tipo calambre, fiebre intermitente, pérdida de peso (5 al 50% de su peso corporal previo), deshidratación severa, desequilibrio hidroelectrolítico, ocasionalmente los pacientes refieren tenesmo, cefalea intermitente, sangre oculta en heces, linfadenopatía y desnutrición severa (4,5,6,-

11,13).

Los síntomas generalmente persisten hasta que la muerte - debida a otras infecciones oportunistas o neoplasias ocurre. - Ocasionalmente los pacientes tendrán periodos asintomáticos, - pero estos intervalos generalmente son breves (6,7,17).

No hay recuperación plena del paciente y hasta el momento no existe tratamiento efectivo (14,15,17,19,25,26).

#### Diagnóstico.

El método más útil para el diagnóstico es la evidencia -- histológica de los estadios parasitarios que atacan la superfi- cie de células epiteliales.

De acuerdo con Melsel y cols. (21) la biopsia es el mé- todo concluyente para diagnosticar los microorganismos y sus - efectos, tanto en animales como en humanos. Recientemente, la identificación de Cryptosporidium se ha realizado por microscopía de luz o electrónica, a partir de biopsias de tubo diges- tivo, en donde se han observado las diferentes fases del ciclo parasitario para establecer el diagnóstico.

## Criptosporidiosis Humana

Comparación de formas clínicas en pacientes inmunocomprometidos e inmunocompetentes.

Tipo de pacientes	Edad media en años	Predominio sexual M : F	Contacto con animales	Casos Asintomáticos	Duración de la diarrea	Método diagnóstico	Infecciones Asociadas	Resultados
No Comprometidos	20.8	2 : 3	Frecuente.	2	días	La mayoría por examen de heces	No	Todos los pacientes se recuperan
Inmunocomprometidos	35.6	31 : 1	Raro	Ninguno	meses	La mayoría por biopsia intestinal y/o examen en heces	Frecuentes.	Casi todos los pacientes fallecen.



Debido al número creciente de pacientes con infección --- comprobada por Cryptosporidium y otras coccidias, es importante para el laboratorio clínico estar conciente de la existencia de una o más técnicas apropiadas para el diagnóstico, recuperación e identificación de Cryptosporidium.

La excreción de ooquistes de Cryptosporidium en heces de animales infectados, ya sea en forma natural o experimental, coincide con la enfermedad clínica y daño del tejido de la mucosa. Los ooquistes son más pequeños que los de otras coccidias, miden de 3 a 6  $\mu$ m de diámetro, y a menudo se excretan -- intermitentemente en cantidades pequeñas (8,15,21).

La identificación de Cryptosporidium en muestras de heces humanas se efectuó por primera vez en 1978, y algunos informes sugieren que el examen de las heces usando técnicas de tinción específicas, de concentración o ambas, pueden ser más sensibles que la biopsia intestinal para el diagnóstico de Criptosporidiosis, ya que el material de biopsia puede dar un diagnóstico -- falso si el sitio de donde se toma no está infectado (15,27).

Los métodos usados para la identificación de ooquistes en heces fecales incluyen las siguientes técnicas:

Técnicas de tinción.

- 1.- Técnica de fenol-auramina.- heces previamente fijadas en - cacodilato al 3% amortiguado en glutaraldehido (pH 7.4) (28)
- 2.- Montaje en fresco de yodo (27).
- 3.- Carbol-fucsina de Zielh-Neelsen.
- 4.- Tinción modificada de Zielh-Neelsen (29).
- 5.- Tinción de Giemsa.
- 6.- Tricrómico de gomori (13).
- 7.- Acido peryódico de Shift (13).
- 8.- Acido peryódico modificado de Shift.
- 9.- Naranja-acridina.
- 10.- Rodamina-auramina.
- 11.- Metenamina de plata.
- 12.- Acido fuerte de Kinyou.

Técnicas de concentración utilizadas:

- 1.- Concentración de Sheater, con sacarosa.
- 2.- Concentración por flotación con sulfato de zinc.
- 3.- Flotación con azúcar y sedimentación con formaldehido (30).
- 4.- Concentración mediante el uso de un concentrador de parásitos (31).

Recomendaciones especiales: como la que menciona Soave -- "tres pasos" en la observación de heces: a) examen directo en lugol, b) tinción de Kinyoun y c) concentración de Sheater;(27). Se menciona además un procedimiento de concentración, aclaramiento

y tinción (CONATIN) de Bernal y cols. que permite teñir no solo al ooquiste sino aclarar y colorear el contenido de cuatro-esporozoitos, cuya observación no deja dudas en cuanto a la -- identificación del parásito (32).

Trabajos de valoración de técnicas de separación y tin-- ción de ooquistes, demostraron que la concentración por flota-- ción con azúcar, la sedimentación con formaldehído, así como -- la tinción de Giemsa, Zielh-Neelsen modificada y la tinción -- ácido-fuerte de Kinyoun, son excelentes para su obtención y co-- loración, necesitando solo de un cuidadoso examen microscópico para la identificación de Cryptosporidium. (13,32).

Un método serológico promisorio para el diagnóstico de -- Criptosporidiosis, es mediante el uso de inmunofluorescencia -- indirecta para detectar anticuerpos contra Cryptosporidium, ha sido reportada en los E.U.A. y Australia. El reporte de Esta-- dos Unidos indica que la prueba tiene buena especificidad y -- sensibilidad, aún cuando los pacientes sean inmunocomprometi-- dos, a excepción de aquellos con hipogammaglobulinemia. El -- tiempo que se requirió para detectar los títulos de anticuer-- pos no fue determinado, las muestras séricas al inicio de la -- enfermedad fueron negativas, mientras que a los 60-90 días des-- pués todas fueron positivas (3).

Campbell y Current (33) también demostraron la presencia de anticuerpos circulantes contra Cryptosporidium, por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta en el suero de 12 sujetos con función inmunitaria normal que se recuperaron de Criptosporidiosis (títulos de 1:40 hasta 1:2560) y en el suero de cinco pacientes con SIDA y Criptosporidiosis persistente (títulos de 1:40 a 1:640); al recuperarse de la infección, los pacientes inmunocompetentes permanecieron con sus títulos altos durante un año (1:40 a 1:640). Además se observó muy poca o ninguna reacción cruzada con otras coccidias como Toxoplasma, Sarcocystis e Isospora.

En 1986 Ungar y Soave desarrollaron un inmunoensayo enzimático sensible y reproducible para la detección de IgG e IgM séricos utilizando oocistos de Cryptosporidium como antígeno (16).

Los estudios serológicos referidos, no son útiles en el diagnóstico de Criptosporidiosis aguda, pero tienen su papel en la delimitación de la epidemiología de la enfermedad (17).

#### Tratamiento.

No hay en la actualidad tratamiento efectivo para la infección criptosporidial, aunque el huésped inmunocompetente --

generalmente tiene una enfermedad autolimitada y requiere únicamente manejo de soporte. Ha habido reportes de enteritis severa que requiere hospitalización de estos pacientes para proporcionarles una adecuada hidratación parenteral y reposición de electrolitos (1,11).

Para el huésped inmunocomprometido la necesidad de una terapia eficaz es más importante. El manejo exitoso sólo ha ocurrido cuando el defecto inmune adyacente puede ser revertido, como lo prueba el hecho de que tres pacientes con inmunodeficiencia adquirida por drogas fueron curados al suspender -- éstas (3).

Ha habido reportes anecdóticos de éxito en la paliación de la diarrea criptosporidial con Espiramicina. Este antibiótico macrólido es similar a la eritromicina y a la clindamicina y se ha utilizado en Europa y Canadá para tratar la Toxoplasmosis y las infecciones respiratorias bacterianas. Los efectos adversos del tratamiento incluyen náusea, vómito, diarrea, dolor epigástrico y colitis aguda (1, 17, 34).

El alfa difluorometilornitina (DFMO) es un inhibidor irreversible de la descarboxilasa ornitina que ha demostrado alguna eficacia en el tratamiento de la diarrea en un número pequeño

ño de pacientes con SIDA y Criptosporidiosis, pero ha demostrado ser tóxico a una dosis de 9g/Kg/día, ya que produce supresión de la médula ósea e irritación gastrointestinal. Otras sustancias potencialmente terapéuticas que están siendo investigadas incluyen: calostro bovino hiperinmune, globulina de leche de vaca y factor de transferencia bovino (1,17).

Se han probado más de 40 agentes antimicrobianos, incluyendo coccidiostáticos y otros compuestos antiprotozoarios, antibióticos de amplio espectro y aún antihelmínticos para tratamiento de la infección en humanos, así como experimentalmente en terneras y ratones. Ningún esquema ha sido eficaz (Cuadro-3) (7,11,18,19).

#### Epidemiología.

Antes de su descripción en humanos, Cryptosporidium se consideró únicamente patógeno de animales domésticos (vacas, cerdos, gatos, pavos) de una a tres semanas de vida, infectándolos y haciéndolos permanecer asintomáticos o desarrollar enfermedad clínica pudiendo ser autolimitada o mortal; por otro lado se observa que la infección es rara en animales adultos, lo que sugiere que probablemente se adquiere inmunidad al contacto con el organismo (1,7,35).

Cuadro 3.

Agentes antimicrobianos que se han informado como ineficaces  
contra infecciones por Cryptosporidium

Medicamentos usados en el tratamiento de Criptosporidiosis humana.

<u>Weinstein y cols.</u>	<u>Sloper y cols.</u>	<u>Stemmermann y cols.</u>
Sulfisoxazol	Mepacrina	Metronidazol
Pirimetamina	Colistina	Sulfametoxazol
Metronidazol	Oxitetraciclina	Trimetoprim
Cloroquina	Metronidazol	Pirimetamina
Primaquina	Piperazina	Sulfadiazina
Loperamida	Tiobendazol	Levamisol
Pentemidina	Ampicilina	Anfotericina B
Sulfatalidina	Eritromicina	Colestiramina
	Penicilina	
	Trimetoprim	
	Sulfametoxazol	
	Gentamicina	
	Cloxacilina	
	Carbencilina	

Medicamentos usados experimentalmente en:

<u>Ternera</u>	<u>Ratón</u>	
<u>Moon y cols.</u>	<u>Tzipori y cols.</u>	
Amprolium	Etopabate	Zooquin
Sulfadimidina	Nicarbazina	Fenamidina
Trimetoprim	Sulfaquinoxalina	Amprol
Sulfadiazina	Furaltadona	Halofuginona
Dimetridazol	Enterolite-N	Salinomicina
Metronidazol	Sulfametazina	Emtril
Ipronidazol	Trinamida	
Quinacrina	Aprinocida	
Monensin	Ampralium	
Lasolacida		

La naturaleza ubicua del parásito en el hombre y su aparente capacidad para cruzar barreras de especies de huéspedes, implica que el reservorio de la infección para el hombre es variable. Los oocistos son estables en las excretas y resistentes a agentes químicos (oocistos de pared gruesa); han sido encontrados en el medio ambiente. Los oocistos de pared delgada no son excretados en las heces, pero sin embargo poseen una capacidad autoinfectiva. Estos factores implican que varias rutas de transmisión son posibles. La extensión de persona a persona ha sido también reportada (2,11).

Current reportó entre septiembre de 1981 a abril de 1982 a doce de dieciocho sujetos previamente sanos, como portadores de infección por Cryptosporidium después de haber sido expuestos a vacas infectadas por espacio de 10 minutos en 6 días. Todos habían tenido contacto físico directo con las heces de estos animales. Las características clínicas fueron diarrea, que inició al primero y segundo día de la infección y duró hasta seis días, con 2 a 10 evacuaciones en 24 horas, los pacientes refirieron malestar, calambres abdominales, fiebre y náusea leve. Dos sujetos fueron asintomáticos, detectándose la infección mediante un coproparasitoscópico rutinario. Este estudio demuestra que Cryptosporidium produce una enfermedad autolimitada moderada en personas inmunocompetentes; que contrasta ---



fuertemente con diarrea severa, prolongada en pacientes inmunocomprometidos que contrajeron Criptosporidiosis. Las vacas con diarrea deben ser consideradas una fuente potencial de infección humana, y personas inmunocomprometidas deben evitar el contacto con ellas (7,5,15,25).

El agua, la leche cruda y los alimentos han sido propuestos como fuente de infección. Los métodos de concentración tales como filtración, cepillado de Moore y la centrifugación de formol-éter han sido utilizados en estudios ambientales con éxito (2,7).

La mayoría de los estudios epidemiológicos indican que Cryptosporidium es una causa común de diarrea en todo el mundo, infectando casi al 7% en niños en países desarrollados.

En México, Hernández y Bernal (32) estudiaron 112 muestras de materia fecal, de niños con diarrea, donde encontraron 29 muestras de heces positivas con ooquistes de Cryptosporidium que representan el 25.8% del total de niños estudiados. De los 29 niños con Criptosporidiosis, 20 corresponden a edades entre 3 días a un año (68.9%), cinco con edades entre 1 año/1 mes a 4 años (17.2%), dos, con edad comprendida entre 4 años/1 mes a 9 años y tres niños con edad mayor de

9 años. En el Hospital General de México, S. S. Romero y Avila (36) estudiaron un total de 250 niños que presentaron evacuaciones diarréicas, de los cuales sólo en 4 pacientes se aisló Cryptosporidium, lo cual correspondió al 1.6% (1,12,14,17,24,36).

Se ha determinado una respuesta de anticuerpos séricos a la infección tanto en humanos como en animales. Utilizando la prueba de ELISA para detectar IgM e IgG se demostró que hay -- respuesta inmunológica tanto en pacientes inmunocomprometidos como inmunocompetentes y que hay una sorprendente alta seropositividad en la población sana. Los estudios seroepidemiológicos serán de utilidad para describir el perfil epidemiológico de la infección criptosporidial y para determinar la verdadera prevalencia de la enfermedad.

Aunque 17 especies del parásito se han denominado, varios estudios de transmisión cruzada han demostrado que el organismo no tiene especificidad de huésped. Un reporte reciente sugiere que únicamente dos especies de Cryptosporidium infectan a los mamíferos (parvus y muris). La transmisión de animal a humano o viceversa se ha documentado, de esta manera la enfermedad debe añadirse a la ya larga lista de zoonosis humana. -- La ocurrencia de infecciones en contactos de pacientes infec--

tados y en hombres homosexuales sanos, así como la extensión nosocomial de la infección, indican que Cryptosporidium es altamente infeccioso y transmisible de persona a persona. La enfermedad ha sido descrita en viajeros, principalmente en aquellos que visitan países desarrollados, con lo que se considera que fomites, alimentos y el agua pueden ser vías de transmisión del parásito. El portador asintomático de Cryptosporidium tiene significancia epidemiológica incierta (1,16).

El principal mecanismo de transmisión es la vía oral-fecal, ya que los ooquistes son encontrados exclusivamente en las heces (3); el organismo invade el intestino, pero comúnmente se encuentra en el intestino grueso donde ocurren cambios en la mucosa. El periodo de incubación varía entre 4 y 12 días; estudios recientes indican que en personas inmunológicamente normales es de una semana (24).

La transmisión también puede ocurrir a través del contacto directo o indirecto con heces contaminadas. El directo puede ser durante el acto sexual, involucrando la práctica oral-anal; y la transmisión indirecta puede ocurrir mediante la exposición del medio ambiente contaminado con materia fecal como agua, comida o fomites (3).

La Criptosporidiosis puede ser transmitida por diferentes huéspedes, siendo los animales los más importantes reservorios de la infección para los humanos, principalmente los animales-domésticos (5,15,20).

#### Criptosporidiosis y el Estado Inmune.

A partir de 1976, fecha en que por primera vez se aisló Cryptosporidium en el ser humano, se va observando que con mayor frecuencia se aísla este protozooario en aquellos pacientes que de una o de otra manera tienen disminuída su capacidad de respuesta inmune, situación que se pone de manifiesto en forma inequívoca cuando en la década de los 80's se encuentra que el aislamiento de coccidias del género Cryptosporidium en el ser humano es frecuente y motivo en muchos de los casos de manifestaciones clínicas evidentes y sobre todo en forma crónica, como es la situación de formas clínicas con evacuaciones diarréicas con duración de meses y hasta años, en personas que tienen severamente deteriorada la respuesta inmune por padecer S.I.D.A.

El advenimiento del S.I.D.A. con todas sus peculiaridades, ha hecho que procesos infecciosos no habituales adquieran gran importancia, como la candidosis, diversas micosis pulmonares -

oportunistas, enfermedades bacterianas por agentes comensales para el ser humano, parasitosis que aparecían sólo en el recién nacido prematuro o en el adulto de edad avanzada y con padecimientos crónicos debilitantes como es el caso de la neumo-cistosis. Así también, para el protozoo motivo de este trabajo, Cryptosporidium, el cual se presenta en un alto porcentaje de los pacientes con diagnóstico de S.I.D.A. Este hecho por sí mismo denota que la infección por Cryptosporidium es más común cuando la respuesta inmune se encuentra disminuida; si a esto le agregamos de acuerdo a lo publicado en el mundo científico biomédico, además de los casos de S.I.D.A., también se ha observado que la presencia de Cryptosporidium es más frecuente en personas que sufren alguna enfermedad debilitante como el caso de deshidrataciones severas, desnutrición, neoplasias, etc.

Los aspectos epidemiológicos de frecuencia de la infección por Cryptosporidium ponen en evidencia su carácter oportunista, al aprovechar cuando la respuesta inmune es deficiente en el ser humano, sin embargo no es el único parámetro para etiquetar de oportunista a este protozoo, puesto que los aspectos fisiopatogénicos y clínicos evidentemente demuestran que el comportamiento de la relación huésped-parásito, hombre-Cryptosporidium, es muy diferente si el huésped se encuentra con su - -

capacidad inmunológica completa, de ésta forma tenemos que la infección en el huésped inmunocompetente, cuando llega a expresarse clínicamente, los signos y síntomas duran de 5 a 8 días y posteriormente desaparecen porque el proceso normalmente en estos casos se autolimita, aparentemente por la capacidad de respuesta del huésped parasitado; a diferencia de lo anterior, en el paciente con respuesta inmune inadecuada, con gran frecuencia no solo no se autolimita sino permanece en forma crónica en ocasiones por muy largos periodos. A tal grado es importante lo expresado anteriormente que el aislamiento de Cryptosporidium en un individuo adulto con manifestaciones diarréicas por tiempo prolongado, es indicativo de probable S.I.D.A., dicho de otra manera, cuando en un caso descrito se aísla Cryptosporidium se debe considerar que esa persona tiene muchas posibilidades de padecer la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.

Con lo antes expresado más todo lo que se ha logrado saber hasta la fecha de Cryptosporidium y la Criptosporidiosis, podemos concluir sin duda alguna que este microorganismo tiene un comportamiento de oportunista y que la enfermedad tendrá una evolución muy distinta en el paciente inmunocompetente y en el paciente inmunocomprometido.

### **CAPITULO III.**

#### **PARTE EXPERIMENTAL.**

Material y métodos.

1.- Vidriería:

- Portaobjetos de 25 x 75 mm.
- Cubreobjetos de 22 x 22 mm.
- Pipetas Pasteur con bulbo.
- Frascos de 50 ml. de boca ancha.
- Tubos de ensaye de 13 x 100 mm.
- Embudos de vidrio o polietileno de 7.5 cm. de diámetro.
- Puente de vidrio para tinción.
- Frascos reactivos con gotero.
- Dispositivo de concentración (consiste en un tubo de plástico rígido, con un extremo cónico terminado en un tallo hueco que se ajusta perfectamente en un tubo de ensaye de 13 x 100 mm).

2.- Reactivos:

- Cloruro de sodio.
- Yodo cristaloido.
- Yoduro de potasio.
- Sacarosa.
- Fenol.
- Sulfato de zinc.
- Fuchsina básica.



- Etanol 95%.
- Acido clorhídrico.
- Azul de metileno.
- Agua destilada.

3.- Soluciones.

- Solución salina isotónica.
- Lugol parasitológico.
- Solución azucarada de Sheater
- Solución de sulfato de zinc con densidad de 1.192<sup>o</sup> Baumé.
- Carbol - fuchsina Kinyoun.
- Decolorante alcohol-ácido.
- Azul-de metileno 3%.
- Metanol.

4.- Instrumentos.

- Microscopio compuesto.
- Centrífuga con camisas para tubos de 13 x 100 mm.
- Densímetro graduado de 1.100 a 1.200<sup>o</sup> Baumé.
- Mechero de Bunsen.

5.- Otros.

- Aplicadores de madera o palillos.
- Abatelenguas de madera.

- Gasa cortada en cuadros de 15 cm. de lado.
- Gradilla.
- Papel filtro de 25 x 50 mm.
- Pinzas.

### Métodos.

#### 1.- Método directo en fresco.

- En un portaobjetos se colocan, separadamente una gota de solución salina y otra de lugol.
- Con el aplicador de madera, se toma una muestra de 1 a 4 mg de heces y se mezclan con la solución salina, haciendo una suspensión homogénea.
- Con el mismo aplicador se retiran las fibras y otros fragmentos gruesos.
- Se coloca el cubreobjetos.
- Se efectúa la misma operación con la gota de lugol.
- Se tiene lista la preparación para observar al microscopio.

Los ooquistes de Cryptosporidium no se tiñen, aparecen como cuerpos refringentes sobre un campo café oscuro.

#### 2.- Método de concentración por flotación (Sheater).

- Este procedimiento puede ser utilizado sobre muestras fijadas o no con formol.

- Muestras formadas: Aproximadamente 0.5 g de la evacuación se mezclan con la solución de Sheater.
- Evacuaciones acuosas: Se centrifugan y se mezclan de 0.5 a 1 ml. del sedimento con la solución de Sheater.
- En ambos casos se centrifuga la solución a 400 x g. durante 5 a 10 minutos.
- Se toma el menisco superior y se coloca el concentrado sobre un portaobjetos, se hace un frotis y se tiñe con técnicas específicas para Cryptosporidium.

### 3.- Método de concentración por centrifugación flotación.

#### (Faust modificado).

- Se hace una suspensión homogénea con 1 a 2 g. de materia fecal y 10 ml. de agua de la llave.
- Se pasa a través de gasa colocada en el embudo y colectando la suspensión directamente en el tubo.
- Los tubos así preparados, se centrifugan a 2,000 rpm durante un minuto.
- Se decanta el sobrenadante y se resuspende el sedimento -- con agua, agitando con un aplicador.
- Se centrifuga nuevamente y se vuelve a decantar el sobrenadante.
- Se agregan 2 a 3 ml de solución de sulfato de zinc a los tubos y se homogeneiza perfectamente, se coloca el dispo--

sitivo de concentración, se llenan los tubos con más solución hasta 0.5 cm. por abajo de los bordes, cuidando de que no queden burbujas.

- Se centrifuga a 2,000 rpm durante un minuto.
- Se deposita el concentrado en el portaobjetos mediante el latex del dispositivo de concentración, se hace un frotis y se fija a la flama.

#### 4.- Tinción ácido-alcohol resistente de Kinyoun.

- Dejar secar el frotis al medio ambiente.
- Fijar al calor brevemente.
- Fijar con metanol absoluto y dejar secar
- Teñir con carbol-fuchsina durante 5 minutos, colocando --- papel filtro sobre cada una de las preparaciones.
- Lavar con agua corriente.
- Decolorar con alcohol-ácido, hasta que el color rojo se -- desvanezca por completo.
- Lavar con agua corriente.
- Contrastar con azul de metileno durante 2 a 3 minutos.
- Se lava y se deja secar.
- Se observa al microscopio con objetivo de inmersión.

El parásito aparece como un cuerpo esférico teñido de --- rojo o rosa con granulaciones más oscuras al centro, los dese-

chos y levaduras aparecen teñidos de color azul verdoso (38).

### Metodología.

El presente trabajo se realizó en el Hospital General --- de México de la Secretaría de Salud, específicamente en las -- Unidades de Infectología y Pediatría de la siguiente forma: De los pacientes de la Clínica de Síndrome de Inmunodeficiencia - Adquirida atendidos tanto en Consulta Externa como en Hospita- lización en la Unidad de Infectología, se seleccionaron aque- llos que presentaban manifestaciones diarréicas, y de estos se tomaron muestras de heces que fueron enviadas a la Unidad de - Pediatría, y en el Laboratorio de Parasitología se realizaron para cada espécimen; examen directo en fresco, examen copropa- rasitoscópico por centrifugación flotación con sulfato de zinc (técnica de Faust modificada), examen de flotación con sacaro- sa (técnica de Sheater) y tinción ácido-alcohol resistente con la técnica de Kinyoun. De los frotis fecales elaborados a par- tir del examen directo en fresco y del material de flotación - de la técnica de concentración de Sheater, además de la lectu- ra microscópica de las preparaciones obtenidas en los exámenes coproparasitoscópicos, se realizó detallada revisión de cada - uno de los frotis teñidos, especialmente aquellos que a la --- primera lectura no se encontraban oquistes de Cryptosporidium.

Tomando en cuenta el padecimiento de base, cada uno de los casos fue estudiado en forma integral desde el punto de vista clínico, y para diagnóstico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida se aplicaron pruebas serológicas, utilizando la técnica de ELISA para detección de anticuerpos anti VIH y pruebas confirmatorias en los casos positivos (prueba de Western - Blood).

Como se mencionó al inicio de este capítulo, todos los pacientes estudiados tuvieron diagnóstico confirmado de S.I.D.A. y evacuaciones diarréicas. Estos dos parámetros se consideraron como criterios de inclusión para el estudio.

#### Resultados.

Se estudiaron un total de 65 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión ya señalados. En función del sexo, el 92.3% correspondieron al sexo masculino y el 7.7% al femenino, esto es, de los 65 pacientes sólo 5 fueron mujeres (tabla No. 1). En cuanto a edad de los pacientes se distribuyeron de 19 a 56 años con un promedio de 35.5 años (tabla No. 2).

Del estudio parasitológico selectivo para búsqueda e identificación de Cryptosporidium realizado en los 65 pacientes, -

encontramos que en 20 de ellos (30.76%) fue positivo con la -- identificación microscópica de ooquistes de Cryptosporidium y negativo en el 69.24% (45 pacientes) (Tabla No. 3). Estos 20 pacientes con Criptosporidiosis demostrada correspondieron 19 al sexo masculino (95%) y 1 al sexo femenino (5%) (Tabla No. 4). En cuanto a la edad se presentó una distribución similar a la -- del total de los casos estudiados, esto es, el mayor porcentaje correspondió a la 4a. década de la vida (Tabla No. 5). Entre las manifestaciones clínicas más sobresalientes que presenta-- ban los veinte pacientes positivos con Criptosporidiosis están: Pérdida de peso y diarrea presentes en todos los pacientes, es-- to es el 100%, dolor abdominal en el 85%, fiebre en el 75%, -- disminución del apetito en el 60% y la presencia de náuseas y vómito en el 50% de los casos (Tabla No. 6). Con respecto a -- otras patologías infecciosas y neoplásicas identificadas en -- nuestra población en estudio, encontramos que el 85% de los pa-- cientes con Criptosporidiosis presentaron también candidosis -- del tubo digestivo, tuberculosis pulmonar el 25%, neumocisto-- sis el 10%, así como toxoplasmosis con el mismo porcentaje, en menor proporción como se observa en la Tabla No. 7, Giardiasis, otitis y otras patologías infecciosas. De las neoplasias; tres pacientes presentaron sarcoma de Kaposi, uno más, linfoma pri-- mario de Sistema Nervioso Central y uno desarrollo Carcinoma -- epidermoide.

Tabla No. 1

Distribución del total de pacientes estudiados de acuerdo al sexo

Sexo	No. de pacientes	Porcentaje
Masculino	60	92.3 %
Femenino	5	7.7 %
Total	65	100.0 %



Tabla No. 2

Relación del total de pacientes de acuerdo a la edad

Edad (años)	No. de pacientes	Porcentaje
menos de 20	3	4.6 %
21 - 30	20	30.76 %
31 - 40	31	47.69 %
41 - 50	7	10.76 %
más de 50	4	6.15 %
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>100.00 %</b>

Tabla No. 3

Resultado del Aislamiento de Cryptosporidium en heces  
mediante los exámenes de laboratorio.

Identificación de ooquistes	No. de pacientes	Porcentaje
Positivos	20	30.76 %
Negativos	45	69.24 %
Totales	65	100.00 %

Tabla No. 4

Distribución de pacientes con Criptosporidiosis  
de acuerdo al sexo.

Sexo	No. de pacientes	Porcentaje
Masculino	19	95 %
Femenino	1	5 %
Totales	20	100 %

Tabla No. 5

Relación de pacientes con Criptosporidiosis  
de acuerdo a la edad.

Edad (años)	No. de pacientes	Porcentaje
Menos de 20	0	0 %
21 - 30	6	30 %
31 - 40	9	45 %
41 - 50	2	10 %
Más de 50	3	15 %
Total	20	100 %

Tabla No. 6

Sintomatología encontrada en los pacientes  
con Criptosporidiosis.

Síntoma	No. de pacientes	Porcentaje
Pérdida de peso	20	100 %
Diarrea	20	100 %
Dolor abdominal	17	85 %
Fiebre	15	75 %
Anorexia	12	60 %
Nausea y Vómito	10	50 %

Tabla No. 7

Relación de patologías infecciosas y neoplásicas en los  
pacientes estudiados con Criptosporidiosis

Infecciones	No. de pacientes	Porcentaje
Candidosis del tubo digestivo	17	85 %
T.B. pulmonar	5	25 %
<u>Pneumocystis carinii</u>	3	15 %
<u>Toxoplasma gondii</u>	3	15 %
Giardiasis	1	5 %
Otitis media	1	5 %
Isosporiasis	1	5 %
Enteritis por <u>Salmonella</u> sp	1	5 %
Proctitis infecciosa	1	5 %
Psoarriasis generalizada	1	5 %
Herpes Zoster	1	5 %
Colitis infecciosa	1	5 %
Neoplasias		
Sarcoma de Kaposi	3	15 %
Linfoma primario de SNC.	1	5 %
Carcinoma epidermoide	1	5 %

**CAPITULO IV.**

**DISCUSION**

### Discusión.

En los 65 pacientes estudiados con diagnóstico corroborado de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, encontramos que cerca de una tercera parte presentaron infección gastrointestinal por Cryptosporidium, situación que se asemeja mucho a lo reportado por otros autores (1,4,5,6,11,14,17,25,26,27,28). -- Este hecho nos demuestra que el comportamiento de la infección por esta coccidea en nuestro medio parece ser igual a lo que sucede en países desarrollados. No disponemos de suficiente información para poder determinar la epidemiología global de la infección por Cryptosporidium en nuestro país. De los datos conocidos tenemos que el aislamiento del parásito en niños del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" y en la Unidad de Pediatría del Hospital General de México, en el primer caso se aisló a partir de pacientes asistentes a Consulta Externa sin datos de inmunocompromiso, con una frecuencia entre el 20 y el 25% (32) y en el segundo caso el aislamiento se logró en pacientes con enfermedad diarreica aguda, deshidratación, desnutrición y desequilibrio hidroelectrolítico en un 5% (10) de los casos estudiados y en pacientes no inmunocomprometidos asistentes a Consulta Externa en sólo un 1.6% (36).

En pacientes adultos sólo disponemos de otra publicación-



más a partir de un estudio realizado en San Luis Potosí donde se reporta 15% de aislamiento en población abierta (39). Epidemiológicamente parece ser que la infección por Cryptosporidium es muy variable en nuestro medio o en su defecto no han sido suficientemente estandarizadas las metodologías en los diferentes estudios realizados en las Instituciones mencionadas; pero lo que no hay duda es que la infección por Cryptosporidium se da en nuestro país como en cualquier otro sitio del mundo, por lo tanto el riesgo de adquirir al parásito en el caso del paciente inmunocomprometido es muy alto y con los resultados obtenidos en este estudio queda demostrado que la tercera parte de los pacientes con esta patología que asisten a la Clínica de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida del Hospital General de México presentan Criptosporidiosis, con una sintomatología prácticamente idéntica a la que se conoce en otras regiones geográficas, en nuestro caso síndrome diarréico y pérdida de peso en el 100% de los pacientes, acompañado de un alto porcentaje por dolor abdominal, fiebre, anorexia, náusea y vómito (1,2,3,4,5,6,7,12,13,14,23,36). En cuanto a edad y sexo también nos encontramos en situaciones iguales a otros reportes, con una mayor frecuencia entre los 30 y 40 años de edad y arriba del 90% en el sexo masculino (2,3,11,12,14,16).

En cuanto a la asociación de S.I.D.A. y Criptosporidiosis y otras patologías encontramos que la infección número

uno sin duda alguna es la producida por el genero Candida, en nuestro estudio encontramos que el 85% de los pacientes con S.I.D.A. y Criptosporidiosis tuvieron un aislamiento positivo para Candida en el tubo digestivo, situación que tampoco es muy diferente de lo que sucede en otras series estudiadas (4, 5, 14, 17, 19, 26). Llama la atención desde el punto de vista clínico hasta donde las manifestaciones de tipo digestivo sean atribuibles a la infección por Cryptosporidium y no a la asociación de Criptosporidiosis y candidosis, ya que los dos microorganismos se encuentran en el tracto del aparato digestivo, lo que por el momento no es posible dilucidar sin la realización de estudios experimentales. De las otras patologías asociadas tuvimos como infecciosas; tuberculosis pulmonar en el 25%, toxoplasmosis y neumocistosis en el 15%, y neoplasias al sarcoma de Kaposi en el 15%. Probablemente de los hallazgos de nuestro estudio en comparación con otros, el que nos llama la atención es básicamente la baja frecuencia de infección por Giardia lamblia, ya que sólo en un 5% de los casos la encontramos, a diferencia de lo que se comunica en la literatura (30) (12, 16, 26).

Para tener un panorama completo de la Criptosporidiosis en México tanto en pacientes con respuesta inmune adecuada como inmunocomprometidos por infección por VIH o por algún otro-

factor de inmunosupresión y en individuos en edades pediátricas, jóvenes, adultos y ancianos, es indispensable que se realicen - estudios en los diferentes grupos poblacionales y en diferentes regiones de nuestro país. Bajo este contexto el presente trabajo a nuestro juicio representa un elemento más para integrar el conocimiento de la Criptosporidiosis infección y enfermedad en nuestro medio.

## CAPITULO V.

---

### CONCLUSIONES

Conclusiones.

Como conclusiones de este trabajo de investigación, podemos decir que la infección por Cryptosporidium en pacientes -- adultos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida asistentes para atención médica al Hospital General de México se presenta en un 30.76% con sintomatología similar a la de pacientes también con S.I.D.A. en países desarrollados. Que las patologías asociadas al paciente con S.I.D.A. y Criptosporidiosis son en primer lugar candidosis de tubo digestivo y en segundo lugar - Tuberculosis Pulmonar, y en tercer lugar Neumocistosis, Toxoplasmosis y sarcoma de Kaposi.

La técnica más práctica para la identificación de ooquistes de Cryptosporidium, a partir de materia fecal es la concentración (mediante las técnicas de Sheater y Faust modificada) - y la tinción con ácido-alcohol resistente de Kinyoun, utilizada en este trabajo.

Finalmente consideramos que la Criptosporidiosis en pacientes con S.I.D.A. en nuestro medio tiene una frecuencia y - un comportamiento igual a lo que sucede en otros países.

## **CAPITULO VI**

### **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.**

Referencias Bibliográficas.

- 1.- Soave R., Armstrong D. Cryptosporidium and Criptosporidio  
sis. Rev. Infec. Dis 1986; 8(6); 1012 - 1023.
- 2.- Casemore D.P., Sand R. H. Cryptosporidium species a "new"  
human pathogen. J. Clin. Pathol 1985, 38: 1321-1336.
- 3.- Navin T.R., Juranek D.D. Criptosporidiosis: clinical, epi  
demiologic and parasitologic review. Rev. Infec. Dis. ---  
May-Jun 1984; 6 (3): 313 - 327.
- ..- Guarda L.A., Stanley A.S., Cleary A.K. Human Criptospori-  
dosis in the Acquired Immune Deficiency Syndrome. Arch. -  
Pathol Lab. Med. Nov 1983: 107: 562-566.
- 5.- Barriga A. G., Cardeña C.J., Estrada P.S. Criptosporidio-  
sis asociada con SIDA: Informe de un caso. Infectología -  
Feb 1985; 5 (2) 33 - 36.
- 6.- Amador R. L. Criptosporidiosis. Infectología. Agost. --  
1986; 6 (8) 279 - 286.
- 7.- González B.C., Reyes M.E., Conde G.C. Criptosporidiosis.-  
Infectología jun 1985; 5 (6): 140 - 145.
- 8.- Bird R.G., Smith M.D. Criptosporidiosis in man, parasite-  
life cycle and fine structural pathology. J. Pathol 1980;-  
132: 217-233.

- 9.- Lefkowitz J. H., Krumholz S., Feng-Chen K. Cryptosporidiosis of the human small intestine. A light and electron-microscopic study. Hum. Pathol. august 1984; 15(8): 746 -- 752.
- 10.- Montesinos N.C., Romero C.P. Búsqueda de Cryptosporidium en población infantil con cuadro de diarrea en un Hospital de concentración pediátrica. Universidad Femenina de México. 1986. Tesis Profesional.
- 11.- Pitlik S.D., Painstein V., Garza D. Human Cryptosporidiosis: Spectrum of disease. Report of six cases and review of the literature. Arch. Intern Med. decemb. 1983; 143: - 2269 - 2275.
- 12.- Holley H.P., Dover C. Cryptosporidium: A common cause of parasitic diarrhea in other wise healthy individuals. J. - Infec. Dis. feb 1986; 153 (2): 365 - 368.
- 13.- García L.S., Bruckner J.A., Brewer T.C. Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens. July 1983; J. Clin. Microbiol. 18(1): 185 190.
- 14.- Malebranche R., Guerin J.M., Leroche A.C. Acquired immunodeficiency syndrome with severe gastrointestinal manifestations in Haiti. Lancet oct. 15, 1983: 873 - 877.



- 15.- Current W. L., Reese N.C., Erns I.V. Human Cryptosporidiosis immunocompetent and immunodeficient persons: Studies of and out break and experimental transmission. N. Engl. J. Med 1983 308: 1252 - 1257.
- 16.- Ungar B.P., Soave R., Layer R. Enzyme Immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to Cryptosporidium in Immunocompetent and immunocompromised persons. J. Infect. Dis. march 1986; 153 (3): 570 - 578.
- 17.- Soave R. and Johnson W. AIDS Commentary: Cryptosporidium and Isospora belli infections. J. Infect. Dis. feb 1988; 157 (2): 225 - 229.
- 18.- Nime F.A., Burek J.D., Page D.S. Acute Enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium. Gastroenterology april 1976; 70 (4): 592 - 598.
- 19.- Brady E.M., Margolis M.L., Korzemiowski O.M. Pulmonary Cryptosporidiosis in Acquired Immune Deficiency Syndrome. JAMA july 1984; 252(1); 89 - 90.
- 20.- Levine N.D., Taxonomy and review of the coccidian genus - Cryptosporidium (protozoa Apicomplexa) j. Protozool feb - 1984; 31 (1): 94 - 98.
- 21.- Nessel J.L., Perera D.F., Meligro C. Overwhelming Watery diarrhea associated with Cryptosporidium in an Immunosuppressed patient. Gastroenterology jun 1976; 70 (6): 1156 - 1160.

- 22.- Garza D. Diarrhea cused by a Coccidian parasite, Cryptosporidium. Lab. Med, may 1983; 14 (5); 283 - 286.
- 23.- Tzipori S., Smith M., Birch Ch., Barnes G. Cryptosporidiosis in hospital patient with gastroenteritis. An. J. Trop. Med Hyg. 1983; 32 (5); 931 - 934.
- 24.- Jokipii L., Pohjola S., Jokipii A.M.M. A frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. Lancet aug. - 13, 1983: 358 - 360.
- 25.- Koch K.L., Shankey V., Weinstein G.S. Cryptosporidiosis-- in a patient with hemophilia, common variable hipogamma-- globulinemia and the acquired immunodeficiency syndrome.-- Ann. Intern. Med. sep. 1983; 99 (3); 337 - 340.
- 26.- Gelb A., Miller S. AIDS and Gastroenterology. Am. J. -- Gastroenterol aug. 1986; 81 (8): 619 - 622.
- 27.- Pearl M. and Soave R. Three step stool examination for-- Cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted -- watery diarrhea. J. Infec. Dis. may 1983; 147 (5); 824 -- 828.
- 28.- Williams J.E., Ellis D.S., Smith M.D. Safe method for -- identifying Cryptosporidium cysts in the faeces of patients with suspected AIDS, or those infected with other serious concomitant pathogens. Technical methods 1313 - 1314.

- 29.- Henriksen S.A., Pohlentz J.F.L. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta vet. --- Scaud 1981; 22: 594 - 596.
- 30.- Horen W.P., Detection of Cryptosporidium in human fecal - specimens. J. Parasitol. 1983; 69 (3): 622 - 624.
- 31.- Zierdt W.S. Concentration and identification of Cryptosporidium sp b; use of a parasite concentrator. J. Clin. - Microb. nov 1984; 20 (5); 860 - 871.
- 32.- Ramírez H.E., Bernal R.R. CONATIN método para la identificación de ooquistes de Cryptosporidium sp en materia fe cal. Rev. Mex. Parasit. 1988; 1(1): 34.
- 33.- Campbell D.N., Current W.L. Demostration of serum antio**di**es to Cryptosporidium sp in normal and immunodeficient- humans with confirmed infections. J. Clin. Microbiol. 1983; 18: 165 - 169.
- 34.- Portnoy D., Whiteside M.E., Buckley E. Treatment of in- testinal Cryptosporidiosis with Spiramycin. Ann. Intern. Med. 1984; 101: 202 - 204.
- 35.- Tzipori S., Angus K.W., Campbell I., Gray E.W. Cryptos- poridium: Evidence for a Single- species genus. Infect. Immun. 1980; 30 (3); 884 - 886.

- 36.- Avila H.E. Aislamiento de *Cryptosporidium* en pacientes -  
pediátricos. Universidad Motolinia, A.C. 1948 Tesis ---  
Profesional.
- 37.- Salazar S.P., De Haro A.I. Manual de Técnicas para el --  
diagnóstico Morfológico de la Parasitosis. Ed. Francisco-  
Mendez Cervantes. 1980; 87 - 127.
- 38.- Lennete E. "Diagnostic parasitology: Introduction and --  
Methods". American Society for Microbiology. 1984; 55:-  
595 - 603.