



Revisión

Cryptosporidium spp. y Criptosporidiosis

María Antonia de la Parte-Pérez^{a*}, Elizabeth Bruzual^b, Ana Brito^b,
María del Pilar Hurtado^a

^a Escuela de Enfermería, Facultad de Medicina, UCV

^b Escuela de Medicina "J M Vargas", Facultad de Medicina, UCV
Caracas - Venezuela

Recibido 10 agosto de 2005; aceptado 10 de septiembre de 2005

Resumen: *Cryptosporidium* spp. es un protozoario parásito intracelular obligado perteneciente al Phylum Apicomplexa. El género *Cryptosporidium*, incluye aproximadamente 15 especies y es el causante de la criptosporidiosis, enfermedad considerada principalmente como una parasitosis gastrointestinal cuya principal vía de contagio es la oral, siendo el agua un importante agente para su diseminación. Otros factores de riesgo son el estado inmunológico, la edad y estado nutricional del individuo, así como el número de parásitos causantes de la infección y de las condiciones del medio ambiente, ya que los ooquistes mantienen su infectividad durante un tiempo relativamente largo y son muy resistentes a los desinfectantes. En esta revisión se incluyen aspectos históricos del agente causal y de la enfermedad infecciosa, su epidemiología, fisiopatología, respuesta inmunitaria del hospedador, manifestaciones clínicas, métodos diagnósticos, tratamiento y medidas de prevención.

Palabras clave: *Cryptosporidium* spp., criptosporidiosis, enteropatógeno

Cryptosporidium spp. and Cryptosporidiosis

Abstract: *Cryptosporidium* spp. is a protozoan intracellular obligatory parasite of the Phylum Apicomplexa. Approximately fifteen named *Cryptosporidium* species are recognized to date. *Cryptosporidium* produces cryptosporidiosis an enteric infectious disease causing diarrhoea, transmitted mainly by drinking water and recreational water facilities. Other risk factors for this parasitic disease are the host immune response, age and nutritional condition, also the number of infecting parasites and environmental conditions as the oocyst stage can remain infective under cool, moist conditions for many months and are very resistant to disinfectants. In this revision we include historical aspects related to the parasite and the infectious disease, epidemiology, physiopathology, host immune response, diagnostic procedures, treatment and prevention strategies.

Keywords: *Cryptosporidium* spp., cryptosporidiosis, enteropathogen

* Correspondencia:

E-mail: delaparte@cantv.net

Introducción

Cryptosporidium es un protozoario parásito perteneciente al Phylum Apicomplexa, intracelular obligado, monoxeno, con fases de reproducción sexual y asexual que ha sido ampliamente estudiado en la escala de vertebrados, incluida la especie humana. Se ha establecido que sus ooquistes 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.

La fase sexual ha sido muy bien estudiada por (Goebel y Braendler, 1982) quienes proporcionan 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* [1].

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. Actualmente se acepta que el género *Cryptosporidium* incluye aproximadamente 15 especies [2].

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 [2,3]. 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 [2].

Aspectos históricos

Cryptosporidium spp. fue descrito por Ernest Edward Tyzzer en 1907; en 1910 se propuso *Cryptosporidium muris* el cual fue descrito detalladamente y en 1912 se reporta *Cryptosporidium parvum* con estadios de desarrollo sólo en el intestino delgado de ratones y ooquistes pequeños [4]. Slavin en 1955 reporta *Cryptosporidium meleagridis* en pavos [2]; en 1971 *Cryptosporidium* spp. fue reportado asociado a diarreas de bovinos por Panciera *et al* [5]. En 1976, casi simultáneamente Nime *et al.* y Meisel *et al.*, reportan criptosporidiosis en humanos [6,7]. En 1977 Brownstein *et al.* informan por primera vez en forma completa *Cryptosporidium* en reptiles [8]. En 1982, son reportados por "Centres for Diseases Control" de EE.UU. los casos de 21 hombres con criptosporidiosis y SIDA en seis ciudades (Goldfarb *et al*) [9]. En 1987 Báez de Borges *et al.*, estudian la criptosporidiosis en Venezuela [10]. 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* [2]. En 1990, también se reportan aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en humanos [11] y en 1991, Current & Garcia establecen la criptosporidiosis como una de las infecciones entéricas más comunes en el humano [12]. En 1993 *Cryptosporidium* es reconocido como problema de salud pública asociado al agua de tomar en EE UU [13]. 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 [14,15]. En 2001 Chacín-Bonilla reporta estudios realizados en el Estado Zulia que sugieren que la transmisión antroponótica es dominante, lo que favorece el predominio del genotipo humano [16]. 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 [3].

Epidemiología

Cryptosporidium spp. puede iniciar la infección en una amplia variedad de especies de mamíferos. Terneros, corderos y cochinitos lactantes parecen ser los hospedadores reservorio más comunes [17].

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 [17], 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 [17].

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 [17-19].

La mayoría de los parásitos que viven en el lumen intestinal y son patógenos para el humano, infectan el aparato gastrointestinal y ocasionan diarrea como, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Dientamoeba fragilis*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *Isospora belli*, *Cyclospora cayatanensis* y microsporidias.

Cryptosporidium spp. es altamente transmisible e infectante en el medio familiar, con tasas de transmisión similares a las de otros patógenos entéricos como *Shigella* spp. [11,20-22].

En las guarderías se produce la diseminación de una persona a otra por la vía fecal-oral y en muchos brotes ocurridos a gran escala, la transmisión ocurre por agua contaminada [10,11,21,23]. Se estima que en el brote de Milwaukee se infectaron casi 400.000 personas y fallecieron 7, siendo la epidemia más importante transmitida por agua en EE.UU. [13,20].

Se estima que es posible encontrar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en aproximadamente el 90% de las muestras de aguas residuales, en el 75% de las aguas fluviales y en el 28% del agua potable [20].

La criptosporidiosis se transmite a través de heces de humanos o de animales infectados y de agua o alimentos contaminados por heces portadoras de los ooquistes. Los casos leves son comunes en granjeros. En el caso de personas de alto riesgo como es el caso de sujetos inmunocomprometidos o en las edades extremas de la vida, es necesario evitar contacto con heces de animales y prestar atención especial a las condiciones sanitarias [17,18,20,21].

Cryptosporidium spp. se encuentra en el intestino de muchas aves y mamíferos. También se sabe que es parásito de roedores, aves de corral, monos, bovinos y otros herbívoros [24]. Antes, los epidemiólogos pensaban que la mayor parte de las infecciones en humanos se adquirían de cachorros de perros, gatos, roedores, peces, ganado bovino y otros herbívoros. Sin embargo, la evidencia que se deriva de mejores métodos para detectar el microorganismo y así los brotes de criptosporidiosis, indican que la contaminación de humano a humano es un medio importante de transmisión. También se han descrito casos de infección cruzada intrahospitalaria [11,12,16,17,22,23,25-27].

La forma infecciosa de *Cryptosporidium* spp. es el ooquiste y los organismos encargados de la salud pública hallaron que los microorganismos en esta etapa son extraordinariamente resistentes a las técnicas usuales de filtración y cloración del agua destinada a consumo humano [11,17-20,22,23].

Cuando los animales infectados defecan, se eliminan al ambiente ooquistes produciendo así un problema de salud pública por el hecho de que los ooquistes solo tienen 4 a 6 µm de diámetro, demasiado pequeños como para ser eliminados con facilidad por los filtros de arena que se emplean en las plantas de tratamiento de agua; además, *Cryptosporidium* spp. es extremadamente resistente a desinfectantes como el hipoclorito de sodio (cloro doméstico) [2]. El problema se agudiza aún más por la baja dosis infectante requerida, alrededor de 10 a 100 ooquistes, y por el hecho de que en un ambiente húmedo los ooquistes pueden mantenerse viables durante 2 a 6 meses [2,11,20,23]. La supervivencia de los ooquistes disminuye con las temperaturas extremas y con la desecación. La congelación a -20°C durante 72 horas [11,20,23] o mediante calentamiento hasta 45-55°C durante 20 minutos reducen considerablemente la infectividad. La desecación a temperatura ambiente de una suspensión acuosa de ooquistes durante 4 horas elimina la viabilidad y se ha demostrado que la mayoría de los desinfectantes de uso doméstico y en otros ambientes como el hospitalario y en guarderías infantiles, tienen poco efecto sobre los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. [11,23,28-33].

Un estudio epidemiológico de la criptosporidiosis durante 10 años en una población con SIDA del condado de Los Ángeles, California, EE.UU. que abarcó casi 17.000 sujetos, reportó una incidencia global del 3,8% [34,35].

Hasta 1982 sólo se habían publicado entre 7 y 11 casos en humanos [17,18]. A partir de 1983 se produce el despegue del estudio del conocimiento de este patógeno emergente con el advenimiento del SIDA que había hecho su aparición en Junio de 1981 en EE.UU. [20].

Los pacientes con SIDA presentan gastroenteritis por agentes etiológicos diversos: bacterianos, parasitarios, virales y micóticos. Los géneros de protozoarios parásitos generalmente incluyen coccidios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis* e *Isospora*), por lo menos dos géneros diferentes de microsporidios (*Enterocytozoon* y *Encephalitozoon*), *Giardia* y *Entamoeba* [36,37]. Giardiasis y amibiasis se asocian a factores de riesgo como viajes a

zonas endémicas y prácticas sexuales oro-anales; criptosporidiosis y microsporidiosis tienen amplia distribución y son complicaciones tardías típicas del SIDA [37].

Fisiopatología

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 [18,38-40]. En infecciones severas pueden observarse anomalías morfológicas duodenales intensas, con aplastamiento de las vellosidades [18,40]. La susceptibilidad aumentada de los enfermos de SIDA a la criptosporidiosis grave evidencia la importancia del sistema inmunitario [18,40].

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 [40,41], especialmente en los pacientes con SIDA.

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 [18,42,42], hablan a favor de la posibilidad de un mecanismo secretor mediado por una toxina.

Entre los parásitos implicados en las diarreas de tipo toxigénicas, a pesar de no haber sido demostrada la producción de enterotoxina tenemos a *Cryptosporidium* spp.

La mayor parte de los datos que se conocen sobre la fisiopatología de la criptosporidiosis en hospedadores inmunocompetentes, han sido obtenidos de estudios del modelo de infección por *Cryptosporidium* spp. en cerdos neonatos [17,44,45], en ileon de conejo [46] y en hospedadores inmunocomprometidos, destacan los estudios de Bruzual en roedores [14]. A partir de estos estudios se han postulado los siguientes mecanismos: los esporozoítos y merozoítos de *Cryptosporidium* spp. invaden los enterocitos, comprometiendo la absorción. Este hecho desencadena la hiperplasia de las células de la cripta y lleva el balance intestinal de absorción-secreción hacia el extremo secretor [43].

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 a predominio de infiltrado de linfocitos polimor-

fonucleares, tendríamos estimulación de la síntesis de prostaglandinas y otros productos derivados de los neutrófilos como radicales libres de oxígeno o inter-mediarios de monofosfato de adenina monocíclico (AMP_c), los cuales también estimulan la secreción intestinal [18,38,43,45-47].

La fisiopatología de la criptosporidiosis intestinal podría explicarse mediante un efecto complejo mediado por un transporte epitelial alterado y efectos sobre los elementos de la submucosa intestinal. Todavía quedan muchas interrogantes como: ¿Cuál es la señal que envían los enterocitos para que se produzca la infiltración inflamatoria en la lámina propia? ¿Cómo el daño al enterocito desencadena la hiperplasia de las células de la cripta? ¿Mediante qué mecanismos la infección por *Cryptosporidium* spp. estimula la secreción de Cl⁻ y altera la absorción electrogénica y electroneural del Na⁺? ¿El parásito invasor daña la membrana cuando los merozoítos emergen de la célula infectada o, por el contrario, la membrana del enterocito sufre daño previo mediado por algún metabolito parasitario? ¿Qué papel juega el sistema inmunitario del hospedador en el daño al enterocito? ¿Existen cepas de *Cryptosporidium* spp. con diferentes grados de virulencia? [18].

El proceso podría resumirse de la siguiente manera: los esporozoítos y merozoítos de *Cryptosporidium* spp. invaden el epitelio a cargo de la absorción en el ápice de las vellosidades intestinales e inutilizan los enterocitos parasitados. Este evento, desencadena la hiperplasia de las células de la cripta para reemplazar el epitelio dañado y se produce un infiltrado inflamatorio en la lámina propia subyacente. La combinación de daño a los enterocitos encargados de la absorción y la hiperplasia de las células de la cripta secretoras de Cl⁻, dirige el balance intestinal de absorción-secreción hacia el extremo secretor. Luego, el sistema inmunitario del hospedador, probablemente mediante la producción de citoquinas estimuladas por el parásito pudiera producir amplificación de la respuesta secretoria. Los macrófagos del infiltrado inflamatorio mediante la secreción de factor de necrosis tumoral-alfa podrían estimular los fibroblastos y otras células de la lámina propia para secretar prostaglandina E₂, la cual tiene efecto estimulador de la secreción de cloro e inhibe la reabsorción de NaCl. En forma alternativa, si la respuesta del hospedador es a predominio de los polimorfonucleares, la síntesis de prostaglandinas y otros derivados de los neutrófilos (como por ejemplo radicales libres de oxígeno o AMP_c podrían estimular también la secreción intestinal) [38].

Así, la fisiopatología de la criptosporidiosis se explicaría mediante una relación compleja de mecanismos alterados de transporte celular y efectos del parásito o sus metabolitos en las células del infiltrado de la submucosa.

Respuesta inmunitaria

Una variedad de mecanismos de defensa han sido implicados en la resistencia o susceptibilidad del hospedador a la infección por *Cryptosporidium* spp. en la modulación y erradicación de infecciones activas, así como en la adqui-

sición de protección ante nuevas infecciones por este parásito [17,24].

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. Otros factores inespecíficos como son, la edad y el estado nutricional del hospedador han sido asociados con susceptibilidad aumentada hacia la infección sintomática y la presentación crónica [17,24].

Diferentes especies de hospedadores han mostrado algún tipo de resistencia a la infección relacionada con la edad, lo que explicaría que la criptosporidiosis sea más frecuente y más severa en mamíferos neonatos y en pájaros que en adultos [48].

Numerosos estudios epidemiológicos reportan que las infecciones son más frecuentes en niños menores de 2 años [49]. Se desconocen los fundamentos de la resistencia del hospedador relacionados con la edad, pero pudieran explicarse por la madurez inmunitaria del sujeto.

Algún tipo de resistencia a la criptosporidiosis pudiera ser mediada por otros mecanismos indirectos de inmunidad inespecífica como por ejemplo el determinado por la flora intestinal madura. Estudios experimentales en ratones adultos mantenidos en ambientes estériles, a diferencia de ratones tratados con antibióticos, eran más susceptibles a la criptosporidiosis que los controles portadores de la flora intestinal madura [50]. En relación con la inmunidad humoral, se han detectado anticuerpos específicos en las fracciones de inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA e incluso IgE en suero de fase aguda o convaleciente proveniente de pacientes con infección confirmada [51,52]. Anticuerpos específicos de los tipos IgA, IgM e IgG, han sido demostrados en sueros provenientes de terneros, corderos, ratones y pollos infectados por *Cryptosporidium* spp. en forma natural o experimental [24]. Usualmente los anticuerpos aparecen entre 8 y 15 días después de la infección. La mayor parte de la respuesta mediada por anticuerpos IgA e IgM fue transitoria, con duración de varias semanas, mientras que la respuesta mediada por IgG fue más persistente, con duración de varios meses. Inmunoglobulinas locales y del tipo secretorio han sido igualmente detectadas en la infección, e incluyen la presencia de IgA en secreción duodenal de pacientes [24,38].

Las infecciones persistentes y severas observables en los sujetos infectados por el VIH/SIDA y en roedores atímicos de experimentación [53] 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 inmu-

ne intestinal en particular, lugar de mayor replicación viral, persistencia y pérdida de LT CD4+ en individuos infectados por VIH [54].

Manifestaciones clínicas

Tras un periodo de incubación que oscila entre 5 y 28 días, el síntoma más frecuente es la diarrea, que puede ser de tipo colérico y en algunos casos hay presencia de moco en las heces. Otros síntomas son dolor abdominal, náuseas, fiebre, astenia [17,18].

Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis intestinal están directamente relacionadas con el estado inmunológico del hospedador [38]. Así, en el individuo inmunocompetente se presenta como una diarrea autolimitada, que en algunos casos puede ser de gran intensidad, que generalmente dura de una a dos semanas, pero que se resuelve sin tratamiento específico. Todo lo contrario ocurre en el sujeto inmunocomprometido, quien desarrolla una diarrea crónica que puede comprometer su vida [17,18,20].

Cryptosporidium produce una forma de diarrea acuosa que pone en peligro la vida de individuos con SIDA. Los pacientes pueden perder hasta 17 litros de líquido intestinal al día. Su persistencia después de eliminar la ingestión oral y la infrecuente presencia de eritrocitos y leucocitos [12,18] hablan a favor de la posibilidad de un mecanismo secretor mediado por una toxina.

En los casos de inmunosupresión grave, el microorganismo invade el conducto biliar y produce fiebre, ictericia, dolor en hipocondrio derecho y vómito. En casos poco frecuentes, los pacientes con SIDA padecen criptosporidiosis pulmonar, colecistitis alitiásica e incluso pancreatitis [12,24,36,38].

Métodos diagnósticos

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 [18].

Los primeros casos de criptosporidiosis se diagnosticaron mediante la detección de los estadios endógenos del parásito en cortes histológicos de intestino obtenidos por biopsia o necropsia [17,18].

El aumento en el reconocimiento de estos patógenos muchas veces depende de nuevos métodos de diagnóstico. *Cryptosporidium* spp., no se detectó hasta que se aplicaron nuevos métodos de tinción a los extendidos de heces [20,21].

La criptosporidiosis se diagnostica al demostrar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras de heces diarreicas o no, o esquizontes y gametocitos en biopsias de tejido intestinal principalmente. Para el dia-

gnóstico, 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 [17,18].

Como en otras infecciones parasitarias, la eliminación de los ooquistes puede ser intermitente o muy baja en infecciones subclínicas. Los estudios realizados para determinar el número de muestras a estudiar para minimizar el número de falsos negativos reportaron una serie de tres muestras para el sujeto inmunocompetente, y en el caso de pacientes inmunocomprometidos, como sería en el caso de pacientes con SIDA, sería suficiente el estudio de dos muestras [17,18,55].

El método de preferencia consiste en concentrar los microorganismos en muestras de heces por técnica de flotación y después identificarlos por microscopía de contraste de fase o métodos de tinción. Las tinciones estándar para protozoarios intestinales no tiñen *Cryptosporidium* de manera adecuada, por lo cual las muestras se tratan con tinción ácida, tinción de auramina-rhodamina o anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína [17,18,20,21].

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 [17,18,55]. 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 [17,56,57]. 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 [58].

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 [59-61]. 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 [18].

Tanto en animales como en humanos, se han detectado anticuerpos IgG e IgM, en suero mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA. En inmunocomprometidos podrían no detectarse anticuerpos. Igualmente se han detectado antígenos circulantes en suero mediante técnicas de ELISA [17,18,60].

Tratamiento

En la actualidad no se dispone de un fármaco que sea realmente eficaz para el tratamiento de la criptosporidiosis en humanos y animales. En las personas inmunocompetentes la enteritis por *Cryptosporidium* spp. es autolimitada

por lo que se requiere tratamiento de soporte y sintomático. La rehidratación oral o intravenosa, con o sin nutrición parenteral, generalmente es suficiente [12,17,18,62,65].

Se han utilizado antibióticos y quimioterápicos, coctiosstáticos, antivíricos, antidiarreicos, inmunoterapia e inmunomoduladores.

Se han ensayado sin éxito alrededor de un centenar de esquemas terapéuticos y preventivos para la criptosporidiosis en pacientes inmunocomprometidos [12,17,18,62].

La eficacia de las drogas utilizadas con actividad preventiva o curativa es limitada o dudosa, especialmente para el tratamiento de la criptosporidiosis extraintestinal [18,64].

Generalmente, los pacientes con inmunidad normal no requieren tratamiento específico y cuando se estén administrando inmunosupresores pudiera estar indicado suprimirlos. En pacientes inmunocomprometidos se ha utilizado **espiramicina** 50 mg/kg/día/15 días, la cual puede ser transitoriamente eficaz [17,21].

La **paromomicina** antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, con escasa absorción por la vía gastrointestinal, parece ser prometedor en el tratamiento de la criptosporidiosis. Un estudio controlado del tipo placebo y doble ciego, utilizando la **paromomicina** en pacientes con criptosporidiosis intestinal y SIDA, demostró su eficacia para reducir la sintomatología y la excreción de ooquistes [66]. Otros informes de casos clínicos y estudios no controlados describen mejoría clínica con la **paromomicina** pero también reportan recaídas, especialmente si no se continúa con tratamiento de mantenimiento.

La **azitromicina** también ha sido probada para el tratamiento de la criptosporidiosis. Estudios clínicos previos han fallado en demostrar su efectividad como monoterapia [67] sin embargo, algunos informes sobre casos clínicos le otorgan algún valor como droga para tratamiento [67,68]. Altas dosis de **azitromicina** en combinación con **paromomicina** en un estudio clínico abierto demostró mayor disminución de la excreción de ooquistes que cuando se usaron por separado [69,70].

La **nitazoxanida** otro quimioterápico utilizado en el tratamiento de la criptosporidiosis intestinal, mostró eficacia en estudios realizados en pacientes con SIDA y recuentos de CD⁴ mayores de 50/mm [3,71]. La dosis recomendada es de 500 a 1000 mg BID durante 15 días.

También se ha utilizado **roxitromicina** a dosis de 300 mg BID durante 4 semanas con algunos resultados.

Actualmente no existe quimioprofilaxis ni vacuna para la prevención de la infección o la recurrencia de esta parasitosis [71].

Prevención

El hábito de lavado de las manos con agua corriente y jabón antes de comer, preparar alimentos y atender niños o pacientes, al llegar al hogar procedente del trabajo o de cualquier otra actividad, después de la micción o defecación y de tocar animales, es la medida de prevención más importante.

El aumento de la cantidad y calidad de medidas higiénicas aplicables a la persona, su vestimenta y medio ambiente, son recomendables.

Cuando se trata de poblaciones infantiles se hace necesario mantener limpios los juguetes y en relación con los niños que utilizan pañal, es recomendable cubrir el pañal con un pantalón para reducir los riesgos de contaminación fecal del ambiente [23]. También es recomendable aislar a los niños con diarrea de aquellos asintomático.

Deben extremarse las medidas de prevención de la exposición a *Cryptosporidium* spp. entre otras cosas, evitando el contacto con heces humanas y de animales, la ingesta de agua directamente de ríos, lagos o manantiales, así como tomar en forma accidental aguas de áreas de recreación como lagos, ríos, piscinas, manantiales y playas.

En relación con el agua de bebida, se recomienda utilizar filtros especiales para agua de 1µm o menos de diámetro, o hervirla durante un minuto antes de su consumo; el agua mineral envasada, bebidas carbonatadas o jugos comerciales envasados, deben ser consumidos solamente aquellos cuyo procesamiento incluye la pasteurización.

La población de mayor riesgo debe recibir instrucciones precisas tendientes a evitar el contacto con heces de procedencia humana o animal, evitar el contacto con niños que no han desarrollado el control del esfínter anal, animales o humanos infectados, consumo de alimentos crudos de procedencia o manejo dudosos, así como tomar agua que no haya sido hervida durante un (1) minuto. También deben recibir recomendaciones en lo relativo a evitar prácticas sexuales que expongan al riesgo de contacto con heces.

En la prevención de la exposición a la infección por *Cryptosporidium* spp. para los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) éstos deben ser informados específicamente en relación a todas y cada una de las condiciones de riesgo de infección como son: contacto con adultos infectados, niños que todavía no tienen control de los esfínteres y contacto con animales infectados. También se debe instruir a estos pacientes en relación a la importancia del control del agua para bebida y del uso adecuado de las aguas de recreación que pudieran estar contaminadas. Deben ser invitados a lavarse las manos con agua corriente y jabón después del cambio de pañal a los niños, contactos con mascotas, trabajos de jardinería y otras actividades que impliquen contaminación de las manos.

Los sujetos infectados por el VIH deben evitar la práctica de relaciones sexuales oro-anales que implican contacto con heces. También deben ser informados que el contacto con mascotas recién nacidas o muy jóvenes representa un riesgo mayor para la infección por *Cryptosporidium* spp., por lo que no deben recibir en sus hogares mascotas con diarrea o menores de seis meses de edad; tampoco se recomienda la adopción de mascotas callejeras o abandonadas. En el caso de adoptar una mascota menor de seis meses de edad, siempre se recomienda que sea examinada por un médico veterinario y sus heces estudiadas para descartar

tar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* antes de entrar en contacto con el animal.

Es de utilidad estudiar las heces de todos los miembros de la comunidad familiar del paciente con infección por VIH para detectar portadores asintomáticos, debido a que la gran infectividad del parásito hace muy frecuente la transmisión en el hogar.

Todas las personas infectadas por el VIH deben evitar el contacto con terneros y corderos, así como los lugares donde éstos viven. También deben evitar tomar agua de lagos, ríos o piscinas por presentar alto riesgo de infección por *Cryptosporidium*.

Las fuentes de aguas embotelladas (pozos, manantiales, fuentes, ríos, lagos, etc.) cuyas formas de tratamiento son variables, no deben considerarse libres de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. El agua proveniente de pozos y manantiales es poco probable que esté contaminada por ooquistes, sin embargo, el agua que proviene de ríos o lagos es probable que sí lo esté. Puede considerarse libre de ooquistes el agua embotellada tratada por destilación u ósmosis reversa, aquella filtrada a través de filtros absolutos de 1µm y la filtrada por filtros que cumplen con las normas estandarizadas por NSF No.53 para la remoción de ooquistes. Es importante recordar que las embotelladoras que utilizan filtros nominales de 1µm como único mecanismo de filtrado, no pueden garantizar una filtración mayor del 99% de los ooquistes.

En los casos donde hayan fallado todas las medidas de prevención recomendadas, sugerimos a todos los Laboratorios Clínicos la búsqueda de los ooquistes de *Cryptosporidium* en todas las muestra de heces estudiadas, para así poder obtener datos nacionales sobre la prevalencia del parásito en nuestros pacientes con diarrea o asintomáticos, ya sean adultos o niños.

Al personal del equipo de salud encargado de diseñar políticas sanitarias, a médicos y personal de enfermería, de ambulatorios, escuelas y hospitales, recordamos que este enteroparásito debe ser buscado en todos los exámenes de heces.

En todos los laboratorios clínicos, conviene entrenar suficientemente a todos los microscopistas, para que la coloración de Kinyoun sea optimizada y debidamente aprovechada para la identificación de *Cryptosporidium* spp. Además, conviene evaluar la cantidad de ooquistes por campo microscópico y su posible relación con el momento de la evolución de la enfermedad y el estado inmunológico del paciente.

A las empresas encargadas del suministro del agua potable por tuberías, se les recomienda incluir en el proceso de tratamiento el filtrado del agua a través de filtros capaces de remover partículas de diámetro igual o mayor de 1µm. Los filtros que proveen la mayor seguridad de remoción de los ooquistes incluyen aquellos cuyo mecanismo es la ósmosis reversa y aquellos denominados "filtros absolutos" para 1µm, así como los que cumplen con las normas NSF (Fundación Nacional de las Normas Sanitarias) No. 53 para la remoción de ooquistes. El filtro 1µm nominal no

está estandarizado y muchos de los filtros de esta categoría no logran filtrar más del 99% de los ooquistes.

Referencias

- [1] Goebel EF & Braendler U. Ultraestructure of Microgametogenesis, Microgametes and ametogamy of *Cryptosporidium* sp in the small intestine of Mice. *Protistologica* T. XVIII 1982; Fasc 3:331-4.
- [2] Ronald Fayer. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology* 2004; 126:37-56.
- [3] Arcay L y Bruzual E. *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela. Encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia. *Parasitología al Día* 1993;17:11-18.
- [4] Tyzzer EE. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch Protistenkd* 1912; 26:394-412.
- [5] Panciera RJ, Thomassen RW, Garner FM. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol.* 1971;8:479-84.
- [6] Nime FA, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterol.* 1976;70:592-8.
- [7] Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a immunosuppressed patient. *Gastroenterol.* 1976;70:1156-60.
- [8] Brownstein D, Strandberg J, Montali R, Bus M, Fortner J. *Cryptosporidium* in Snakes with hypertrophic gastritis. *Vet Pathol* 1977;14:606-17.
- [9] Goldfarb J, Tnnowitz H, Grossner R, Bonanno C, Kaufman D, Ma P et al. Cryptosporidiosis assessment of chemotherapy of males with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Morbidity Mortal Weekly Rep* 1982;31:589-91.
- [10] Báez de Borges E, Darricariere RT y Mejías IA. Criptosporidiosis en Venezuela. *Arch Hospital Vargas* 1987; 29(1-2):19-26.
- [11] Casemore DP. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiol Infect* 1990;104:1-28.
- [12] Current WL & García LS. Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4:325-8.
- [13] MacKenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Eng J Med* 1994;331:161-7.
- [14] Bruzual C, E. Influencia de Inmunosupresores sobre estadios del ciclo biológico de *Cryptosporidium* y su diseminación tisular en un modelo murino. Trabajo de ascenso para optar a la Categoría de Profesor Agregado, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina "José María Vargas", 1995.
- [15] Arcay L, Báez de B. E y Bruzual E. *Cryptosporidiosis* experimental en la escala de vertebrados I.- Infecciones Experimentales. II.- Estudio histopatológico. *Parasitología al Día* 1995;19:20-9.
- [16] Chacín-Bonilla L. Importancia de las diferentes especies y genotipos de *Cryptosporidium* en Salud Pública. *Investig Clin* 2001;42(2):83-5.
- [17] Clavel P, A. Criptosporidiosis. Mesa Redonda. XII Ed. Curso Zoonosis Emergentes, Universidad de Verano de Teruel, 1996.
- [18] Chacín-Bonilla L. Criptosporidiosis en humanos. Revisión. *Invest Clin* 1995;36(4):207-50.
- [19] DuPont HL, Chapell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB & Jakubowski W. The infectivity of *Cryptosporidium*

- parvum* in healthy volunteers. N Engl J Med 1995; 332:855-9.
- [20] Prescott LM, Harley JP & Klein DA. Microbiología. McGraw-Hill Inter-americana, 4ª Ed. Madrid 1999.
- [21] Stuart Walker T. Microbiología, 1ª Ed. Mc-Graw.Hill Inter-americana, México, 2000.
- [22] Newman RD, Zu S-X, Wuhib T, Lima AAM, Guerrant RL & Sears CL. Household Epidemiology of *Cryptosporidium parvum* Infection in an Urban Community in Northeast Brazil. Ann of Intern Med 1994;120(6):500-5.
- [23] Cordell RL & Addiss DG. Cryptosporidiosis in child care settings: a review of the literature and recommendations for prevention and control. Pediatr Infect Dis J.1994;13:310-7.
- [24] Kim CW. Laboratory animal models for experimental cryptosporidiosis: a mini-review. Research and Reviews in Parasitology 1994; 54(1):13-28.
- [25] Current WL. The biology of *Cryptosporidium*. ASM News 1988;54:605-11.
- [26] Navin TR. Cryptosporidiosis in humans: review of recent epidemiologic studies. Eur J Epidemiol 1985;1:77-83.
- [27] Baxby D, Hart CA & Taylor C. Human cryptosporidiosis: a possible case of hospital cross infection. Br Med J 1983; 287:1760-1.
- [28] Robertson LJ, Campbell AT & Smith HV. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. Appl Environ Microbiol 1992; 58: 3494-500.
- [29] Anderson BC. Moist heat inactivation of *Cryptosporidium sp.* Am J Public Health 1985;75:1433-4.
- [30] Sundermann CA, Lindsay DS & Blagburn BL. Evaluation of disinfectants for ability to kill avian *Cryptosporidium* oocysts. Companion Animal Practice 1987;1:36-9.
- [31] Angus KW, Sherwood D, Hutchison G & Campbell I. Evaluation of the effect of two aldehyde-based disinfectants on the infectivity of faecal cryptosporidia for mice. Res Vet Sci 1982;33:379-81.
- [32] Campbell I, Tzipori S, Hutchinson G & Angus KW. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. Vet Rec. 1982;111:414-5.
- [33] Finch GR, Black EK, Gyurek L & Belosevic M. Ozone inactivation of *Cryptosporidium parvum* in demand-free phosphate buffer determined *in vitro* excystation and animal infectivity. Appl Environ Microbiol 1993;59:4203-10.
- [34] Soave R, Johnson WD. *Cryptosporidium* and *Isospora belli* infections. J Infect Dis 1988;157:225-9.
- [35] Sorvillo FJ, Lieb LE, Kerndt PR, Ash LR. Epidemiology of cryptosporidiosis among persons with acquired immunodeficiency syndrome in Los Angeles County. Am J Trop Med Hyg 1994; 51(3):326-31.
- [36] Antunes F. Parasitic Diseases and AIDS. Monografía. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa, Portugal, 1993.
- [37] Skeels MR, Sokolow R, Hubbard CV and Foster LR. Screening for Coinfection with *Cryptosporidium* and *Giardia* in Oregon Public Health Clinic Patients. American Journal of Public Health 1986;76(3):270-1.
- [38] Clark DP & Sears CL. The Pathogenesis of Cryptosporidiosis. Parasitology Today 1996;12(6):221-5.
- [39] Anderson BC. Cryptosporidiosis. Lab Med 1983;14:55-6.
- [40] Genta RM, Chappell CL, White ACJr, Kimball KT & Goodgame RW. Duodenal morphology and intensity of infection in AIDS-related intestinal cryptosporidiosis. Gastroenterol. 1993; 105:1769-75.
- [41] Sloper KS, Dourmashkin RR, Bird RB, Slavin G & Webster ADB. Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. Gut 1982;23:80-2.
- [42] Bruzual, E. Cryptosporidiosis. "Curso Parasitología" XIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, VI Congreso Venezolano de Microbiología "Dr. José Gregorio Hernández" Caracas, 5-9 de noviembre 1996: Imprenta Universitaria de la U.C.V; Marzo 1998.
- [43] Kelly P, Thillainayagam V, Smithson J, Hunt JB, Forbes A, Gazzard BG & Farthing MJG. Jejunal Water and Electrolyte Transport in Human Cryptosporidiosis. Digestive Diseases and Sciences 1996; 41(10):2095-99.99.
- [44] Clarke JJ. A study of coccidia met with in mice. J Micros Soc 1895;37:277-302.
- [45] Moore R *et al.* Temporal changes in permeability and structure of piglet ileum after site specific infection by *Cryptosporidium parvum*. Gastroenterology.1995; 108:1030-9.
- [46] Lawson LD & Powell DW. Bradykinin-stimulated eicosanoid synthesis and secretion by rabbit ileal components. Am J Physiol.1987; 252(G):783-90.
- [47] Argenzio RA *et al.* Glutamine stimulates prostaglandin-sensitive Na⁺-H⁺ exchange in experimental porcine cryptosporidiosis. Gastroenterology.1994; 106:1418-28.
- [48] Current WL & Bick PW. The immunobiology of *Cryptosporidium* spp.Pathology and Immunopathology Research 1989;8:141-60.
- [49] Ungar BLP. Cryptosporidiosis in humans (*Homo sapiens*). In: Cryptosporidiosis of Man and Animals Ed. Dubey JP, Speer CA & Fayer R. CRC Press 1990.
- [50] Harp JA, Wannemuehler MW, Woodmansee DB & Moon HW. Susceptibility of germfree or antibiotic-treated adult mice to *Cryptosporidium parvum*. Infect and Immunity 1988;56:2006-10.
- [51] Ungar BLP & Nash TE. Quantification of specific antibody response to *Cryptosporidium* antigens by laser densitometry. Infection and Immunity 1986;53:124-8.
- [52] Casemore DP. The antibody response to *Cryptosporidium*: development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons. Journal of Infection 1987;14:125-34.
- [53] Heine J, Moon HW & Woodmansee DB. Persistent cryptosporidiosis infection in congenitally athymic (nude) mice. Infect Immun 1984;43:856-9.
- [54] Ronald S Veazey & Andrew A Lackner. HIV swiftly guts the immune system.Nature Medicine 2005;11(5):469-70.
- [55] Clavel A, Arnal AC, Sánchez EC, Varea M, Castillo FJ, Ramírez de Ocariz I, Quílez J & Cuesta J. Evaluation of the Optimal Number of Faecal Specimens in the Diagnosis of Cryptosporidiosis in AIDS and Immunocompetent Patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995;14:46-8.
- [56] Henriksen S & Pohlenz J. Staining of Cryptosporidium by modified Ziehl-Neelsen technique. Act Vet Scand 1981;22:594-96.
- [57] Ma P, Soave R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homo-sexual men with protracted watery diarrhea. J Infect Dis 1983; 147:824-28.
- [58] Ignatius R, Lehmann M, Miksits K, Regnath T, Arvand M, Engelmann E, Futh U, Hahn H & Wagner J. A New Acid-Fast Trichrome Stain for Simultaneous Detection of *Cryptosporidium parvum* and Microsporidial Species in Stool Specimens. Journal of Clinical Microbiology 1997;35(2):446-9.
- [59] Newman RD, Jaeger KL, Wuhib T, Lima AA, Guerrant RL & Sears CL. Evaluation of an antigen capture enzyme-

- linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* oocysts. J Clin Microbiol 1993;31:2080-4.
- [60] Vela E & Vásquez R. Elisa en *Cryptosporidium*. Microbiología e Infectología 1995;2(1):22-4.
- [61] Roseblatt JE & Sloan LM. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. In stool specimens. J Clin Microbiol 1993;31:1468-71.
- [62] Cook DJ, Kelton JG, Stanisz AM & Collins SM. Somatostatin treatment for cryptosporidial diarrheas in patients with AIDS. Ann Int Med 1988;108:708-9.
- [63] Fayer R & Ungar BLP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol Rev. 1986;50:458-83.
- [64] Montero JA, Sinnott JT, Holt DA & Lloyd C. Biliary Cryptosporidiosis: Current Concepts. Infect Med 2001;18(6):305-11.
- [65] Torres S. Frecuencia de parásitos intestinales en una población rural del Estado Trujillo, Venezuela. Memorias VII Congreso Venezolano de Microbiología "Elsa La Corte Anselmi", Maracaibo, Zulia, Noviembre de 2000, pp. 78.
- [66] White AC, Chappell CL, Hayat CS, et al. Paromomycin for cryptosporidiosis in AIDS: a prospective, double-blind trial. J infect Dis 1994;170:419-24.
- [67] Scaglia M, Atzori C, Marchetti G, Orso M, Maserati R, Orani A, Novati S & *Cryptosporidium* Diarrhea in AIDS Patients: An Open, Uncontrolled, Prospective clinical Trial. The Journal of Infectious Diseases 1994; 170:1349-50.
- [68] Blanshard C, Shanson DC & Gazzard BG. Pilot studies of azithromycin, letrozuril, and paromomycin in the treatment of cryptosporidiosis. Int J STD AIDS 1997;8:124-9.
- [69] Vargas SL, Shepne JL, Flynn PM, et al. Azithromycin for treatment of severe *Cryptosporidium* diarrhea in two children with cancer. J Pediatr 1993;123:54-6.
- [70] Ramos JT, Saavedra J, Ruiz-Contreras J. *Cryptosporidium* in patients infected with immunodeficiency virus: azithromycin revisited. J Pediatr 1997;130:1009-10.
- [71] Smith NH, Cron S, Valdez LM, et al. Combination drug therapy for cryptosporidiosis in AIDS. J infect Dis 1998;178:900-3.