CRYPTOSPORIDIOSIS EN NIÑOS MENORES DE 6 AÑOS CON GASTROENTERITIS EN HONDURAS

* Rina Girard de Kaminsky **
 Maritza Canales Girón

ABSTRACTO

De mayo 1984 a febrero 1985 se examinaron 826 muestras de heces de niños menores de 6 años que se presentaban con diarrea aguda a clínicas de rehidratación oral de diferentes lugares de Honduras. Como controles se examinaron 317 muestras de niños sanos. Infecciones únicas por <u>Cryptospo-</u>'
<u>ridium</u> sp se detectaron en 7o/o de niños de 0-11 meses de edad con diarrea aguda y en 3.60/o del total de niños diarréicos menores de 6 años. Los ooquistes fueron identificados en coloraciones permanentes con Ziéhl Neelsen modificado. Solo 0.620/o de los controles presentaron ooquistes de Cryptosporidium sp. Se mencionan 4 casos fatales de niños desnutridos que presentaban ooquistes de <u>Cryptosporidium sp</u> en heces y uno además en aspirado bronquial. Giardia lamblia se identificó en coloraciones temporales con MIF en 16.80/0 de las diarreas y en 21.30/o de los controles de uno a 6 años. Se observó ausencia de este parásito en niños controles de 0-11 meses de edad. En ninguno de los grupos etarios estudiados se reportaron casos de disentería amebiana aguda, encontrándose la forma comensal de Entamoeba histolytica en menos de 20/o de los casos. Infecciones mixtas con otros parásitos incluyeron Ascaris lumbricoides (24.30/o), <u>Tñchuris írichiura</u> (32.60/o), Necatoriasis (9.90/o), Strongilodiasis (5.80/o).

INTRODUCCIÓN

Siendo la Criptosporidiosis una zoonosis de reciente interés, ya que es considerada como causa de gastroenteritis en pacientes normales (1), o como oportunista en pacientes inmuno-comprometidos (2) se creyó necesaria su documentación en Honduras. Para esto se diseñó una encuesta parasitológica a nivel nacional en niños menores de 6 años de edad que se presentasen a centros de salud y hospitales con un cuadro de diarrea aguda, aprovechando el apoyo logístico que representan los microbiólogos durante su año de Servicio Social. Fue aprobado por el Departamento de Microbiología y el Ministerio de Salud Pública por 3 razones:

- Obtener datos simultáneos de diferentes regiones del país durante un período aproximado de 10 meses.
- 2. Obtener datos importantes parasitológicos de niños con diarrea y controles.
- 3.- Introducir un nuevo elemento de investigación en el curriculo de Microbiología.

Aunque se buscaron otros parásitos, no se incluyó el estudio de otros agentes etiológicos de diarrea como bacterias y virus por limitaciones logísticas y costo operacional.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Comenzando en Mayo de 1984 hasta Febrero de 1985, 16 microbiólogos colectarían 25 muestras diarréicas cada mes de casos al azar de gastroenteritis aguda en niños menores de 6 años que llegasen al hospital o centros de rehidratación oral. Como controles, se escogerían 10 casos al mes al azar de niños que no presentaban diarrea en las últimas dos semanas y que no estuviesen tomando ninguna medicación. Luego del examen de heces por varios métodos parasitológicos por los microbiólogos en sus lugares de trabajo, todas las muestras serían

^{*} Proyecto HOPE/Honduras

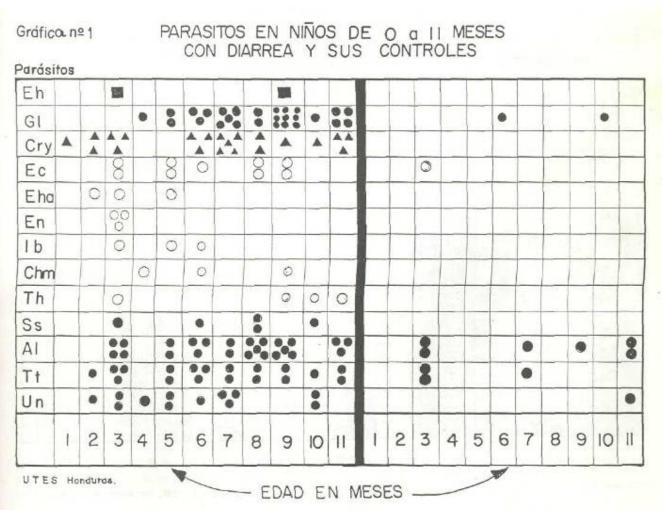
^{**} Departamento de Microbiología, UNAH.

fijadas en MIF y enviadas al Departamento de Microbiología para su control de calidad, que incluía un examen directo por parásitos en general y una coloración ácido-resistente modificada para <u>Cryptosporidium</u> (3). Los protozoos encontrados serían identificados en preparación directa con objetivo de inmersión. En el Hospital Escuela se reportan, además, 4 casos de <u>Cryptosporidium</u> en niños desnutridos, los cuales se mencionan por ser de interés clínico y de diagnóstico.

RESULTADOS

Se examinaron un total de 826 muestras diarréicas y 317 controles. Gráfica 1 muestra el parasitismo encontrado en 274 muestras de niños de 0-11 meses y en 61 controles. *Cryptosporidium* fue hallado en un 70/o de estas muestras 719 casos),

habiéndose diagnosticado ya durante el primer mes de vida. Giardia lamblia figura en un 9.4o/o {26 casos) trofozoitos y/o quistes. Se observa que durante estos primeros 11 meses está prácticamente ausente del grupo control, habiéndosele encontrado en dos muestras solamente. Entamoeba histolytica, forma comensal, se encontró en 0.70/o, contrario a la opinión general de que este parásito es muy común en nuestro país como causa de diarrea. Protozoos no patógenos como: Entamoeba hartmanni, Entamoeba coli, lodamoeba butschlii, Endolimax nana y Trichomonas hominis se hallaron en pequeños porcentajes. Entre los nemátodos transmitidos por el suelo, se reportaron las primeras infecciones desde los 3 meses de edad, con Ascaris lumbrícoides (9!lo/o), Trichuris trichiura (6.50/o), uncinarias (3.60/o) y Strongyloides stercoralis (I.80/0).



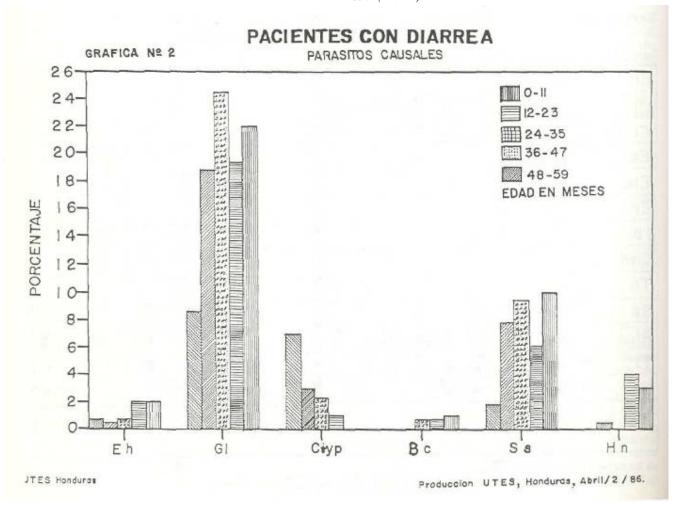
En la figura 1 se observan ooquistes típicos de <u>Cryptosporidium</u> tal como se obtienen teñidos con una coloración de Ziehl-Neelsen modificada.

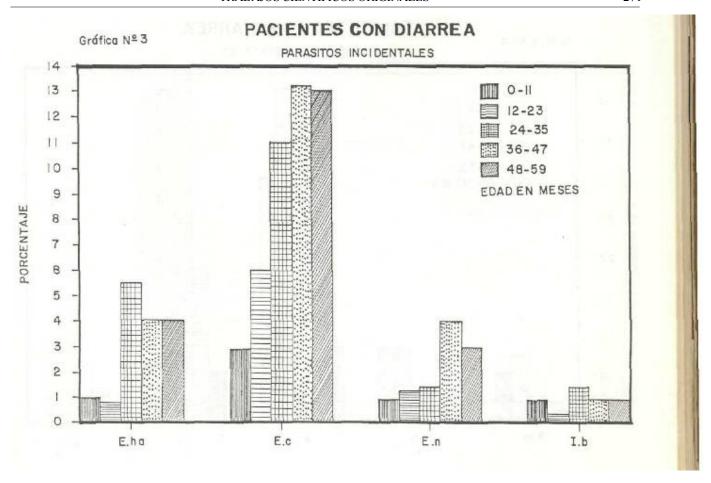
Gráfica 2 muestra los parásitos causales de diarrea en pacientes menores de 6 años, agrupados por edad. <u>Cryptosporidium</u> se encontró en un total de 30 muestras (3.6o/o). <u>Giardia lamblia</u> aparece en 139 casos (16.80/0); y aunque varía entre grupos etarios, se mantiene alto. En ninguno de los grupos estudiados se reportó disentería amebiana aguda, encontrándose la <u>Entamoeba hystolytica</u> forma comensal en un 2o/o o menos. <u>Balan tidium coli</u> se reportó de 3 casos nada más. <u>Hymenolepis nana</u> se encuentra en forma esporádica también.

En gráficas 3 y 4 están representados los parásitos incidentales encontrados en los grupos etarios estudiados, tanto protozoos no patógenos como



Figura 1, Ooquistes de <u>Cryptosporidium</u> recobrado en las heces por medio de la coloración modificada de Ziehl-Neelsen $(1000 \, X)$.





nemátodos transmitidos por el suelo y otros, aunque a ninguno de estos se les considera como causa de diarrea. Se nota la contaminación fecal a que han sido expuestos estos niños desde temprana edad.

Las gráficas 5, 6 y 7 muestran los parásitos encontrados en los controles, por grupos etarios. Cabe señalar el alto porcentaje de *Giardia lamblia* (22.3o/o total). *Cryptosperidium* se demostró en un I.60/0 de los controles. De nuevo, existe una contaminación fecal en estos niños.

Del Hospital Materno Infantil se reportan 4 casos fatales de niños menores de 1 año desnutridos en grados II o III, que presentaban diarrea crónica de más de un mes de duración, en los que se encontró abundantes ooquistes de <u>Cryptosporidium</u> en las heces, acompañados de abundantes células inflamatorias, como lo muestra la figura 2.

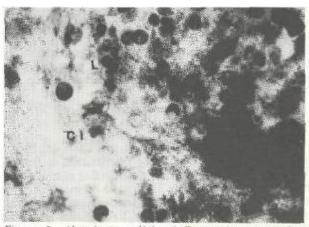
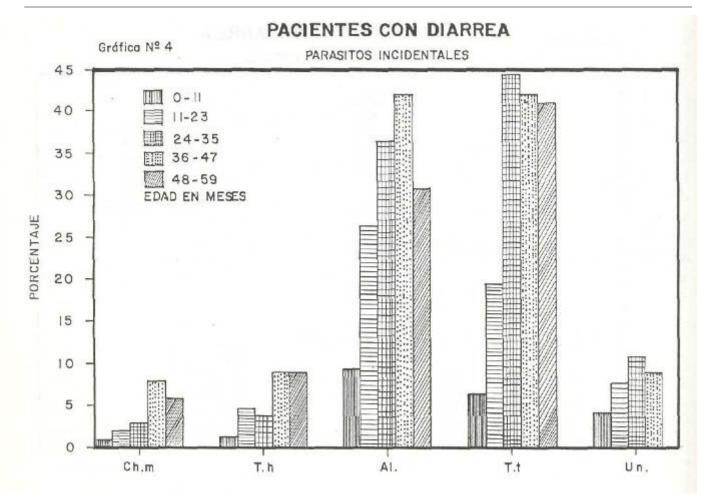


Figura 2. Abundantes células inflamatorias acompañan orquistes de Cryptosporidium encontrado en heces de un niño desnutrido. Observar levaduras coloreadas de azul. Coloración modificada de Ziehl-Neelsen, L = levaduras, Ci = células inflamatorias. (1000 X).



Estos niños presentaban cuadros clínicos cuya etiología no fue determinada habiendo fallecido sin responder a la terapia habitual de antibióticos. Uno de estos pacientes desarrolló pneumonía, habiénse encontrado ooquistes de *Cryptosporidium* en el aspirado bronquial, como se aprecia en la figura 3.

DISCUSIÓN

<u>Cryptosporidium</u> sp es un protozoo del Phylum Apicomplexa, reportado parasítando el epitelio intestinal y respiratorio de animales mamíferos reptiles y aves (4). Hasta 1975 tuvo un interés veterinario únicamente. Desde entonces hasta ahora el concepto de criptosporidiosis ha cambiado, cuando se le descubrió como causa de diarrea crónica y debilitante en el humano inmuno-comprometido primero y luego como una infección común en pacientes inmunológicamente normales que curan esponta-

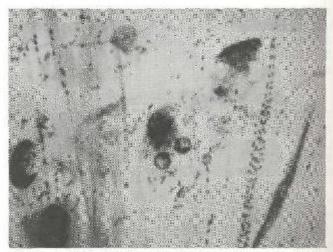
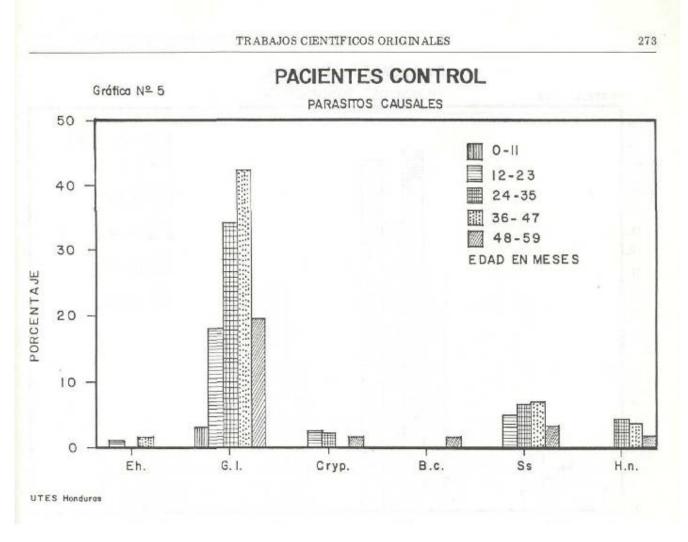


Figura 3. Dos ooquistes de Cryptosporidium recobrados en un aspirado bronquial. Coloración modificada de Ziehl-Neelsen. (1000 X).

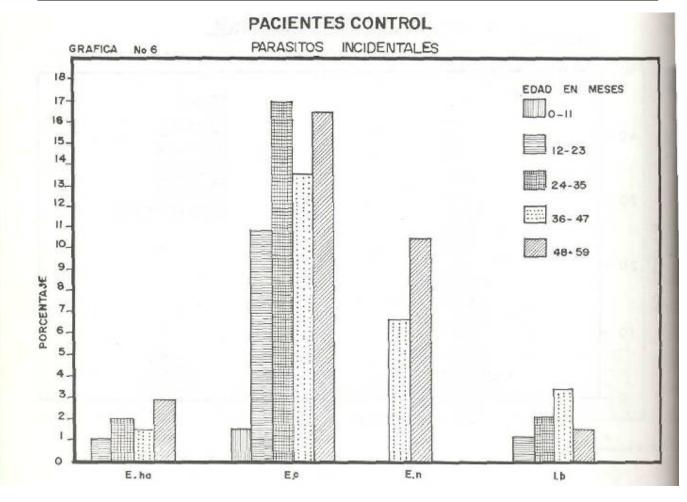


neamente (1). El organismo se excreta con las heces en forma de ooquistes, producto de una reproducción sexual del parásito dentro de las células que parásita. Son extremadamente resistente a los desinfectantes comunes del laboratorio y en el paciente han demostrado resistencia a todos los agentes terapéuticos investigados. (5).

Su presencia en Honduras se reporta por primera vez en un 7o/o de niños menores de 1 año y en un 3.6o/o de niños de uno a 6 años con gastroenteritis aguda, similar a reportes de Hojlying en Liberia (6), y de Taylor en Estados Unidos (7). Seegar et al (8) en Perú reportan asimismo una prevalencia de 7.7o/o en infantes menores de un año, apareciendo el parásito a los 9 meses de edad como promedio, con una duración media de diarrea de 5.9 días. En nuestra serie estudiada se observaron algunas infecciones en el primer mes de edad. Mata (9) en Costa Rica observa la ausencia de esta para-

sitosis en infantes en una área rural alimentados con leche materna durante los primeros meses de vida, en contraste con la precocidad de la infección en áreas urbanas en donde esta práctica está disminuida o ausente.

En una coloración modificada de Ziehl-Neelsen, que en nuestro laboratorio dio los mejores resultados, los ooquistes se observan teñidos de rojo, entre 4-6 m de diámetro, uniformes; algunos presentan en su interior una vacuola que puede o no estar acompañada de un granulo conspicuo. A veces se pueden observar otras estructuras en su interior. El diagnóstico se realizó únicamente en heces fijadas durante el control de calidad, lo que sugiere la necesidad de una mayor familiaridad con el parásito y un adecuado adiestramiento para poderlo reconocer. Algunos autores (3) recomiendan implementar una combinación de 3 técnicas



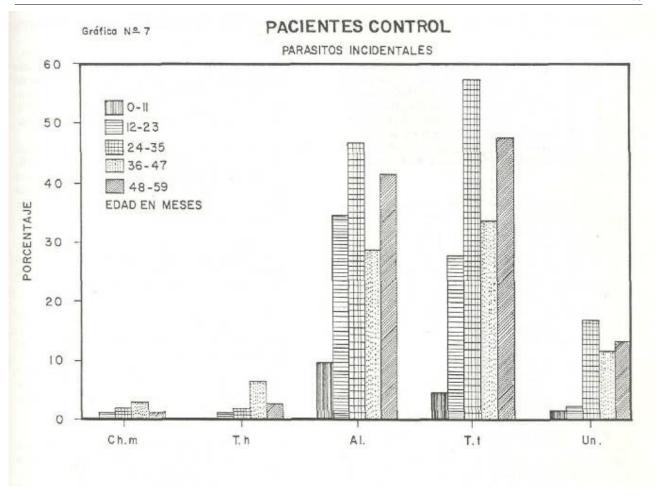
diferentes para mayor probabilidad de recobrarlo, sobretodo en infecciones que presenten una excreción leve de ooquistes.

Por lo general, en casos de diarrea aguda, la característica de las heces es líquida o diarréica, con o sin moco y sin la presencia de células como eritrocitos, macrófagos neutrófilos u otro tipo de células inflamatorias. En los casos de diarrea crónica del Hospital Materno Infantil, sin embargo, además de abundantes ooquistes de *Crvptosvoridium* se observó la presencia de abundantes células inflamatorias. Aunque esto no se reporta en pacientes inmuno-comprometidos con gastroenteritis crónica por *Cryptosporidium*, es necesario explorar su significado en desnutridos con criptosporidiosis.

La presencia de ooquistes en el aspirado bronquial del paciente que desarrolló pneunomía po-

dría explicarse como consecuencia de vómito y aspiración sufridos por el paciente; en la literatura consultada no se menciona la capacidad invasora de este parásito, aunque se le reporta de la mucosa del aparato respiratorio en pájaros (10) y más recientemente en el esputo de un paciente inmunocomprometido en una coloración por micobacterias(11).

La presencia de ooquistes en el grupo control podría explicarse en base a la poca información que existe sobre los patrones de excreción de ooquistes en individuos parasitados. Cuando se compara con estudios realizados en animales (12)_t se observa que terneros de un día de nacidos ya excretan ooquistes, pero que por lo general su presencia en las heces es esporádica, no continua, sin saberse si la excreción de ooquistes disminuye o desaparece aún cuando todavía exista diarrea.



Es posible que individuos parasitados excreten ooquistes días antes de presentar manifestaciones clínicas. Se han reportado también en infecciones asintomáticas (13).

Giardia lamblia es un flagelado intestinal que puede o no estar relacionado con manifestaciones gastro-intestinales como lo indica la gran cantidad de portadores asintomáticos. Mata (14) lo observa en un 470/o de infantes guatemaltecos menores de un año. En un área rural de Honduras, Kaminsky (15) reporta haberlo encontrado en un 28,70/o de niños con gastroenteritis, (232 muestras) siendo el único posible patógeno encontrado en 173 de 597 muestras. En controles se encontró en 18.70/o. De Bangladesh (16) se reporta un 860/0 de los in-

fantes estudiados con diarrea, notando que infección con este parásito era significativamente baja en infantes amamantados menores de 6 meses. Solo 40/o de las madres tenían diarrea al momento de detectar *Giardia* en las heces. Los autores lo atribuyeron a la protección ofrecida a los niños por la lactancia materna, aunque se desconoce el mecanismo por el cual esto sucede. Algunos autores han postulado, en base a los datos totales acumulados, que el principal agente activo en la leche inmune son talvez anticuerpos que actuarían tempraneen la infección, ya sea sobre la exquistación o sobre la adherencia de la Giardia, Es bien conocido que la susceptibilidad del infante a infección gastrointestinaí se eleva en virtud de una menor ingestión de leche materna tal corno sucede en el

período cuando se deja de amamantar y se introducen alimentos sólidos.

Estudios adicionales entre niños amamantados y niños alimentados artificialmente en áreas endémicas podrían ayudar a explicar si la baja tasa de infección observada en niños amamantados menores de 6 meses se debe a la protección de anticuerpos en la leche o a una disminución en la exposición de estos niños a la *Giardia lamblia* así como a otros agentes parasitarios verbigracia *Cryptosporidium*.

El aumento de reportes de criptosporidiosis significan un nuevo reto para el clínico y el laboratorista. Se hace necesario implementar técnicas adecuadas en todos los laboratorios que permitan descubrir una infección por *Cryptosporidium*, sobretodo en personas sintomáticas, no porque puedan tratarse efectivamente pues aún no se han identificado drogas adecuadas, sino para evitar tratamientos innecesarios en pacientes sin compromiso inmunológico o bien para un manejo mejor dirigido en pacientes inmuno-deficientes.

La amebiasis por <u>Entamoeba histolytica</u> estuvo ausente en los grupos estudiados, y la forma comensal era en su mayoría estadios quísticos. En su revisión de la amebiasis como problema mundial, Elsdon-Dew (17) llama la atención a la cantidad de conceptos errados que existen al respecto de esta parasitosis. La Organización Mundial de la Salud destaca que la detección e identificación de <u>Ehistolytica</u> en muestras de heces es talvez la más dificil de las tareas de un laboratorio clínico de rutina(18).

La previdencia de amebiasis en una comunidad está siempre abierta a duda, ya que para su diagnóstico es necesario una selección apropiada de métodos para procesar las muestras y la identificación de la ameba dependerá del conocimiento y capacidad del técnico. Kaminsky (19) encontró que después de cursos intensivos en coproparasitología hubo una reducción en los reportes de "amebas" 20 veces menor que antes de los cursos. Un estudio más completo en una área rural de Honduras en donde se investigaron agentes etioíógicos de diarrea entre parásitos, bacterias y virus, la prevalencia de la *E. histolytica* en su forma comensal únicamente fue de apenas un 1.90/o (15). Aunque sí existen casos de disentería amebiana aguda, amebiasis cutis y absceso hepático amebiano, se desconoce su prevalencia local.

CONCLUSIONES MAS IMPORTANTES DE ESTE ESTUDIO

- 1.- Se documenta por primera vez en Honduras la presencia de <u>Cryptosporidium</u> en niños de consulta externa con diarrea aguda y en algunos casos de diarrea crónica en niños hospitalizados con diferente grado de desnutrición.
- 2.- La relación de <u>Cryptosvoñdium</u> en niños con desnutrición y diarrea debe ser estudiada. Además, proveer facilidades en el laboratorio que permitan un diagnóstico temprano de <u>Cryptosporidium</u> al mismo tiempo que se buscan otros patógenos.
- 3.- La escasa presencia de <u>Entamoeba histolytica</u>, creída como una causa importante de diarrea en niños en Honduras y la ausencia de casos de disentería aguda en este grupo estudiado.
- 4.- La alta frecuencia de <u>Giardia lamblia</u> en niños con diarrea, menores de un año (9.4o/o), en contraste con los controles respectivos. Del primero al quinto año de vida, sin embargo, la presencia de <u>Giardia lamblia</u> se hace general tanto en diarrea como en controles, dato importante a considerar en relación con la patogenicidad de este parásito.
- 5.- El alto parasitismo, tanto de otros protozoos comensales como de nemátodos transmitidos por el suelo en ambos grupos de niños menores de 6 años, que podría indicar el grado de contaminación a que están sujetos durante sus primeros años de vida.
- 6.- Que es factible, provechoso y necesario hacer partícipes a los estudiantes de Microbiología para el caso, en estudios de diseño simple, práctico y aplicable como parte integral de su formación educativa. Sin embargo, se debe contar con un apoyo logístico adecuado y estar preparado para efectuar el control de calidad necesario.

AGRADECIMIENTO

Al Ministerio de Salud Pública en sus dependencias de Control de Vectores y Laboratorio Central por su atenta cooperación. Al Dr. Paul C, Beaver por su criticismo constructivo.

Al Dr, Samuel Dickerman por el análisis estadístico. A los microbiólogos participantes, sobre todo a aquellos que se destacaron por su excelente trabajo. Al Dr, Francisco Cleaves, jefe del Departamento de Pediatría del Hospital Escuela.

REFERENCIAS

- Tzipori, S., M. Smith, Ch. Bich, G. Barnes and R. Bishop. 1983. Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 32: 931-934.
- Meisel, J. L., D. R. Perrera, C. Meligro and C. E. Rubín. 1976. Overwhelming watery diarrhoea associated with a <u>Cryptosporidium</u> in an inmuno deficient patient. Gastroenterology, 70: 1156-1160.
- Ma, P., R. Soave: 1983. Three-steps stool examination for Cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhoea. J. Infect. Dis. 147: 824-828.
- 4.- Tzipori, S. 1983. Cryptosporidiosis in Animals and Humans. Microbiol. Rev. 47: 84-96.
- Center for Disease Control 1982. Cryptosporidiosis: assessment of chemotherapy of males with adquired inmune deficiency syndrome (AIDS) MUWR 31: 589-92.
- Hojlyng, N., K. Mlbak y S. Jepsen. 1984.
 Cryptosporidiosis in Liberian Children. The Lancet, 31(8379): 734-35.
- 7. Taylor, J. P., J. N. Perdue, D. Dingley and T. L. Gastafson. 1985. Cryptosporidiosis outbreak in a daycare center. Am. J. Dises. Child. 139: 1023-1025.
- 8. Seegar, J. K., R. H. Gilman, T. Galorza, J. C. Demanini. Cryptosporidium. An important agent of infantile diarrhoea in Perú. Proceedings of the 33 annual meeting of the American Society of Tropical Medici ne and Hygiene, Baltimore, 1984.
- Mata, H. Bolaños, D. Pizarro y M. Vives 1983. Cryp tosporidiosis in Children from some highland Costa

- Rican rural and urban areas. Am. J. Trop. Med. Hyg. 33: 24-29.
- Hoerr, F. J., F.M. Ranch and T. F. Hastings 1978.
 Respiratory Cryptosporidiosis in turkeys. JAVMA 173: 1591-1593.
- Miller, R., J. Wasserheit, J. Kirihara and M. Coyle 1984. Detection of Cryptosporidium oocysts in sputum during screening for Mycobacteria. J. Clin. Microbiol. 20: 1192-1193.
- Anderson, B. 1981. Patterns of shedding of Cryptosporidial oocysts in Idaho Calves. JAVMA 178: 982-984.
- Current, E. L., N. C. Reese, J. V. Ernest, W. S. Bailey, M. B. Heyman and W. M. Weinstein. 1983. Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: Studies of an outbreak and Ex perimental transmission. N. Engl. J. Med. 308: 1252-7.
- Mata, L. J. Urrutia y J. E. Gordon 1972. Diarrheal disease in a cohort of Guatemalan Children observed from birth to age 2 years. Trop. Geo. Med. 19: 247-257.
- Kaminsky, R. Etiología de diarrea en Honduras. Re sultados Parasitológicos. Presentado en la III Semana Científica, UNAH, Nov. 4-8 1985.
- Islam, As, B.L. Scott, I. Ljungstrom, J. Biswas, H. Nazrel, y C. Huldt. 1983. Giardia lamblia infections in a cohort of Bangladeshi mothers and infan ts followed for one year. The J. Ped. 103: 996-1000.
- 17. Elsdon-Dew, R. 1971. Amebiasis as a world problem. Bull. N.Y. Acad. Med. 47: 438447.
- 18. World Health Organization, 1969. Amoebiasis. Report of an Expert Committee. Tech. Rep. Sec. 421.
- Kaminsky, R. Adiestramiento y evaluación de perso nal de laboratorio en Coproparasitología.
 Resumen del VII Congreso Latinoamericano de Para sitología Guayaquil, Ecuador Oct. 20-25,1985.