

Detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales

ALINA HUIZA^{1,2}, YRMA ESPINOZA^{1,2}, RÓGER ROJAS³, CARLOS SEVILLA², PILAR ALVA², RUBÉN VERÁSTEGUI⁴, EVA QUISPE⁵, GLORIA ROMUALDO⁵, ZULEMA ÁNGELES⁵, JORGE CANDIOTTI^{2,4}, PEDRO HUAPAYA¹

¹Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión", Facultad de Medicina, UNMSM. ²Departamento Académico de Microbiología Médica, Facultad de Medicina, UNMSM. ³Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, UNMSM. ⁴Hospital Nacional "Daniel A. Carrión". ⁵Escuela Académico Profesional de Enfermería, Facultad de Medicina, UNMSM.

Resumen

Objetivo: Estimar la prevalencia de la infección por coccidios intestinales en niños asintomáticos de una comunidad urbano marginal de Lima. **Material y Métodos:** Se recolectó muestras fecales de 79 niños asintomáticos de 7 meses a 7 años de edad del Asentamiento Humano "Las Casuarinas de Villa". Se revisó por el método directo y se preparó frotis para la coloración con la técnica de Kinyoun. Una parte de la muestra se colocó en frascos con bicromato de potasio al 2,5% para la esporulación. Después de 10 días, se preparó frotis para colorearlos con Kinyoun. **Resultados:** El examen directo detectó una muestra con *Cryptosporidium* (1,3%); en los frotis coloreados previa esporulación se encontró 3 muestras con *Cryptosporidium* (3,8%) y una con *Isospora belli* (1,3%) y en los frotis coloreados postesporulación se detectó 6 muestras con *Cryptosporidium* (7,6%) y una con *Isospora belli*. **Conclusión:** La esporulación permitió aumentar la posibilidad de detectar casos con *Cryptosporidium*.

Palabras clave: Coccidiosis, diagnóstico; esporas; *cryptosporidium*; *isospora*.

Coccidia detection in asymptomatic children by sporulation of fecal samples

Abstract

Objective: To estimate intestinal coccidia infection prevalence of in asymptomatic children from a marginal community in Lima. **Material and Methods:** Stool samples were collected from 79 asymptomatic children aged 7 months through 7 year-old from Asentamiento Humano "Las Casuarinas de Villa". Direct smear and colored frotis by Kinyoun technique were prepared. Another portion was placed in small bottles with potassium bicromatum 2,5% to obtain sporulation. After 10 days, frotis were colored by Kinyoun. **Results:** Direct smear detected one sample with *Cryptosporidium* (1,3%). In frotis colored before sporulation, 3 with *Cryptosporidium* (3,8%) were found and one with *Isospora belli* (1,3%); in frotis colored post-sporulation 6 samples with *Cryptosporidium* (7.59%) were detected and one with *Isospora belli*. **Conclusion:** Sporulation increases *Cryptosporidium* detection.

Key words: Coccidiosis, diagnosis; spores; *cryptosporidium*; *isospora*.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones intestinales ocasionadas por coccidios afectan especialmente a niños y a pacientes con inmunodeficiencias (SIDA/VIH, cáncer, quimioterapia antineoplásica, malnutrición, etc.) (1,2).

Cryptosporidium es altamente infeccioso y agente causal de diarrea en el mundo en niños

de los países en vías de desarrollo y en individuos inmunocompetentes, especialmente en pacientes con VIH. Dentro de este grupo, las manifestaciones son diversas, desde infecciones asintomáticas a cuadros diarreicos leves y severos (3,4).

Cyclospora presenta síntomas que pueden incluir diarrea acuosa, náuseas, anorexia, dolor

abdominal, fatiga, baja de peso. La diarrea puede ser intermitente ^(5,6), puede encontrarse en personas y niños de países en vías de desarrollo causando infecciones asintomáticas ⁽⁷⁾.

Otro coccidio que puede observarse es *Isoospora belli*, que también ocasiona diarreas severas con eosinofilia ⁽⁸⁾.

El diagnóstico diferencial definitivo entre *Cyclospora cayetanensis* y *Cryptosporidium parvum* se debe realizar mediante la medición de los ooquistes o la verificación u observación de la presencia de esporoquistes y esporozoitos ^(9,10).

Es importante diferenciar la especie de coccidio causante de la infección, porque el pronóstico y el tratamiento son diferentes. En el caso de *Cyclospora cayetanensis*, es sensible al trimetoprim sulfametoxazol, a diferencia de *Cryptosporidium parvum*, que es resistente a numerosos fármacos. Debido a ello, su pronóstico es sombrío en los casos que se presenta con diarrea acuosa profusa, deshidratación y desnutrición progresiva. Sin embargo, en algunos casos la infección cursa en forma asintomática, especialmente en personas inmunocompetentes ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Es necesario utilizar el método de esporulación, que permite la evolución a ooquistes esporulados para diferenciar a *Cyclospora* de *Cryptosporidium* en pacientes con y sin cuadro clínico ^(9,10,13).

Este trabajo tiene como objetivo estimar la prevalencia de coccidios intestinales en niños de una comunidad urbano marginal de la ciudad de Lima y determinar la eficacia del uso de la esporulación como estrategia para mejorar el diagnóstico de estos parásitos intestinales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo transversal descriptivo en el Asentamiento Humano (AA HH) "Las Casuarinas de Villa" del distrito de Villa María del Triunfo en la zona sur de Lima Metropolitana, que fue creada en 1996 y cuenta con 704 habitantes aproximadamente entre niños y adultos, siendo el 15% niños menores de 6

años (105 niños). Durante el mes de junio de 1999, se ha recolectado una muestra fecal de 79 niños de 7 meses a 7 años de edad (de 7 meses a 2 años fueron 24 niños y de 2 años a 7 años fueron 55 niños), pertenecientes a 61 familias. Las muestras fueron obtenidas mediante una actividad de proyección a la comunidad por alumnas de la Escuela Académico Profesional de Enfermería de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Para la obtención de los sujetos de estudio no se realizó muestreo ni aleatorización.

Las muestras fecales fueron recolectadas en frascos de plástico con tapa y transportadas a la Sección de Parasitología del Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión" para su procesamiento en las primeras 6 horas desde su recolección, sin la adición de reactivo alguno. Una vez en el laboratorio, fueron examinadas mediante método directo y se preparó frotis de cada muestra para ser coloreados mediante la coloración de Kinyoun (Ziehl Neelsen modificado) (Grupo 1). Una porción de aproximadamente un gramo de heces se colocó en viales conteniendo bicromato de potasio al 2,5% para la esporulación de los ooquistes de los coccidios intestinales. A los 10 días se preparó frotises postesporulación para ser coloreados mediante la coloración de Kinyoun (Grupo 2).

RESULTADOS

De las 79 muestras recolectadas, el examen directo detectó un caso con ooquistes de *Cryptosporidium sp.* (1,3%) correspondiente a una niña de 1 año 11 meses de edad.

En las láminas del Grupo 1 se detectó 3 muestras con ooquistes de *Cryptosporidium sp.* (3,8%), que correspondían a 3 niños (una niña y un varón gemelos de 1 año 9 meses y una niña de 1 año 11 meses de edad) y un caso con *Isoospora belli* (un niño de 11 meses de edad) (Tabla 1).

En las láminas del Grupo 2, se detectó tres nuevos casos de infección por *Cryptosporidium* (2 niñas de 10 meses y 2 años, respectivamente, y un varón de 6 años) (Tabla 2).

Tabla 1. *Cryptosporidium* en muestras fecales pre y post esporulación. (Coloración Kinyoun)

Muestras	Preesporulación (Grupo 1)	Postesporulación (Grupo 2)
Negativas	76	73
Positivas	3	6
Total	79	79

Se solicitó muestras fecales a los padres de los tres primeros casos del Grupo 1, cuyos resultados fueron negativos.

DISCUSIÓN

La infección por *Cryptosporidium sp.* en niños inmunocompetentes en la ciudad de Lima, ha sido estimada en un 0,63% (Canto Grande), en el distrito de San Juan de Lurigancho ⁽¹³⁾, y en Villa el Salvador 0,39% (4 casos) ⁽¹⁴⁾. Estos valores han sido obtenidos de muestras de heces sin esporular, lo que sugeriría que la prevalencia reportada estuvo subestimada.

En el presente estudio se encontró 8,9% (7/79) de coccidios intestinales, encontrándose a *Cryptosporidium sp.* en 6 casos e *Isospora belli* en 1 caso. Los niños infectados no presentaron sintomatología alguna. Las muestras de los niños con *Cryptosporidium sp.* tuvieron características macroscópicas normales, no fueron diarreicas.

La población infantil es susceptible a la infección, que se autolimita por la edad y factores nutricionales ⁽²⁾. Por el contrario, en personas inmunocomprometidas, la *Cryptosporidiosis* ocasiona diarrea crónica con heces líquidas ⁽¹¹⁾, en pacientes con infección VIH con diarrea en 14 a 24% y sin diarrea en 0 a 5% ⁽²⁾.

Las deficientes condiciones sanitarias del AA HH, debido a que se encontraba en formación, con viviendas de construcción precaria y falta de servicios de agua y desagüe, son factores condicionantes de la transmisión de coccidios intestinales y otras parasitosis. Los ooquistes de

Cryptosporidium sp. eliminados en muestras fecales resisten a los procesos convencionales de cloración ⁽¹⁵⁾. Se ha reportado que la contaminación del agua con ooquistes de *Cryptosporidium sp.* puede ocasionar brotes epidémicos de *Cryptosporidiosis*, aun en aguas cloradas. En 1994, se reporta que un solo ooquiste es capaz de producir infección al hombre ⁽¹⁶⁾.

En 1998, en pacientes pediátricos hospitalizados con edad promedio de 11 meses, se detectó 3,8% (21/553) de casos con *Cryptosporidium sp.* en heces sin esporular, utilizando el método de concentración de Telesman y la coloración de Kinyoun ⁽¹⁷⁾. Además, Weber ⁽¹⁸⁾ propone el método de Telesman modificado (Formol-acetato de etilo) que mejora la sensibilidad de la detección de *Cryptosporidium* excretado en heces sin esporular, en un rango de 5,000 a 10,000 ooquistes por gramo de heces, habiendo la posibilidad de dar un falso negativo cuando se excreta un menor número de ooquistes. Es necesario implementar métodos parasitológicos para el diagnóstico oportuno de la *cryptosporidiosis* para su evaluación, monitoreo y tratamiento.

Nuestros resultados muestran que el método de esporulación mejora la detección de la infección por coccidios intestinales, especialmente para *Cryptosporidium sp.*, debido a que se pudo detectar el doble de casos, con la postesporulación (7,6%) en la que se ha utilizado un gramo de heces, en relación a los encontrados a la preesporulación (3,8%). Se recomienda implementar la esporulación de las muestras

Tabla 2. Coccidios intestinales en muestras fecales postesporulación.

Coccidios	n	%
<i>Cryptosporidium sp.</i>	6	7,6
<i>Isospora belli</i>	1	1,3
Negativo	72	91,1
Total	79	100

fecales en bicromato de potasio al 2,5% para la detección de coccidios intestinales y conocer la verdadera prevalencia en nuestra población. La mayor prevalencia se encontró en niños menores de 2 años. La asociación más frecuente fue *Cryptosporidium sp.* y *Blastocystis hominis* (Tabla 3).

Tabla 3. Resultado del examen directo y sedimentación de las muestras positivas a coccidios.

Edad	Sexo	Enteroparásitos
Preesporulación		
1 año 11 meses	Femenino	<i>Cryptosporidium</i>
1 año 9 meses	Masculino	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Blastocystis hominis</i>
1 año 9 meses	Femenino	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia lamblia</i>
11 meses	Masculino	<i>Isospora belli</i>
Postesporulación		
10 meses	Femenino	<i>Cryptosporidium</i>
6 años	Masculino	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Blastocystis hominis</i> , <i>Hymenolepis nana</i>
2 años	Femenino	<i>Cryptosporidium</i> <i>Blastocystis hominis</i>

BIBLIOGRAFÍA

- Frisby HR, Addiss DG, Reiser WJ, Hancock B, Vergeront JM, Hoxie NJ, et al. Clinical and epidemiologic features of a massive water-borne outbreak of cryptosporidiosis in persons with HIV infection. *J Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*. 1997;16(5):367-73.
- Guerrant R. Cryptosporidiosis. An emerging highly infectious threat. *Emerging Infectious Diseases*. 1997;3:51-6.
- Calderón G, Chirinos L, Gallegos A, Prado S. *Cryptosporidium sp.* en pacientes del Hospital Goyoneche, Arequipa. *Bol Per Parasit*. 1997;12:21.
- Clark D. New insights into human Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12:554-63.
- Sterling C, Ortega Y. *Cyclospora*: an enigma worth unraveling. *Emerging Infectious Diseases*. 1999;5(1):48-53.
- Zerpa R, Uchima N, Huicho L. *Cyclospora cayetanensis* associated with watery diarrhoea in Peruvian patients. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1995;98:325-9.
- Madico G, Gilman H, Cabrera L, Sterling C. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in Peruvian children. *Clinical Infectious Diseases*. 1997;24:977-81.
- Atías A. Parasitología clínica. 3ra ed. Santiago de Chile: Publicaciones Técnicas Mediterráneo; 1991.
- Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Cama VA, Diaz F. *Cyclospora* species. A new protozoan pathogen of humans. *N England J Med*. 1993;328(18):1308-12.
- Soave R. *Cyclospora*: An Overview. *Clin Infect Dis*. 1996;23:429-37.
- Ortega YR, Nagle R, Gilman RH, Watanabe J, Miyagui J, Quispe H, et al. Pathologic and clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of intracellular parasite life-cycle stages. *J Infect Dis*. 1997;176:1584-9.
- Vargas O, Alvarez R, González N, Neme GA, Romero R, Valencia S, et al. Diagnóstico y tratamiento de la infección por *Cyclospora cayetanensis* en pacientes pediátricos. *Rev Gastroent Per*. 1998;18(2):16-20.
- Naranjo J, Miranda E, Pacheco L, Sack B, Verástegui M. Cryptosporidiosis en el Perú. *Rev Gastroenter del Perú*. 1985;5:24-5.
- Mendoza J, Mendoza I. Prevalencia de coccidios intestinales en muestras fecales de niños de colegios primarios estatales del distrito de Villa El Salvador. Tesis de Bachiller de Tecnología Médica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1997.
- Smith HV, Rose JB. Waterborne Cryptosporidiosis. *Parasitology Today*. 1990;6(1):8-12.
- Haas CN, Rose JB. Reconciliation of microbial risk model and outbreak epidemiology: The case of the Milwaukee outbreak. *Proceeding of the American Water Works Association*. 1994;5:17-23.
- Saredi N, Vaba J. Cryptosporidiosis in pediatric patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998;40(3):197-200.
- Weber R, Bryan RT, Juranek DD. Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. *J Clin Microbiology*. 1992;30(11):2869-73.

Correspondencia:

Dra. Alina Floralia Huiza Franco
Avenida Lima 3766
Lima 31, Perú
Correo-e: alinahuizaf@hotmail.com