

CAPÍTULO 6

Cryptosporidium spp. Criptosporidiosis

Betina Cecilia Pezzani

Generalidades

La criptosporidiosis es una enfermedad diarreica cosmopolita causada por un protozoo zoonótico del género *Cryptosporidium*, de transmisión hídrica principalmente. Los niños, los animales neonatos y los individuos inmunocomprometidos son particularmente susceptibles. En individuos inmunocompetentes suele ser autolimitada. El género *Cryptosporidium*, ha sido objeto de importantes revisiones en los últimos años, tanto a nivel taxonómico, con la identificación de nuevas especies y sus principales reservorios, como por la contribución de esta información al conocimiento de la epidemiología de la infección en humanos (Del Coco *et al.*, 2009).

Morfología

La forma infectiva y único estado exógeno de *Cryptosporidium* corresponde al ooquiste, elemento de resistencia del parásito que permite la diseminación de la infección (Figura 1). Éste es esférico u ovoide, mide entre 5,5 y 6,5 μm de diámetro y contiene en su interior 4 esporozoítos periféricos y un cuerpo residual central. El ooquiste presenta una pared que puede ser fina o gruesa, lo que estaría relacionado con diferentes vías de desarrollo esporogónico y de infección. Dicha pared está compuesta por tres capas visibles al microscopio electrónico. La capa externa, de 5 nm de espesor, presenta abundante material filamentoso y glicoproteínas ácidas; puede ser parcialmente removida por efecto del hipoclorito de sodio. Está separada por 5 nm de distancia de una capa central electrodensa, rígida, de 10 nm de espesor, de composición lipídica que le confiere propiedades de ácido alcohol resistencia. La capa interna, de composición glicoproteica, presenta 20 nm de espesor. Una característica única que distingue al género es la presencia de una línea de sutura en la pared del ooquiste, la cual durante el desenquistamiento, permite la salida de los esporozoítos.



Figura 1. Quiste de *Cryptosporidium* sp.

La pared del ooquiste, rica en uniones disulfuro, permite mantener la capacidad infectiva del parásito. Los esporozoítos presentan más de 20 proteínas en su superficie, las cuales median acciones de adherencia e invasión a la célula hospedadora. Los micronemas, las roptrias y los gránulos densos conforman el denominado complejo apical. Son estructuras que contienen una compleja mezcla de proteínas que se secretan a nivel del extremo apical del zoíto. Sus funciones incluyen adhesión específica a la célula hospedadora, locomoción, desplazamiento y formación de la vacuola parasitófora, nicho ecológico del parásito.

Se han identificado estadios de multiplicación en medios libres de células. Estudios recientes muestran que determinados biofilms son capaces de actuar como reservorios para ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, presentando la habilidad para permitir la multiplicación del parásito que desarrolla estadios tales como esporozoítos, trofozoítos y merontes. Además, mediante análisis genómicos se detectó la falta de apicoplasto, organela que interviene en la síntesis de ácidos grasos típica de los apicomplexa (Hernández Gallo et al., 2018).

Transmisión y formas de diseminación

La infección puede transmitirse de animal a persona, de persona a persona, a través del agua y los alimentos contaminados con material fecal, o por contacto con superficies ambientales contaminadas. La transmisión animal ha sido claramente documentada con los dos genotipos predominantes de *C. parvum*. En la actualidad se recurre a la biología molecular para identificar especies, genotipos y subtipos de *Cryptosporidium*. La criptosporidiosis humana ha sido clásicamente considerada una antropozoonosis que tiene como reservorios principales a bovinos y al hombre, aunque existe cierta controversia con respecto a la importancia que desempeñan los animales en la transmisión a humanos. La mayor parte de las especies y genotipos demuestran adaptación y no necesariamente especificidad de hospedador. Es común que se produzca transmisión cruzada, sobre todo cuando los animales comparten un mismo hábitat (Del Coco et al., 2009). Los grandes brotes se han asociado fundamentalmente al agua, ya sea aguas de bebida (de grifo, lagos, arroyos), o por contacto con agua de piscinas. Se han demostrado pocos brotes por ingesta de alimentos y sólo un brote en Maine, EEUU, fue definitivamente asociado con jugo

fresco de manzana. La alta prevalencia de animales infectados aconseja prudencia en la ingesta de leche no pasteurizada, incluso en población sana (Tzipori & Ward, 2002).

Cryptosporidium hominis (anteriormente conocido como *C. parvum* genotipo I), afecta únicamente al hombre y ha sido responsable de muchos brotes en todo el mundo, se asocia a una mayor intensidad y duración de la parasitosis. *C. parvum* (anteriormente conocido como *C. parvum* genotipo II), principal implicado en Europa, es capaz de infectar también a todas las especies de mamíferos, especialmente a animales recién nacidos. Otras especies de *Cryptosporidium* no se consideraban hasta hace poco patógenas para el hombre. Sin embargo, en los últimos años, se han descritos casos de infección en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) por *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. ubiquitum*, *C. cuniculus*, *C. viatorum*, *C. chipmunk* genotipo I, *C.* genotipo de visón y *C. muris*.

Las enfermedades transmitidas a través del agua, como la criptosporidiosis, están influenciadas por factores biológicos, ambientales y comunitarios. La elevada incidencia de la infección en la población y en los animales, el alto porcentaje de excreción de quistes y la estabilidad e infectividad de los mismos [dosis infectiva del 50% (ID50): 10-1042 ooquistes] son los factores biológicos que contribuyen a la alta concentración de parásitos en las aguas ambientales y a la diseminación de la enfermedad. La procedencia del agua es uno de los factores ambientales clave; así, por ejemplo, las aguas residuales y las que reciben excrementos de ganado tienen una concentración diez a cien veces mayor de ooquistes (Dillingham et al., 2002).

Del tipo de tratamiento del agua potable (filtración y desinfección) y de la precisión del mismo dependerá el impacto del patógeno en el agua. Brotes transmitidos por el agua se han descrito por todo el mundo. En general, puede decirse que las lluvias torrenciales son una importante variable en los brotes por aguas de bebida. Las aguas de bebida responsables de estos brotes incluyen aguas superficiales (lagos, ríos, arroyos), pozos y manantiales. Sin embargo, sucede que, aunque en la mayoría de los países ocurren brotes, muy pocos han sido identificados como causados por *Cryptosporidium*. El mayor brote documentado es el de Milwaukee, EEUU, en 1993; la combinación de una primavera muy lluviosa y el deshielo, con fallos en los procesos de floculación y filtración en una planta de tratamiento de agua, llevaron a la contaminación del lago Michigan, provocando 403.000 casos aproximadamente y 67 muertes (Mac Kenzie et al., 1994). Asociados a agua de bebida se han descrito otros brotes en EEUU, Canadá, Japón y Brasil. En Europa se han documentado en los últimos años más de 20 brotes, la mayoría en Inglaterra y Gales, asociados a lluvias torrenciales. Se han demostrado elevados niveles de contaminación por *Cryptosporidium* y *Giardia* en estudios realizados sobre agua de bebida en Holanda, Canadá y Australia, en diversos lugares de Asia. Otros brotes importantes se han relacionado con piscinas y parques acuáticos.

Ciclo Biológico

A pesar de las similitudes en su ciclo de vida, varias características distinguen al género *Cryptosporidium* del resto de los coccidios: la relativa especificidad de hospedador, su capacidad

de autoinfección endógena, la localización intracelular y extracitoplasmática y su resistencia a terapéutica antiparasitaria.

Cryptosporidium presenta un ciclo evolutivo monoxeno con una etapa asexuada y otra sexual, ambas se llevan a cabo dentro de las células del epitelio intestinal donde el yeyuno es la localización preferencial (Figura 2). Sin embargo, en pacientes inmunosuprimidos es capaz de diseminarse a lo largo de todo el tracto digestivo, vías biliares, hígado, vesícula biliar, páncreas y tracto respiratorio. Los ooquistes contienen 4 esporozoítos y son excretados por los hospedadores infectados a través de las heces y otras rutas posibles como son las secreciones respiratorias. Después de la ingestión (y posiblemente inhalación) por un hospedador susceptible se da lugar a la eclosión de los ooquistes. Los esporozoítos son liberados y parasitan las células epiteliales del tracto gastrointestinal u otros tejidos del tracto respiratorio. En estas células, el parásito presenta la multiplicación asexual (esquizogonia o merogonia) y posteriormente la multiplicación sexual (gametogonia), produciendo microgametos (masculinos) y macrogametos (femeninos). Después de la fertilización de los macrogametos por los microgametos, se desarrollan los ooquistes que esporulan en el hospedador infectado. Se producen dos tipos diferentes de ooquistes, unos de pared gruesa, que comúnmente son excretados por el hospedador, y los ooquistes de pared delgada, que están involucrados en la autoinfección. Los ooquistes son infectantes al ser excretados, permitiendo la transmisión fecal-oral directa e inmediata. Mantienen su viabilidad a temperaturas entre 4°C y 22°C y sobreviven a -20°C. Temperaturas superiores pueden acelerar su tiempo de degradación, al igual que los procesos de congelación rápida (Tzipori & Ward, 2002; Vanathy et al., 2017).

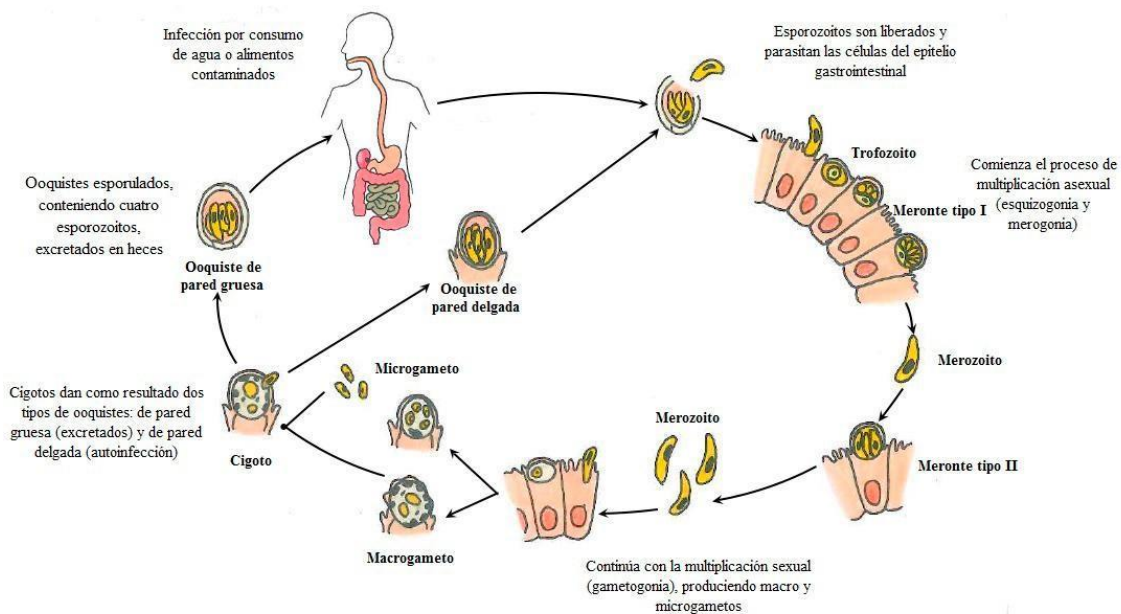


Figura 2. Ciclo biológico de *Cryptosporidium*.

Patogenia y signología clínica

Durante la interacción con el enterocito, las proteínas de superficie del esporozoíto y las proteínas secretadas por las organelas especializadas del complejo apical facilitan la adhesión, invasión y estimulan la formación de la vacuola parasitófora. *Cryptosporidium* ingresa por el sector apical de la superficie epitelial intestinal, situándose en la célula hospedadora a nivel de la red de filamentos de actina y proteínas asociadas a ésta, estimulando la polimerización y acumulación en la interfase parásito-citoplasma celular, para que protruya la membrana plasmática. A esto se le agrega la conexión entre una vacuola anterior del complejo apical del esporozoíto y el citoplasma de la célula, hasta finalmente conformar la vacuola parasitófora, de ubicación intracelular, pero extracitoplasmática. En la base de dicha vacuola, una banda electrodensa conformada por elementos del citoesqueleto facilita el ingreso de nutrientes desde la célula hospedadora hacia el parásito. La manera en que las células regulan el aumento de su tamaño ante la presencia de la vacuola parasitófora es a través de la modificación de la permeabilidad de membrana al agua y a ciertos iones. *Cryptosporidium* recluta un co-transportador de Na⁺/glucosa y una acuoporina a nivel del sitio de adhesión. Esto permite el ingreso de glucosa y agua a la célula hospedadora y de esta manera se logra mayor protrusión de la membrana plasmática. Los diferentes estadios parasitarios desplazan el borde de las microvellosidades y eventualmente llevan a la pérdida de la superficie intestinal. Se reduce el tamaño de las vellosidades y aumenta de longitud las criptas intestinales por la aceleración de la división celular, a fin de compensar la muerte celular. La pérdida combinada del tamaño de las vellosidades y del borde microvellositario disminuye la absorción de fluidos, electrolitos y nutrientes y conduce a la pérdida de enzimas digestivas de membrana, lo cual contribuye a la malabsorción y desnutrición. Por otro lado, se produce pasaje de agua y electrolitos hacia la luz intestinal provocando una diarrea secretoria. Por la profusa diarrea experimentada por algunos pacientes, se ha hipotetizado que *C. parvum* produciría una enterotoxina (Hunter & Nichols, 2002).

En pacientes inmunosuprimidos se puede presentar la forma diseminada, en cuyo caso es posible encontrar ooquistes del parásito en todo el tracto digestivo (faringe, esófago, estómago, duodeno, colon y recto), como así también en pulmones, por lo cual, los ooquistes se pueden encontrar en esputo (Tzipori & Ward, 2002).

Distribución geográfica

Mientras *C. hominis* y *C. parvum* son dominantes en los países industrializados, solamente *C. hominis* lo es en países en desarrollo. Ambas especies son las responsables de la mayoría de los brotes investigados. Sin embargo, se diferencian entre sí en la virulencia, siendo *C. hominis* causante de la mayoría de las presentaciones clínicas estudiadas.

La prevalencia de este microorganismo es variable, en función de las características socio-económicas de la población, ya que es más frecuente en los lugares con problemas de infraestructura en las canalizaciones de agua potable, en las piscinas, en la eliminación de aguas residuales o con estrecho contacto con animales (Vanathy et al, 2017). Se encuentra en las heces de 1% a 3% de los habitantes de los países desarrollados (Europa y América del Norte), en el 5% de los países asiáticos, en el 10% de los países africanos y en el 40% de los países de Sudamérica. Se reporta que tiene una morbilidad del 1% al 30% y una mortalidad de 0,7% al 20%. En niños con diarrea, se evidencia en el 7% de los casos en países desarrollados, mientras que la proporción es mayor al 12% en países en vías de desarrollo. En Córdoba, Argentina, se ha estimado una prevalencia de 24 a 31,2% en pacientes con diarrea. Dentro de los factores de riesgo asociados a la infección de *Cryptosporidium* y al desarrollo de su sintomatología: inmunosupresión, malos hábitos de higiene personal, malas condiciones sanitarias, pobreza, consumo de alimentos mal manejados, consumo de agua no ozonificada, sexualidad asociada a prácticas anales e interacción con animales (Rose, 1997).

Diagnóstico

El diagnóstico de cryptosporidiosis intestinal se efectúa mediante la búsqueda e identificación de ooquistes en materia fecal. Las muestras pueden remitirse frescas, preservadas en formol al 10% u otros conservantes. La utilización de métodos de concentración de materia fecal aumenta la sensibilidad del diagnóstico microscópico. Algunos autores consideran que las técnicas de sedimentación son las más efectivas. Para la identificación de los ooquistes al microscopio óptico, suelen utilizarse las técnicas de coloración de Ziehl Neelsen y Kinyoun modificadas (Imagen 1).

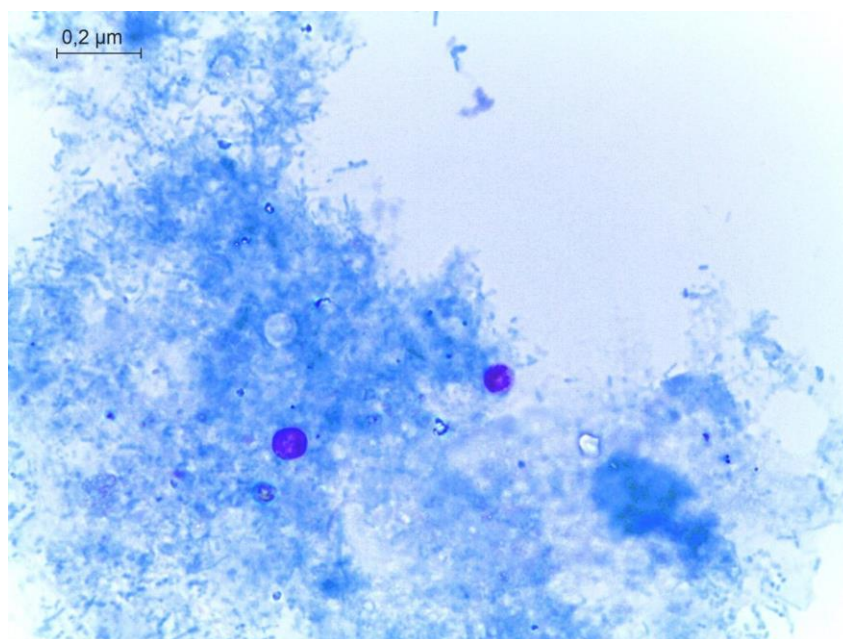


Imagen 1. Técnicas de Ziehl Neelsen para el diagnóstico de cryptosporidiosis. 100X.

Las tinciones fluorocrómicas son sensibles pero complejas y requieren de microscopio de inmunofluorescencia. La ventaja es que no solo detectan ooquistes, sino que también permite establecer su viabilidad. Los test directos de anticuerpos fluorescentes (MeriFluor de Meridian; Crypto IF de TechLab) son ampliamente utilizados debido a su elevada sensibilidad y especificidad. Las tinciones fluorocrómicas (DAPI, PI) son sensibles, complejas y permiten también establecer la viabilidad de los ooquistes.

Otro método utilizado es la detección de antígenos solubles de *Cryptosporidium* por ELISA, aunque su especificidad es relativa por presentar reacciones cruzadas con otros microorganismos. Los ensayos inmunocromatográficos (ImmunoCard STAT de Meridian; ColorPAC® de Becton Dickinson) son test de diagnóstico rápido muy implementados, sencillos de realizar, con sensibilidad y especificidad elevadas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), son útiles para diferenciar las especies y genotipos de *Cryptosporidium*. La técnica Real Time-PCR (RT PCR) es otro método determinante de la viabilidad parasitaria. Aunque las técnicas moleculares resulten útiles en la epidemiología y en la taxonomía de *Cryptosporidium*, probablemente no desplacen a la microscopía o los ensayos inmunobiológicos en el diagnóstico de la infección.

La respuesta inmune humoral contra *Cryptosporidium* spp. puede ser detectada en la fase aguda de la infección en el suero de los pacientes convalecientes.

En hospedadores inmunocompetentes, la confirmación de criptosporidiosis por detección del parásito en heces solo puede realizarse en un período muy corto de tiempo, es decir, la fase aguda de la enfermedad. La serología en cambio, ofrece la ventaja de confirmar la infección semanas o meses después de padecer la enfermedad, pero su valor diagnóstico es escaso si se desea detectar infección reciente.

Los anticuerpos específicos anti *Cryptosporidium* de tipo IgG, IgM o ambos se encuentran en el 95% de los pacientes con criptosporidiosis dentro de las dos semanas de la presentación de la enfermedad. Si bien está el método de ELISA desarrollado, son más sensibles y específicas las técnicas basadas en la detección de anticuerpos por Inmunoblot, que identifica la respuesta inmune contra los antígenos de 27 kDa y 17 kDa presentes en la superficie de los esporozoítos y que desencadenan una respuesta inmune mediada por anticuerpos tipo IgG y tipo IgG e IgA, respectivamente, lo cual puede ser útil en investigaciones epidemiológicas (Del Coco et al., 2009).

Tratamiento

Numerosos estudios se han llevado a cabo para encontrar una quimioterapia específica contra *Cryptosporidium*. Si bien más de 200 drogas han sido testeadas tanto in vivo como in vitro, ninguna resultó efectiva en el tratamiento de la infección. En los pacientes inmunocompetentes, en quienes la infección se autolimita, la terapéutica de sostén por rehidratación oral y/o intravenosa constituye el tratamiento de elección. La nitazoxanida ha dado resultados alentadores en el manejo de diarrea por criptosporidiosis en pacientes inmunocompetentes y ha sido aprobada

por la FDA para el tratamiento de cryptosporidiosis en niños inmunocompetentes menores de doce años de edad. Las personas inmunocomprometidas y con un estado precario de salud están en alto riesgo de contraer la enfermedad en forma severa. Para personas con SIDA, la terapia anti-retroviral mejora el estado inmune, también reduce la excreción de ooquistes y disminuye la diarrea asociada a cryptosporidiosis.

Profilaxis

En los pacientes inmunodeprimidos deben minimizarse los riesgos de contagio. La prevención de la cryptosporidiosis incluye la información sobre las distintas vías de transmisión de la infección y además, el consejo sobre la práctica de ciertas medidas preventivas.

Agua y alimentos: Hervir el agua al menos 1 min, almacenarla en recipientes limpios y con tapa. Filtrar el agua del grifo con filtros caseros con poro de 1 µm. Beber agua embotellada, no es recomendable consumir cubitos de hielo fabricados a partir de agua del grifo. No se debe beber agua directamente de ríos, lagos, piscinas, parques acuáticos, fuentes ornamentales y playas, incluso de agua salada. Pelar la fruta y lavar los vegetales que vayan a ser consumidos crudos. Es conveniente conocer que los productos lácteos pasteurizados aseguran la erradicación total de *Cryptosporidium*, pues el calor destruye los ooquistes y que las bebidas carbonatadas embotelladas o enlatadas, tales como soda o cerveza, son por lo general calentadas o filtradas en forma suficiente para eliminar los quistes.

Otras precauciones: Lavado de manos con agua y jabón: Después de ir al baño o de cambiar pañales. Después de manejar animales o de limpiar sus excrementos. Después de trabajar con la tierra o tocar objetos que pudieran estar contaminados con material fecal. Antes de preparar, servir, o comer alimentos. *En los hospitales:* Utilización de guantes y lavado de manos tras quitarse los guantes. Aislamiento del paciente infectado por el VIH en habitaciones individuales. *Relaciones sexuales:* Evitar el contacto anal-oral. Lavado de manos después de un acto con riesgo de contagio (Tzipori & Ward, 2002; Dillingham et al., 2002; Hunter & Nichols, 2002).

Importancia en Salud Pública

Aunque *Cryptosporidium* fue descrito por primera vez en el ratón de laboratorio por Tyzzer en 1907, la importancia médica y veterinaria de este protozoo se intensificó enormemente en las últimas tres décadas. Si bien en la década del 70 se puso en evidencia la gravedad de *Cryptosporidium* en mamíferos, principalmente en terneros, en 1980 se define como causa primaria grave, de brotes y casos esporádicos de diarrea en ciertos mamíferos. A partir de 1983, con el inicio de la epidemia de SIDA, *Cryptosporidium* surgió como una enfermedad potencialmente mortal en esta subpoblación. En 1993, alcanzó el dominio público cuando se hizo ampliamente reconocido como la causa más grave, y difícil de controlar, de diarrea relacionada con el agua.

Hasta entonces, *Cryptosporidium* se consideraba un protozoo oportunista que causaba algunos o ningún síntoma.

Referencias

- Del Coco, V.F., Córdoba, M.A. & Basualdo, J.A. (2009). Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Revista Argentina de Microbiología*. 41: 185-96.
- Dillingham, R.A., Lima, A.A. & Guerran, R.L. (2002). Current focus Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection* 4: 1059–1066.
- Hernández Gallo, N., Hernández Flórez L.J. & Cortés Vecino, J.A. (2018). Ensayo Cryptosporidiosis and "One Health". *Revista de Salud Pública*. 20 (1).
- Hunter, P.R. & Nichols G. (2002). Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*. 15: 145–54.
- Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E., et al. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*. 331:161-167.
- Rose, J.B. (1997). Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. *Annual Review of Public Health*. 18 (1): 35-61.
- Tzipori, S. & Ward, H. (2002). Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes and Infection* 4: 1047-1058.
- Vanathy, K, Subhash Chandra, P., Jharna M., Hamide, A. & Krishnamurthy, S. (2017). Cryptosporidiosis: A mini review. *Tropical Parasitology*. 7(2): 72–80. doi: 10.4103/tp.TP_25_17. 2017.