

Criptosporidiosis en humanos. Revisión.

Leonor Chacín-Bonilla.

Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina,
Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo, Venezuela.

Palabras claves: *Cryptosporidium*, criptosporidiosis.

Resumen. La criptosporidiosis es básicamente una infección gastrointestinal causada por protozoarios coccidios pertenecientes al género *Cryptosporidium*. Tiene una distribución cosmopolita, siendo más frecuente en países en vías de desarrollo. Es una causa frecuente de diarrea en animales y en humanos, sobre todo en menores de 5 años. Constituye un importante problema de Salud Pública a nivel mundial. La transmisión se realiza por diversos mecanismos siendo, al parecer, la zoonótica, la directa de persona a persona y la transmisión a través del agua, las más frecuentes. El mecanismo por el cual el coccidio causa diarrea se desconoce. El estado inmunológico es de primordial importancia en la duración, severidad y desenlace de la enfermedad. En personas inmunocompetentes, la infección puede ser asintomática o producir una diarrea acuosa de corta duración que desaparece espontáneamente. En personas inmunodeficientes, la diarrea tiende a ser severa y persistente: en pacientes con SIDA usualmente es de mal pronóstico. El diagnóstico generalmente se hace por la detección de los ooquistes en las heces, mediante el uso de diversas técnicas de concentración y tinción. Varias modificaciones de la coloración de Ziehl-Neelsen y las tinciones fluorescentes son las más ampliamente usadas. También se usan técnicas inmunológicas, tales como la prueba de inmunofluorescencia e inmunoenzimática para detectar antígenos de los ooquistes en heces y anticuerpos específicos en el suero. Hasta el presente no existe una droga efectiva; la inmunoterapia se perfila con utilidad potencial. No hay una vacuna disponible para prevenir la infección. El control de la diseminación del parásito es limitado, porque el ooquiste es muy resistente y no se conocen a cabalidad todos los mecanismos posibles de su transmisión. Los acontecimientos científicos relacionados a *Cryptosporidium* son de lo más fascinante, y es impresionante los cambios notables de la conceptualización de este coccidio que han ocurrido en pocos años. Su descubrimiento, a comienzos de este siglo, fue un hallazgo incidental, y pasó a ser un parásito más, en el ya muy vasto mundo de la fauna parasitaria. Tuvo que transcurrir alrededor de medio siglo para que despertara el interés de la comunidad científica,

cuando se asoció con diarrea en pavos, y 16 años más tarde con diarrea en bovinos, lo cual llamó la atención de los veterinarios. Los primeros casos humanos se asociaron con exposición a animales, lo cual determinó que la criptosporidiosis se catalogara como una infección zoonótica. Hasta comienzos de la década de los 80 se habían observado escasas infecciones humanas; es entonces cuando se empieza a diagnosticar la infección, con frecuencia, en pacientes con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), por lo que se consideró el parásito como un patógeno oportunista. Este último hallazgo estimuló el interés de los científicos del Sector Salud lo cual se reflejó en una explosión de la literatura en la última década; las publicaciones, de alrededor de 30 ascendieron a más de un millar. A la luz de los nuevos conocimientos surgidos a partir de 1.982, el concepto de este coccidio ha cambiado mucho; la creencia de que era un patógeno oportunista raro dejó de ser, y se sabe actualmente que se trata de un enteropatógeno cosmopolita que afecta una gran variedad de animales vertebrados y al hombre, tanto a huéspedes inmunodeficientes como inmunocompetentes, y que es una causa frecuente de diarrea y un importante problema mundial de Salud Pública. Igualmente, el concepto de infección zoonótica cambió; si bien es cierto que la transmisión zoonótica puede ser la más importante en áreas rurales, la transmisión feco-oral de persona a persona y la ingestión de agua contaminada son las vías de transmisión más importantes en áreas urbanas. Este patógeno emergente, al parecer, es relativamente frecuente y causante de morbilidad en Venezuela, lo cual motivó la presente revisión con el objeto de proveer una mejor comprensión del parásito, a los médicos clínicos, estudiantes de medicina, y a todas aquellas personas estudiosas de la parasitología e interesadas en los problemas de salud que afectan la población venezolana, y para enfatizar su importancia como patógeno con el fin de que la criptosporidiosis se considere en el diagnóstico diferencial del síndrome diarreico. Se tratarán los aspectos más importantes de esta infección desde el punto de vista clínico: patogenicidad, inmunidad, sintomatología, diagnóstico, tratamiento, pronóstico y prevención. En forma menos exhaustiva, se describirán otros aspectos del parásito: historia, taxonomía, ciclo evolutivo, morfología y epidemiología.

Cryptosporidiosis in humans.

Invest Clin 36(4): 207-250, 1995.

Key words: *Cryptosporidium*, criptosporidiosis.

Abstract. Cryptosporidiosis basically is a gastrointestinal infection caused by the coccidian protozoa *Cryptosporidium*. The infection is associated with diarrhea worldwide but it is most prevalent among children below 5 years of age in the undeveloped countries. It is an important Public Health problem. Infection in humans is usually with *C. parvum*. The parasite

appears to be transmitted by a variety of mechanisms but zoonotic and person-to-person transmission, and contaminated water appear to be the most important. The mechanism by which the coccidium causes diarrhea is unknown. The extent of the disease is mostly dependent on the immune status of the host. In immunocompetent persons, *C. parvum* may cause a short term diarrheal disease that resolves spontaneously; in immunocompromised patients, especially those with AIDS, produces a prolonged, life-threatening choleralike disease. The diagnosis is generally made by detection of oocysts in stools by means of several concentration and staining procedures. Modified acid-fast and fluorescence stains are widely used. Immunofluorescent assays with *Cryptosporidium*-clonal antibodies have been developed to detect oocysts in stool specimens. Specific humoral antibodies have been detected by immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay techniques. Although an effective agent for *Cryptosporidium* is not available yet, promising results have been related to the immunotherapy. Vaccines are not available and the control and prevention of the infection is limited because of the environmentally resistant oocysts and the ignorance of all its possible transmission routes.

Recibido: 23-5-95. Aceptado: 27-10-95.

HISTORIA BREVE

Tyzzar, en 1907, describió y dio el nombre de *Cryptosporidium muris* a un coccidio pequeño que él observaba con frecuencia en la células epiteliales gástricas de ratones de laboratorio (202). Sin embargo, según él, Clarke en 1895 fue el primero en observar y describir esta especie (36). El término *Cryptosporidium*, que significa "esporoquistes escondidos", se creó para nominar el nuevo género, porque los ooquistes, a diferencia de los otros coccidios conocidos, no tienen esporoquistes. El mismo autor, en 1912, describió y nominó una nueva especie, *C. parvum* (203), que infecta el epitelio del intestino delgado de ratones de laboratorio; y en 1929, describió otra en el epitelio cecal de pollos que el

creyó se trataba de *C. parvum* (204), pero posteriormente en 1984, Levine la identificó como *C. meleagridis* (119).

Slavin, en 1955, fue el primero en asociar la criptosporidiosis con morbilidad y mortalidad en pavos y descubrió una nueva especie, *C. meleagridis* (190). Panciera y cols., en 1971, asociaron el coccidio con diarrea en bovinos (161), y hoy en día se reconoce *C. parvum* como una causa frecuente de diarrea neonatal en terneras y corderos (6, 46, 51, 213). *C. baileyi* es una causa importante de trastornos respiratorios en aves (19, 48, 49).

Los primeros casos humanos se reportaron en 1976 y se asociaron al contacto con animales de granja, por lo que se consideró como una zoonosis (137, 154). Publicaciones

posteriores confirmaron la clasificación de la criptosporidiosis como una infección zoonótica (34, 45, 66). Hasta 1980, la infección en animales se consideraba rara, y antes de 1982 se habían comunicado solamente once casos humanos (51). Comenzando la década de los 80, la mayoría de los casos eran pacientes con SIDA (51, 66, 82, 123, 151, 193) y *Cryptosporidium* fue considerado esencialmente como un patógeno oportunista. Hoy en día se sabe que tiene una distribución cosmopolita y que es causa de diarrea en animales y en humanos, tanto inmunosuprimidos como inmunocompetentes (51, 66, 102, 151).

DEFINICION

La criptosporidiosis, es básicamente una infección gastrointestinal causada por protozoarios coccidios pertenecientes al género *Cryptosporidium*, los cuales son parásitos obligatorios, pequeños, que infectan las células epiteliales de los vertebrados y pueden causar una diarrea de corta duración en seres inmunocompetentes y una enfermedad prolongada, parecida al cólera, en inmunosuprimidos.

AGENTE ETIOLOGICO

Taxonomía

La clasificación taxonómica de las especies pertenecientes al género *Cryptosporidium*, de acuerdo a Levine (119,120), es la siguiente:

Phylum:	<i>Apicomplexa</i>
Clase:	<i>Sporozoasida</i>
Subclase:	<i>Coccidiasina</i>
Orden:	<i>Eucoccidiorida</i>
Suborden:	<i>Eimeriorina</i>
Familia:	<i>Cryptosporidiidae</i>

La taxonomía del género *Cryptosporidium*, lógicamente refleja su morfología y biología. Pertenece al phylum *Apicomplexa* por tener un complejo apical compuesto por roptrias, anillos polares, conoide, micronemas y microtúbulos subpelliculares. El hecho de que la locomoción de las formas invasivas del coccidio es por medio de deslizamiento por flexión del cuerpo u ondulaciones, lo ubica en la clase *Sporozoasida*. Por poseer un ciclo evolutivo con merogonia, gametogonia y esporogonia se ubica en la subclase *Coccidiasina*. Por tener merogonia en los huéspedes vertebrados pertenece al orden *Eucoccidiorida*; y se localiza en el suborden *Eimeriorina* porque los gametos masculinos y femeninos se desarrollan independientemente. Pertenece a la familia *Cryptosporidiidae* por ser un parásito monoxeno, es decir, necesita un solo huésped para completar su evolución; se desarrolla justo debajo de la membrana de la célula infectada; los ooquistes poseen cuatro esporozoitos, pero no tienen esporoquistes; y los microgametos no poseen flagelos.

Se han descrito 21 especies de *Cryptosporidium* en mamíferos, aves, peces y reptiles (51, 66) bajo la

asunción de que el parásito tenía especificidad de huésped, como los coccidios estrechamente relacionados, pertenecientes al género *Eimeria*. Sin embargo, solo unas pocas son consideradas válidas actualmente, ya que los estudios de transmisión cruzada, llevados a cabo a comienzos de la década del 80, demostraron poca, o ninguna especificidad de las especies nominadas. Los aislados de *Cryptosporidium* de mamíferos y de aves son generalmente infectantes para otros mamíferos y aves, respectivamente. La transmisión de mamíferos a aves no está bien documentada, y a la inversa, no ha sido posible (66). Hoy en día, existen buenas evidencias epidemiológicas y de laboratorio de la transmisibilidad cruzada de *C. parvum* entre varias especies de huéspedes, incluyendo el hombre (51,66). Estos hallazgos condujeron a Tzipori y cols. a considerar que existe una sola especie de *Cryptosporidium* (206), mientras que Levine opina que existen cuatro, una para cada clase de vertebrados (119). Por lo menos, hay dos especies documentadas que parasitan los mamíferos, *C. muris* y *C. parvum* (220), y dos que infectan las aves, *C. meleagridis* y *C. baileyi* (48). Recientemente se registró el hallazgo de *C. baileyi*, como un agente oportunista, en un paciente con el virus de la inmunodeficiencia humana y que recibía tratamiento inmunosupresor por trasplante renal. En material de necropsia se observó el parásito en el tracto gastrointestinal, respiratorio y urinario (65). Este coccidio y *C. parvum* están antigéni-

camente más estrechamente relacionados el uno al otro que con *C. muris* (155).

En base a la morfología del ooquiste, *C. parvum* es la especie asociada con todos los casos de criptosporidiosis bien documentados en el hombre y el ganado (220). Sin embargo, estudios recientes ponen en duda la presumible significación taxonómica de los ooquistes como una herramienta constante y confiable en la discriminación de las especies, ya que los ooquistes eliminados por ratas lactantes inoculadas con ooquistes de *C. parvum* obtenidos de terneras, son significativamente de mayor tamaño y se pueden distinguir dos poblaciones con diferentes medidas. Los más grandes presentan además, una membrana diferente morfológicamente (15). Probablemente esta habilidad de *Cryptosporidium* de cambiar su tamaño y morfología represente una adaptación a las variadas condiciones que enfrenta en los diversos huéspedes que puede infectar.

La transcripción reversa del ARN celular total se usó para obtener una secuencia parcial de la subunidad pequeña del ARN de *Cryptosporidium* y no se consiguió una relación estrecha entre el parásito y otros miembros del phylum *Apicomplexa* (104). A la luz de estos nuevos descubrimientos, es probable que la taxonomía de este coccidio pueda cambiar en el futuro.

Ciclo Evolutivo

Las especies de *Cryptosporidium* tienen la particularidad de ser los únicos coccidios que poseen un ci-

clo monoxeno y no tener especificidad de huésped.

El ciclo de vida de *C. parvum*, de acuerdo a estudios de diferentes aislados del parásito de humanos y terneras en ratones de experimentación (47), es similar al de otros coccidios (Fig. 1). El ciclo incluye: multiplicación asexual (merogonia o esquizogonia), multiplicación sexual con formación de gametos (gametogonia), fertilización (formación del cigoto), formación del ooquiste, y desarrollo de esporozoítos (esporogonia).

Bajo condiciones naturales, la infección es iniciada por los esporozoítos, los cuales son liberados de los ooquistes esporulados en la luz del tracto intestinal o respiratorio de un huésped adecuado, el cual adquiere la infección usualmente de persona a persona por la vía feco-oral, o a través de agua contaminada.

Los esporozoítos y los subsecuentes estadios de desarrollo, residen en una vacuola parasitófora confinada al borde en cepillo de las células epiteliales, justo debajo de la membrana epitelial, de tal manera que el parásito es intracelular pero extracitoplasmático (66,151,213). Esto lo diferencia de otros coccidios, como *Eimeria* e *Isospora*, cuyos estadios de evolución se localizan en una vacuola parasitófora ubicada profundamente en la región perinuclear de las células parasitadas.

Una vez que los esporozoítos se establecen en las células epiteliales se diferencian en trofozoítos uninucleares. Luego ocurre un número predecible de divisiones nucleares, con producción de merozoítos, por

un proceso de multiplicación asexual, conocido como merogonia o esquizogonia. Se desarrollan dos tipos de merontes o esquizontes. El tipo I, que contiene 8 núcleos y origina igual número de merozoítos cuando está maduro; cada uno de éstos, después de su liberación en la luz intestinal, invade otra célula epitelial donde se desarrolla y puede dar origen a un meronte tipo II, el cual cuando madura, origina 4 merozoítos, o reciclar, y dar origen a otro meronte tipo I.

El ciclo asexual es seguido por una fase sexual, en la cual los merozoítos de la segunda generación provenientes de los merontes tipo II, que no reciclan, invaden nuevas células epiteliales y originan estadios sexuales femeninos (macrogamontos) o masculinos (microgamontos). Los primeros, sufren considerables transformaciones, incluyendo el desarrollo de cuerpos formadores de pared y la acumulación de alimentos de reserva, antes de ser considerados macrogametos maduros. Por un proceso que involucra división celular, los microgamontos dan origen a un número desconocido de microgametos, pero se cree que son de 14 a 16, los cuales fertilizan los macrogametos dando origen a la formación del cigoto. La transición de un estadio a otro no siempre es fácilmente discernible morfológicamente: por ejemplo, no es fácil diferenciar el macrogameto maduro del cigoto joven. Los cuerpos formadores de pared en los macrogametos se unen para formar una pared alrededor del cigoto y dan origen al ooquis-

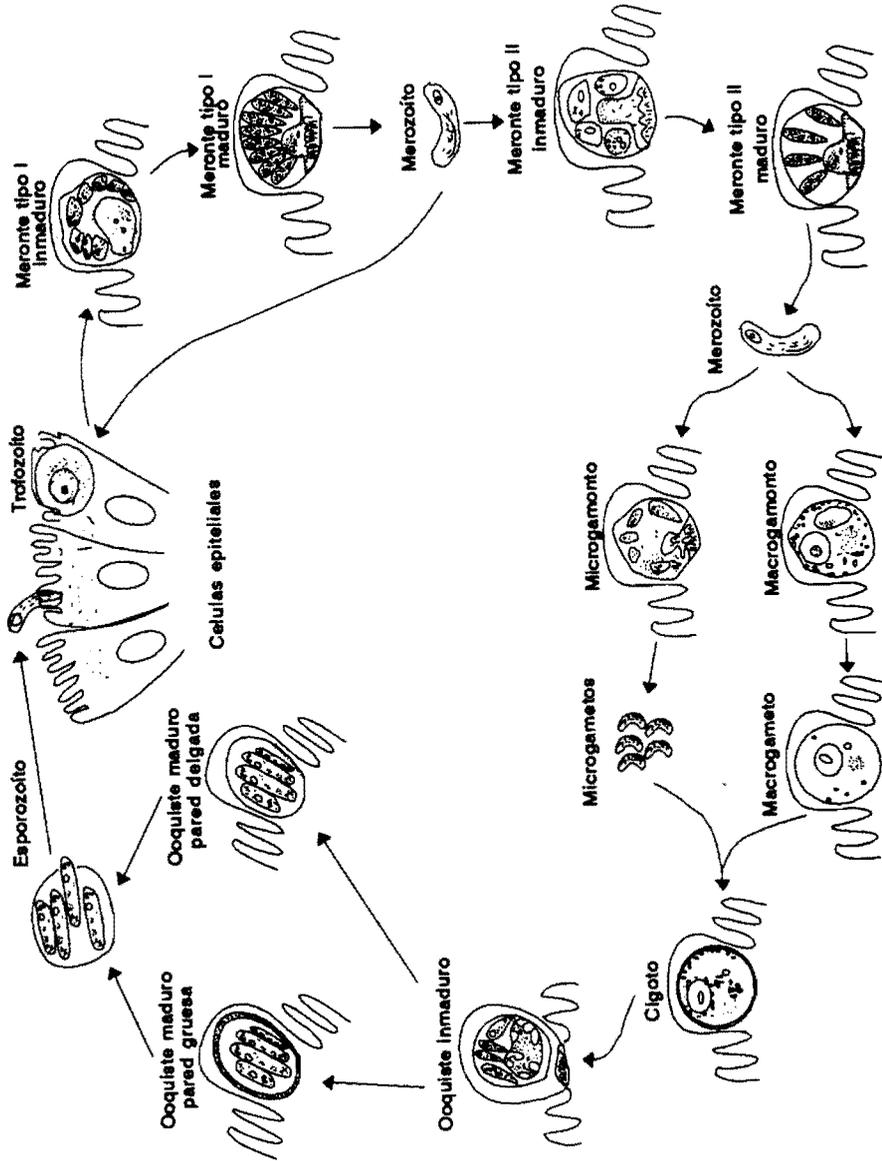


Fig. 1. Representación esquemática del ciclo de vida de *Cryptosporidium parvum*.

te, el cual esporula in situ, por lo que ya son infectantes cuando son liberados en las heces, a diferencia de los ooquistes de *Eimeria* e *Isospora*, que no lo son porque desarrollan el ciclo esporogónico en el medio ambiente, bajo condiciones adecuadas de oxígeno y temperatura.

Alrededor del 80% de los ooquistes forman una pared gruesa, dura y resistente con dos capas, y son liberados al medio ambiente donde diseminan la infección. Estudios experimentales realizados con ratones infectados, han demostrado que el 20% restante de los ooquistes desarrollan una pared delgada, con una sola unidad de membrana, la cual se rompe tan pronto los ooquistes salen de los enterocitos, quedando libres los cuatro esporozoítos, los cuales invaden nuevas células epiteliales y reinician un nuevo ciclo (9, 47). Sin embargo, estos quistes de pared fina, también pueden ser excretados con las heces. La existencia de este ciclo de autoinfección donde están involucrados estos ooquistes de pared delgada y los merontes tipo I, es lo que explicaría el desarrollo de infecciones severas en huéspedes expuestos a un pequeño número de ooquistes de pared gruesa, y las infecciones intensas y persistentes que se observan en pacientes inmunodeficientes, sin exposición exógena a repetición a los ooquistes de pared gruesa.

El período prepatente y patente o duración de la eliminación de los ooquistes, varía de acuerdo a la especie del huésped. En humanos, el primero varía de 5 a 21 días (4, 18,

174) y el segundo, en personas inmunocompetentes, de 2 a 3 semanas (105, 240) o más de 1 mes (145, 209).

Morfología

Los estudios morfológicos del parásito se han hecho con el microscopio de luz y a nivel ultraestructural. Como todos los estadios evolutivos del parásito residen dentro de una vacuola parasitófora, justo debajo de la membrana de las células epiteliales del huésped, al microscopio electrónico se observan cuatro membranas alrededor del parásito, de las cuales las dos más externas se originan del huésped (17, 170, 225). La zona de unión del parásito y la célula infectada u "organelo alimenticio" se observa como una zona electro-densa (102, 151).

En cobayos infectados experimentalmente con heces que contenían ooquistes, se detectaron trofozoítos a los 3 o 4 días después de la inoculación; la primera generación de esquizontes con 8 merozoítos, a los 7-9 días; la segunda generación de esquizontes con 4 merozoítos, a los 11-14 días; y los gamontos a los 13-15 días (224). Por otro lado, en infecciones producidas en ratones neonatos en el laboratorio todos los estadios del ciclo asexual de *C. parvum*, desde los esporozoítos hasta los merontes tipo II, se observaron de 12 a 72 horas después de la inoculación; el ciclo sexual, caracterizado por la aparición de micro y macrogamontos seguidos por el desarrollo de cigotos y ooquistes, se detectó 48 horas después (186).

El estadio de desarrollo más joven es el trofozoito, el cual se caracteriza por tener una forma redondeada u oval, de 2 a 2.5 μm en diámetro (100), un sólo núcleo prominente de 1 a 1.3 μm en diámetro, y un nucléolo grande (100, 226). No posee el complejo apical que caracteriza a los merozoítos y los esporozoítos.

Los merontes tipo I y tipo II, con excepción del número de merozoítos que producen, parecen ser morfológicamente similares; miden de 4 a 5 μm en diámetro y poseen el "organelo alimenticio" (100). Los merozoítos también parecen ser similares. Son falciformes con extremos redondeados, miden 5 x 1 μm , tienen un núcleo vesicular, retículo endoplasmático y diversas granulaciones; poseen el complejo apical y ribosomas (100), pero carecen de cuerpos refráctiles, mitocondrias, microporos y gránulos de polisacáridos (225).

Los microgamontos o estadios masculinos, parecen ser que tienen corta vida, porque rara vez se detectan. Al microscopio electrónico presentan un núcleo esférico y compacto en la periferia del citoplasma granular, ribosomas, retículo endoplasmático, y vacuolas unidas a la membrana (79, 189). Los microgametos tienen forma de cuña con el polo apical ensanchado, y miden 0.95 por 0.4 μm . Poseen complejo apical y mitocondrias (79).

Los macrogamontos o estadios femeninos, son casi esféricos, indistinguibles de los trofozoítos cuando son muy jóvenes. Miden de 3.2 a 5 μm en diámetro (100, 224); tienen

un núcleo grande, retículo endoplasmático, diversos tipos de granulaciones, como gránulos de polisacárido y gránulos densos del citoplasma; también poseen "organelo alimenticio". Los macrogametos maduros tienen, además, los cuerpos formadores de pared y alimentos de reserva (79).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son los más pequeños entre los coccidios. Al microscopio de luz, se observan como pequeños corpúsculos redondeados u ovals, de 4.5 por 5 μm de diámetro (Fig. 2). La pared es lisa e incolora, con un grosor de 50 nm aproximadamente. Al microscopio electrónico se observan dos capas electro-densas, separadas por un espacio delgado electro-transparente (174) y una sutura que comienza en un polo del ooquiste y se extiende, parcialmente, a lo largo de su circunferencia; algunas veces se ha observado al microscopio de luz como una línea poco definida (222). Esta sutura se disuelve durante el desenquistamiento (174). Los ooquistes esporulados contienen 4 esporozoítos, un glóbulo redondo u oval unido a la membrana, y un residuo de pequeñas granulaciones. Los esporozoítos tienen forma semilunar, con el extremo anterior ligeramente puntiagudo y el posterior redondeado. Poseen un núcleo prominente en el tercio posterior del cuerpo. Se disponen paralelos entre sí, dentro del ooquiste, con el extremo anterior adyacente al polo donde nace la sutura. Miden 4.9 por 1.2 μm (222). Aún cuando algunos autores han reportado es-

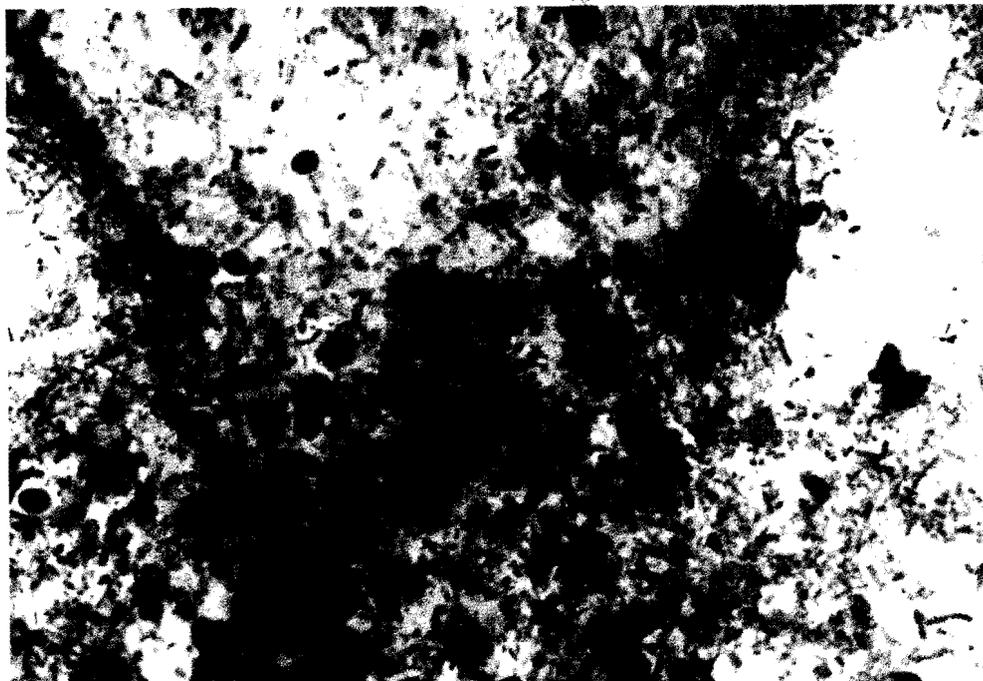


Fig. 2. Ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, teñidos con la técnica modificada de Ziehl-Neelsen con carból-fucsina, en las heces de un paciente con SIDA (X1000).

poroquistes en los ooquistes de este parásito, hay el consenso de que no existen en las especies de *Cryptosporidium* (119), al igual que otros rasgos morfológicos que caracterizan a los coccidios, como los granúlos polares y el micropilo (66).

Distribución Geográfica y Prevalencia

El conocimiento de la distribución mundial y la prevalencia de la infección humana por *Cryptosporidium* en la población general actualmente es limitado, por diversos factores. La mayoría de los estudios se han basado en poblaciones selectivas, tales como pacientes con síntomas gastrointestinales o pacientes

que han suministrado especímenes fecales a algún laboratorio para diagnóstico coprológico; estos estudios probablemente tiendan a sobreestimar la prevalencia del coccidio en la población general. Por otro lado, muchas investigaciones se han hecho con métodos rutinarios de examen fecal y los datos obtenidos muchas veces no son comparables porque los métodos de muestreo y de detección del coccidio son diferentes. Sin embargo, de acuerdo a los estudios realizados, en especial una revisión de 36 encuestas (66) y otra de más de 100, publicadas entre 1983 y 1990 (51), se pueden sacar varias conclusiones, que se exponen a continuación.

La infección humana por *C. parvum* es cosmopolita. Existe en todos los continentes, en países industrializados y tercermundistas, y en áreas urbanas y rurales (51, 66, 102, 151). Es más frecuente en países en vías de desarrollo (51, 66), lo cual podría explicarse por las malas condiciones sanitarias y de saneamiento ambiental, hacinamiento frecuente, y tratamiento inadecuado del agua para el consumo humano, lo cual facilitaría la transmisión del parásito. En países industrializados parece ser que la infección humana es más frecuente en el medio rural, mientras que en los subdesarrollados es más común en el medio urbano (51, 66) que tiene una mayor concentración demográfica. Esto sugiere que la transmisión feco-oral de persona a persona es un mecanismo importante, sobre todo, en estos países.

En estudios realizados antes de 1986 (66), las tasas de infección, en pacientes con diarrea, excluyendo los porcentajes de epidemias, fueron de 1 a 2% en Europa, 0.6 a 4.3% en Norte América y de 3 a 20% en América Central y del Sur, Australia, Asia y Africa. En grupos controles la prevalencia fue de 2.8%. Antes de 1985, la prevalencia total en personas con diarrea fue de 2.5% en países industrializados y de 7.2% en países en vías de desarrollo (152). Entre 1983 y 1990 las tasas de infección, excluyendo las epidemias, fueron de 1 a 3% en Estados Unidos y Europa y la prevalencia media fue alrededor de 5% en Asia y 10% en Africa (51). Estudios previos de po-

blaciones pediátricas de países en vías de desarrollo han mostrado tasas de infección de 2 - 31.5% en niños con diarrea (219); más recientemente se han observado tasas de infección altas de 22% en Corea (58), 25.6% en Africa del Sur (78), 20.4% en Guatemala (20), 19.3% en Chile (139), 22% en Nueva Zelandia (233), y 29.6% en México (142). De acuerdo a Current (51) se puede predecir de 250 a 500 millones de infecciones por *Cryptosporidium* en personas que viven en América Latina, Asia y Africa, en base a los datos de prevalencia que ellos analizaron durante los años mencionados y al estimado de que en estas áreas ocurren alrededor de 5 billones de episodios de diarrea al año, de los cuales 5 a 10 millones son fatales (227).

La prevalencia es mayor en niños que en adultos y entre los primeros es más frecuente en menores de 5 años, sobre todo en infantes (51,66,130,178,188,200). Sin embargo, en un estudio se observó mayor prevalencia en niños de más de 5 años (20). No se han notado diferencias en la distribución de la infección con respecto al sexo (51, 66, 102, 151).

En algunos estudios se ha observado una variación de la prevalencia de la infección de acuerdo a la época del año, siendo más frecuente en los meses calurosos y lluviosos (102, 106, 129, 130, 143, 188, 235).

En Venezuela hay poca información en relación a la prevalencia de esta infección, aunque se han observado tasas de infección de 2.5 a 10%

en niños con diarrea aguda (63, 165, 166) y de 3.5% en niños sanos (160). Nosotros, en un estudio realizado en el barrio San Luis, comunidad suburbana de Maracaibo, conseguimos un porcentaje de infección de 9.9%; la vía de transmisión de persona a persona, al parecer, juega un papel muy importante en este barrio (53). En un estudio de ocho pacientes inmunocomprometidos con diarrea se identificó el parásito en todos ellos (221).

En muchos estudios, *C. parvum* ha sido uno de los tres o cuatro microorganismos patógenos más frecuente (22, 84, 98, 173, 178, 200), y en la mayoría de las áreas del mundo está asociado con diarrea, observándose en pocas o ninguna de las personas usadas como controles (51, 66). Sin embargo, estudios recientes han demostrado un alto porcentaje de infecciones asintomáticas en ovejas (238), y en Estados Unidos (180) y en países subdesarrollados tales como la India, Liberia, Tailandia, Guatemala y México se ha observado un número relativamente alto de portadores asintomáticos en humanos (20, 95, 103, 130). Nuestros estudios en Maracaibo, Venezuela son consistentes con estos resultados (53). Esto podría explicarse porque en estas áreas la población está expuesta al parásito con frecuencia, debido a las bajas condiciones socioeconómicas, situación que podría afectar la respuesta clínica a la infección, causando un alto porcentaje de pacientes asintomáticos por inmunidad adquirida. En los países subdesa-

rollados, no es infrecuente observar personas que aún cuando tengan infecciones con parásitos potencialmente patógenos no presentan síntomas gastrointestinales (178), situación rara en países industrializados.

Prevalencia en Pacientes con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. No está bien documentada la prevalencia de criptosporidiosis en estos pacientes. Sin embargo, es uno de los patógenos oportunistas más frecuentes en pacientes con SIDA. En Estados Unidos se han reportado de los Centros de Control de Enfermedad de Atlanta, tasas de infección de 2 a 5% en estos pacientes (51). Estudios más recientes sugieren que estos porcentajes reflejan una subestimación (187) ya que en pacientes con SIDA y diarrea, el 15% de pacientes estudiados en el Instituto Nacional de Higiene en Bethesda, Maryland (116), y el 16% de los evaluados en el Hospital Johns Hopkins en Baltimore, Maryland, tenían la infección (192). En Francia se han conseguido tasas de infección de 21% (179) y 37.3% (41); en Inglaterra, 11 % (38); en Italia, 33.3% (64); en Haití, 41% (126); en Africa, 13-46% (59, 71, 92, 107); en México, 16.7% en niños con SIDA (11); en Brazil, 12-19.1% (62, 185). En Venezuela, en el Estado Zulia, nosotros conseguimos en pacientes con SIDA y diarrea uno de los porcentajes de infección más altos (41%), observados hasta ahora (52). Sin embargo, como no usamos controles, no sabemos si ese alto porcentaje de infección está verdaderamente asociado

al SIDA o simplemente refleja un alto riesgo, a la exposición al coccidio, de la población general de la región.

Seroprevalencia. Los pocos estudios seroepidemiológicos realizados con la prueba inmunoenzimática han demostrado una alta prevalencia de anticuerpos IgG contra el parásito, tanto en países industrializados como en países tercermundistas. En Estados Unidos y Europa se han observado tasas de infección de 25 a 35% (33, 88, 113), mientras que en poblaciones de Tailandia (103), China (238), Perú y Venezuela (217) se han encontrado porcentajes muy altos de 91%, 42%, 62% y 64% respectivamente. Estos resultados sugieren que la infección, alguna vez en la vida es común y apoya el concepto de que es más frecuente en países en vías en desarrollo.

PATOGENICIDAD

El mecanismo por el cual *C. parvum* causa diarrea se desconoce. Según algunos autores, el daño intestinal está relacionado a la intensidad de la infección (77). La arquitectura de las vellosidades de la mucosa intestinal usualmente permanece normal, pero pueden ocurrir alteraciones histológicas no específicas. Se ha observado atrofia leve o moderada de las vellosidades, aumento del tamaño de las criptas y un infiltrado inflamatorio de la lámina propia de la submucosa, con polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas. En infecciones severas pueden observarse anomalías

morfológicas duodenales intensas, como el aplastamiento de las vellosidades (2). En animales, especialmente en neonatos, las alteraciones parecen ser similares, pero más severas (66, 210).

Se ha observado disminución de la lactasa y la fosfatasa alcalina (74), y absorción reducida de glucosa y sodio (90) y de vitamina A (96) en animales de experimentación, y en humanos alteración de la absorción indicada por cambio significativo de grasas en las heces, y disminución de la excreción de D-xilosa (85).

La diarrea podría ser debida a la mala absorción por la atrofia de las vellosidades, 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 (191), especialmente en pacientes con SIDA. Estudios realizados en terneras infectadas con *C. parvum* y libres de otros gérmenes, sugieren que la digestión alterada en el intestino delgado, junto con la mala absorción en éste y en el intestino grueso, son factores importantes en la aparición de diarrea en estos animales (90). En modelos de cerdos neonatos también se ha observado mala absorción, que se ha atribuido al daño de las vellosidades producido por el coccidio (9). La afectación de la absorción y la digestión podría producir una superpoblación de la microflora intestinal, cambio en la presión osmótica de la pared intestinal y un influjo de fluidos hacia la luz intestinal (51).

La diarrea acuosa voluminosa que se observa, especialmente en pacientes inmunodeficientes, su persistencia después de eliminar la ingestión oral y la infrecuente presencia de eritrocitos y leucocitos (51, 66, 232), hablan a favor de la posibilidad de un mecanismo secretor mediado por una toxina. Pero, no está bien documentada la presencia de tal toxina. En un estudio no se demostraron alteraciones citológicas en líneas celulares sensibles a toxinas (32); sin embargo, en cultivos de células de riñón infectadas por el parásito, se observaron cambios morfológicos de las células parasitadas, tales como, alteración del citosplasma con marcada vacuolización y aparición de estructuras de membrana cercanas a los parásitos en desarrollo (182), que sugieren la liberación de factores citopatogénicos del coccidio.

Hasta el presente la patogénesis de la criptosporidiosis en humanos no está dilucidada. Se necesitan más estudios para saber los mecanismos por los cuales el coccidio altera la función intestinal. No se sabe si la interferencia de la absorción del intestino delgado es causada por daño mecánico del borde en cepillo de los enterocitos, si es por la liberación de metabolitos o exotoxinas del parásito, o por una reacción inmunológica (213).

INMUNIDAD

El conocimiento actual acerca de los mecanismos involucrados en la inmunidad contra *C. parvum* y los

antígenos de éste implicados, es muy limitado. Diversos factores podrían afectar la colonización y desarrollo del coccidio en la mucosa intestinal. Las evidencias existentes sugieren que en algunas especies animales, la infección primaria origina una inmunidad adquirida, la cual explicaría la diferencia del curso de la infección en seres saludables o inmunodeficientes. En poblaciones expuestas con frecuencia al parásito, parece ser que se desarrolla inmunidad protectora contra la enfermedad, observándose con frecuencia infecciones asintomáticas (20, 95, 103, 130, 142).

En humanos, la susceptibilidad a la infección primaria, al parecer, no está influenciada por la edad o el estado inmunológico, ya que la infección sintomática intestinal y respiratoria se ha observado en niños y adultos inmunocompetentes e inmunodeficientes (6, 24, 51, 66, 217). Sin embargo, el estado inmunológico es de primordial importancia en la duración, severidad y desenlace de la enfermedad; en personas inmunocompetentes ocurre una diarrea autolimitada de corta duración, que desaparece espontáneamente, mientras que la mayoría de los pacientes inmunodeficientes desarrolla una diarrea crónica persistente que puede ser fatal (51, 66, 102, 151). Estos hallazgos sugieren el desarrollo de una inmunidad adquirida en los inmunocompetentes, que ocasiona la eliminación de la infección del intestino.

Aunque los hallazgos experimentales y clínicos sugieren que la

inmunidad humoral y celular están involucrados en la eliminación de la infección, la segunda parece ser la más importante. En países en vías de desarrollo, el sarampión y la desnutrición, que son causas de deficiencia de inmunidad celular, pero con una respuesta de anticuerpos específicos, han sido señalados como factores predisponentes a la infección y a un cuadro clínico más severo. Los pacientes con terapia inmunosupresora pueden desarrollar una enfermedad de larga duración; pero al discontinuar el tratamiento, desaparece la infección en muchos pacientes (51, 141, 198). Las infecciones persistentes y severas que se observan en pacientes con SIDA y en roedores atímicos de experimentación (89) sugieren que los linfocitos inductores CD4+ son indispensables para controlar la infección y proteger contra la reinfección. 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.

Se han observado infecciones por *Cryptosporidium* en siete pacientes con hipogammaglobulinemia (102), y aunque por lo menos cuatro de ellos tenían las pruebas funcionales de células T normales, parece ser que la sola presencia de anticuerpos sistemáticos específicos, no ejerce una función protectora contra la infección, ya que la mayoría de los pacientes infectados, inmunocompetentes o inmunodeficientes, parece tener anticuerpos contra el cocci-

dio (102, 218). En el suero de los pacientes y animales infectados se han demostrado anticuerpos específicos IgG, IgM, IgA e IgE (33, 117, 136, 208, 215, 217, 240), cuyo papel en la inmunidad protectora es cuestionable. En uno de estos estudios se determinó el nivel de anticuerpos IgG, IgM e IgA en suero, fluido duodenal y heces de un grupo de niños, y se concluyó que en la respuesta inmune de estos pacientes probablemente estén involucrados los anticuerpos, la inmunidad celular y un efecto citotóxico de mecanismo desconocido. El hecho de que *Cryptosporidium* es un parásito confinado a la superficie de las células epiteliales del huésped y de que, a pesar de numerosos estudios, no se ha podido demostrar un papel protector de los anticuerpos séricos contra otras especies de coccidios estrechamente relacionados, sugiere que la inmunidad celular y los anticuerpos secretados son los responsables de la eliminación de la infección de la mucosa intestinal y de la resistencia a la reinfección de las personas inmunocompetentes. Se han demostrado anticuerpos en especímenes fecales de niños y de corderos infectados experimentalmente y epitopes sensibles a la neutralización con anticuerpos específicos en la superficie de los esporozoítos de *C. parvum* (51, 94, 117). Sin embargo, un estudio reciente indica que la respuesta inmune de la mucosa intestinal contra el parásito no es protectora en pacientes con SIDA (110). Es necesario realizar más estudios para determinar el papel pro-

tector que ejercen estos anticuerpos contra la infección.

Algunos estudios realizados en países en vías de desarrollo, tales como, Costa Rica, Ecuador, Liberia, Guatemala y Haití (51, 66, 129), demuestran una menor prevalencia del parásito en niños alimentados exclusivamente con leche materna. Mata propuso que una inmunidad pasiva lactogénica podría jugar un papel en controlar las infecciones (129). Sin embargo, de acuerdo a estos estudios no se puede saber con certeza si la menor prevalencia de la infección en estos niños se debe a una inmunidad pasiva o a una menor exposición a la infección. Otros estudios en humanos, no han conseguido tales diferencias, y estudios experimentales realizados en animales, dan resultados contradictorios. El calostro o la leche de las vacas expuestas naturalmente a la infección no parecen proteger a las terneras y humanos de la infección; la mayoría de las terneras sufre de criptosporidiosis mientras se está amamantando, a pesar de que la mayoría de las vacas tiene anticuerpos contra el parásito en el calostro (51). Un estudio realizado en Perú, demostró que la leche materna, con anticuerpos específicos demostrables, no ejerció un papel protector contra la infección en niños recién nacidos (198). Estos hallazgos son consistentes con el concepto de que la exposición natural al parásito no produce una inmunidad lactogénica significativa. Otros estudios han demostrado que el calostro, obtenido de vacas hiperinmunizadas con an-

tígenos de esporozoítos u ooquistes de *C. parvum*, protege a humanos y ratones de la criptosporidiosis (51,67,68,214); pero hacen falta muchas investigaciones para aislar y caracterizar los factores responsables de esta inmunidad.

Hallazgos recientes indican que el *y*-interferón juega un papel protector contra la criptosporidiosis; ya que la resistencia de ratones inmunodeficientes a la infección fue dependiente de esta proteína (55).

EPIDEMIOLOGIA

Forma Infectante

La transmisión de *C. parvum* se efectúa por la ingestión de ooquistes viables, los cuales son completamente esporulados e infectantes en el momento de ser eliminados en las heces (4, 46, 47). Son muy resistentes al medio ambiente, pueden sobrevivir durante meses en ambiente húmedo y frío; en solución acuosa de dicromato de potasio al 2.5% (p/vol) a 4°C, permanecen viables durante 3 a 4 meses y algunos continúan infectantes para ratones lactantes y cultivos celulares durante más de un año (46); escapan a la filtración y son muy resistentes a la mayoría de los desinfectantes comunes, incluyendo el hipoclorito de sodio al 3%, iodoforo al 4%, cloruro de benzalconio al 10% (5, 28, 86, 162) y ácido cresílico al 5% (240).

La exposición, durante media hora, al amonio a una concentración de 50% o más, al formol al 10% o más, al secado por congelación, o a temperatura mayor de 60°C o menor

de 20°C, puede eliminar la infectividad de los ooquistes (3, 199, 213).

Parece ser que el tratamiento rutinario del agua con cloro u ozono para controlar la mayoría de los organismos transmitidos por el agua, tiene poco o ningún efecto sobre la viabilidad de los ooquistes. La exposición a 80 ppm de cloro, pH 7.0, a 25°C durante 2 horas, los mata; es decir, que la concentración necesaria para tal fin es 9.600 veces mayor que la requerida para aniquilar los ooquistes de *Giardia lamblia* (114). La infectividad de los ooquistes de *C. parvum* es eliminada por el ozono a una concentración de 1 ppm durante 10 minutos (114); sin embargo, la efectividad de éste no puede mantenerse porque es muy inestable. Estos hallazgos indican que los ooquistes son 30 y 14 veces más resistentes al ozono y al cloro, respectivamente, que los quistes de *G. lamblia* expuestos a las mismas condiciones. Un estudio sugiere que mientras que la clorinación del agua de consumo no es efectiva para erradicar el coccidio, el ozono, el dióxido de cloro y la filtración de la tierra, son efectivos y los dos últimos han sido usados comercialmente (54, 164). Recientemente se observó que ratones inoculados con agua enriquecida con ooquistes de *C. parvum* y expuesta a la acción de la luz ultravioleta (15.000 mV/seg), durante por lo menos 2 horas y 30 minutos, no adquirieron la infección, lo cual sugiere que los ooquistes perdieron la viabilidad (122).

Fuentes y Mecanismos de Transmisión

La infección humana resulta de la ingestión de un pequeño número de ooquistes; un autor calculó que la dosis infectante es menor de mil ooquistes (84) y en primates, puede ser tan baja como 10 (240). *C. parvum* es transmitido por diversos mecanismos.

Transmisión Zoonótica. A comienzos de la década de los 80 se demostró que el parásito se asocia, con frecuencia, a diarrea en animales, especialmente en terneras y que éstas son una fuente de infección humana (1, 4, 45, 66, 174, 205). Los roedores; las mascotas, como perros y gatos (45, 66); y los animales de granja, como vacas, caballos y ovejas pueden también ser una importante fuente de infección (51, 66). Se han reportado más de 40 especies de mamíferos que albergan el parásito (50). Sin embargo, el reservorio más relevante para la infección humana, no está bien definido. La transmisión del coccidio de animales de laboratorio se ha involucrado en varios casos de infección humana (4, 18, 44, 45, 174). Esta falta de especificidad de huésped, sugiere que la transmisión zoonótica puede ser importante.

Los primeros dos casos de infección humana reportados en 1976 tenían contacto con animales (137, 154). En Estados Unidos y Bangladesh se han observado tasas altas de infección en pacientes sintomáticos y familiares que tenían contacto con terneras (34, 172). Estos hallazgos sugieren que la transmisión

zoonótica es una importante fuente de infección humana, por lo menos en el medio rural, donde la exposición a la contaminación con heces de animales reservorios probablemente sea frecuente. Sin embargo, los resultados recientes de Awad-el-Kariem y cols. no proveen evidencia de que la criptosporidiosis en humanos sea una zoonosis (12); ellos, aún cuando no descartan esa posibilidad, la cuestionan. La asunción de estos autores, parece ser prematura.

Transmisión de Persona a Persona. Las evidencias actuales indican que este mecanismo de transmisión es común (16, 27, 66, 138, 156, 228). Una infección accidental de laboratorio demostró que un aislado humano de *C. parvum* podía ser transmitido de una persona a otra (18). Este mecanismo explicaría la infección nosocomial (14, 113, 127, 128), la de varios miembros de una misma familia (37, 101, 236), y la de niños que asisten a hogares de cuidado diario, donde se han observado epidemias con frecuencia (51, 66, 102, 151, 200). Las personas con excreción persistente de ooquistes después de la desaparición de los síntomas, o los portadores asintomáticos, podrían ser importantes fuentes de infección (95, 97, 130, 173, 200). La importancia epidemiológica de los últimos no se conoce. Aún cuando pocos estudios reportan porcentajes relativamente altos de portadores (20, 53, 103, 130, 180), es posible que exista una subestimación de éstos debido a que la mayoría de los estudios se basan en

el examen de un solo espécimen fecal y los ooquistes se eliminan en forma intermitente. Además, las técnicas coprológicas de diagnóstico del coccidio, comúnmente usadas, no son muy sensibles para la detección de portadores sanos (230). Es posible que *C. parvum*, al igual que otros protozoos, como *G. lamblia*, cause infecciones asintomáticas que actúen como importantes reservorios del organismo.

En algunos estudios, en pacientes inmunodeficientes, se ha reportado que la infección es más frecuente en pacientes homosexuales con SIDA (167, 171), lo cual sugiere la transmisión directa de persona a persona. Nosotros no observamos este hallazgo en pacientes del Estado Zulia, Venezuela (52).

Transmisión por Agua. La transmisión de *C. parvum* a través del agua, ha sido bien documentada en la última década. De hecho se han registrado varias epidemias asociadas a la contaminación del agua en Estados Unidos, Inglaterra y Escocia (51, 66, 148). En Estados Unidos, de 1991 a 1992, se han observado 34 epidemias procedentes de 17 estados, asociados con el agua de consumo. De las 11 epidemias donde se investigó el agente etiológico, se demostró que 7 eran debidas a *Cryptosporidium* o a *G. lamblia*; una epidemia de criptosporidiosis se asoció con agua de superficie clorinada y filtrada. De 11 epidemias de gastroenteritis asociadas a la natación, 6 fueron causadas por *C. parvum* o *G. lamblia* y tres de éstas estaban asociadas con agua

de piscina filtrada y clorinada (148). Estos hallazgos indican que las epidemias de criptosporidiosis, asociadas al consumo de agua, cada vez se reportan con mayor frecuencia y en diversas áreas, aún en países industrializados, lo cual sugiere que en éstos la tecnología del tratamiento del agua de consumo no siempre es adecuada. En países en vías de desarrollo donde el tratamiento es inadecuado las epidemias deben ser muy frecuentes. Hoy en día se reconoce la criptosporidiosis como una infección transmitida por el agua, y como causa, a través de este medio, de diarrea en viajeros visitantes de países en vías de desarrollo (51, 197).

Transmisión por Alimentos. La transmisión a través de alimentos contaminados y por el consumo de leche inadecuadamente pasteurizada no está documentada, pero es probable.

Transmisión por Fómites. Los fómites podrían también jugar un papel en la transmisión del parásito sobre todo en hogares de cuidado diario (102).

Transmisión Aérea. El hallazgo del coccidio en el tracto respiratorio y en el esputo de pacientes, especialmente con SIDA (24, 51, 66), el contagio de un investigador a través de las secreciones nasales de un conejo (18), y la colonización del epitelio del tracto respiratorio de animales por especies de *Cryptosporidium* (51, 66, 102), podría explicarse por la transmisión del parásito por esta vía.

MANIFESTACIONES CLINICAS

El período de incubación, al parecer, es corto. Generalmente fluctúa de 1 a 21 días (66, 102). Un paciente desarrolló gastroenteritis 5 días después de estar en contacto con dos terneras infectadas (4). Las terneras infectadas naturalmente, desarrollan la enfermedad al quinto día de vida (1) y en infecciones inducidas experimentalmente en animales recién nacidos, el período de incubación ha variado de 2 a 10 días (1, 146, 210, 211, 212). Cuando los animales tienen más edad, el período de incubación puede ser más largo (1).

Los síntomas, evolución y pronóstico dependen del estado inmunológico del paciente. En personas inmunocompetentes, el cuadro clínico es de aparición brusca y autolimitado, con duración de 3 a 12 días, rara vez más de 2 semanas (4, 35, 51, 66, 137, 154, 174). El síntoma más común es la diarrea, que se caracteriza por ser acuosa, y profusa; puede contener moco, pero raramente leucocitos o sangre y a menudo se acompaña de pérdida de peso. Existe el consenso de que la diarrea no es inflamatoria. Otros síntomas menos frecuentes incluyen náuseas, vómitos, cólicos abdominales y fiebre poco elevada. Se han observado, ocasionalmente, síntomas inespecíficos, tales como, malestar, debilidad, cefalea, anorexia y dolores musculares (51, 66, 151). No se han documentado infecciones recurrentes en estos pacientes (66).

En personas inmunodeficientes, los síntomas tienden a ser crónicos. En pacientes con desnutrición la duración de la diarrea es mayor y la posibilidad de desenlace fatal aumenta (22, 51, 173, 184, 234). En niños con desnutrición severa se ha observado una diarrea de mucha mayor duración en aquellos con criptosporidiosis. Los niños con diarrea y la infección son más desnutridos que aquellos con diarrea sin la infección (184, 240). Se ha comunicado poco desarrollo en niños como consecuencia o como factor contribuyente de la criptosporidiosis persistente (83, 84, 101, 115, 201).

Los pacientes con inmunodeficiencias reversibles generalmente se recuperan cuando la causa de la inmunodepresión se elimina; tal es el caso de aquellos que reciben tratamiento inmunosupresor por trasplantes o cáncer (37, 51, 137, 141, 181, 198); con infecciones virales asociadas, como sarampión, citomegalovirus, o varicela (21, 51, 61, 83, 101, 177); y desnutridos, especialmente niños.

En pacientes con SIDA, la criptosporidiosis se considera la infección oportunista entérica de más significación; numerosos casos se han registrado en la literatura (51, 66, 102, 151). En ellos, la severidad del cuadro clínico depende del grado de afectación de los linfocitos inductores CD4+. La diarrea puede ser severa, crónica, persistente, con pérdida de fluidos a menudo excesiva y se han observado hasta 17 litros de diarrea acuosa por día (35), lo

cual resulta en deshidratación, desbalance hidro-electrolítico, desnutrición y pérdida excesiva de peso. Puede producir el desenlace fatal.

En pacientes inmunodeficientes, especialmente aquellos con SIDA, se han descrito infecciones por *C. parvum* que afectan todo el tracto gastrointestinal. Existen varios casos de infección del aparato respiratorio, con o sin diarrea concomitante (24, 51, 66, 83). En el 76% de los casos, la infección respiratoria es seguida por diarrea, detectándose el parásito en las heces, en el 80% de los casos; las evidencias radiológicas no son específicas y la causa de muerte es por fallo respiratorio (24). En niños en la fase aguda del sarampión, se ha asociado la criptosporidiosis intestinal severa con infección respiratoria, la cual se ha atribuido al parásito (22, 61, 177). Es posible que éste ocasione los trastornos respiratorios que a menudo acompañan a los síntomas gastrointestinales en niños desnutridos. Los síntomas observados son tos, fiebre, disnea, respiración ruidosa, inflamación de las mucosas con formación de un exudado pseudomembranoso fibrinoso y ronquera. Se ha observado bronquitis, bronquiolitis y traqueitis, pero generalmente no hay disfunción pulmonar severa (24). Los ooquistes se han observado en el esputo, aspirados de tráquea, en el fluido del lavado broncoalveolar, en biopsias y en el exudado alveolar obtenido de biopsia pulmonar. En la mayoría de estos casos *Cryptosporidium* ha estado asociado con otros agentes patóge-

nos, tales como, *Pneumocystis carinii*, *Citomegalovirus* o *Mycobacterium sp.*, por lo que la relación causa-efecto entre el parásito y los síntomas no está bien documentada. Sin embargo, por lo menos en cuatro casos, fue el único agente patógeno identificado y ha sido documentado como causa de laringotraqueítis aguda en un infante (83).

Se han registrado colecistitis y, menos frecuentemente, colangitis esclerosante asociadas a *Cryptosporidium* en algunos pacientes con SIDA (21, 81, 82, 93). Los síntomas asociados son dolor abdominal en el cuadrante superior derecho, fiebre, náuseas, vómitos, diarrea, ictericia, elevación de la fosfatasa alcalina y la bilirrubina. La vesícula y las vías biliares están usualmente aumentadas de tamaño, con paredes gruesas y estrechamiento irregular de los ductos (25, 51, 66). Estas anomalías colangiográficas recuerdan el modelo encontrado en la colangitis esclerosante idiopática. El diagnóstico generalmente se ha hecho por examen histológico del epitelio de la vesícula biliar, o por la presencia de ooquistes en la bilis, los cuales no siempre se observan en las heces, sobre todo si hay estenosis del conducto biliar común. En biopsias hepáticas de pacientes con colecistitis, el parásito también se ha observado en el epitelio de los conductos biliares y en uno de estos casos se observó hepatitis con elevación de las enzimas hepáticas (81).

Se han publicado varios casos de criptosporidiosis asociada con pancreatitis sintomática (81, 87, 93,

108). Uno de éstos se trataba de una adolescente que presentaba dolor abdominal severo, páncreas aumentado de tamaño, ascitis y amilasa sérica muy elevada, sin otra etiología asociada. Estos síntomas aparecieron una semana después de un diagnóstico de enteritis por *Cryptosporidium* y desaparecieron espontáneamente después de seis semanas (87).

Algunos autores han sugerido la diseminación hematógena del parásito para explicar la infección extraintestinal, pero esta asunción no está bien documentada (240).

Con excepción de la observación del parásito en biopsias, heces u otros especímenes, no existen hallazgos característicos de laboratorio. Se han observado, en algunos casos, eosinofilia (66), pruebas anormales de mala absorción (66, 74, 85, 90) y hallazgos radiográficos no específicos, tales como, pliegues de la mucosa intestinal prominentes, niveles hidroaéreos, asas intestinales distendidas y desórdenes de la motilidad (14, 22, 26, 125).

DIAGNOSTICO

Diagnóstico Clínico

El diagnóstico diferencial de la criptosporidiosis incluye otras causas de diarrea acuosa, tales como, *G. lamblia*, *Isospora belli*, *Mycrosporidium*, rotavirus y otros virus y *Escherichia coli* enterotoxigénica. Sin embargo, es difícil el diagnóstico clínico de la enfermedad diarreica producida por *C. parvum* porque existen pocos rasgos que la diferencien

de la causada por otros enteropatógenos. Las infecciones por *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, y *Campylobacter jejuni*, a diferencia de *C. parvum*, usualmente causan una diarrea inflamatoria con leucocitos y sangre en las heces, tenesmo y fiebre más elevada (240).

Diagnóstico de Laboratorio

Diagnóstico Parasitológico. El diagnóstico de la criptosporidiosis se hace por la detección de los ooquistes en las heces, y ocasionalmente por la observación de éstos u otros estadios evolutivos en secreciones y biopsia intestinal.

Anteriormente la identificación de *Cryptosporidium* en humanos se hacía mediante el examen de biopsias de intestino o tejidos obtenidos en necropsias en el microscopio de luz o electrónico; éste último a menudo fue necesario para confirmar el diagnóstico (66, 137, 154, 195). Los métodos especiales de coloración no aportaron muchas ventajas en el diagnóstico histológico del parásito en relación a la coloración con hematoxilina y eosina. Al examen histológico se observan diferentes estadios de desarrollo del parásito, que varían en tamaño de 2 a 5 μm en diámetro, en la región microvellosa del epitelio intestinal, y que hacen pequeñas protuberancias en la luz intestinal (51, 66, 102, 152).

En 1978, se hizo por primera vez el diagnóstico de la infección en terneras (168), y en humanos en 1980 (207), mediante la identificación de los ooquistes en frotis fecales teñidos con la coloración de Giemsa. Así

se obviaron los problemas que involucra el diagnóstico histológico, como son la invasividad, el alto costo, el largo tiempo que se consume, los falsos negativos, si la biopsia se toma de un área intestinal no afectada por la infección, y la necesidad de procesar rápidamente la muestra para evitar la autólisis o la pérdida del organismo de la superficie del epitelio (124). Sin embargo, el examen de especímenes de biopsias es valioso para estudiar la histopatología asociada a la infección.

Existen numerosas técnicas para teñir o concentrar los ooquistes en especímenes fecales, esputo o bilis (13, 43, 66, 73, 76), pero no existe consenso acerca de cual de ellas es la mejor. Para el diagnóstico, las heces u otra muestra de fluidos corporales pueden ser suministradas frescas o preservadas en formol al 10% o en formalina-ácido acético-acetato de sodio. Las muestras frescas o preservadas pueden ser examinadas por diversos métodos de concentración o tinción que ayudan a la identificación de los ooquistes (51, 66, 102, 151). El número de éstos en las heces fluctúa, por lo que se recomienda examinar por lo menos tres especímenes. Cuando las heces son formadas, es recomendable examinar múltiples muestras porque usualmente contienen pocos ooquistes (230).

Los métodos de concentración son importantes, sobre todo en pacientes asintomáticos con escaso número de ooquistes (98), y en estudios epidemiológicos, debido a las fluctuaciones en el número de orga-

nismos (73, 229) y al hecho de que la sensibilidad de las técnicas de diagnóstico depende de la consistencia de las heces; sólo las diarreicas usualmente contienen suficientes ooquistes para ser fácilmente identificados (230).

Técnicas de Concentración. Estas incluyen la sedimentación con formalina éter y formalina-acetato de etilo y la flotación en solución de sucrosa de Sheather, sulfato de zinc con una gravedad específica de 1.18 o 1.20, y solución saturada de cloruro de sodio con una gravedad específica de 1.27 (51, 66). Algunos autores no han conseguido diferencias entre cuatro de estas técnicas (2) y otros han observado que la técnica de formalina-éter y la flotación en cloruro de sodio son las más sensibles (2, 31, 73). Algunos consideran que la solución de azúcar de Sheather es mejor que la técnica de formalina-éter y la flotación en cloruro de sodio (60, 135, 239). Con dicha técnica se pueden identificar de inmediato los ooquistes, que se tiñen de rosado; pero después de 15 minutos se empiezan a colapsar y pierden su forma esférica (124, 135, 239). Un estudio considera una modificación de este método como el más útil para el diagnóstico (144). Las otras técnicas de concentración requieren coloración para la identificación del coccidio. Una modificación de la técnica de formalina-acetato de etilo, mediante el uso de un concentrador del coccidio descartable, acorta el tiempo del proceso y tiene la ventaja de disminuir la po-

sibilidad del contacto directo con el espécimen fecal (239).

Una nueva técnica de concentración que incluye sedimentación en formalina-acetato de etilo, seguida por flotación en solución de cloruro de sodio hipertónica, resultó tener la misma sensibilidad que el método de la formalina-acetato de etilo para heces diarreicas, pero fue mucho mayor en el caso de las heces formadas, no grasosas (231).

Cuando se usan métodos de concentración por sedimentación se aconseja centrifugar a 500 x g, por lo menos durante 10 min, ya que los ooquistes son muy pequeños y con un tiempo menor, muchos de ellos pueden permanecer en el sobrenadante (51).

Técnicas de Coloración. Una gran cantidad de estas técnicas se han usado para demostrar los ooquistes del parásito en heces, pero la coloración con hematoxilina férrica y la tricrómica, usadas corrientemente para el diagnóstico de otros parásitos intestinales, no son aceptables para la identificación del coccidio (51, 66, 91, 102, 137, 195). Las técnicas de ácido alcohol resistente son las más ampliamente usadas y generalmente son las de elección para el laboratorio de diagnóstico clínico (51, 66) y facilitan la identificación, diferenciando los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar, porque aquellos se tiñen de rojo por ser ácido alcohol resistentes mientras que las últimas no lo son, por lo que aparecen de color verde (30, 66, 91, 123).

Otros métodos de tinción usados son: Giemsa (73), safranina-azul de metileno (14, 109), ácido periódico de Schiff (73, 99), azul de metileno-eosina (43), coloración de Gram (43, 76), analina - carbol - metil violeta seguido por tartrazina (140), metanamina plata (66) y nigrosina (13, 169). Estas dos últimas son técnicas de coloración negativa porque no tiñen los ooquistes.

Recientemente se ha recomendado el yoduro de propidio para teñir los ooquistes fijados y visualizar los esporozoítos y para determinar la preservación de los ooquistes después de diferentes tratamientos (42). Dos nuevos métodos de coloración negativas, que utilizan el verde ligero y la merbromina en solución acuosa al 1 y 2% respectivamente, son muy sensibles y específicos (56).

Entre las tinciones fluorescentes usadas para el diagnóstico de *Cryptosporidium* están auramina-carbol fucsina (30,40), auraminarodamina (66, 73, 123, 163), y acridina naranja (73, 123). Con ellas no es posible detallar con precisión la estructura del ooquiste, por lo que es necesario hacer otro tipo de coloración para confirmar el diagnóstico (30, 73).

Diversos estudios han hecho comparaciones entre varias técnicas de diagnóstico de *Cryptosporidium* en especímenes fecales. Uno recomienda preservar la muestra en formol al 10%, concentrarla y luego teñir el concentrado con una técnica de coloración modificada de Ziehl-Neelsen (73); otro recomienda un examen con solución de yodo, y lue-

go concentración con la técnica de flotación en sucrosa de Sheather (123); y otro considera la tinción de ácido alcohol resistente modificada como la mejor (76). El diagnóstico de estos ooquistes tan pequeños, mediante la concentración de heces y subsecuente coloración y examen microscópico es muy laborioso.

Diagnóstico Inmunológico. Se ha usado la técnica de inmunofluorescencia directa, utilizando anticuerpos específicos monoclonales y policlonales marcados con fluorescencia, para la identificación de los ooquistes; es un método sensible (10, 124, 133, 158, 196). En secciones de tejidos incluidos en parafina, se pueden detectar los ooquistes mediante el uso de anticuerpos monoclonales específicos inmunofluorescentes (10, 121).

La prueba inmunoenzimática (ELISA) para detectar los ooquistes en heces, es de mucha utilidad clínica ya que es un método rápido y fácil de leer, y muy sensible y específico en el caso de heces diarreicas, pero tiene uso limitado en estudios epidemiológicos para el diagnóstico de infecciones asintomáticas (153, 183). Se reportó una técnica cuantitativa para los ooquistes, por medio de una prueba de inmunofluorescencia directa, la cual al parecer es muy útil para estudios epidemiológicos y de control (237). Existe una prueba inmunofluorométrica para la determinación de coproanticuerpos contra el parásito, que al parecer tiene la sensibilidad inherente de un inmunoensayo (110).

Las técnicas serológicas para el diagnóstico de *Cryptosporidium* no han sido ampliamente usadas hasta el presente. Se han detectado anticuerpos específicos séricos mediante las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA (18, 31, 33, 208, 216). En pacientes con criptosporidiosis se ha conseguido una seropositividad para anticuerpos IgG o IgM, o para ambos, en el 95% de los casos, en el momento en que buscan atención médica, y 100% a las dos semanas. Algunos estudios indican que más del 50% de los individuos sin infección conocida, tienen anticuerpos específicos (113, 208, 216, 217), lo cual sugiere que la infección, alguna vez en la vida, es común. Un estudio demostró reacción cruzada de anticuerpos policlonales séricos contra los ooquistes de *C. parvum* con antígenos de ooquistes de especies pertenecientes al género *Eimeria* (159).

Diagnóstico Electroforético.

Recientemente se usó por primera vez el patrón electroforético de las isoenzimas para diagnosticar y diferenciar especies del parásito (157). Los zimodemos de la fosfoglucomutasa y la isomerasa de la glucosa fosfato (IGF) claramente diferenciaron a *C. parvum*, *C. muris* y *C. baileyi*. Los aislados de *C. parvum* obtenidos de diferentes especies animales, mostraron la misma movilidad electroforética para la IGF, mientras que la movilidad del único aislado humano fue claramente diferente a la de los aislados procedentes de animales.

TRATAMIENTO

En personas inmunocompetentes la enfermedad ocasionada por *Cryptosporidium* usualmente es de corta duración y la infección desaparece espontáneamente, por lo que no suele administrarse tratamiento específico; aunque puede ser severa y requerir hospitalización para tratamiento de soporte y sintomático. La hidratación oral o intravenosa, a menudo con nutrición parenteral, generalmente es suficiente para los pacientes inmunocompetentes (51, 66, 102, 151). Si la diarrea tiende a persistir, como es el caso de niños desnutridos, el tratamiento específico es pertinente. Sin embargo, no se ha conseguido una droga inocua y satisfactoria contra la criptosporidiosis.

En pacientes inmunodeficientes, por la tendencia de la infección y la enfermedad a persistir se necesita un tratamiento eficaz, pero hasta ahora ha sido inefectivo en la mayoría de los casos. En algunos pacientes se ha observado cura parasitológica con furazolidina, una combinación de quinina y clindamicina, amprolium, una base orgánica cuaternaria tóxica, e interleucina-2. Sin embargo, éstos y otros resultados se han basado en casos aislados; no se han hecho estudios controlados y la mejoría clínica ha sido inconsistente con persistencia de la infección (51). Se han ensayado, sin éxito, alrededor de un centenar de esquemas terapéuticos y preventivos de la criptosporidiosis, en animales de laboratorio y en personas

inmunodeficientes (51, 118). La eficacia de las drogas comunmente propuestas con actividad preventiva o curativa, es limitada o dudosa.

Mejores resultados se han obtenido con el tratamiento oral con la espiramicina, antibiótico macrólido similar a la eritromicina y la clindamicina, pero los resultados no han sido concluyentes (51, 66, 102). Con esta droga se ha observado, en pacientes inmunodeficientes y algunos inmunocompetentes, mejoría o curación de los síntomas, acompañada en algunos casos con la desaparición de la infección. Sin embargo, en otros no se ha observado mejoría (37, 51, 66, 72, 75, 102, 232, 234). En pacientes con SIDA, parece ser que la droga puede controlar o disminuir la diarrea en el comienzo de la enfermedad, pero no en la fase tardía de ella (194). Las manifestaciones colaterales de la droga son principalmente gastrointestinales y parecen ser infrecuentes.

Desde finales de la década del 70 y en los años 80 ha sido ampliamente utilizado el efecto terapéutico de la inhibición de la enzima decarboxilasa de la ornitina con la consiguiente depleción de la biosíntesis de la poliamina (102, 132), que es efectiva contra otros protozoos. Se ha reportado mejoría clínica con la -difluorometil - ornitina (80, 131, 146), pero su uso ha sido limitado porque deprime la médula ósea y produce irritación gastrointestinal (102).

En animales de experimentación se han ensayado varias drogas. Ninguno de 15 compuestos con ac-

tividad anticoccidio previnieron la infección en ratones, aún a altas dosis (7). Sin embargo, el amprolium, la arprinocina, la dinitolmida, la salinomina y la sulfaquinoxalina redujeron el número de ooquistes en comparación a los controles (111). El arprinocid fue inefectivo en el tratamiento de la infección en ratones y no controló la infección en corderos (7). El lasalocid, un antibiótico ionóforo polieter, parece ser un agente útil potencial, pero en pacientes inmunosuprimidos se necesita una administración prolongada (8, 112, 176). Fue efectiva para prevenir la infección en terneras, pero a dosis altas tóxicas (147).

En un estudio reciente de diversos esquemas terapéuticos en ratas inmunosuprimidas, las drogas que dieron mejor efecto fueron la sinefungina, lasalocid A, metronidazol y sulfadimetoxina a dosis de 2-10 mg, 2-10 mg, 25-50 mg y 10-100 mg, por kilo, por día, respectivamente; la vitamina A pareció reducir la eliminación de ooquistes (118). La azitromicina tuvo actividad profiláctica y terapéutica en ratones inmunosuprimidos (112) y produjo mejoría clínica en dos niños inmunodeficientes con diarrea asociada al parásito (223). La halofuginona redujo la severidad del cuadro clínico en terneras (150). La paramomicina resultó ser efectiva como profiláctico de la infección en terneras (70), y en ratas inmunosuprimidas, la administración oral de sulfadimetoxina (175) y sinefungina (23) hicieron desaparecer los ooquistes en heces.

No se dispone de un cultivo in vitro estandarizado y reproducible para *C. parvum*, necesario para evaluar terapias contra este coccidio. Mientras tanto, en ausencia de una droga efectiva, el tratamiento de soporte puede ser lo único disponible para los médicos. La rehidratación oral o parenteral se requiere a menudo para personas inmunodeficientes con severa diarrea. La nutrición parenteral puede ser de ayuda para mantener el estado nutricional en algunos pacientes con una infección persistente. Los antidiarreicos pueden tener algún valor para controlar la pérdida de fluidos; se ha observado mejoría sintomática con algunos de ellos. La administración de somatostatina y sus análogos ha dado ciertos resultados (39, 75); el octreotide, efectivo para controlar algunas diarreas secretorias, redujo el número de evacuaciones diarias en pacientes con SIDA y criptosporidiosis (149). Esto sugiere que el mejoramiento de la función de absorción y la nutrición puede conducir a la mejoría del estado inmunológico y recuperación de la criptosporidiosis. El sulfato de morfina y el difenolilato produjeron también mejoría clínica en estos pacientes, pero la última tuvo que suspenderse por los efectos colaterales adversos (38). Las insuflaciones rectales con ozono de uso médico dieron buenos resultados en el control de la diarrea en pacientes con SIDA (29).

En ausencia de una droga efectiva, la inmunoterapia podría ser un medio de controlar la infección ya que el estado inmunológico parece

ser fundamental en la severidad y duración de ésta. Algunos estudios han demostrado que el calostro de vacas hiperinmunizadas protege contra la infección, y en algunos pacientes inmunodeficientes se logró la desaparición de los síntomas o la cura parasitológica durante varios meses con el tratamiento (67, 68, 69, 214). Estos hallazgos sugieren que el calostro o leche hiperinmune tiene un efecto protector contra la criptosporidiosis, pero todavía no se ha definido bien el papel que pueda desempeñar la inmunidad lactogénica en la prevención y tratamiento de la infección. La administración oral de un extracto dializable no caracterizado, preparado a partir de células de ganglios linfáticos de terneras inmunizadas con el coccidio, produjo una mejoría clínica en pacientes con SIDA y criptosporidiosis (134). Es posible que este tratamiento aumente la inmunidad celular contra *Cryptosporidium*. Algunos de los antígenos de los esporozoítos son altamente inmunogénicos y los anticuerpos monoclonales contra algunos de éstos han sido efectivos en reducir la severidad de la infección (51). Diversos preparados celulares y humorales específicos tales como, anticuerpos monoclonales neutralizantes y el factor de transferencia bovino, se han ensayado clínica y experimentalmente como agentes terapéuticos o preventivos, con resultados variables (51, 57). Estas investigaciones son de primordial importancia por la utilidad inmunoterapéutica potencial del ca-

lostro bovino hiperinmune u otro tipo de intervención inmunológica.

PRONOSTICO

En inmunocompetentes, la infección tiene un buen pronóstico, ya que puede ser asintomática o producir una diarrea autolimitada que desaparece, al igual que la infección, espontáneamente. En pacientes inmunodeficientes, usualmente se produce una diarrea crónica o recurrente. Como no existe una terapia efectiva, el hallazgo del parásito en estos pacientes, en especial aquellos con SIDA, involucra usualmente un mal pronóstico.

PREVENCION

El control de la diseminación y transmisión de este coccidio, está limitado por el hecho de que no se conocen a cabalidad todos sus mecanismos posibles de transmisión. Por otro lado, los ooquistes son muy resistentes y en condiciones favorables permanecen infectantes por un tiempo relativamente largo (51, 66). La contaminación de agua y alimentos puede ser prevenida utilizando los métodos efectivos para matar los ooquistes mencionados anteriormente. Para evitar el riesgo de la transmisión nosocomial se deben tomar las precauciones conocidas para evitar el contagio con organismos entéricos, como el lavado de las manos, el uso de guantes y batas y utilizar cuartos privados para pacientes con poca higiene. El equipo que se sospeche esté contaminado

se debe autoclavar. El personal que trabaje con este parásito, como veterinarios, médicos, y personal de laboratorio, debe evitar el contacto con material infestado.

Se ha recomendado la fumigación con formol salino al 10% o amonio al 50% como la forma más adecuada de descontaminación, ya que hacen perder la infectividad de los ooquistes para ratones, después de 18 horas de exposición (28).

Hasta el presente no existe una vacuna disponible para prevenir esta parasitosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ANDERSON B.C.: Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J Am Vet Med Assoc 178:982-984, 1981.
- 2- ANDERSON B.C.: Cryptosporidiosis. Lab Med 14:55-56, 1983.
- 3- ANDERSON B.C.: Moist heat inactivation of *Cryptosporidium sp.* Am J Public Health 75:1433-1434, 1985.
- 4- ANDERSON B.C., DONNDELINGER R.M., WILKINS R.M., SMITH J.: Cryptosporidiosis in a veterinary student. J Am Vet Med Assoc 180:408-409, 1982.
- 5- ANGUS K.W., SHERWOOD D., HUTCHISON G., CAMPBELL I.: Evaluation of the effect of 2 aldehyde-based disinfectants on the infectivity of faecal cryptosporidia for mice. Res Vet Sci 33:379-381, 1982.
- 6- ANGUS K.W.: Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. J R Soc Med 76:62-70, 1983.

- 7- ANGUS K.W., HUTCHISON G., CAMPBELL I., SNODGRASS D.R.: Prophylactic effects of anticoccidial drugs in experimental murine cryptosporidiosis. *Vet Rec* 114:166-168, 1984.
- 8- ANGUS K.W., HUTCHISON G., MUNRO H.M.C.: Infectivity of a strain of *Cryptosporidium* found in the guinea-pig (*Cavia porcellus*) for guinea-pigs, mice, and lambs. *J Comp Pathol* 95:151-165, 1985.
- 9- ARGENZIO R.A., LIACOS J.A., LEVY M.L., MEUTEN D.L., LECCE J.G., POWELL D.W.: Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology* 98:1129-1140, 1990.
- 10- ARWOOD M.J., STERLING C.R.: Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J Clin Microbiol* 27:1490-1495, 1989.
- 11- AVILA-FIGUEROA C., SORIA-RODRIGUEZ C., NAVARRET-NAVARRO S., PAVIA-RUZ N., VALENCIA-MAYORAL P., SANTOS-PRECIADO J.I.: Clinical manifestations of infection by human immunodeficiency virus in children. *Bol Med Hosp Infant Mex* 46:448-454, 1989.
- 12- AWAD-EL-KARIEM F.M., ROBINSON H.A., MCDONALD V., EVANS D., DYSON D.A.: Is human cryptosporidiosis a zoonotic disease? *Lancet* 341(8859):1535, 1993.
- 13- BAXBY D., BLUNDELL N.: Sensitive, rapid, simple methods for detecting *Cryptosporidium* in faeces. *Lancet* 2:1149, 1983.
- 14- BAXBY D., HART C.A., TAYLOR C.: Human cryptosporidiosis: a possible case of hospital cross infection. *Br Med J* 287:1760-1761, 1983.
- 15- BEIER T.V., SIDORENKO N.V.: One more biological characteristic of coccidia in the genus *Cryptosporidium* (*Sporozoa: Apicomplexa*). *Parazitologia* 27:309-319, 1993.
- 16- BIGGS B.A., MEGNA R., WICKREMESINGHE S., DWYER B.: Human infection with *Cryptosporidium* spp.: results of a 24 month survey. *Med J Aust* 147:175-177, 1987.
- 17- BIRD R.G., SMITH M.D.: Cryptosporidiosis in man: parasite life cycle and fine structural pathology. *J Pathol* 132:217-233, 1980.
- 18- BLAGBURN B.L., CURRENT W.L.: Accidental infection of a researcher with human *Cryptosporidium*. *J Infect Dis* 148:772-773, 1983.
- 19- BLAGBURN B.L., LINDSAY D.S., GIAMBRONE J.J., SUNDERMANN C.A., HOERR F.J.: Experimental cryptosporidiosis in broiler chickens. *Poult Sci* 66:442-449, 1987.
- 20- BLANCO R.A., SAMAYOA J.C.: Diarrea y *Cryptosporidium* en Guatemala. *Bol Med Hosp Infant Mex* 45:139-143, 1988.
- 21- BLUMBERG R.S., KELSEY P., PERRONE T., DICKERSIN R., LAQUAGLIA M., FERRUCI J.: *Cytomegalovirus* and *Cryptosporidium*-associated acalculous gangrenous cholecystitis. *Am J Med* 76:1118-1123, 1984.

- 22- BOGAERTS J., LEPAGE P., ROUVROY D., VANDEPITTE J.: *Cryptosporidium* spp., a frequent cause of diarrhea in Central Africa. J Clin Microbiol 20:874-876, 1984.
- 23- BRASSEUR P., LEMETTEL D., BALLEET J.J.: Curative and preventive anticryptosporidium activities of sinefungin in an immunosuppressed adult rat model. Antimicrob Agents Chemother 37:889-892, 1993.
- 24- BREA HERNANDO A.J., BANDRES F.E., MOSQUERA LOZANO J.D., LANTERO-BENEDITO M., EZQUERRA LEZCANO M.: Pulmonary cryptosporidiosis and AIDS. Presentation of a case and review of the literature. An Med Interna 10:232-236, 1993.
- 25- BREA-HERNANDO A.J., SACRISTAN-TERROBA B., BRANDES-FRANCO E., MOSQUERA-LOZANO J.D., GARCIA-MORENO V., YANGUELA-TERROBA J.: Sclerosing cholangitis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. Rev Esp Enferm Dig 83:205-208, 1993.
- 26- BRITT D.P., AL-GHAWABY M.A.: *Cryptosporidium* in a child in Kuwait. Ann Trop Med Parasitol 82:407-409, 1988.
- 27- BROWN E.A., CASEMORE D.P., GERKEN A., GREATORREX I.F.: Cryptosporidiosis in Great Yarmouth: the investigation of an outbreak. Public Health 103:3-9, 1989.
- 28- CAMPBELL I., TZIPORI S., HUTCHISON G., ANGUS K.W.: Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. Vet Rec 111:414-415, 1982.
- 29- CARPENDALE M.T., FREEBERG J., GRIFFISS J.M.: Does ozone alleviate AIDS diarrhea? J Clin Gastroenterol 17:142-145, 1993.
- 30- CASEMORE D.P., ARMSTRONG M., JACKSON B.: Screening for *Cryptosporidium* in stools. Lancet 1:734-735, 1984.
- 31- CASEMORE D.P., ARMSTRONG M., SANDS R.L.: Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. J Clin Pathol 38:1337-1341, 1985.
- 32- CASEMORE D.P., SANDS R.L., CURRY A.: Cryptosporidia species a "new" human pathogen. J Clin Pathol 38:1321-1336, 1985.
- 33- CASEMORE D.P.: The antibody response to *Cryptosporidium*: development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons. J Infect 14:125-134, 1987.
- 34- Centers for Disease Control: Human cryptosporidiosis-Alabama. Morbid Mortal Weekly Rep 31:252-254, 1982.
- 35- Centers for Disease Control. Cryptosporidiosis: an assessment of chemotherapy of males with acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Morbid Mortal Weekly Rep 31:589-592, 1982.
- 36- CLARKE J.J.: A study of coccidia met with in mice. J Microsc Soc 37:277-302, 1895.
- 37- COLLIER A.C., MILLER R.A., MEYERS J.D.: Cryptosporidiosis after marrow transplantation: person-to-person transmission and treatment with spiramycin. Ann Intern Med 101:205-206, 1984.
- 38- CONNOLLY G.M., DRYDEN M.S., SHANSON D.C., GAZZARD B.G.:

- Cryptosporidial diarrhoea in AIDS and its treatment. *Gut* 29:593-597, 1988.
- 39- COOK D.J., KELTON J.G., STANISZ A.M., COLLINS S.M.: Somatostatin treatment for cryptosporidial diarrhea in a patient with AIDS. *Ann Intern Med* 108:708-709, 1988.
- 40- CORBETT-FEENEY G.: *Cryptosporidium* among children with acute diarrhea in the west of Ireland. *J Infect* 14:79-84, 1987.
- 41- COTTE L., RABODONIRINA M., PIENS M.A., PERREARD M., MOJON M., TREPO C.: Prevalence of intestinal protozoans in French patients infected with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 6:1024-1029, 1993.
- 42- COZONG., CANNELLA D., BIRON F., PIENS M.A., JEANNIN M., REVILLARD J.P.: *Cryptosporidium parvum* sporozoite staining by propidium iodide. *Int J Parasitol* 22:385-389, 1992.
- 43- CROSS R.F., MOORHEAD P.D.: A rapid staining technique for cryptosporidia. *Mod Vet Pract* 65:307, 1984.
- 44- CURRENT W.L., REESE N.C., ERNST J.V., BAILEY W.S.: Human cryptosporidiosis-Alabama. *Morbidity Mortal Weekly Rep* 31:252-254, 1982.
- 45- CURRENT W.L., REESE N.C., ERNST J.V., BAILEY W.S., HEYMAN M.B., WEINSTEIN M.D.: Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: studies of an outbreak and experimental transmission. *N Engl J Med* 308:1252-1257, 1983.
- 46- CURRENT W.L.: *Cryptosporidium*: its biology and potential for environmental transmission. *Crit Rev Environ Control* 17:21-51, 1986.
- 47- CURRENT W.L., REESE N.C.: A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J Protozool* 33:98-108, 1986.
- 48- CURRENT W.L., UPTON S.J., HAYNES T.B.: The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (*Apicomplexa, Cryptosporidiidae*) infecting chickens. *J Protozool* 33:289-296, 1986.
- 49- CURRENT W.L., SNYDER D.B.: Development and serologic evaluation of acquired immunity to *Cryptosporidium baileyi* by broiler chickens. *Poult Sci* 67:720-729, 1988.
- 50- CURRENT W.L.: *Cryptosporidium* spp. in: Parasitic infections in the compromised host. p. 281-341. Genta R.M., Walzer P.D., eds. Marcel Dekker Inc. New York, 1989.
- 51- CURRENT W.L., GARCIA L.S.: Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev* 4:325-358, 1991.
- 52- CHACIN-BONILLA L., GUANIPAN., CANO G., RALEIGH X., QUIJADA L.: Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Zulia State, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 47:582-586, 1992.
- 53- CHACIN-BONILLA L., MEJIA-YOUNG M., CANO G., GUANIPAN., ESTEVEZ J., BONILLA E.: *Cryptosporidium* infections in a suburban community in Maracaibo, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 49:63-67, 1993.
- 54- CHAPMAN P.A., RUSH B.A.: Efficiency of sand filtration for removing

- Cryptosporidium* oocysts from water. J Med Microbiol 32:243-245, 1990.
- 55- CHEN W., HARP J.A., HARMSSEN A.G.: Requirements for CD4+ cells and gamma interferon in resolution of established *Cryptosporidium parvum* infection in mice. Infect Immun 61:3928-3932, 1993.
- 56- CHICHINO G., BRUNO A., CEVINI C., ATZORI C., GATTI S., SCAGLIA M.: New rapid staining methods of *Cryptosporidium* oocysts in stools. J Protozool 38:212S-214S, 1991.
- 57- CHO M.H.: Passive transfer of immunity against *Cryptosporidium* infection in neonatal mice using monoclonal antibodies. Kisaenchung-hak-Chapchi 31:223-230, 1993.
- 58- CHO M.H., KIM A.K., IM K.: Detection of *Cryptosporidium* oocysts from out-patients of the Severance Hospital, Korea. Kisaenchunohak-Chapchi 31:193-199, 1993.
- 59- DEHOVITZ J.A., PAPE J.W., BONCY M., JOHNSON W.D.Jr.: Clinical manifestations and therapy of *Isoospora belli* infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med 315:87-90, 1986.
- 60- DELFIN M., SANJURJO E., FINDLAY C.M., GORDEEVA L.M.: *Cryptosporidium* sp. in children with diarrhea in Cuba. Med Parazitol 4:36-39, 1989.
- 61- DEMOL P., MUKASHUMA S., BOGAERTS J., HEMELHOF W., BUTZLER J.P.: *Cryptosporidium* related to measles diarrhea in Rwanda. Lancet 2:42-43, 1984.
- 62- DIAS R.M.D.S., MANGINI A.C.S., TORRES D.M.A.G.V., CORREA M.O.A., LUPETTI N., CORREA F.M.A., CHIEFFI P.P.: Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the county of Sao Paulo, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 30:310-312, 1988.
- 63- DIAZ O.F., DE DIAZ M.C.E., QUINTERO C.H.: Cryptosporidiosis en niños con gastroenteritis hospitalizados y tratados ambulatoriamente en Barquisimeto. Gastroenterol Endocrinol Nutr 41:1-6, 1987.
- 64- DI COSTE A., ANGARANO G.: Prevalence of cryptosporidiosis in HIV-infected patients with diarrhoeal illness. Eur J Epidemiol 9:190-194, 1993.
- 65- DITRICH O., PALKOVIC L., STERBA J., PROKOPIC J., LOUDOVA J., GIBODA M.: The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. Parasitol Res 77:44-47, 1991.
- 66- FAYER R., UNGAR B.L.P.: *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol Rev 50:458-483, 1986.
- 67- FAYER R., ANDREWS C., UNGAR B.L.P., BLAGBURN B.: Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. J Parasitol 75:393-397, 1989.
- 68- FAYER R., PERRYMAN L.E., RIGGS M.W.: Hyperimmune bovine colostrum neutralizes *Cryptosporidium* sporozoites and protects mice against oocyst challenge. J Parasitol 75:151-153, 1989.
- 69- FAYER R., GUIDRY A., BLAGBURN B.L.: Immunotherapeutic effect of bovine colostrum immunoglobulins from a hyperimmu-

- nized cow against cryptosporidiosis in neonatal mice. *Infect Immun* 58:1962-1965, 1990.
- 70- FAYER R., ELLIS W.: Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *J Parasitol* 79:771-774, 1993.
- 71- FLOCH P.J., LAROCHE R., KADENDE P., NKURUNZIZA T., MPFIZI B.: Parasites, etiologic agents of diarrhea in AIDS. Significance of duodenal aspiration fluid test. *Bull Soc Pathol Exot Fil* 82:316-320, 1989.
- 72- GALVAGNO G., CATTANEO G., REVERSO-GIOVANTINE.: Chronic diarrhea due to *Cryptosporidium*: the efficacy of spiramicin treatment. *Pediatr Med Chir* 15: 297-298, 1993.
- 73- GARCIA L.S., BRUCKNER D.A., BREWER T.C., SHIMIZU R.Y.: Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J Clin Microbiol* 18:185-190, 1983.
- 74- GARDNER A.L., ROCHE J.K., WEIKEL C.S., GUERRANT R.L.: Intestinal cryptosporidiosis: pathophysiologic alterations and specific cellular and humoral immune responses in mu/+ and mu/mu (athymic) rats. *Am J Trop Med Hyg* 44:49-62, 1991.
- 75- GARRIDO-DAVILA J.I., RAMIREZ-RONDA C.H.: Updates on AIDS cryptosporidiosis: a review. *Bol Asoc Med Puerto Rico* 83:65-68, 1991.
- 76- GARZA D., HOPFER R.L., EICHELBERGER C., EISENBACH S., FAINSTEIN V.: Fecal staining methods for screening *Cryptosporidium* oocysts. *J Med Technol* 1: 560-563, 1984.
- 77- GENTA R.M., CHAPPELL C.L., WHITE A.C.Jr., KIMBALL K.T., GOODGAME R.W.: Duodenal morphology and intensity of infection in AIDS-related intestinal cryptosporidiosis. *Gastroenterology* 105:1769-1775, 1993.
- 78- GEYER A., CREWE-BROWN H.H., GREEFF A.S., FRIP P.J., STEELE A.D., VAN-SCHALKWYK T.V., CLAY C.G.: The microbial aetiology of summer paediatric gastroenteritis at Ga-Rankuwa Hospital in South Africa. *East Afr Med J* 70:78-81, 1993.
- 79- GOEBEL E., BRANDLER U.: Ultrastructure of microgametogenesis, microgametes and gametogony of *Cryptosporidium* sp. in the small intestine of mice. *Protoplasma* 18:331-334, 1982.
- 80- GOLDEN J.A., SJOERDSMA A., SANTI D.V.: *Pneumocystis carinii* pneumonia treated with alpha-difluoromethylornithine. *West J Med* 141:613-623, 1984.
- 81- GROSS T.L., WHEAT J., BARTLETT M., O'CONNOR K.W.: AIDS and multiple system involvement with *Cryptosporidium*. *Am J Gastroenterol* 81:456-458, 1986.
- 82- GUARDA L.A., STEIN S.A., CLEARY K.A., ORDÓÑEZ N.G.: Human cryptosporidiosis in the acquired immune deficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 107:652-666, 1983.
- 83- HARARI M.D., WEST B., DWYER B.: *Cryptosporidium* as a cause of laryngotracheitis in an infant. *Lancet* 1:1207, 1986.
- 84- HART C.A., BAXBY D., BLUNDELL N.: Gastroenteritis due to

- Cryptosporidium*: a prospective survey in a children's hospital. J. Infect 9:264-270, 1984.
- 85- HANDOUSA A.E., EL SHAZLY A.M., EL NASHAAR N.M., HAMOUDA M.M.: Malabsorption syndrome in patients with cryptosporidiosis. J Egypt Soc Parasitol 21:791-796, 1991.
- 86- HART C.A., BAXBY D.: Management of cryptosporidiosis. J Antimicrob Chemother 15:3-4, 1985.
- 87- HAWKINS S.P., THOMAS R.P., TEASDALE C.: Acute pancreatitis: a new finding in *Cryptosporidium* enteritis. Br Med J 294:483-484, 1987.
- 88- HAYES E.B., MATTE T.D., O'BRIEN T.R., MCKINLEY T.W., LOGSDON G.S., FOSE J.B., UNGAR B.L.P., WORD D.M., PINSKY P.F., CUMMINGS M.S., WILSON M.A., LONG E.G., HURWITGS E.S., JURANEK D.D.: Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. N Engl J Med 320:1372-1376, 1989.
- 89- HEINE J., MOON H.W., WOODMANSEE D.B.: Persistent cryptosporidiosis infection in congenitally athymic (nude) mice. Infect Immun 43:856-859, 138.1984.
- 90- HEINE J., POHLENZ J.F.L., MOON H.W., WOODE G.N.: Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. J Infect Dis 150:768-775, 1984.
- 91- HENRIKSON, S.A., PHOLENZ J.F.L.: Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Vet Scand 22 594-596, 1981.
- 92- HENRY M.C., DE CLERO D., LOKOMBE B., KAYEMBE K., KAPIOTA B., MAMBA K., MBENDI N., MAZEBOP.: Parasitological observations of chronic diarrhoea in suspected AIDS adult patients in Kinshasa (Zaire). Trans Roy Soc Trop Med Hyg 80:309-310, 1986.
- 93- HINNANT K., SWARTZ A., ROTTERDAM H., RUDSKI C.: Cytomegaloviral and cryptosporidial cholecystitis in two patients with AIDS. Am J Surg Pathol 13:57-60, 1989.
- 94- HILL B.D., BLEWETT D.A., DAWSON A.M., WRIGHT S.: Analysis of the kinetics, isotype and specificity of serum and coproantibody in lambs infected with *Cryptosporidium parvum*. Res Vet Sci 48:76-81, 1989.
- 95- HOJLYNG N., MOLBACK K., JEPSEN S.: *Cryptosporidium* spp., a frequent cause of diarrhea in Liberian children. J Clin Microbiol 23:1109-113, 1986.
- 96- HOLLAND R.E., BOYLE S.M., HERDT T.H., GRIMES S.D., WALKER R.D.: Malabsorption of vitamin A in preruminating calves infected with *Cryptosporidium parvum*. Am J Vet Res 53:1947-1952, 1992.
- 97- HOLLEY H.P., DOVER C.: *Cryptosporidium*: A common cause of parasitic diarrhea in otherwise healthy individuals. J Clin Microbiol 23:1109-1113, 1986.
- 98- HOLTEN-ANDERSON W., GERSTOFT J., HENRICKSEN S.A., PEDERSEN N.S.: Prevalence of *Cryptosporidium* among patients with acute enteric infection. J Infect 9:277-282, 1984.

- 99- HOREN W.P.: Detection of *Cryptosporidium* in human fecal specimens. *J Parasitol* 69:622-624, 1983.
- 100- ISEKI M.: *Cryptosporidium felis* sp.n. (Protozoa: Eimeriorina) from the domestic cat. *Jpn J Parasitol* 28:285-307, 1979.
- 101- ISSACS D., HUNT G.H., PHILLIPS A.D., PRICE E.H., RAAFAT F., WALKER-SMITH J.A.: Cryptosporidiosis in immunocompetent children. *J Clin Pathol* 38:76-81, 1985.
- 102- JANOFF E.N., RELLER B.: *Cryptosporidium* species, a protean protozoan. *25:967-975*, 1987.
- 103- JANOFF E.N., MEAD P.S., MEAD J.R., ECHEVERRIA P., BODHIDATTA L., BHAIBULAYA M., STERLING C.R., TAYLOR D.N.: Endemic *Cryptosporidium* and *Giardia lamblia* infection in a Thai orphanage. *Am J Trop Med Hyg* 43:248-256, 1990.
- 104- JOHNSON A.M., FIELKER, LUMBR., BAVERSTOCK P.R.: Phylogenetic relationship of *Cryptosporidium* determined by ribosomal RNA sequence comparison. *Int J Parasitol* 20:141-147, 1990.
- 105- JOKIPII L., JOKIPII M.M.: Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. *N Engl J Med* 315:1643-1646, 1986.
- 106- JOKIPII L., POHJOLA S., JOKIPII A.: *Cryptosporidium* a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet* 2:358-360, 1983.
- 107- KADENDE P., NKURUNZIZA T., FLOCH J.J., MPFIZI B., LAROCHE R., NDABANEZE E., AUBRY P. Infectious diarrhea in African acquired immunodepression syndrome (AIDS). A prospective survey of 100 patients studied in Bujumbura (Burundi). *Med Trop (Madrid)* 49:129-133, 1989.
- 108- KAHN D.G., GARFINKLE J.M., KLONOFF D.C., PEMBROOK L.J., MORROW D.J.: Cryptosporidial and cytomegaloviral hepatitis and cholecystitis. *Arch Pathol Lab Med* 111:879-881, 1987.
- 109- KAKERUKA P., BRANDT J.R., TAELMAN H., JONAS C.: Modified Koster staining method for the diagnosis of cryptosporidiosis. *Ann Soc Belg* 64:171-175, 1984.
- 110- KAPEL N., MEILLET D., BURAUD M., FAVENNEC L., MAGNED., GOBERT J.G.: Determination of anti-*Cryptosporidium* coproantibodies by time-resolved immunofluorometric assay. *Tras R Soc Trop Med Hyg* 87:330-332, 1993.
- 111- KIM C.W.: Chemotherapeutic effect of arprinocid in experimental cryptosporidiosis. *J Parasitol* 73:663-666, 1987.
- 112- KIMATA I., UNI S., ISEKI M.: Chemotherapeutic effect of azithromycin and lasalocid on *Cryptosporidium* infection in mice. *J Protozool* 38:232S-233S, 1991.
- 113- KOCH K.J., PHILLIPS D.J., ABER R.C., CURRENT W.L.: Cryptosporidiosis in hospital personnel: evidence for person-to person transmission. *Ann Intern Med* 102:593-596, 1985.
- 114- KORICH D.G., MEAD J.R., MADORE M.S., SINCLAIR N.A., STERLING C.R.: Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium* oocysts viabi-

- lity. Appl Environ Microbiol 56:1423-1428, 1990.
- 115- LAHDEVIRTA J., JOKIPII A.M.M., SAMMALKOYSI K., JOKIPII L.: Perinatal infection with *Cryptosporidium* and failure to thrive. Lancet 1:48-49, 1987.
- 116- LAUGHON B.E., DRUCKMAN D.A., VERNON A., QUINN T.C., POLK B.F., MODLIN J.F., YOLKEN R.H., BARTLETT J.G.: Prevalence of enteric pathogens in homosexual men with and without acquired immunodeficiency syndrome. Gastroenterology 94:984-993, 1988.
- 117- LAXER M.A., ALCANTARA A.K., JAVATO-LAXER M., MENORCA D.M., FERNANDO M.T., RANOA C.P.: Immune response to cryptosporidiosis in Philippine children. Am J Trop Med Hyg 42:131-139, 1990.
- 118- LEMETEIL D., ROUSELL F., FAVENNEC L., BALLEST JJ., BRASSEUR P.: Assessment of candidate anticryptosporidial agents in an immunosuppressed rat model. J Infect Dis 167:766-768, 1993.
- 119- LEVINE N.D.: Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). J Protozool 31:94-98, 1984.
- 120- LEVINE N.D.: The genera *Cryptosporidium* and *Epieimeria* in the coccidian family *Cryptosporidiidae* (Protozoa, Apicomplexa). Trans Am Microsc Soc 103:205-206, 1984.
- 121- LOOSE J.H., SEDERGRAN D.J., COOPER H.S.: Identification of *Cryptosporidium* in paraffin-embedded tissue sections with the use of a monoclonal antibody. Am J Clin Pathol 91:206-209, 1989.
- 122- LORENZO-LORENZO M.J.: Effect of ultraviolet disinfection of drinking water on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. J Parasitol 79:67-70, 1993.
- 123- MA P., SOAVE R.: Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. J Infect Dis 147:824-828, 1983.
- 124- MA P.: Laboratory diagnosis of coccidiosis in Microbiology. p. 224-231. Leive L., Schlessinger D. eds. American Society for Microbiology, Washington, D.C, 1984.
- 125- MA P., VILLANUEVA T.G., KAUFMAN D., GILLOOLEY J.F. Respiratory cryptosporidiosis in the acquired immune deficiency syndrome. JAMA 252:1298-1301, 1984.
- 126- MALEBRANCHE R., ARNOUX E., GUERIN J.M., PIERRE G.O., LAROCHE A., PEAN-GUICHARD C., ELIE R., MORISSET P.H., SPIRA T., MANDEVILLE R., DROTMAN P., SEEMAYER T., DUPUY J.: Acquired immunodeficiency syndrome with severe gastrointestinal manifestation in Haiti. Lancet 2:873-878, 1983.
- 127- MARSHALL A.R., AL-JUMAILI I.J., FENWICK G.A., BINT A.J., RECORD C.O.: Cryptosporidiosis in patients at a large teaching hospital. J Clin Microbiol 25:172-173, 1987.
- 128- MARTINO P., GENTILE G., CAPRIOLI A., BALDASSARRIL., DONELLI G., ARCESE W., FENU S., MICOZZI A., VENDITTI M., MANDELLE F.: Hospital-acquired cryptosporidiosis in a bone marrow transplantation unit. J Infect Dis 158:647-648, 1988.

- 129- MATA L., BOLAÑOS H., PEZARRO D., VIVES M.: Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban areas. *Am J Trop Med Hyg* 33:24-29, 1984.
- 130- MATHAN M.M., VENKATESAN S., GEORGE R., MATHEW M., MATHAN V.J.: *Cryptosporidium* and diarrhea in Southern Indian children. *Lancet* 2:1172-1175, 1985.
- 131- MCCANN P.P., RACCHI C.J., NATHAN H.C., SJOEDSMA A.: Difluoromethyl-ornithine and the rational development of polyamine antagonists for the cure of protozoan infection in: Mechanisms of drug action. p. 150-173. Singer T.B., Ondarza R.N. eds. Academic Press, New York, 1983.
- 132- MCCANN P.P., PEGG A.E.: Ornithine decarboxylase as an enzyme target for therapy. *Pharmacol Ther* 54:195-215, 1992.
- 133- McLAUGHLIN J., CASEMORE D.P., HARRISON T.G., GERSON P.J., SAMUEL D., TAYLOR A.G.: Identification of *Cryptosporidium* oocysts by monoclonal antibody. *Lancet* 1:51, 1987.
- 134- MCMEEKING A., BORKOWSKY W., KLESIUS P.H., BONK S., HOLZMAN R.S., LAWRENCE H.S.: A controlled trial of bovine dialyzable leukocyte extract for cryptosporidiosis in patients with AIDS. *J Infect Dis* 161:108-112, 1990.
- 135- McNABB S.J.N., HENSEL D.M., WELCH D.F., HEIJBEL H., MCKEE G.L., INSTRE G.G.: Comparison of sedimentation and flotation techniques for identification of *Cryptosporidium* sp. oocysts in a large outbreak of human diarrhea. *J Clin Microbiol* 22:587-589, 1985.
- 136- MEAD J.R., ARROWOOD M.J., STERLING C.R.: Antigens of *Cryptosporidium* sporozoites recognized by immune sera of infected animals and humans. *J Parasitol* 74:135-143, 1988.
- 137- MEISEL J.L., PERERA D.R., MELIGRO C., RUBIN C.E.: Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 70:1156-1160, 1976.
- 138- MELO CHRISTINO J.A., CARVALHO M.I., SALGADO M.J.: An outbreak of cryptosporidiosis in a hospital day-care centre. *Epidemiol Infect* 101:355-359, 1988.
- 139- MERCADO R.: Epidemiological and diagnostic aspects of human cryptosporidiosis in Chile. *Bol Chil Parasitol* 47:30-32, 1992.
- 140- MILACEK P., VITOVEC J.: Differential staining of cryptosporidia by aniline-carbolmethyl violet and tartarazine in smears from feces and scrapings of intestinal mucosa. *Folia Parasitol* 32:50, 1985.
- 141- MILLER R.A., HOLMBERG R.E., Jr., CLAUSEN C.R.: Life-threatening diarrhea caused by *Cryptosporidium* in a child undergoing therapy for acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr* 103:256-259, 1983.
- 142- MILLER K., DURAN-PINALES C., CRUZ-LOPEZ A., MORALES-LECHUGAL., TAREN D., ENRIQUEZ J.: *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 51:322-325, 1994.

- 143- MOLBAK K., HOJLYNG N., GOTTSCHAU A., SA J.C., ING-HOLT L., DA SILVA A.P., AABY P.: Cryptosporidiosis in infancy and childhood mortality in Guinea Bissau, west Africa. *B M J* 307:417-420, 1993.
- 144- MOODLEY D., JACKSON T.F., GATHIRAM V., VAN DEN ENDE J.: A comparative assessment of commonly employed staining procedures for the diagnosis of cryptosporidiosis. *S Afr Med J* 79:314-317, 1991.
- 145- MOON H.W., BEMRICK W.J.: Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. *Vet Pathol* 18:248-255, 1981.
- 146- MOON H.W., SCHWARTZ A., WELCH M.J., McCANN P.P., RUNNELS P.L.: Experimental fecal transmission of human cryptosporidia to pigs, and attempted treatment with an ornithine decarboxylase inhibitor. *Vet Pathol* 19:700-707, 1982.
- 147- MOON H.W., WOODE G.N., AHRENS F.A.: Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in calves. *Vet Rec* 110:181, 1982.
- 148- MOORE A.C., HERWALDT B.L., CRAUN G.F., CALDERON R.L., HIGHSMITH A.K., JURANEK D.D.: Surveillance for waterborne disease outbreaks-United States, 1991-1992. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 42:1-22, 1993.
- 149- MORONI M., ESPOSITO R., CERMUSCHI M., FRANZETTI F., CAROSI G.P., FIORI G.P.: Treatment of AIDS-related refractory diarrhoea with octreotide. *Digestion* 54: Suppl 1:30-32, 1993.
- 150- NACIRI M., MANCASSOLA R., YVORE P., PEETERS J.E.: The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves. *Vet Parasitol* 45:199-207, 1993.
- 151- NAVIN T.R., JURANEK D.D.: Cryptosporidiosis: clinical, epidemiologic and parasitologic review. *Rev Infect Dis* 6:313-327, 1984.
- 152- NAVIN T.R.: Cryptosporidiosis in humans: review of recent epidemiologic studies. *Eur J Epidemiol* 1:77-83, 1985.
- 153- NEWMAN R.D., JAEGER K.L., WUHIB T., LIMA A.A., GUERRANT R.L., SEARS C.L.: Evaluation of an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* oocysts. *J Clin Microbiol* 31:2080-2084, 1993.
- 154- NIME F.A., BUREK J.D., PAGE D.L., HOLSCHER M.A., YARDLEY J.H.: Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology* 70:592-598, 1976.
- 155- NINA J.M., MCDONALD V., DYSON D.A., CATCHPOLE J., UNI S., ISEKI M., CHIODINI P.L., MCADAM K.P.: Analysis of oocyst wall and sporozoite antigens from three *Cryptosporidium* species. *Infect Immun* 60:1509-1513, 1992.
- 156- NWANYANWU O.C., BAIRD J.N., REEVE G.R.: Cryptosporidiosis in a day-care center. *Tex Med* 85:40-43, 1989.
- 157- OGUNKOLADE B.W., ROBINSON H.A., MCDONALD V., WEBSTER K., EVANS D.A.: Isoenzyme varia-

- tion within the genus *Cryptosporidium*. Parasitol Res 79:385-388, 1993.
- 158- ONGERTH J.E., STIBBS H.H.: Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water. Appl Environ Microbiol 53:672-676, 1987.
- 159- ORTEGA-MORA L.M., TRONCOSO J.M., ROJO-VAZQUEZ F.A., GOMEZ-BAUTISTA M.: Cross-reactivity of polyclonal serum antibodies generated against *Cryptosporidium parvum* oocysts. Infect Immunol 60:3442-3445, 1992.
- 160- OTERO B.E., DARRICARRERE R.T., BAEZ A.E.: Frecuencia de *Cryptosporidium* en población infantil aparentemente sana. Resumen. Acta Cient Vlana 35 (Supl 1):332, 1984.
- 161- PANCIERA R.J., THOMASSEN R.W., GARDNER F.M.: Cryptosporidial infection in a calf. Vet Pathol 8:479-484, 1971.
- 162- PAVLASEK I.: Effect of disinfectants in infectiousness of oocysts of *Cryptosporidium* sp. Cesk Epidemiol Mikrobiol Immunol 33:97-101, 1984.
- 163- PAYNE P., LANCASTER L.A., HEINZMAN M., McCUTCHAN J.A.: Identification of *Cryptosporidium* in patients with acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med 309:613-614, 1984.
- 164- PEETERS J.H., MAZAS E.A., MASSCHELEIN W.J., MATURANA I.V.M., DEBACKER E.: Effect of disinfection of drinking water with ozone or chloride on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Appl Environ Microbiol 55:1519-1522, 1989.
- 165- PEREZ-SCHAEEL I., BOHER Y., MATA L., PEREZ M., TAPIA F.J.: Cryptosporidiosis in Venezuelan children with acute diarrhea. Am J Trop Med Hyg 34:721-722, 1985.
- 166- PEREZ-SCHAEEL I., GARCIA D., GONZALEZ M., GONZALEZ R., DAOUD N., PEREZ M., CUNTO W., ZAPIKIAN A.Z., FLORES J.: Prospective study of diarrheal diseases in Venezuelan children to evaluate the efficacy of rhesus rotavirus vaccine. J Med Virol 30:219-229, 1990.
- 167- PITLIK S.D., FAINSTEIN V., GARZA L., BOLIVAR R., RIOS A., HOPFER R.L., MANSELL P.A.: Human cryptosporidiosis: spectrum of disease: report of six cases and review of the literature. Arch Intern Med 143:2269-2275, 1983.
- 168- POBLENZ J., MOON H.W., CHEVILLE N.F., BEMRICK W.J.: Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. J Am Vet Med Assoc 172:452-457, 1978.
- 169- POHJOLA S.: Negative staining method with nigrosin for the detection of cryptosporidial oocysts-a comparative study. Res Vet Sci 36:217-219, 1984.
- 170- POHLENZ J., BEMRICK W.J., MOON H.W., CHEVILLE N.F.: Bovine cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and of the host-parasite relationship. Vet Pathol 15:417-427, 1978.
- 171- PORTNOY D., WHITESIDE M.E., BUCKLEY I.I.I., MACLEOD D.L.: Treatment of intestinal cryptosporidiosis with spiramycin. Ann Intern Med 101:202-204, 1984.
- 172- RAHAMAN A.S.M.H., SANYAL S.C., AL-MAHMUD K.A., SOBHAN

- A., HOSSAIN K.S., ANDERSON B.C.: Cryptosporidiosis in calves and their handlers in Bangladesh. *Lancet* 2:221, 1984.
- 173- RATNAM S., PADDOCK J., McDONALD E., WHITTY D., JONG M., COOPER R.: Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples submitted for routine microbiological examination. *J Clin Microbiol* 22:402-404, 1985.
- 174- REESE N.C., CURRENT W.L., ERNST J.V., BAILEY W.S.: Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. *Am J Trop Med Hyg* 31:226-229, 1982.
- 175- REGH J.E., HANCOCK M.L., WOODMANSEE D.B.: Anticryptosporidial activity of sulfamethoxine. *Antimicrob Agents Chemother* 32:1907-1908, 1988.
- 176- REGH J.E.: Anticryptosporidial activity of lasalocid and other ionophorous antibiotics in immunosuppressed rats. *J Infect Dis* 168:1566-1569, 1993.
- 177- REINTHALER F.F., LINK G., KLEM G., MASCHER F., SIXL W.: Cryptosporidiosis in children with diarrhoea from slum areas in San Salvador. *Ann Trop Med Parasitol* 82:209-210, 1988.
- 178- REINTHALER F.F.: Epidemiology of criptosporidiosis in children in tropical countries. *J Hyg Epidemiol Immunology* 33 Supl:505-513, 1989.
- 179- RENE E., MARCHE C., REGNIER B., SAIMOT A.G., VILDE J.L., PERRONE C., MICHON C., WOLF M., CHEVALIER T., VILLOT T.: Intestinal infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome. A prospective study in 132 patients. *Dig Dis Sci* 34:773-780, 1989.
- 180- ROBERTS W.G., GREEN P.H., MA J., CARR M., GINSBERG A.M.: Prevalence of cryptosporidiosis in patients undergoing endoscopy: evidence for an asymptomatic carrier state. *Am J Med* 87:537-539, 1989.
- 181- RONCORONI A.J., GOMEZ M.A., MERA J., CAGNONI P., MICHEL M.S.: *Cryptosporidium* infection in renal transplant patients. *J Infect Dis* 160:559, 1989.
- 182- ROSALES M.J., MASCARO C., OSUNA A.: Ultrastructural study of *Cryptosporidium* development in Madin-Darby canine kidney cells. *Vet Parasitol* 45:267-273, 1993.
- 183- ROSENBLATT J.E., SLOAN L.M.: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. in stool specimens. *J Clin Microbiol* 31:1468-1471, 1993.
- 184- SALLON S., DECKELBAUM R.J., SCHMID I.I., HARLAP S., BARAS M., SPIRA D.T.: *Cryptosporidium*, malnutrition, and chronic diarrhea in children. *Am J Dis Child* 142:312-315, 1988.
- 185- SAUDA F.C., ZAMARIOLI L.A., EBNER-FILHO W., MELLO L. DE B.: Prevalence of *Cryptosporidium* sp. and *Isospora belli* among AIDS patients attending Santos Reference Center for AIDS, Sao Paulo, Brazil. *J Parasitol* 79:454-456, 1993.
- 186- SCAGLIA M., BRUNO A., CHICHINO G., ATZORI C., CEVINI C., GATTI S.: *Cryptosporidium parvum* life cycle in suckling mice: a Nomarski interference-contrast study of a hu-

- man-derived strain. *J Protozool* 38:118S-121S, 1991.
- 187- SELIK R.M., STARCHER E.T., CURRAN J.W.: Opportunistic disease in AIDS patients: frequencies, associations and trends. *AIDS* 1:175-182, 1987.
- 188- SHAHID N.S., RAHAMAN A.S.M.H., ANDERSON B.C., MATA L.J., SANYAL S.C.: Cryptosporidiosis in Bangladesh. *Br Med J* 290:114-115, 1985.
- 189- SHEPHERD R.C., SINHA G.P., REED CL., RUSSELL F.E.: Cryptosporidiosis in the West of Scotland. *Scott Med J* 33:365-368, 1988.
- 190- SLAVIND.: *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *J Comp Pathol* 65:262-266, 1955.
- 191- SLOPER K.S., DOURMASHKIN R.R., BIRD R.B., SLAVIN G., WEBSTER A.D.B.: Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child immunoglobulin deficiency. *Gut* 23:80-82, 1982.
- 192- SMITH P.D., LANE H.C., GILL V.J., MANISCHEWITZ J.F., QUINNAN G.V., FAUCI A.S., MASUR H.: Intestinal infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): etiology and response to therapy. *Ann Intern Med* 108:328-333, 1988.
- 193- SOAVE R., DANNER R.L., HONIG C.L., MA P, HART C.C., NASH T., ROBERTS R.B.: Cryptosporidiosis in homosexual men. *Ann Intern Med* 100:504-511, 1984.
- 194- SOAVE R., ARMSTRONG D.: *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Rev Infect Dis* 8:1012-1023, 1985.
- 195- STEMMERMANN G.N., HAYASHI T., GLOBER G.A., OISHI N., FRENKEL R.I.: Cryptosporidiosis: report of a fatal case complicated by disseminated toxoplasmosis. *Am J Med* 69:637-642, 1980.
- 196- STERLING C.R., ARROWOOD M.: Detection of *Cryptosporidium* sp. infections using a direct immunofluorescent assay. *Pediatr Infect Dis* 5:S139-S142, 1986.
- 197- STERLING C.R., SEEGAR K., SINCLAIR N.A.: *Cryptosporidium* as a causative agent of traveler's diarrhea. *J Infect Dis* 153:380-381, 1986.
- 198- STINE K.C., HARRIS J.A., LINDSEY N.J., CHO C.T.: Spontaneous remission of cryptosporidiosis in a child with acute lymphocytic leukemia. *Clin Pediatr* 24:722-724, 1985.
- 199- SUNDERMANN C.A., LINDSAY D.S., BLAGBURN B.L.: Evaluation of desinfectants for ability to kill avian *Cryptosporidium* oocysts. *Companion Anim Pract* 2:36-39, 1987.
- 200- TAYLOR J.P., PERDUE J.N., DINGLEY D., GUSTAFSON T.L., PATTERSON M., REED L.A.: Cryptosporidiosis outbreak in a day-care center. *Am J Dis Child* 139:1023-1025, 1985.
- 201- THOMSON M.A., BENSON J.W.T., WRIGHT P.A.: Two year study of *Cryptosporidium* infection. *Arch Dis Child* 62:559-563, 1987.
- 202- TYZZER E.E.: A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc Soc Exp Biol Med* 5:12-13, 1907.
- 203- TYZZER E.E.: *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in

- the small intestine of the common mouse. *Arch Protistenkd* 26:394-412, 1912.
- 204- TYZZER E.E.: Coccidiosis in gallinaeous birds. *Am J Hyg* 10:269-383, 1929.
- 205- TZIPORI S., CAMPBELL I., SHERWOOD D., SNODGRASS D.R.: An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection. *Vet Rec* 107:579-580, 1980.
- 206- TZIPORI S., ANGUS K.W., CAMPBELL I., GRAY E.W.: *Cryptosporidium*: evidence for a single-species genus. *Infect Immun* 30:884-886, 1980.
- 207- TZIPORI S., ANGUS K.W., CAMPBELL I., SHERWOOD D.: Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *N Engl J Med* 30:818, 1980.
- 208- TZIPORI S., CAMPBELL I.: Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. *J Clin Microbiol* 14:455-456, 1981.
- 209- TZIPORI S., MC CARTNEY E., LAWSON H.K., ROWLAND A.C.: Experimental infection of piglets with *Cryptosporidium*. *Res Vet Sci* 31:358-368, 1981.
- 210- TZIPORI S., ANGUS K.W., GRAY E.W., CAMPBELL I., ALLAN F.: Diarrhea in lambs experimentally infected with *Cryptosporidium* isolated from calves. *Am J Vet Res* 42:1400-1404, 1981.
- 211- TZIPORI S., ANGUS K.W., CAMPBELL I., SHERWOOD D.: Diarrhea in young red deer associated with infection with *Cryptosporidium*. *J Infect Dis* 144:170-175, 1981.
- 212- TZIPORI S., ANGUS K.W., CAMPBELL I., GRAY E.W.: Experimental infection of lambs with *Cryptosporidium* isolated from a human patient with diarrhoea. *Gut* 23:71-74, 1982.
- 213- TZIPORI S.: Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol Rev* 47:84-96, 1983.
- 214- TZIPORI S., ROBERTSON D., CHAPMAN C.: Remission of diarrhea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. *Br Med J* 293:1276-1277, 1986.
- 215- UNGAR B.L.P., NASH T.E.: Quantification of specific antibody responses to *Cryptosporidium* antigens by laser densitometry. *Infect Immun* 53:124-128, 1986.
- 216- UNGAR B.L.P., SOAVE R., FAYER R., NASH T.E.: Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons. *J Infect Dis* 153:570-578, 1986.
- 217- UNGAR B.L.P., GILMAN R.H., LANATA C.F., PEREZ-SCHAEL I.: Seroprevalence of *Cryptosporidium* infection in two Latin American populations. *J Infect Dis* 157:551-556, 1988.
- 218- UNGAR B.L.P., MULLIGAN M., NUTMAN T.R.: Serologic evidence of *Cryptosporidium* infection in US volunteers before and during Peace Corps service in Africa. *Arch Intern Med* 149:894-897, 1989.
- 219- UNGAR B.: Cryptosporidiosis in humans in: *Cryptosporidiosis in man and Animals*. p. 59-83. Dubey J.P., Soper

- C.A., Fayer R. eds. CRC Press, Boca Ratón, F.I., 1990.
- 220- UPTON S.J., CURRENT W.L.: The species of *Cryptosporidium* (*Apicomplexa*, *Cryptosporidiidae*) infecting mammals. *J Parasitol* 71:625-629, 1985.
- 221- UZCATEGUI Z., MEJIAS A., BAEZ A.E., DARRICARRERE R.T.: Criptosporidiosis en huéspedes comprometidos. Resumen. *Acta Cient Vlna* 35 (Supl 1):333, 1984.
- 222- VANDEPITTE J., ROBRECHTS J., VANNESTE S.T.: *Cryptosporidium* causing severe enteritis in a belgian immunocompetent patient. *Acta Clin Belg* 40:43-47, 1985.
- 223- VARGAS S.L., SHENEP J.L., FLYNN P.M., PUI C.H., SANTANA V.M., HUGHES W.T.: Azithromycin for treatment of severe *Cryptosporidium* diarrhea in two children with cancer. *J Pediatr* 123:154-156, 1993.
- 224- VETTERLING J.M., JERVIS H.R., MERRIL T.G., SPRINZ H.: *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus. *J Protozool* 18:243-247, 1971.
- 225- VETTERLING J.M., TAKEUCHI A., MADDEN P.A.: Ultrastructure of *Cryptosporidium wrairi* from the guinea pig. *J Protozool* 18:248-260, 1971.
- 226- VITOVEC J.: Variable localization of cryptosporidia in the intestine of spontaneously infected calves. *Vet Med (Prague)* 29:201-205, 1984.
- 227- WALSH J.A., WARREN K.S.: Selective primary care. An interim strategy for disease control in developing countries. *N Engl J Med* 301:967-974, 1979.
- 228- WALTERS I.N., MILLER N.M., VAN DEN ENDE J., DEES G.C., TAYLOR L.A., TAYNTON L.F., BENNETT K.J.: Outbreak of cryptosporidiosis among young children attending a daycare centre in Durban. *S Afr Med J* 74:496-499, 1988.
- 229- WEBER J., PHILIP S.: Human cryptosporidiosis. *N Engl J Med* 309:1326, 1983.
- 230- WEBER R., BRYAN R.T., BISHOP H.S., WAHLQUIST S.P., SULLIVAN J.J., JURANEK D.D.: Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in humans stool specimens: evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 29:1323-1327, 1991.
- 231- WEBER R., BRYAN R.T., JURANEK D.D.: Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 30:2869-2873, 1992.
- 232- WHITESIDE M.E., BARKIN J.S., MAY R.G., WEISS S.D., FISCHL M.A., MCLEOD C.L.: Enteric coccidiosis among patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 33:1065-1072, 1984.
- 233- WIATA I.T.: *Cryptosporidium* infestation in hospitalized urban children. *N Z Med J* 98:349, 1985.
- 234- WITTENBERG D.F., MILLER N.M., VAN DEN ENDE J.: Spiramycin is not effective in treating *Cryptosporidium* diarrhea in infants: results of a double-blind randomized trial. *J Infect Dis* 159:131-132, 1989.
- 235- WOLFSON J.S., HOPKINS C.C., WEBER D.J., RICHTER J.M., WALDRON M.A., MCCARTHY D.M.: An

- association between *Cryptosporidium* and *Giardia* in stool. N Engl J Med 310: 788-790, 1984.
- 236- WOLFSON J.S., RICHTER J.M., WALDRON M.A., WEBER D.J., MCCARTHY D.M., HOPKINS C.C.: Cryptosporidiosis in immunocompetent patients. N Engl J Med 312:1278-1282, 1985.
- 237- XIAO L., HERD R.P.: Quantitation of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples by direct immunofluorescence assay. J Clin Microbiol 31:2944-2946, 1993.
- 238- XIAO L., HERD R.P., RINGS D.M.: Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assays. Vet Parasitol 47:17-23, 1993.
- 239- ZIERDT W.S.: Concentration and identification of *Cryptosporidium* sp. by use of parasite concentrator. J Clin Microbiol 20:860-861, 1984.
- 240- ZU S.X., GUERRANT R.L.: Cryptosporidiosis. J Trop Pediatr 39:132-136, 1993.