

OCURRENCIA DE *Isospora belli*, *Cryptosporidium* spp Y *Cyclospora cayetanensis* EN PACIENTES URBANOS EVALUADOS POR SÍNTOMAS GASTROINTESTINALES CON O SIN INMUNOSUPRESIÓN

Nathalie Chacón ¹, Raquel Salinas ², Emily Kuo ³, Carmen E Durán,⁴ Wilfredo Márquez ⁵, Rosa Contreras ⁶

RESUMEN: Este estudio de corte transversal, estimó la ocurrencia de infecciones por coccidias intestinales (CI) en pacientes urbanos procedentes de Caracas-Venezuela. Se analizaron, 1 831 referencias de pacientes externos de ambos sexos y con edad promedio \pm desviación estándar de 28,8 \pm 22,93 años. En la Sección de Geohelmintiasis del Instituto de Medicina Tropical (SGH-IMT), se evaluaron 4 650 muestras de heces seriadas, por examen directo, formol tritón éter y Baermann, pertenecientes a 1 550 pacientes. Adicionalmente, la prueba de Ziehl-Neelsen modificada, se aplicó a las muestras fecales de 150 pacientes, por solicitud del médico tratante o sugerencia de SGH-IMT. La eosinofilia (40,54 %; 225/555) constituyó el principal motivo de referencia y consulta. El promedio \pm DS de conteo absoluto de eosinófilo (3 151 \pm 5 161) demostró eosinofilia leve (63/204) y moderada (25/204). Otros motivos de consulta fueron: dolor abdominal (27,72 %; 122/440), náuseas/vómitos (19,03 %; 83/436), pujo/tenesmo (16,05 %; 70/436) y por último, la consistencia líquida de las heces (4,87 %; 74/1 477). Los parasitados (43,7 %; 677/1 550) presentaron evacuaciones pastosa (81,25 %; 494/608) y blandas (37 %; 57/608). Sólo, 5,92 % (36/608) presentaron consistencia líquida. La prueba de Ziehl-Neelsen modificada demostró 12 casos positivos (8 %) para CI: *Isospora belli* (5,33 %; 8/150), *Cryptosporidium* spp (2 %; 3/150) y *Cyclospora cayetanensis* (0,66 %; 1/150). El único caso de ciclosporiasis estaba co-infectado con *Blastocystis hominis* y no presentó cambios en la consistencia de las heces. Estos resultados apoyan la idea de que los médicos interconsultantes soliciten la aplicación de exámenes coproparasitológicos adicionales, en forma seriada, de bajo costo, para evaluar pacientes inmunocompetentes urbanos, con síntomas gastrointestinales/eosinofilia, aun en ausencia de diarrea, ya que los métodos básicos de rutina utilizados fallan en el diagnóstico parasitario certero, subestimando las coccidiosis.

Palabras clave: Coccidias intestinales, *Cryptosporidium*, *Isospora*, *Cyclospora*, Salud urbana.

ABSTRACT: These two years follow up; cross-sectional study estimates the occurrence of intestinal coccidias in urban patients from the metropolitan area of Caracas-Venezuela. One thousand eight hundred thirty one outpatient case reports were analyzed, both sex and 28.8 \pm 22.93 years. Soil-transmitted helminthes laboratory of the Tropical Medicine Institute (SGH-IMT) evaluated 4 650 feces samples from 1 550 outpatients by direct, formol triton ether and Baermann techniques. Additionally, modified Ziehl-Neelsen, were done because of clinicians or SGH-IMT suggestion for 150 outpatients. Eosinophilia (40.54 %; 225/555) was the major cause of referral and consultation. The mean of the absolute count of eosinophils (3 151 \pm 5 161) showed low (63/204) and moderate (25/204) eosinophilia. Other causes of consultation were: abdominal pain (27.72 %; 122/440), nausea/vomiting (19.03 %; 83/436), tenesmus/constipation (16.05 %; 70/436) and finally, liquid fecal consistency (4.87 %; 74/1477).

¹ Profesor Agregado. Sección de Geohelmintiasis y Cátedra de Medicina Tropical. Instituto de Medicina Tropical y Escuela "Luis Razetti". Universidad Central de Venezuela

² Estudiante de 5to año de Medicina. Escuela "Luis Razetti". Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela

³ Microbióloga. Universidad de Yale. Asistente de investigación en la Sección de Geohelmintiasis.

⁴ Profesor Instructor. Cátedra de Parasitología. Escuela "Luis Razetti". Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela

⁵ Auxiliar de laboratorio. Sección de Geohelmintiasis. Instituto de Medicina Tropical. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.

⁶ Auxiliar docente. Cátedra de Parasitología. Escuela "Luis Razetti". Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela

Recibido: 20 -07-09 Aceptado: 15-10-09

Parasite infected patients (43.7 %; 677/1550) had normal (81.25 %; 494/608) and semi liquid feces (37 %; 57/608). Only, 5.92 % (36/608) had liquid consistency. Modified Ziehl-Neelsen demonstrates 12 positive IC (8 %) for: Isospora belli (5.33 %; 8/150), Cryptosporidium spp (2 %; 3/150) and Cyclospora cayetanensis (0.66 %; 1/150). The only case of cyclosporidiosis was co-infected with Blastocystis hominis and had normal feces. These results agrees with the idea for clinicians to ask for additional, low cost, serial parasitological test in feces, to evaluate urban immunocompetent outpatients, with gastrointestinal symptoms/eosinophilia, even without diarrhea, because the basic feces techniques, used routinely, fails to make the precise parasite diagnostic, underestimating coccidiosis.

Key words: Coccidiosis, Cryptosporidium, Isospora, Cyclospora, Urban health

INTRODUCCIÓN

Las parasitosis intestinales tropicales, afectan principalmente a los países en vías de desarrollo y constituyen un problema de salud pública, relacionado muchas veces con la falta de agua potable y la contaminación fecal de los suelos ⁽¹⁾.

La Organización Mundial de la Salud, clasifica las parasitosis intestinales, como enfermedades tropicales desasistidas (ETD) ⁽²⁾. Incluye a trece enfermedades parasitarias y bacterianas, entre ellas, las geohelmintiasis (ascariosis, infecciones por anquilostomídeos y trichuriasis), filariasis linfática, oncocercosis, esquistosomosis, dracunculosis, enfermedad de Chagas, tripanosomosis africana, leishmaniosis, úlcera de Buruli, lepra y tracoma ⁽³⁾. Una lista expandida incluye fiebre por dengue, trematodiosis por alimentos, leptospirosis, strongiloidosis, neurocisticercosis y otras enfermedades tropicales, que incluye las coccidias intestinales. Las ETD son infecciones comunes que afectan 2.7 billones de personas aproximadamente que viven con menos de 2 dólares por día. Estas enfermedades ocurren en áreas rurales y zonas sub-urbanas pobres de países con bajos ingresos económicos o con mala distribución de los mismos per capita, como son Africa sub-Sahariana, Asia y Latinoamérica. Las ETD se caracterizan por ser enfermedades crónicas, incapacitantes y que contribuyen al ciclo de la pobreza. La pobreza podría resultar de la discapacidad o de secuelas, problemas durante el embarazo y reducción de la capacidad productiva ⁽⁴⁾. Algunas estimaciones consideran que las ETD ocupan el segundo lugar en importancia, sólo después de HIV/SIDA, con 57 millones de afectados por año ⁽⁵⁾ y el cuarto lugar, en relación con las enfermedades de comunicación obligatoria a nivel mundial, por debajo de las infecciones respiratorias, HIV/SIDA y enfermedades diarreicas.

En muchos casos, los signos y síntomas podrían orientar al médico tratante sobre la posible etiología viral, bacteriana o parasitaria de un cuadro gastrointestinal ⁽⁶⁾.

El clínico puede plantearse diferentes diagnósticos presuntivos. Existen probabilidades para que cada uno de estos diagnósticos pudiera llegar a ser el diagnóstico definitivo. Dicha probabilidad podría guiar al clínico al uso de métodos de laboratorio para un correcto diagnóstico, en este caso, para descartar causas parasitarias. Y posteriormente aplicar la terapia específica buscando la erradicación parasitaria y la mejoría de la sintomatología de los pacientes que consultan ⁽⁷⁾.

Uno de los grupos de parásitos que requieren exámenes específicos para su diagnóstico son las coccidias intestinales, siendo la coloración de Ziehl-Neelsen modificada, uno de los exámenes no rutinarios que permiten su identificación y que no se realiza si no es solicitado por el médico interconsultante ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

La literatura describe que las coccidias intestinales (*Cryptosporidium* spp, *Isospora belli* y *Cyclospora cayetanensis*) son los parásitos más frecuentemente asociados con diarrea persistente, crónicas y con pérdida de peso, en casos avanzados de pacientes con VIH/SIDA ⁽¹¹⁻¹⁶⁾. Asimismo, se han descrito como uno de los parásitos asociados a cuadros de diarrea en niños menores de 5 años con prevalencias que varían desde 7,7 % ⁽¹⁷⁾ hasta 85,1 % ⁽¹⁸⁾.

Sin embargo, en otros estudios se encontraron casos de parasitismo por coccidias intestinales en pacientes inmunocompetentes ⁽¹⁹⁾ y con evacuaciones no diarreicas ^(20,21). Las coccidias intestinales requieren de una coloración especial de la muestra fecal, por lo que generalmente, son subdiagnosticadas ⁽²²⁾.

Es importante recordar a los clínicos que hay exámenes específicos que se deben realizar para evaluar completamente a pacientes con síntomas gastrointestinales crónicos, independientemente de su estado inmunológico y de la presencia de diarrea, principalmente, en quienes no se concluye el diagnóstico

parasitológico con los exámenes de rutina ^(7,21,23).

MÉTODOS

Este estudio descriptivo, de corte transversal, de 24 meses de duración (desde enero de 2006 hasta diciembre de 2007) estimó la ocurrencia de infecciones por coccidias intestinales (CI) en pacientes urbanos, en su mayoría inmunocompetentes.

En un trabajo previo de este grupo, se demostró la importancia de la referencia médica en el diagnóstico de parasitosis intestinales ⁽⁹⁾. A partir de enero de 2006, se inició en la Sección de Geohelmintiasis, la utilización de una referencia clínico-epidemiológica a todo paciente que acudiera a la realización de un estudio coproparasitológico. Dicha referencia debía ser llenada preferiblemente por el médico tratante. Pocos médicos cumplieron con este requisito., por lo que decidimos mejorar el instrumento y realizar la toma de los datos de esta referencia médica, en la misma Sección, a todos los pacientes asistentes. Todos los participantes fueron evaluados por métodos coproparasitológicos seriados (Directo, Formol tritón éter y Baermann) descrito antes ⁽⁹⁾ y sólo aquellos con criterios de síntomas gastrointestinales crónicos, se les realizó la coloración de Ziehl-Neelsen modificada para determinar coccidias intestinales, independientemente de la presencia de diarrea o de su estado de inmunocompetencia.

Técnica de Ziehl Neelsen modificada

Esta técnica fue descrita inicialmente por Briggs y Jennison ⁽²⁴⁾ como una variante de la técnica de Ziehl Neelsen utilizada para la identificación de micobacterias. Posteriormente, fue utilizada en el campo veterinario ⁽²⁵⁾ y luego, para el diagnóstico de coccidias intestinales en humanos ^(26,27). A 150 pacientes se les realizó la técnica de Ziehl Neelsen modificada. Se procede realizando la fijación del frotis de sedimento de materia fecal sobre un puente de tinción como se describe en la literatura ⁽⁹⁾. Una vez seco, se procede a la coloración con fucsina fenicada de Ziehl-Neelsen al 1 % con etanol al 10 % diluida en fenol (fucsina básica, etanol 95 % y fenol 5 %) durante 20 minutos. Se lava con agua corriente y se decolora con ácido-alcohol al 3 %, (decolorante para la tinción Ziehl-Neelsen con ácido clorhídrico concentrado y etanol 95 %). Se lava nuevamente con agua corriente y se procede a colorear con azul de metileno al 1 % durante 1 minuto, se lava, se deja secar. Las muestras teñidas fueron examinadas con

microscopio de luz por inmersión (1 000 X). Con esta coloración los ooquistes de las coccidias intestinales se tiñen de color rosado intenso, con bordes definidos, sobre un fondo azul contrastante.

RESULTADOS

Se recibieron un total de 1 831 referencias de pacientes externos procedentes de la gran Caracas (66,17 % del Distrito Capital, Miranda y Vargas) de ambos sexos (47 % femenino y 51,6 % masculino) y con un promedio \pm desviación estándar (DS) de edad de $28,8 \pm 22,93$ años.

El principal motivo de consulta de los pacientes externos asistentes a la Sección de Geohelmintiasis del Instituto de Medicina Tropical, fue la eosinofilia (40,54 %; 225/555 seguido de otros motivos de consulta como: dolor abdominal, náuseas y/o vómitos, pujo y/o tenesmo finalizando con diarrea líquida (Tabla 1).

Tabla 1
Principales motivos de consulta según la referencia médica de los pacientes externos de la Sección de Geohelmintiasis. Instituto de Medicina Tropical. Enero 2006 a diciembre 2007

Motivos de consulta	n/N	%
Eosinofilia	225/555	40,54%;
Dolor abdominal	122/440	27,72
Náuseas y/o vómitos	83/436	19,03
Pujo y/o tenesmo	70/436	16,05
Diarrea líquida	74/1477	4,87

Se evaluaron 4 650 muestras de heces por métodos coproparasitológicos (Directo, formol tritón éter, Baermann) pertenecientes a 1 550 pacientes. El 43,67 % de estos pacientes se encontraron parasitados (677/1550). Las principales causas de infección parasitaria, en orden de frecuencia, fueron *Blastocystis hominis*, *Ascaris lumbricoides* e *Isospora belli* (Tabla 2).

El estudio macroscópico de las heces indicó que la mayoría de los infectados con parasitosis intestinales, presentaron evacuaciones cuya consistencia era pastosa (81,25 %; 494/608) y blanda (37 %; 57/608). Sólo 5,92 % (36/608) presentaron consistencia líquida.

Tabla 2
Principales parasitosis encontradas por las técnicas coprológicas de lugol-salina, formol-tritón-éter, Baermann y Ziehl-Neelsen modificado en la Sección de Geohelmintiasis. Instituto de Medicina Tropical. Enero 2006 - diciembre 2007

	Blastocystis hominis (%)	Isospora belli (%)	Ascaris lumbricoides (%)	
Parasitados (%)	677 (43,67)	84 (5,5%)	8 (5,33%)	48 (3,1%)
No parasitados (%)	873 (56,32)	1 457	1 534	1 494
Total	1 550	1 541	1 542	1 542
Sin datos	281	290	289	289
Total	1 831			

Adicionalmente, sólo a 150 pacientes se les realizó la técnica de Ziehl-Neelsen modificada, por solicitud del médico tratante o sugerencia del personal de nuestro laboratorio. La técnica de Ziehl Neelsen modificada demostró 12 casos positivos (8 %) distribuidos así: *Isospora belli* (5,33 %; 8/150), *Cryptosporidium* spp (2 %; 3/150) y *Cyclospora cayetanensis* (0,66 %; 1/150) (Tabla 3). En 43 (28,6%) pacientes de todos los pacientes evaluados para CI se evidenció diarrea líquida, en 4 de estos se identificó *Isospora belli* como única causa. En 44 (29,33 %) las evacuaciones fueron blandas, en 4 de éstas se identificaron *Cryptosporidium* spp (2) e *Isospora belli* (2), respectivamente como única causa. El único caso de ciclosporiasis estaba coinfectado con *Blastocystis*

hominis y no presentó cambios en la consistencia de las heces. Sólo en un paciente se determinó el antecedente de HIV positivo y era menor de 12 años, 5 pacientes desconocían el resultado de serología para HIV y en los 6 restantes no se pudo determinar este dato (Tabla 4).

Se demostraron otros parásitos intestinales, en el siguiente orden de ocurrencia: *Blastocystis hominis* (5,5 %), *Ascaris lumbricoides* (3,1 %), *Entamoeba coli* (2,7 %), *Giardia intestinalis* (2,5 %), *Strongyloides stercoralis* (1 %) y *Trichuris trichiura* (0,9 %).

El promedio \pm DS (3 151 \pm 5 161) del conteaje absoluto de eosinófilo (CAE en 204/1 831) demostró sólo eosinofilia leve (63/204) y moderada (25/204) para el grupo de estudio. No se pudo determinar el CAE en los pacientes con CI.

Tabla 3

Pacientes externos estudiados por la técnica de Ziehl-Neelsen modificado para descartar coccidias intestinales en la Sección de Geohelmintiasis. Instituto de Medicina Tropical. Enero 2006 - diciembre 2007

Técnica de Ziehl-Neelsen modificado	Isospora belli (5,33%)	Cryptosporidium spp. (2%)	Cyclospora cayetanensis (0,66%)
Positivos	8	3	1
Negativos	142	147	149
Total realizados	150		
Total no realizados	1 397		
Sin datos	284		
Total	1 831		

Tabla 4

Pacientes externos infectados con coccidias intestinales, técnica de Ziehl-Neelsen modificada, estado de inmunocompetencia, consistencia de heces, infección única o co-infección

Parasitosis	Kinyoun solicitado	Kiyoun realizado	Inmuno-comprometido no HIV	Inmuno-comprometido HIV positivo	Evacuaciones Líquidas	Consistencia Diarrea/blanda/pastosa	Mono-parasitosis	Co-infección
Isosporiosis	1	8	1	0	4	4/2/2	8	0
Cryptosporidiosis	2	3	0	1	0	0/2/1	3	0
Cyclosporidiosis	0	1	0	0	0	0/0/1	0	1
Total realizados			150					
Total no realizados			1 397					
Sin datos			284					
Total			1 831					

Sección de Geohelminthiasis. Instituto de Medicina Tropical. Enero 2006 - diciembre 2007

DISCUSIÓN

Este trabajo muestra los resultados de la ocurrencia de coccidias intestinales, principalmente por *Isospora belli*, en pacientes urbanos de la región capital venezolana. *Isospora belli*, junto con *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora cayetanensis*, se encuentran estrechamente asociados con diarreas crónicas en humanos ⁽²⁸⁻³¹⁾. Las coccidias intestinales son importantes patógenos emergentes ⁽³²⁾, capaces de producir enfermedad, tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunocomprometidos ⁽²⁹⁾, adquiriendo, en estos últimos, mayor relevancia ⁽⁸⁾. Particularmente, desde el punto de vista clínico, la criptosporosis es indistinguible de la isosporosis, de allí la importancia de realizar el diagnóstico parasitológico empleando coloraciones específicas ⁽²⁷⁾, sin embargo, frente a inmunosupresiones por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) los pacientes con isosporosis tiene una elevada frecuencia de infecciones recurrentes, lo cual pudiese controlarse con terapias antivirales que garanticen una respuesta celular apropiada ⁽³³⁾. De manera adicional, clínicamente la ciclosporosis ⁽³⁴⁾ se manifiesta como una diarrea autolimitada de dos a seis semanas de duración en inmunocompetentes ^(35,36) y diarrea crónica intermitente en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ^(37,38). Es una diarrea acuosa con extrema fatiga, anorexia, dolores abdominales, flatulencia, fiebre y pérdida de peso ^(39,40). Los ooquistes de este microorganismo son excretados

por la materia fecal por unos 23 días promedio durante el período de estado. En este mismo orden de ideas, en la presente investigación se estudió el caso de un paciente de 8 años de edad inmunosuprimido por HIV, presentando una consistencia pastosa en las heces e infectado con *Cryptosporidium* spp. Múltiples estudios a nivel de biología molecular, acompañan al diagnóstico coproparasitológico de estas coinfecciones con el fin de evitar falsos negativos ⁽⁴¹⁾. Lo anterior guarda relación con la escasa eliminación de ooquistes en las evacuaciones de pacientes con SIDA, por lo que reviste importancia implementar técnicas inmunológicas ^(42,43) que enriquezcan el diagnóstico realizado a través de los métodos coprológicos, pues pudiesen encontrarse pacientes con SIDA falsos negativos para las coccidias, principalmente por *Cryptosporidium* spp.

En esta investigación estuvo presente un caso de co-infección *Cyclospora belli*-*Blastocystis hominis*. Investigaciones preliminares ⁽⁴⁴⁾ han encontrado asociación referente al medio de transmisión (por ejemplo, agua contaminada) con *Cryptosporidium* ^(45,46) *Cyclospora* y *Giardia*. Fácilmente las coccidias al compartir el mismo medio de infección de otros protozoarios, para el caso *Giardia* ⁽⁴⁷⁾ o *Blastocystis*, se hace expedita su incorporación al humano, la posterior colonización de distintos hábitat definitivos, igualmente contribuye a la proliferación y sobrevivencia por separado de ambos parásitos, en términos ecológicos

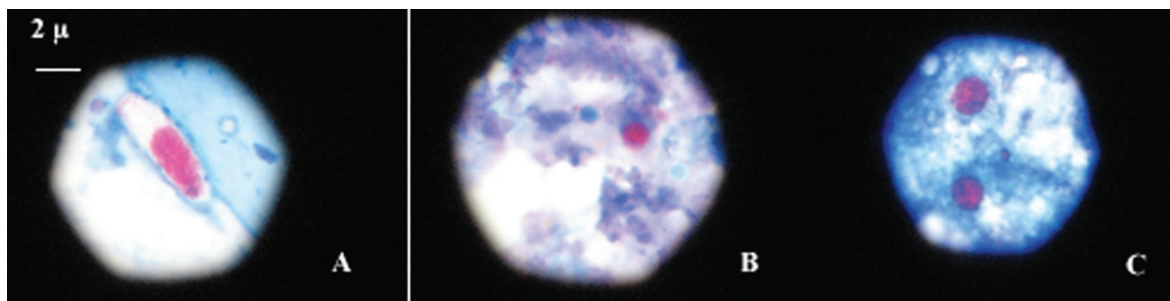


Figura 1. Coccidias intestinales en la Sección de Geohelminthiasis. Instituto de Medicina Tropical. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Enero de 2006 a diciembre de 2007.
A. *Isospora belli*. B. *Cryptosporidium* spp. C. *Cyclospora cayetanensis*.

no existe solapamiento de nichos, propiciándose de esta manera la co-infección.

De los pacientes evaluados para coccidias intestinales, presentaron diarrea o evacuaciones líquidas en 18 de 102, identificándose *Isospora belli* en 4 pacientes como única causa. Se hace propicio realizar un hemograma, como método paraclínico, para evidenciar eosinofilia⁽³⁷⁾ y no limitarse únicamente a la clínica relacionada con alteraciones gastrointestinales. Es importante resaltar que el primer motivo de consulta en este estudio transversal fue la eosinofilia.

El diagnóstico epidemiológico, igualmente, es importante debido a que estas parasitosis se relacionan con diarreas del viajero⁽⁴⁸⁾, como lo señalan algunos investigadores de países desarrollados, quienes toman en cuenta las estancias y visitas a países tropicales^(49,50).

Sólo uno de los 12 pacientes con coccidias intestinales, era HIV positivo, por lo que este estudio apoya la idea de que los clínicos deben recordar la aplicación de exámenes coproparasitológicos adicionales, factibles y de bajo costo, para evaluar pacientes inmunocompetentes urbanos con síntomas gastrointestinales crónicos/eosinofilia, aun en ausencia de diarrea, ya que los métodos de rutina no hacen el diagnóstico.

AGRADECIMIENTOS

A todos nuestros pacientes.

Este trabajo fue financiado por el aporte de la empresa privada, **Laboratorios Novapharma, S.A.** Proyecto LOCTI-2007 “*Estudio descriptivo de las principales causas parasitarias de diarrea o no en pacientes externos atendidos en la Sección de Geohelminthiasis*”. Facultad

de Medicina-Universidad Central de Venezuela. Caracas, 2007-2009.

Agradecemos al CDCH-UCV por el financiamiento parcial para asistir a las XVI Jornadas Nacionales y XIII Jornadas Nororientales de Infectología, con el fin de presentar este trabajo.

Este trabajo fue aceptado y presentado como póster, en las XVI Jornadas Nacionales y XIII Jornadas Nororientales de Infectología, organizado por la Sociedad Venezolana de Infectología.

REFERENCIAS

1. OPS/OMS. La salud en las Américas. 1998;II:571-586.
2. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Programa de Publicaciones de la OPS. Enfermedades desatendidas: página de búsqueda para información de OPS y OMS. [en línea] [7 páginas] [fecha de acceso 20 de agosto de 2007] URL disponible en: <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/neglected-diseases.htm>.
3. Hotez P, Molyneux D, Fenwick A, Kumaresan J, Ehrlich S, Sachs J, et al. Control of Neglected Tropical Diseases. N Engl J Med. 2007;357:1018-1027.
4. Hotez P, Raff S, Fenwick A, Richards F Jr, Molyneux DH. Recent progress in integrated neglected tropical disease control. Trends Parasitol. 2007;23:511-514.
5. Hotez P, Stoeber K, Fenwick A, Molyneux D, Savioli L. The neglected epidemic of chronic diseases (letter). Lancet. 2006.
6. Goodgame R. A Bayesian approach to acute infectious diarrhea in adults. Gastroenterol Clin North Am. 2006;35:249-273.
7. Zdero M, Cabrera G, Ponce de León P, Nocito I, Echenique C. Parasitosis in an adult population with chronic gastrointestinal disorders. Acta Gastroenterol Latinoam. 1997;27:67-73.
8. Ribes JA, Seabolt JP, Overman SB. Point prevalence of *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, and *Isospora* infections in patients being evaluated for diarrhea. Am J Clin Pathol. 2004;122:28-32.
9. Chacón N, Contreras R, Marquez W, Salinas R, Romero J. Importancia de la referencia médica en el diagnóstico de parasitosis

- intestinales por métodos coproparasitológicos. Rev Fac Med. 2007;30:90-96.
10. Aksoy U, Tuncay S. Short communication: Investigation of intestinal coccidia in patients with diarrhea] Mikrobiyol Bul. 2007;41:127-131.
 11. Chacin-Bonilla L, Panunzio AP, Monsalve-Castillo FM, Parra-Cepeda IE, Martinez R. Microsporidiosis in Venezuela: Prevalence of intestinal microsporidiosis and its contribution to diarrhea in a group of human immunodeficiency virus-infected patients from Zulia State. Am J Trop Med Hyg. 2006;74:482-486.
 12. Endeshaw T, Kebede A, Verweij JJ, Zewide A, Tsige K, Abraham Y, et al. Intestinal microsporidiosis in diarrheal patients infected with human immunodeficiency virus-1 in Addis Ababa, Ethiopia. Jpn J Infect Dis. 2006;59:306-310.
 13. Wiwanitkit V. Intestinal parasite infestation in HIV infected patients. Curr HIV Res. 2006;4:87-96.
 14. Ribeiro PC, Pile E, Queiroz MM, Norberg AN, Tenório JR. Cryptosporidiosis occurrence in HIV+ patients attended in a hospital, Brazil. Rev Saude Publica. 2004;38:469-470.
 15. Arenas-Pinto A, Certad G, Ferrara G, Castro J, Bello MA, Núñez LT. Association between parasitic intestinal infections and acute or chronic diarrhoea in HIV-infected patients in Caracas, Venezuela. Int J STD AIDS. 2003;14:487-492.
 16. Shenoy S, Baliga S, Kurnvilla T, Prashanth HV, Dominic RM. Opportunistic intestinal parasitic infections in human immunodeficiency virus infected patients in Mangalore, South India. Trop Doct. 2003;33:250.
 17. Kassi RR, Kouassi RA, Yavo W, Barro-Kiki CP, Bamba A, Menan HI, et al. Cryptosporidiosis and isosporiasis in children suffering from diarrhoea in Abidjan. Bull Soc Pathol Exot. 2004;97:280-282.
 18. Schnack FJ, Fontana L, Barbosa PR, Silva LS, Baillargeon CM, Barichello T, et al. Enteropathogens associated with diarrheal disease in infants (< 5 years old) in a population sample in Greater Metropolitan Criciúma, Santa Catarina State, Brazil. Cad Saude Publica. 2003;19:1205-1208.
 19. DuPont HL, Chappell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubowski W. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. N Engl J Med. 1995;332:855-859.
 20. Mirzaei M. Prevalence of *Cryptosporidium* sp. infection in diarrheic and non-diarrheic humans in Iran. Korean J Parasitol. 2007;45:133-137.
 21. Chacón N, Salinas R, Kuo E, Marquez W, Contreras R. Ocurrancia de *Isospora belli*, *Cryptosporidium* spp y *Cyclospora cayetanensis* en pacientes urbanos evaluados por síntomas gastrointestinales y eosinofilia. Bol Venez Infect. 2007;18:66.
 22. Vesey G, Griffiths KR, Gauci MR, Deere D, Williams KL, Veal DA. Int J Parasitol. Simple and rapid measurement of *Cryptosporidium* excystation using flow cytometry. 1997;27:1353-1359.
 23. Cimerman S, Cimerman B, Lewi DS. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. Int J Infect Dis. 1999;3:203-206.
 24. Briggs GO, Jennison MH. Fluorescence microscopy and the modified Ziehl-Neelsen technique. Tubercle. 1948;29:252-255.
 25. Henriksen SA, Pohlenz JF. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Vet Scand. 1981;22:594-596.
 26. Garcia LS, Bruckner DA, Brewer TC, Shimizu R Y. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. J Clin Microbiol. 1983;18:185-190.
 27. Bonifacino R. Diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. Por la técnica de Ziehl Neelsen modificada. Rev Soc Urug Parasitol. 1987; 1: 7-14.
 28. Sanad MM, Al-Malki JS. Cryptosporidiosis among immunocompromised patients in Saudi Arabia. J Infect Dis. 2007;196:684-691.
 29. Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Chavez-Valdez R, Vargas D, et al. Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. Am J Trop Med Hyg. 2005;73:54-57.
 30. Certad G, Arenas-Pinto A, Pocaterra L, Ferrara G, Castro J, Bello A, et al. Cryptosporidiosis in HIV-infected Venezuelan adults is strongly associated with acute or chronic diarrhea. Acta Gastroenterol Latinoam. 2004;34:133-137.
 31. Velásquez JN, Carnevale S, Cabrera M, Kuo L, Chertcoff A, Mariano M, et al. *Cyclospora cayetanensis* in patients with AIDS and chronic diarrhea. Acta Gastroenterol Latinoam. 2004;34:133-137.
 32. Easow JM, Mukhopadhyay C, Wilson G, Guha S, Jalan BY, Shivananda PG. Emerging opportunistic protozoa and intestinal pathogenic protozoal infestation profile in children of western Nepal. Nepal Med Coll J. 2005;7:134-137.
 33. Soave R. Cryptosporidiosis and isosporiasis in patients with AIDS. Infect Dis Clin North Am. 1988;2:485-493.
 34. Organización Panamericana de la Salud. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 17ª edición. Washington: OPS; 2001:98-99.
 35. Sancak B, Akyon Y, Ergüven S. *Cyclospora* infection in five immunocompetent patients in a Turkish university hospital. J Med Microbiol. 2006;55:459-462.
 36. Devera R, Blanco Y, Cabello E. High prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among indigenous people in Bolivar State, Venezuela. Cad Saude Publica. 2005;21:1778-1784.
 37. Certad G, Arenas-Pinto A, Pocaterra L, Ferrara G, Castro J, Bello A, et al. Isosporiasis in Venezuelan adults infected with human immunodeficiency virus: Clinical characterization. Am J Trop Med Hyg. 2003;69:217-222.
 38. Tadesse A, Kassu A. Intestinal parasite isolates in AIDS patients with chronic diarrhea in Gondar Teaching Hospital, North West Ethiopia. Ethiop Med J. 2005;43:93-96.
 39. Soave R, Johnson W. *Cyclospora*: Conquest of an emerging pathogen. Lancet. 1995;345(8951):667.
 40. Clarke S, McIntyre M. Human infection with *Cyclospora*. J Infect Dis. 1994;29:112.
 41. Majewska AC, Sulima P, Werner A, Barańkiewicz G, Juszczyk J, Pieniazek NJ. Cryptosporidiosis in HIV-positive patients. Wiad Parazytol. 1999;45:125-128.
 42. Weitz JC, Astorga B. *Cryptosporidium parvum* in patients with chronic diarrhea and AIDS: Diagnosis by means of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies. Rev Med Chil. 1993;121:923-926.
 43. Silva CV, Ferreira MS, Gonçalves-Pires Mdo R, Costa-Cruz JM. Detection of *Cryptosporidium*-specific coproantigen in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients by using a commercially available immunoenzymatic assay. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98:1097-1099.
 44. Wright MS, Collins PA. Waterborne transmission of *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Giardia*. Clin Lab Sci. 1997;10:287-290.

45. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cryptosporidiosis outbreaks associated with recreational water use--five states, 2006. 2007; 56:729-732.
46. Helmy MM, Rashed LA, Abdel-Fattah HS. Co-infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* in immunocompromised patients. J Egypt Soc Parasitol. 2006; 36:613-627.
47. Koru O, Araz E, Inci A, Tanyuksel M. Co-infection of *Giardia intestinalis* and *Cyclospora cayetanensis* in an immunocompetent patient with prolonged diarrhea: Case report. J Microbiol. 2006;44:360-362.
48. Alonso Socas MM, Alemán R, López Lirola R, Castellano A, Martín Ponce E, Gómez Sirvent JL. Diarrhoea in the traveler. An Sist Sanit Navar. 2006;29(Suppl 1):127-138.
49. Christenson JC. Preparing children for travel to tropical and developing regions. Pediatr Ann. 2004;33:676-684.
50. Cabada MM, Maldonado F, Quispe W, Serrano E, Mozo K, Gonzales E, et al. Pretravel health advice among international travelers visiting Cuzco, Peru. J Travel Med. 2005; 12:61-65.

CORRESPONDENCIA: Nathalie Chacón Fonseca de Alvarez. MD. PhD.
Sección de Geohelmintiasis. Instituto de Medicina Tropical. Universidad Central de Venezuela. Apartado Postal 47623, Zona Postal 1041-A. Los Chaguaramos, Caracas-Venezuela. Telf. +58212 6053555-6053882
Correo electrónico: secciondegeohelmintiasis@gmail.com y natychacon@yahoo.com.
Página Web: http://www.med.ucv.ve/escuelas_institutos/IMT/geohelmintiasis.html.