

***Cryptosporidium* spp. en muestras de lavado broncoalveolar de pacientes VIH/sida en un hospital de Guayaquil, Ecuador**

Cryptosporidium spp. in bronchoalveolar lavage samples of HIV/AIDS patients in a hospital in Guayaquil, Ecuador

Sunny Sánchez-Giler^{1,2*} <https://orcid.org/0000-0003-2867-013X>

Luis Solórzano-Alava^{2,3} <https://orcid.org/0000-0002-9758-6663>

Francisco Sánchez Amador³ <https://orcid.org/0000-0003-3566-6964>

Dolores Zambrano¹ <https://orcid.org/0000-0003-3671-0226>

Karen Cevallos¹ <https://orcid.org/0000-0002-4271-818x>

¹Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Especialidades Espíritu Santo. Guayaquil, Ecuador.

²Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) Leopoldo Izquieta Pérez. Guayaquil, Ecuador.

³Hospital Luis Vernaza. Guayaquil, Ecuador.

*Autor para la correspondencia: sanchezgilersunny@gmail.com

RESUMEN

Introducción: *Cryptosporidium* spp. son parásitos que causan infecciones respiratorias principalmente en pacientes inmunocomprometidos.

Objetivo: Detectar *Cryptosporidium* spp. en el lavado broncoalveolar (BAL) de pacientes VIH positivos y con síndrome respiratorio.

Métodos: Se seleccionaron 60 muestras de BAL y se analizaron mediante microscopía óptica con tinción de Ziehl-Neelsen y PCR de punto final; esta última es una técnica eficiente para el diagnóstico de patógenos oportunistas. Se recolectaron datos clínicos y epidemiológicos de cada paciente.

Resultados: La prevalencia hallada en este estudio mediante PCR de punto final fue del 5 %. Los signos y síntomas que se presentaron con mayor frecuencia, sobre todo en el grupo etario de 31 a 40 años, fueron fiebre, tos y disnea; sin embargo, no se obtuvieron

asociaciones estadísticamente significativas a ninguna de las variables y no se pudo visualizar parásitos mediante la tinción de Ziehl-Neelsen.

Conclusión: *Cryptosporidium* spp. puede causar infecciones pulmonares de difícil reconocimiento clínico, pues se confunde con otras infecciones oportunistas. En el presente estudio no puede establecerse si la detección del ADN parasitario correspondió a una verdadera infección o solamente a colonización, lo que es importante para implementar técnicas con mayor sensibilidad para el diagnóstico. Se debe considerar relevante la prevalencia encontrada en Ecuador, al ser inusualmente alta en comparación con países cercanos como Brasil.

Palabras clave: PCR; *Cryptosporidium*; VIH; lavado broncoalveolar; infecciones oportunistas; Ecuador.

ABSTRACT

Introduction: *Cryptosporidium* spp. are parasites that cause respiratory infections mainly in immunocompromised patients.

Objective: To detect *Cryptosporidium* spp. in bronchoalveolar lavage (BAL) of HIV-positive patients with respiratory syndrome.

Methods: Sixty samples of BAL were selected and analyzed by optical microscopy with Ziehl-Neelsen staining and end-point PCR. The latter is an efficient technique for the diagnosis of opportunistic pathogens. Clinical and epidemiological data were collected from every patient.

Results: In this study, the prevalence by end-point PCR was 5%. The most frequent signs and symptoms, mainly in the age group 31-40 years old, were fever, cough, and dyspnea. However, no significant statistical associations to any variable were obtained, and no parasites were observed with the Ziehl-Neelsen staining technique.

Conclusions: *Cryptosporidium* spp. can cause pulmonary infections that are difficult to identify clinically, since they are confused with other opportunistic diseases. The current study could not establish whether the detection of parasitic DNA corresponded to a real infection or only to colonization, which is important to implement diagnostic techniques with greater sensitivity. The prevalence found in Ecuador should be considered relevant, as it is unusually high in comparison with nearby countries such as Brazil.

Keywords: PCR; *Cryptosporidium*; HIV; bronchoalveolar lavage; opportunistic infections; Ecuador.

Recibido: 24/09/2019

Aceptado: 29/04/2021

Introducción

La OMS considera al VIH uno de los mayores problemas de salud pública a nivel global. Solo en el 2017 se presentaron 1,8 millones de casos nuevos.⁽¹⁾ Ecuador se encuentra entre los países de la región de las Américas con las tasas más altas de prevalencia de la infección por el VIH —338 por 100 000 habitantes—, lo cual representa la séptima causa de muerte general, con una tasa de mortalidad de 7,15 por 100 000 habitantes.⁽²⁾

El Ministerio de Salud Pública ecuatoriano declaró al VIH como una epidemia,⁽³⁾ que en el 2017 reportaba 36 000 habitantes infectados, entre niños y adultos,⁽²⁾ y existían grupos de riesgo en todas las poblaciones: hombres que tienen relaciones con hombres, mujeres embarazadas, individuos que tienen sexo con parejas ocasionales⁽⁴⁾ y el consumo de drogas intravenosas,⁽⁵⁾ entre otros factores que predisponen al contagio del virus y a la susceptibilidad de infección por diversos patógenos oportunistas como *Cryptosporidium* spp.⁽⁶⁾

Este parásito se caracteriza por causar infecciones gastrointestinales y respiratorias, con diferentes rutas de transmisión que abarcan tanto la vía zoonótica como de persona a persona.⁽⁷⁾ Afecta a individuos inmunocompetentes e inmunocomprometidos y, aunque se le reconoce mayoritariamente por sus síntomas gastrointestinales, también abarca diferentes manifestaciones pulmonares de las cuales existe muy poca información acerca de su prevalencia.⁽⁸⁾

Entre los individuos inmunocomprometidos que tienen elevado riesgo de ser infectados por *Cryptosporidium* spp. se encuentran pacientes con hipogammaglobulinemia, receptores de trasplantes, deficientes en IgA, y pacientes con VIH;^(9,10) no obstante, existe mayor vulnerabilidad en los pacientes con VIH con conteos de linfocitos T CD4+ menores de 100 células/ μ L.^(11,12) En los últimos años el número de casos de criptosporidiosis en pacientes con VIH ha disminuido, debido a la reconstitución inmunitaria con terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA).⁽¹³⁾ Sin embargo, aún existen numerosos sectores de recursos limitados, cuyos programas no cubren a todos los infectados, especialmente en América Latina.⁽¹⁴⁾ Los síntomas que se han reportado mayoritariamente en infecciones pulmonares consisten en tos crónica, disnea y fiebre.⁽¹⁵⁾

Las infecciones pulmonares se suelen identificar mediante muestras obtenidas por lavado broncoalveolar (BAL), esputo y biopsias pulmonares, a través de microscopía por tinción de Ziehl-Neelsen e inmunoensayos como ELISA y EIA.^(16,17,18,19) Aunque la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la más adecuada para su identificación debido a su alta sensibilidad y especificidad, los elevados costos de la prueba impiden que se logre implementar en todas las comunidades.^(17,20)

La necesidad de establecer las características clínicas más frecuentes de la infección por *Cryptosporidium* spp y su asociación con la presencia del parásito han motivado este estudio. El propósito es detectar *Cryptosporidium* spp. en el lavado broncoalveolar (BAL) de pacientes VIH positivos y con síndrome respiratorio.

Métodos

Se realizó un estudio de corte transversal, observacional, en el periodo de junio de 2013 a septiembre de 2014 en el Hospital de Infectología Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña. Esta unidad hospitalaria pertenece a la red de salud estatal para el tratamiento de pacientes con VIH/sida, y está situado en la ciudad de Guayaquil, que queda en la región costera del país a 4 m sobre el nivel del mar.

Las muestras de esputo se habían obtenido para detectar *Pneumocystis jiroveci* por PCR en un estudio previo e iban a ser descartadas, por lo que se decidió investigar también la presencia de *Cryptosporidium* spp. El universo estuvo constituido por todos los pacientes con enfermedad respiratoria que acudieron al Hospital y cumplieron con los criterios de inclusión/exclusión. Los criterios de inclusión fueron pacientes con VIH/sida, mayores de 18 años y sintomatología clínica respiratoria. Los criterios de exclusión consistieron en desestimar las muestras inadecuadas para el procesamiento.

Los procedimientos fueron desarrollados en los laboratorios de microbiología de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo (UEES) y de Biología Molecular del Centro de Referencia de Parasitología del Instituto de Investigación en Salud Pública (CRNP-INSPI).

Se recolectaron 60 muestras de lavado BAL pertenecientes a pacientes con VIH/sida con sintomatología respiratoria. Las muestras fueron obtenidas mediante broncoscopia por un profesional competente, utilizando solución salina al 9 % y trampas de moco. Además, se recolectaron los respectivos datos clínicos y epidemiológicos como edad, sexo,

procedencia, enfermedades coexistentes y hábitos, anotados en la historia clínica de cada paciente.

Tinción con Ziehl-Neelsen

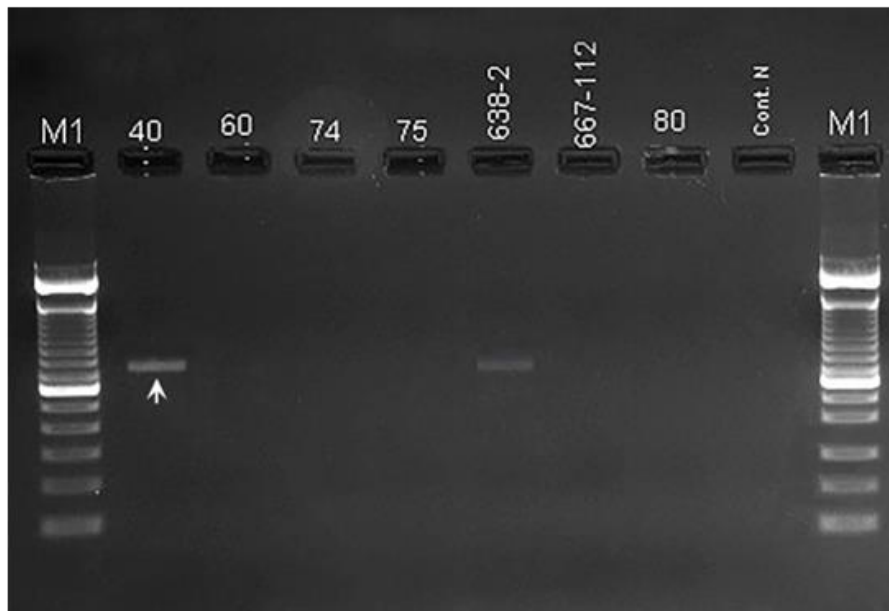
Las muestras fueron separadas en dos alícuotas: una se envió al Laboratorio de Microbiología para ser teñida con Ziehl-Neelsen modificado y observada por microscopía a un objetivo de 100x, y la otra fue enviada al Laboratorio de Biología molecular para la extracción del ADN.⁽¹⁸⁾

Obtención de ADN genómico

Para el procedimiento se utilizó un estuche comercial DNeasy® Blood & Tissue Handbook, de Qiagen ®. El ADN extraído se almacenó a -80°C hasta su amplificación por la PCR.

Protocolo de amplificación por PCR de punto final

Se amplificaron las muestras de ADN mediante el método de *Yu* y otros, 2009, modificado.⁽²¹⁾ Se realizó una PCR anidada (nPCR) que se dirige al gen COWP utilizando por cada muestra dos conjuntos cebadores externos (Fig. 1).



Leyenda: M1: marcador de peso molecular 100 pb; cont N: control negativo.

Fig. 1- Gel de agarosa, muestra N.º 40 positiva (marcada por la flecha), primera PCR para *Cryptosporidium* sp., con 796 pb. Control positivo N.º 638-2.

Para la primera PCR se utilizaron BCOWP-F 5'-ACCGCTTCTCAACAACCATCTTGTCCCTC-3' y BCOWP-R 5'-CGCACCTGTTCCCACTCAATGTAAACCC-3'. La primera PCR se realizó en un volumen total de 50 µL, que contenía agua 28 µL; buffer PCR 10 por 5 µL; MgCl₂ 50 mM 1,5 µL; dNTP 2 mM 5 µL; 2,5 µL de cada cebador, taq polimerasa 0,5 µ y ADN 5 µL. Las condiciones de amplificación en la primera PCR fueron: primera etapa, un ciclo de 2 min a 98 °C, segunda etapa de 30 ciclos por 50 s a 94 °C, 30 s a 55 °C y 50 s a 72 °C, respectivamente; tercera etapa a 10 min a 72 °C, última etapa a 4 °C. El fragmento obtenido fue de 796 pb.⁽¹⁸⁾

Para la segunda PCR se utilizaron cry-15- F 5'-GTAGATAATG-GAAGAGATTGTG-3' y cry-9-R 5'-GGACTGAA ATACAG-GCATTATCTTG-3'. La segunda PCR se realizó en un volumen total de 50 µL, que contenía agua 31 µL; buffer PCR 10 x 5 µL; MgCl₂ 50 mM 1,5 µL; dNTP 2 mM 5 µL; 2,5 µL de cada cebador, taq polimerasa 0,5 u y ADN 2 µL. Las condiciones de amplificación en la segunda PCR fueron desnaturalización, 98 °C por 2 min; 30 ciclos, 94 °C por 60 s, 48 °C por 30 s, 72°C por 1 min; una extensión final a 72 °C por 10 min. Tercera etapa a 10 min a 72 °C, última etapa a 4 °C. El fragmento obtenido fue de 553 pb.⁽¹⁸⁾

Verificación de la amplificación

Se usó TAE 1x como tampón de corrida, al gel de agarosa se le adicionó 10 µL del colorante Syber® 1x (10 000x) (InvitrogenThermo Fisher Scientific, USA). Como tampón de carga se utilizó Blue/orangeLoadingDye 6x (Promega, USA), como marcador de peso molecular TracKlt™ 100 bp (0,1 µg/L). Como controles positivos, se utilizó ADN de *Cryptosporidium* spp. del Centro de referencia de Parasitología extraído de muestras de heces positivas para *Cryptosporidium* por QIAamp® DNA Stool Mini Kit (Qiagen) y como controles negativos agua grado biología molecular Invitrogen™ Agua destilada UltraPure™ sin ADNasa/ARNasa.

La corrida electroforética se realizó con la fuente de poder marca Biorad (BioRadPowerPac™HC, USA) a 80 V por 55 min. Los resultados se visualizaron en un fotodocumentador (Biorad Chemi Doc XRS, BioRad, USA), para lo cual se utilizó el programa Quality One, incluido en la plataforma del fabricante.

Aspectos éticos

El procedimiento detallado y su finalidad fueron explicados a los individuos participantes, que ratificaron su aprobación a través de la firma del consentimiento informado. El estudio fue examinado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínica Kennedy, reconocido por las autoridades del Ministerio de Salud Pública de Ecuador.

Análisis estadístico

La información se registró en una base de datos de Microsoft Excel 2010 (14.0) y posteriormente se realizó el análisis con el *software* estadístico IBM SPSS 20.0. Se realizaron tablas de resultados con las frecuencias en porcentajes, se obtuvo el valor p y se realizó un chi cuadrado con corrección de Fisher.

Resultados

Entre el periodo de junio 2013 a septiembre 2014, se recolectaron 60 muestras de individuos que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. La tabla 1 muestra las características epidemiológicas de los individuos estudiados. El 73% de la población estudiada fueron hombres.

Tabla 1 - Características epidemiológicas de los pacientes con VIH/sida incluidos en el estudio

Características epidemiológicas	No.	%
Sexo		
Hombres	44	73,33
Mujeres	16	26,67
Factores de riesgo		
Histoplasmosis	2	3,33
Hipertensión arterial*	3	5,00
Diabetes mellitus*	3	5,00
Tuberculosis*	16	26,67
Neumocistosis*	25	41,66
Alcohol	14	23,33
Tabaco	8	13,33
Uso de drogas recreativas	5	8,33
Origen		
Urbano	40	66,67
Rural	20	33,33

*Enfermedad actual.

Fuente: Historia clínica.

En la tabla 2 se recogen las características clínicas de los pacientes estudiados. El 81,67 % presentaron alza térmica, el 60 % sufría de tos crónica y el 41,65 % disnea. En cuanto a las características clínicas obtenidas mediante laboratorio destaca que el 73,08 % de los individuos tuvieron valores de hemoglobina por debajo del intervalo de referencia.

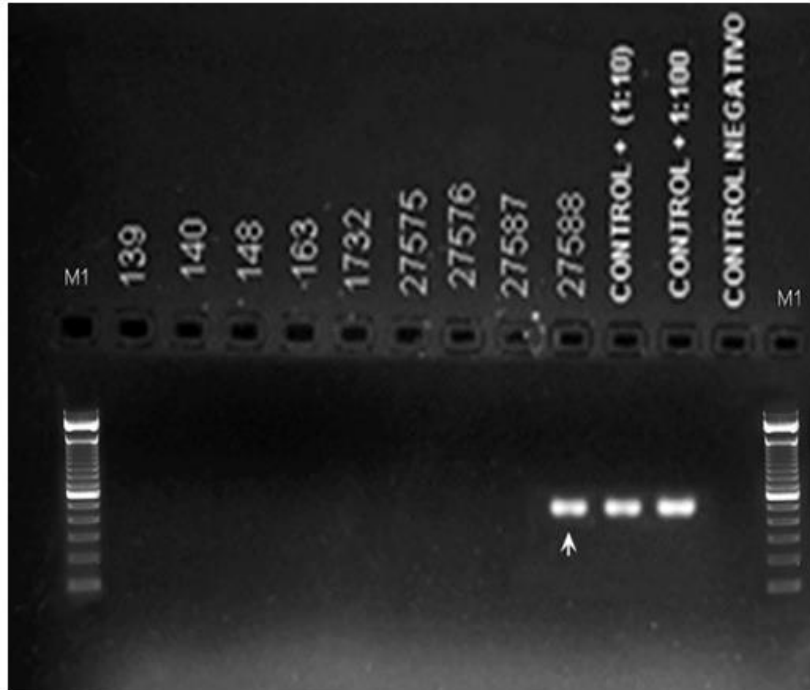
Tabla 2 - Características clínicas de los pacientes con VIH/sida incluidos en el estudio

Características clínicas	No.	%
Signos		
Alza térmica	49	81,67
Diaforesis	9	15,00
Expectoración	30	50,00
Disnea	25	41,67
Signo de Muguet	1	1,67
Aleteo nasal	0	0,00
Tiraje intercostal	1	1,67
Respiración paradójica	0	0,00
TARGA	60	100,00
Frecuencia respiratoria ≥ 20 respiraciones/min	15	25,00
Síntomas		
Tos	36	60,00
Dolor torácico	12	20,00
Escalofríos	30	50,00
Diarrea	23	38,33
Astenia	16	26,67
Auscultación		
Normal	9	15,00
Crepitante	5	8,33
Hipoventilado	2	3,33
Datos de laboratorio		
Hematócrito ≤ 35 %	27	45,00
Hemoglobina ≤ 12 g/dL	38	63,33
Leucocitos $\leq 4 \times 10^9/L$	8	13,33
Patrón radiográfico		
Normal	1	1,67
Intersticial	7	11,67
Miliar	1	1,67
Mixto	0	0,00
Condensación	1	1,67

Fuente: Historia clínica.

Todos los pacientes tuvieron recuentos de T CD4 + por debajo de 150 y todos habían sido diagnosticados con HIV más de 5 años atrás. De las 60 muestras analizadas con PCR,

3 fueron positivas para *Cryptosporidium* spp. (Figs. 1 y 2), con una prevalencia del 5 % con mayor presentación en el grupo etario de 31-40 años, seguido del grupo de 41 a 50 años. En la observación microscópica de las láminas teñidas con Ziehl-Neelsen, no se encontraron parásitos ni se observaron bacilos ácido alcohol resistentes (Tabla 3).



Leyenda: M1: marcador de peso molecular 100 pb; cont N: control negativo.

Fig. 2 - Gel de agarosa, segunda PCR para amplificación de *Cryptosporidium* spp., muestra N.º 27588 positiva (marcada por la flecha), con 553 pb. Controles Positivos 1:10 y 1:100.

Tabla 3 - Presencia de *Cryptosporidium* spp. en muestras de BAL de acuerdo con el grupo etario

Grupo etario (años)	Criptosporidiosis				Prevalencia por grupo etario		Valor p	Total
	Negativo		<i>Cryptosporidium</i>		No.	%		
	No.	%	No.	%				
18-20	1	100,0	0	0,0	-	0,0	1,00	1
21-30	21	100,0	0	0,0	-	0,0	0,55	21
31-40	21	91,3	2	8,7	2	66,7	0,55	23
41-50	4	80,0	1	20,0	1	33,3	0,23	5
51-60	6	100,0	0	0,0	-	0,0	1,00	6
61-70	2	100,0	0	0,0	-	0,0	1,00	2
≥ 70	2	100,0	0	0,0	-	0,0	1,00	2
Total	57	95,0	3	5,0	3	100	-	60

Fuente: Historia clínica.

Las tres muestras positivas para *Cryptosporidium* spp. pertenecían a dos hombres y a una mujer, pero no se encontró relación estadísticamente significativa con la variable sexo. En cuanto a las demás características epidemiológicas y clínicas, no se observó asociación con ninguna de las variables descritas, y ninguno de los tres pacientes positivos presentó tuberculosis ni un patrón radiográfico anormal.

Dos de los individuos positivos para VIH y *Cryptosporidium* spp. eran de origen urbano, entre los signos y síntomas frecuentes que presentaron se encontró: alza térmica, disnea y tos; entre las características de laboratorio destacó que todos los individuos presentaban Hb \leq 12 g/dL, dos individuos con un hematócrito \leq 35 % y leucocitos \leq 4 x 10⁹/L. Únicamente el 3 % de los individuos del total de la población tenían tratamiento con TARGA.

Discusión

Cryptosporidium spp. es un parásito que afecta al aparato intestinal y al respiratorio en niños y adultos, y es más conocido por causar diarrea⁽¹⁹⁾ que como causa de problemas respiratorios, por lo que existe un bajo número de casos reportados de criptosporidiosis extraintestinal.⁽²⁰⁾ Las complicaciones respiratorias con antecedentes de criptosporidiosis intestinal son comunes en pacientes inmunodeprimidos,⁽²¹⁾ especialmente los infectados con VIH. Sin embargo, existen pocos casos donde solo se presenten síntomas respiratorios.^(22,23)

Se postula que el medio de transmisión de criptosporidiosis pulmonar incluye la inhalación de oosquistes de *Cryptosporidium* spp. expulsados a través de la tos provenientes de un individuo infectado.⁽²⁴⁾

Recientemente, los métodos de PCR e inmunodiagnóstico se han vuelto más populares en el diagnóstico de la criptosporidiosis para superar las limitaciones de la microscopía. En comparación con la microscopía, los métodos de detección basados en el ADN presentan varias ventajas, como una mayor sensibilidad y especificidad, la posibilidad de tipificación molecular y un tiempo de respuesta optimizado.⁽²⁵⁾

Se han comparado las sensibilidades diagnósticas de las pruebas de rutina, lo que demuestra el rendimiento superior de la microscopía de inmunofluorescencia y la PCR sobre los rendimientos comparables de los EIA y las tinciones fluorescentes, que a su vez

fueron mejores que la tinción ácido-resistente y los ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral.⁽²⁵⁾

En este estudio la prevalencia por microscopía fue menor que la encontrada en otro estudio en Malasia donde se observó una prevalencia del 16 % por PCR y del 5 % por microscopía⁽²⁶⁾ y mayor que la del estudio en Uganda, donde se detectó, mediante PCR de muestras de esputo, prevalencias del 1,3 % en pacientes con VIH comparado con el 4,4 % de pacientes sin VIH.⁽²⁸⁾ Pero fue similar a la observada en la República Democrática del Congo con un 5,4 % por PCR-RFLP y 4,1 % por microscopía.⁽²⁷⁾

En Recife, de un total de 130 pruebas de esputo realizadas hasta el momento, *Cryptosporidium* spp. fue el único agente identificado en 2 (1,5 %) de esos pacientes; el diagnóstico se realizó mediante la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en el examen de esputo teñido con Ziehl-Neelsen.⁽²¹⁾

El bajo número de casos diagnosticados de criptosporidiosis extraintestinal, especialmente de localización pulmonar, se debe en gran parte a la ausencia de signos clínicos específicos, así como a la presencia de anomalías radiológicas que pueden confundirse con otras infecciones oportunistas que suelen afectar a pacientes con otras inmunodeficiencias.⁽²⁸⁾

La enfermedad pulmonar es una rara manifestación extraintestinal de la infección por *Cryptosporidium* y su presencia en un huésped inmunocompetente la hace aún más rara.⁽²²⁾ Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis pulmonar son inespecíficas y suelen incluir tos crónica, fiebre y disnea como síntomas más frecuentes, con o sin cambios radiológicos.⁽²³⁾

En las variables epidemiológicas y clínicas no se encontró una asociación estadísticamente significativa con *Cryptosporidium* spp., lo que concuerda con estudios donde se menciona la falta de especificidad de sus signos clínicos y patrones radiográficos comúnmente confundidos con otras infecciones oportunistas.⁽²⁴⁾

Dos de los tres individuos positivos para VIH y *Cryptosporidium* spp. eran de origen urbano, y se presentó mayor número de casos en hombres que en mujeres, condiciones atribuidas a los riesgos de infección del virus, mas no del patógeno oportunista.⁽²⁹⁾

Ninguno de los individuos afectados con VIH y positivo para *Cryptosporidium* presentó tuberculosis en comparación con la asociación leve presentada en estudios previos.⁽³⁰⁾

Entre los datos obtenidos por laboratorio se destaca que todos los individuos presentaban hemoglobina, hematocrito y leucocitos disminuidos, lo que es característico en pacientes

inmunodeprimidos; sin embargo, no se obtuvieron datos acerca de la carga viral ni del número de linfocitos totales del paciente.

Existen preguntas sin respuesta como si los ooquistes inhalados se ingieren inmediatamente o si la infección comienza en el árbol respiratorio y si la infección en cualquiera de los sitios puede ocurrir independientemente del otro. Se asume, quizás incorrectamente, que *Cryptosporidium* invade primero el árbol respiratorio, seguido de la infección del tracto gastrointestinal. Por el contrario, la infección puede comenzar en el intestino y extenderse al tracto respiratorio a través de la circulación o aspiración de contenido gastrointestinal, ya que los vómitos son frecuentes en esta enfermedad. Las investigaciones futuras deberían abordar primero estas cuestiones en modelos animales adecuados.⁽²⁴⁾

En Ecuador los tratamientos antirretrovirales siguen siendo un tabú, y muchos individuos empiezan el tratamiento y consecuentemente lo abandonan,⁽³¹⁾ lo que se constató en el presente estudio donde solo el 3 % de los individuos del total de la población tenían tratamiento con TARGA.

Conclusiones

En el país no existen registros acerca de la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en muestras de lavado broncoalveolar en pacientes con VIH/sida y síndrome respiratorio. Este constituye el primer estudio en obtener una prevalencia, que es inusualmente alta en comparación a países cercanos como Brasil. Se presentaron signos y síntomas frecuentes como fiebre, tos, y disnea.

Sin embargo, no se puede establecer si la infección fue causada por este patógeno o si únicamente se trató de una colonización. Se sugiere estudios que incluyan una mayor población, contengan otros patógenos respiratorios y se analice la carga viral de los individuos estudiados para establecer su relación con la presencia de patógenos oportunistas.

Agradecimientos

A los integrantes del Centro de Referencia Nacional de Parasitología, al Hospital de Infectología Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña y a la Universidad de Especialidades Espíritu Santo.

Referencias bibliográficas

1. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. VIH. 2022 [Acceso 08/04/2021]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/vih/>
2. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. VIH. Boletín anual VIH Ecuador. 2020. [Acceso 08/04/2021]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/Boletin-anual-VIH-Ecuador-2020.pdf>
3. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. VIH. Gaceta VIH. 2019;(1). [Acceso 19/04/2021]. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/11/gaceta_vih_2019-1.pdf
4. WHO. VIH/sida. 2020 [Acceso 22/07/2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
- Gómez AS. Epidemiología del VIH y sífilis en grupos más expuestos y vulnerables en Ecuador. [tesis]. Madrid: Universidad Rey Juan Carlos; 2014 [Acceso 22/07/2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=103358>
5. Gerace E, Lo Presti VDM, Biondo C. Cryptosporidium Infection: Epidemiology, Pathogenesis, and Differential Diagnosis. Eur J Microbiol Immunol. 2019 [Acceso 22/07/2020];9(4):119-23. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6945992/+>
6. Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen X-M, *et al.* A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. Lancet Infect Dis. jan 2015;15(1):85-94.
7. Mercado R, Buck GA, Manque PA, Ozaki LS. *Cryptosporidium hominis* Infection of the Human Respiratory Tract. Emerg Infect Dis. mar 2007 [Acceso 03/09/2020];13(3):462-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725888/>
8. Fayer R, Ungar BL. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol Rev. dec 1986;50(4):458-83.
9. Kumar KLR. Intestinal Cryptosporidiosis and the Profile of the CD4 Counts in a Cohort of HIV Infected Patients. J Clin Diagn Res JCDR. jun 2013 [Acceso 03/07/2020];7(6):1016-20. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3708188/>

10. Izadi M, Jonaidi-Jafari N, Saburi A, Eyni H, Rezaeiemanesh M-R, Ranjbar R. Prevalence, molecular characteristics and risk factors for cryptosporidiosis among Iranian immunocompromised patients. *Microbiol Immunol.* dec 2012 [Acceso 03/09/2020];56(12):836-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23088420/>
11. Le Moing V, Bissuel F, Costagliola D, Eid Z, Chapuis F, Molina JM, *et al.* Decreased prevalence of intestinal cryptosporidiosis in HIV-infected patient's concomitant to the widespread use of protease inhibitors. *AIDS Lond Engl.* jul 1998 [Acceso 03/09/2020];12(11):1395-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9708424/>
12. Roses Periago M. Antiretroviral Treatment in the Spotlight: A Public Health Analysis in Latin America and the Caribbean 2012. PAHO/WHO; 2012 [Acceso 03/09/2020]. Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/antiretroviral-treatment-spotlight-public-health-analysis-latin-america-and-caribbean>
13. Shrikhande SN, Chande CA, Shegokar VR, Powar RM. Pulmonary cryptosporidiosis in HIV negative, immunocompromised host. *Indian J Pathol Microbiol.* jan 2009 [Acceso 03/07/2020];52(2):267. Disponible en: <http://www.ijpmonline.org/article.asp?issn=0377-4929;year=2009;volume=52;issue=2;spage=267;epage=268>
14. Uppal B, Singh O, Chadha S, Jha AK. A Comparison of Nested PCR Assay with Conventional Techniques for Diagnosis of Intestinal Cryptosporidiosis in AIDS Cases from Northern India. *J Parasitol Res.* 2014 [Acceso 03/07/2020];2014. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3913498/>
15. Arnedo I, Bracho M, Díaz-Suárez O, Botero L. Técnicas para la detección de *Cryptosporidium* sp. en sistemas de tratamiento de agua residual. *Kamera.* dic 2008 [Acceso 03/07/2020];36(2):120-8. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0075-52222008000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
16. Jafari R, Maghsood AH, Safari M, Latifi M, Fallah M. Comparison of Fecal Antigen Detection Using Enzyme Linked Immunosorbent Assay with the Auramine Phenol Staining Method for Diagnosis of Human Cryptosporidiosis. *Jundishapur J Microbiol.* febr 2015 [Acceso 03/07/2020];8(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4376972/>
17. Mamba TS, Mbae CK, Kinyua J, Mulinge E, Mburugu GN, Njiru ZK. Lateral Flow Loop-Mediated Isothermal Amplification Test with Stem Primers: Detection of

- Cryptosporidium Species in Kenyan Children Presenting with Diarrhea. J Trop Med. 2018 [Acceso 03/07/2020];2018:7659730. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29681951/>
18. Yu JR, Lee SU, Park WY. Comparative Sensitivity of PCR Primer Sets for Detection of *Cryptosporidium parvum*. Korean J Parasitol. sept 2009 [Acceso 03/07/2020];47(3):293-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2735697/>
19. Abdel Gawad SS, Ismail MAM, Imam NFA, Eassa AHA, abu-Sarea EY. Detection of *Cryptosporidium* spp. in Diarrheic Immunocompetent Patients in Beni-Suef, Egypt: Insight into Epidemiology and Diagnosis. Korean J Parasitol. apr 2018 [Acceso 03/07/2020];56(2):113-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5976013/>
20. ClinicalTrials.gov. Transmission and the Respiratory Tract in Cryptosporidiosis - Full Text View - ClinicalTrials.gov. [Acceso 03/09/2020]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00507871>
21. Albuquerque YMM de, Silva MCF, Lima ALM de A, Magalhães V. Criptosporidiose pulmonar em pacientes com AIDS, uma doença subdiagnosticada. J Bras Pneumol. ago 2012 [Acceso 03/07/2020];38(4):530-2. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1806-37132012000400017&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
22. Kumar H, Singh VB, Meena BL, Agrawal J, Beniwal S, Swami T. Pulmonary cryptosporidiosis in an immunocompetent host treated successfully with nitazoxanide. Lung India off Organ Indian Chest Soc. 2016 [Acceso 03/07/2020];33(1):69-71. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4748669/>
23. Corti M, Villafañe MF, Muzzio E, Bava J, Abuín JC, Palmieri OJ. Pulmonary cryptosporidiosis in AIDS patients. Rev Argent Microbiol. jun 2008;40(2):106-8.
24. Sponseller JK, Griffiths JK, Tzipori S. The Evolution of Respiratory Cryptosporidiosis: Evidence for Transmission by Inhalation. Clin Microbiol Rev. jul 2014 [Acceso 22/07/2020];27(3):575-86. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4135895/>
25. Chalmers RM, Campbell BM, Crouch N, Charlett A, Davies AP. Comparison of diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the UK. J

- Med Microbiol. nov 2011 [Acceso 22/07/2020];60(Pt 11):1598-604. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21757501/>
26. Zaidah AR, Chan YY, Asma HS, Abdullah S, Nurhaslindawati AR, Salleh M, *et al.* Detection of *Cryptosporidium parvum* in HIV-infected patients in Malaysia using a molecular approach. Southeast Asian J Trop Med Public Health. may 2008 [Acceso 22/07/2020];39(3):511-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18564692/>
27. Wumba RD, Zanga J, Mbanzulu KM, Mandina MN, Kahindo AK, Aloni MN, *et al.* Cryptosporidium identification in HIV-Infected Humans. Experience from Kinshasa, the Democratic Republic of Congo. Acta Parasitol. dec 2015 [Acceso 22/07/2020];60(4):638-44. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26408584/>
28. Mor SM, Ascolillo LR, Nakato R, Ndeezi G, Tumwine JK, Okwera A, *et al.* Expectorated Cryptosporidium Parasites in Sputum of Human Immunodeficiency Virus-Positive and -Negative Adults. Am J Trop Med Hyg. apr 2018 [Acceso 22/07/2020];98(4):1086-90. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5928827/>
29. Sinyangwe NN, Siwila J, Muma JB, Chola M, Michelo C. Factors Associated with Cryptosporidium Infection Among Adult HIV Positive Population in Contact with Livestock in Namwala District, Zambia. Front Public Health. 2020 [Acceso 12/04/2021];8. Disponible en: <https://www.readcube.com/articles/10.3389%2Ffpubh.2020.00074>
30. Chalmers RM, Davies AP. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. Exp Parasitol. jan 2010 [Acceso 12/04/2021];124(1):138-46. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19545516/>
31. Sabando Posligua MJ, Nieto Torres MX. Eficacia del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) en mujeres embarazadas con diagnóstico de VIH relacionado a la disminución en la transmisión materno-infantil en el Hospital especializado Mariana de Jesús 2014. abr 2017 [Acceso 03/07/2020]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/8013>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Financiamiento

El proyecto fue financiado por la Universidad de Especialidades Espíritu Santo, Ecuador, y el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “LIP”.

Contribución de los autores

Conceptualización: Sunny Sánchez-Giler.

Curación de datos: Sunny Sánchez-Giler, Francisco Sánchez-Amador, Dolores Zambrano.

Análisis formal: Dolores Zambrano.

Investigación: Sunny Sánchez-Giler, Luis Solórzano, Francisco Sánchez-Amador, Dolores Zambrano.

Administración del proyecto: Dolores Zambrano.

Supervisión: Sunny Sánchez-Giler, Karen Cevallos.

Recursos: Sunny Sánchez-Giler, Francisco Sánchez-Amador.

Metodología: Sunny Sánchez-Giler, Luis Solórzano.

Software: Sunny Sánchez-Giler, Karen Cevallos.

Validación: Luis Solórzano

Visualización: Luis Solórzano

Redacción del borrador original: Sunny Sánchez-Giler, Luis Solórzano, Dolores Zambrano, Karen Cevallos.

Redacción, revisión y edición: Sunny Sánchez-Giler, Luis Solórzano.