

66 9 8

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

***Cyclospora cayetanensis* Como agente causal de diarrea  
en pacientes de la consulta externa del Hospital General  
San Juan de Dios**

**Informe de Tesis presentado por**

**Katherine Marlene Alvarado Illescas**

**Para optar al Titulo de**

**Química Bióloga**

**Guatemala, Junio de 1,998**

66  
T(100)  
CA

**JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

<b>DECANO</b>	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
<b>SECRETARIO</b>	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
<b>VOCAL I</b>	DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
<b>VOCAL II</b>	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
<b>VOCAL III</b>	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
<b>VOCAL IV</b>	BR. HERBERTH RAUL AREVALO ALVARADO
<b>VOCAL V</b>	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

## **ACTO QUE DEDICO**

### **A DIOS**

Por ser la luz que guía mi camino y un amigo muy especial

### **A MIS PADRES**

Herbert Edgardo Alvarado Sanchinelli

Hilda Graciela Illescas de Alvarado

Con amor y respeto. Que este triunfo lo sientan suyo, gracias por la confianza depositada en mi

### **A MI FAMILIA**

Wendy, Alejandra, Herbert y Claudia

Por estar siempre presentes

### **A MIS ABUELITAS**

Olivia Sanchinelli (Q.E.P.D.)

Graciela Sosa Paz

Porque siempre llevaré una parte de ellas dentro de mi

### **A MI NOVIO**

Ricardo del Valle

Con todo mi amor. Por hacer cada día de mi vida tan especial

## AGRADECIMIENTO

Sinceramente agradezco a todas las personas e instituciones que me han ayudado incondicionalmente, en especial a :

Licenciados Raúl Paniagua y Miguel Torres por su amistad y asesoría.

Personal del Laboratorio de *Cyclospora* de la Unidad de Entomología Médica de la Universidad del Valle, especialmente a Licenciadas Beatriz López, Ana María de Mérida y Caryn Bern.

Personal de Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.

Compañeros y amigos : Ricardo, Delmy, Jorge, Victor, Gisela y Carmen Rosa.

Personal administrativo de la Escuela de Química Biológica, en especial a Sheny.

## INDICE

	<b>página</b>
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	
3.1 Generalidades	4
3.2 Historia	4
3.3 Descripción del parásito	5
3.4 Características clínicas	5
3.5 Diagnóstico de Laboratorio	6
3.6 Tratamiento	8
3.7 Epidemiología	9
4. Justificaciones	12
5. Objetivos	13
6. Hipótesis	14
7. Material y Métodos	15
8. Resultados	22
9. Discusión de Resultados	24
10. Conclusiones	26
11. Recomendaciones	27
12. Referencias	28
13. Anexos	33

## 1. RESUMEN

La infección por *Cyclospora cayetanensis* se asocia con una crónica y posiblemente fatal enfermedad diarreica en personas con SIDA. En viajeros inmunocompetentes causa diarrea prolongada, autolimitante, con pronunciada pérdida de peso. En general, las manifestaciones incluyen un día de malestar y baja fiebre, seguido por diarrea acuosa explosiva, dolor abdominal, náusea, fatiga y pérdida de peso.

El diagnóstico de laboratorio se basa en la visualización del organismo en las muestras fecales. El parásito es observado en preparaciones en fresco, con microscopía de contraste de fases o de campo claro. Su identificación puede ser confirmada mediante luz ultravioleta o mediante un frote de heces teñido con Kinyoun modificado.

La presente investigación se llevó a cabo de marzo a agosto de 1997, en pacientes de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios. Durante este período se examinaron 170 muestras diarreicas fecales. El propósito fue establecer la prevalencia de *C. cayetanensis* en pacientes inmunocomprometidos e inmunocompetentes, además de la evaluación de algunas técnicas de diagnóstico que permitan recomendar la más adecuada para su uso en el laboratorio. Las muestras fueron analizadas mediante concentración por sedimentación y flotación y la tinción de un frote delgado de heces con la técnica de Kinyoun modificada y Kinyoun normal.

Se observó *C. cayetanensis* en 14 de las muestras analizadas, tres pacientes inmunodeprimidos y 11 pediátricos.

La prevalencia de éste coccidio en la población estudiada y en los meses analizados es del ocho por ciento.

## 2. INTRODUCCION

*Cyclospora cayetanensis* es un parásito intestinal del grupo de los coccidios, descrito en 1979 por Ashford (1). Desde mediados de los años ochenta ha sido reportado con mayor frecuencia. Este coccidio es excretado en las heces en el estadio de ooquiste no infectivo el cual requiere un período de tiempo fuera del hospedero para su maduración por esporulación, que constituye la forma infectiva (2).

Hasta la fecha, no se ha podido establecer infección por *C. cayetanensis* en animales experimentales, a pesar de los múltiples modelos empleados, incluyendo roedores, aves y primates, por lo que el único antígeno disponible para el desarrollo de un mejor diagnóstico es el resultante de la recolección de ooquistes de heces humanas.

*C. cayetanensis* es un patógeno relativamente común en países en vías de desarrollo, la infección ha sido reportada por viajeros en América, Europa, Africa, Asia y el Caribe. La mayoría de datos conocidos derivan de investigaciones hechas en Perú y Nepal, donde *C. cayetanensis* es causa de diarrea e infecciones asintomáticas en niños que habitan en condiciones pobres de saneamiento ambiental (3-6).

En Nepal las infecciones han sido detectadas predominantemente durante los meses de lluvia (abril-mayo)(3,5). Debido a que Guatemala se encuentra geográficamente en el mismo plano del ecuador que Nepal, se asumía que en estos mismos meses sería detectada *C. cayetanensis*.

Epidemias de enfermedad diarréica debidas a *C. cayetanensis* han sido asociadas con agua contaminada en Nepal y probablemente en Chicago a frambuesas provenientes de Guatemala y California (7).

En Guatemala se conoce poco sobre la infección por *C. cayetanensis*, el primer caso se reportó en 1991, en una muestra diarreica de heces de un niño de tres años aproximadamente, hasta la fecha no se conoce la epidemiología de la infección causada por éste parásito en nuestro país (8).

El diagnóstico se basa en la observación microscópica de frotos de heces concentradas y teñidas con la técnica de Kinyoun, se sugiere como el mejor método de concentración, la flotación en sucrosa saturada según Sheather (9).

Mediante la presente investigación se estableció la prevalencia de infecciones causadas por éste coccidio, en pacientes que acuden a la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios, agrupándolos en pediátricos y adultos, inmunocompetentes e inmunodeprimidos.

PROPIEDAD



### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Generalidades:

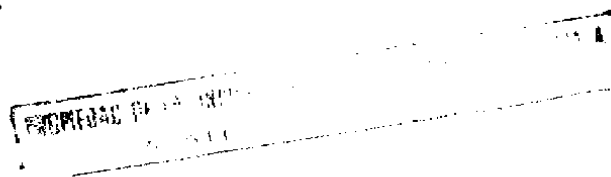
El reino Protista propuesto por Haeckel agrupa a una gran diversidad de microorganismos unicelulares eucarióticos. Incluye el subreino *Protozoa* (protozoos o protozoarios) con sus cuatro *phyla* *Sarcomastigophora* (amebas y flagelados), *Ciliophora* (ciliados), *Apicomplexa* (protozoos cuyo estadio infectivo móvil presenta complejo apical) y *Microspora* (microsporidios) (10).

El phylum *Apicomplexa* se subdivide en: Clase *Sporozoa*, que incluye la Subclase *Coccidia* (coccidios), y la familia *Eimeriidae*, en la que se incluye a *C. cayetanensis* (11).

#### 3.2 Historia:

Especies del género *Cyclospora* fueron observadas por primera vez por Eimer en 1870 en el intestino de roedores (12). En humanos, este género fue observado por primera vez por Ashford en muestras de heces de tres individuos en Papúa, Nueva Guinea en 1979 (1).

Los organismos encontrados en las heces de éstos pacientes se parecían mucho a los ooquistes de los coccidios, pero la microscopía electrónica mostraba un organelo similar a los organelos tilacoides de las algas azul verdosas (13), por lo que se les conoció como cuerpos parecidos a cyanobacterias o cuerpos parecidos a coccidios (CLB), luego por su capacidad de esporulación fueron clasificados por Ortega y sus colaboradores, en 1992 como del género *Cyclospora*. Estos mismos investigadores han propuesto el nombre de *Cyclospora cayetanensis* debido a que mucha de la investigación epidemiológica y taxonómica se ha hecho en el Instituto Cayetano Heredia en el Perú (14).



### 3.3 Descripción del Parásito:

3.3.1 Morfología: *C. cayetanensis* es un protozoo parásito, el cual pertenece al phylum *Apicomplexa*, Subclase *Coccidia*, familia *Eimeriidae* (15), cuyos ooquistes miden de 8 a 10 micras de diámetro, esféricos, rodeado por una doble pared lisa, cada uno contiene de tres a 30 glóbulos refractantes limitados por una membrana dentro de otra, de seis a 10 micras de ancho (14-17).

3.3.2 Esporulación: Experimentalmente ocurre después de una incubación aeróbica en dicromato de potasio (2-2.5%) a temperatura ambiente. En cada ooquiste esporulado se observan dos esporoquistes ovoides y cada uno contiene dos esporozoítos (2).

### 3.4 Características Clínicas:

El cuadro clínico de la enfermedad relacionada con *C. cayetanensis* no ha sido todavía definido por completo, pero aparentemente es amplio. Se ha registrado fehacientemente la portación asintomática del parásito en niños peruanos (2), y se le ha observado hasta siete semanas después de la recuperación clínica en adultos (3). En infecciones sintomáticas, la característica fundamental es la diarrea acuosa, leve a severa, con un promedio de seis a siete deposiciones por día y un volumen diario que puede superar el litro (3,4,18,19). Los resultados de la prueba de la D-xylosa son típicamente anormales, lo que indica disfunción de la mucosa intestinal (3). La diarrea puede ser precedida por malestar general y febrícula (4). En dos estudios hechos sobre visitantes y residentes extranjeros en Nepal, más de la mitad refirieron diarrea acompañada por astenia, anorexia, cólicos, distensión, meteorismo y náuseas, con una media de pérdida de peso de 3-3.5 Kg (20).

La aparición abrupta de la diarrea es típica, pero la resolución es gradual y puede durar de dos días hasta tres meses (3,21).

En un estudio realizado en Nepal se observó por endoscopia y biopsia, evidencia de daño e inflamación en la parte distal del duodeno, en cinco de nueve pacientes infectados con *C. cayetanensis* (22).

El período de incubación entre la infección y el comienzo de los síntomas dura varios días y por lo general es más o menos una semana (5).

### 3.5 Diagnóstico de Laboratorio:

Debido a que *C. cayetanensis* infecta al intestino delgado, el diagnóstico puede ser hecho mediante la observación de ooquistes en las heces o por biopsia intestinal. El diagnóstico de este microorganismo puede ser problemático, debido a que éste se presenta como refringente y en algunos casos aparece en pocas cantidades en las deposiciones. Es debido a esto que se aconseja utilizar métodos de concentración por flotación y coloraciones especiales para facilitar la demostración del parásito (23).

**3.5.1 Observación en Fresco:** La preparación de frotos directos en fresco es un método simple y poco eficiente para el diagnóstico de heces. La mezcla que se lleva a cabo en el intestino provoca una distribución uniforme en las heces. Sin embargo, si la cantidad de microorganismos es escasa, el exámen de una pequeña cantidad de heces puede resultar insuficiente para revelar su presencia (24).

**3.5.2 Métodos de Concentración:** El uso de procedimientos de concentración para el exámen de heces permite la detección del microorganismo, aunque éste se encuentre presente en poca cantidad.

Aunque se han descrito varios procedimientos de concentración, estos generalmente se encuentran en una de estas dos categorías: flotación o

sedimentación (25).

### 3.5.2.1 Procedimientos por Flotación

El principio básico de los procedimientos de flotación es utilizar soluciones de alta densidad, donde los parásitos flotan libres de la mayor parte de restos fecales. Una desventaja de este método es que debido a que los reactivos tienen una mayor densidad que los parásitos, las paredes de los huevos y quistes usualmente se colapsan y los organismos se distorsionan, lo que hace difícil su identificación. Por esta razón cuando se llevan a cabo estas técnicas, las preparaciones se deben observar dentro de los 10 o 20 minutos siguientes a su preparación (9).

Aunque el sulfato de zinc es el más utilizado en los métodos de flotación, también se han empleado otros reactivos, tales como solución saturada de sal, azúcar y sulfato de magnesio. La densidad de estas soluciones está en un rango de 1.20 a 1.26 gr/ml. Se recomienda la flotación en sucrosa según Sheather para la detección de infecciones por *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* y *C. cayetanensis* (9,25).

### 3.5.2.2 Procedimiento por Sedimentación

Los procedimientos de sedimentación son probablemente los más utilizados, ya que el sedimento generalmente contendrá todos los parásitos presentes en la muestra de heces. Una desventaja, es que la observación del sedimento se dificulta debido a la presencia excesiva de restos fecales que pueden enmascarar la presencia de parásitos. La ventaja de las técnicas de sedimentación es que se pueden utilizar tanto muestras frescas como preservadas.

En la técnica de sedimentación en formalina-acetato de etilo, se ha sustituido el éter por el acetato de etilo, debido a que éste no es

inflamable ni explosivo como el éter. esta técnica es efectiva para la concentración de huevos de nemátodos, céstodos y quistes de protozoos, sin embargo es menos eficaz para la concentración de ooquistes de coccidios, que el procedimiento de flotación (9,24).

3.5.3 Métodos de Coloración: *C. cayetanensis* es refractaria a todas las tinciones comunes de laboratorio, excepto por la tinción ácido-alcohol resistente modificada (26), siendo la tinción de Kinyoun la más utilizada, de esta técnica existen dos modificaciones: La primera descrita por Mata, la cual utiliza calor, ácido sulfúrico al 5% como decolorante y azul de metileno como contraste. La segunda, utiliza fijación con metanol, no se calienta y usa como contraste el verde de malaquita, fue descrita por Ma y Soave, en ambas *C. cayetanensis* se tiñe de color rojo (24,27).

Otra tinción recientemente utilizada es la de safranina caliente, la que utiliza safranina como colorante principal, calentamiento, el cual puede ser en horno de microondas, sin decoloración, y azul de metileno o verde de malaquita como contraste (24,26,28).

*C. cayetanensis* presenta autofluorescencia azul, bajo luz ultra violeta (UV). Con experiencia la microscopía por luz ultra violeta (epifluorescencia) es más sensible y confiable que la tinción ácido-alcohol resistente modificada (29).

### 3.6 Tratamiento:

El tratamiento, debe enfocarse desde dos puntos de vista: la rehidratación del paciente y la administración de un fármaco para eliminar el parásito. Para controlar la deshidratación, causada por la constante diarrea, es suficiente administrar suero fisiológico por la vía oral o intravenosa (9).

La enfermedad aparenta ser autolimitante, se han utilizado drogas como

el ácido nalidixico, norfloxacin, tinizadol, albendazol, metronidazol, quinacrina y el furoato de diloxanida sin mucho éxito. (14,26).

En Nepal, en 1989, 34 pacientes recibieron un total de 78 series de agentes antimicrobianos. La duración de la enfermedad no fue menor que la de 14 pacientes no tratados (3).

En 1995 Hoge y colaboradores realizaron un estudio en donde evaluaron la eficiencia de trimetoprim-sulfametoxazol (160 mg de trimetoprim, 800 mg de sulfametoxazol) contra un placebo, en personas expatriadas de Nepal, 21 pacientes recibieron trimetoprim-sulfametoxazol y 19 placebo, despues de siete días fue detectado un caso de *Cyclospora* de los tratados con trimetoprim-sulfametoxazol en comparación con 15 de los tratados con placebo (30).

Madico y colaboradores reportaron exitosamente el uso oral de trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) en cuatro niños peruanos, en dosis de 5/25 mg por kilogramo de peso (31).

En adultos se deberá utilizar trimetoprim 160 mg más 800 mg de sulfametoxazol en dos dosis diarias por siete días, mientras que en los niños se utilizará 5 mg/kg de peso de trimetoprim más 25 mg/kg de peso de sulfametoxazol en dos dosis diarias por siete días (32).

No se conoce un antibiótico alternativo para pacientes que no responden o que no son tolerantes al trimetoprim-sulfametoxazol (32).

### 3.7 Epidemiología:

*C. cayetanensis* es transmitida a través de la vía feco-oral. El parásito puede ser transmitido al ingerir ooquistes presentes en el agua (33) o en frutas y verduras (7). Por el momento se desconoce que tan comunes son las

formas de transmisión y las fuentes de infección. Tampoco se conoce si los animales son infectados y sirven como reservorio de la infección para el humano (34).

En contraste con otros organismos, los ooquistes de *C. cayetanensis* no son infectivos al momento de ser excretados en las heces. El parásito se vuelve infectivo hasta varios días o semanas después de ser excretado, cuando éste ya ha esporulado. Las temperaturas altas y la humedad, facilitan la esporulación, por lo que la transmisión directa de *C. cayetanensis* de una persona infectada a otra no es posible (34).

Una epidemia en Nepal ocurrió pese a los niveles de cloro adecuados en el agua y la ausencia de coliformes, sugiriendo que *C. cayetanensis*, como *Cryptosporidium parvum*, es resistente a la desinfección por cloro, esto es confirmado por observaciones en laboratorio de supervivencia de los ooquistes expuestos a cloro puro (35).

*C. cayetanensis* es un parásito distribuido mundialmente, ha sido identificado en residentes y viajeros de varias regiones incluyendo Norte, Centro y Sur América, India, Africa, el sur-este de Asia y Europa Oriental (36). Personas de todas las edades pueden ser infectadas, tanto pacientes inmunodeprimidos (35) como inmunocompetentes (38).

El riesgo puede variar con las estaciones y existe alguna evidencia de que es más común en primavera y verano (26).

*Cyclospora cayetanensis* es endémica en varios países. En Nepal se reportaron entre 55 y 104 casos anuales desde 1989 hasta 1992 (20), en Chicago en el año de 1990 se reportaron 20 casos en un estudio de 2 meses (33). En Perú todos los años desde 1988, se han registrado infecciones por este agente en niños de los barrios bajos de Lima (26), en el período de noviembre de 1991 a marzo de 1993 durante un estudio sobre patógenos

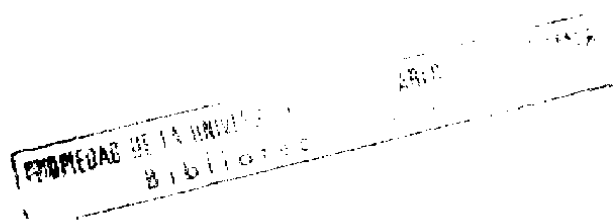
entéricos se reportó el caso de siete individuos (4 niños y 3 adultos jóvenes) todos inmunocompetentes que presentaban diarrea acuosa (6).

En Honduras se han reportado 19 casos, diagnosticados durante los meses lluviosos (39).

En Guatemala el primer caso se diagnosticó en 1991 en las heces de un niño de 3 años del Hospital General San Juan de Dios, durante el estudio de tesis de Tamara Velásquez (8). En este mismo hospital, se reportaron 18 casos en el período de enero a diciembre de 1996, en pacientes con SIDA, siendo la prevalencia de *C. cayetanensis* mayor para éste grupo que la de otros coccidios (40).

En el período comprendido entre el tres de mayo y el 14 de junio de 1996, en 54 eventos sociales (almuerzos o fiestas) en 14 estados de Estados Unidos, el Distrito de Columbia y dos provincias de Canadá, se observó grupos de enfermedad diarréica asociados a infección por *C. cayetanensis*. Investigaciones epidemiológicas demostraron asociación con el consumo de frambuesas originarias de diferentes fincas en Guatemala (41,42).

En 1997 la Comisión de Exportadores y el Gobierno de Guatemala, suspendieron voluntariamente la exportación de frambuesas, debido a reportes de nuevos casos en ocho estados de Estados Unidos durante los meses de abril a mayo (43).





#### 4. JUSTIFICACIONES

La diarrea crónica es un síntoma prolongado y frustrante para los pacientes y constituye un desafío diagnóstico para los profesionales de la salud. En la actualidad se debe incluir en su diagnóstico diferencial a *C. cayetanensis*.

Investigaciones epidemiológicas realizadas por el Center for Disease Control (CDC) indican que los brotes epidémicos acaecidos en Estados Unidos en 1996 podrían estar asociados con el consumo de frambuesas cultivadas en diferentes fincas de Guatemala, por lo que el propósito del estudio es mejorar el conocimiento de los aspectos epidemiológicos de la infección causada por éste coccidio tanto en pacientes con SIDA como en pacientes sin SIDA, para implementar métodos de diagnóstico sencillos y efectivos .

En un trabajo anterior sobre coccidios en pacientes con SIDA (40), se recomienda estudiar éstos coccidios en otros grupos de pacientes, por lo que en este estudio se analizaron muestras de pacientes de la consulta externa adultos y niños, además de pacientes con SIDA para realizar una comparación.

*C. cayetanensis* es infectiva bajo ciertas condiciones de humedad y calor por lo que se esperaba se presentara en los meses de verano e inicio de lluvia. En nuestro país los meses de lluvia son de abril a septiembre, con un pico en junio (44) por lo que el muestreo del estudio cubrió parte de estos meses además del mes de marzo que está clasificado como de verano.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 General:

Demostrar la presencia de *Cyclospora cayetanensis* en muestras fecales diarreicas de pacientes de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios.

### 5.2 Especificos:

Determinar la prevalencia de *Cyclospora cayetanensis* en muestras fecales diarreicas de pacientes de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios.

Comparar la sensibilidad de dos técnicas de tinción contra la de referencia, epifluorescencia.

Describir las características clínicas generales de los pacientes cuya diarrea sea causada por *C. cayetanensis*.

Comparar la prevalencia de *C. cayetanensis* en los distintos grupos de pacientes seleccionados: adultos y niños, inmunodeprimidos e inmunocompetentes.



## 6. HIPOTESIS

En Guatemala, *Cyclospora cayetanensis* es un agente causal de diarrea tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes.

PROPIEDAD DE LA INSTITUCIÓN DE INVESTIGACIONES DE GUATEMALA  
Biblioteca Centro

## **7. MATERIALES Y METODOS**

### **7.1 Universo de Trabajo:**

Personas que asisten a la consulta externa (adultos y niños) del Hospital General San Juan de Dios.

#### **7.1.1 Muestra:**

170 Muestras de heces diarreicas de los pacientes que acuden a la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios, elegidas al azar, por un periodo de 6 meses (marzo-agosto)

### **7.2 Recursos:**

#### **7.2.1 Humanos:**

Br. Katherine Marlene Alvarado Illescas (investigadora), Lic. Raúl Paniagua (asesor), Lic. Miguel Francisco Torres (asesor).

#### **7.2.2 Institucionales:**

Hospital General San Juan de Dios y la Unidad de Entomología Médica de la Universidad del Valle de Guatemala.

### **7.3 Materiales:**

#### **7.3.1 Equipo:**

Microscopio

Centrífuga

Refrigeradora

Mechero

Ocular con escala de medición en micras.

#### **7.3.2 Materiales:**

1000 tubos de plástico para centrífuga de 15 mL con fondo cónico.

10 cajas de portaobjetos.  
10 cajas de cubreobjetos.  
2 asas bacteriológicas.  
2 cajas de palillos de madera.  
Gasa de algodón.  
200 pipetas Pasteur de 2 mL.  
Beaker de 50 mL.  
Masking tape.  
400 vasos cónicos de cartón.  
Caja de guantes descartables.

#### 7.3.3 Reactivos:

10 litros Formalina bufferada al 10%.  
1 litro de Acetato de Etilo para análisis.  
10 frascos de Solución de sucrosa saturada fenolada.  
500 mL Metanol absoluto.  
3 litros de Fucsina básica fenolada de Kinyoun.  
500 mL de Acido sulfúrico.  
500 mL de Etanol absoluto.  
500 gr. de Verde de malaquita.  
500 mL de Azul de metileno según Loeffler.  
250 mL de Permout.  
250 mL de Aceite de inmersión.

#### 7.4 Métodos:

A cada muestra de heces, se le practicó investigación de *C. cayetanensis* de la siguiente manera:

##### 7.4.1 Flotación en Sucrosa según Sheather:

Se suspendió aproximadamente un gramo de heces en 7-8 mL de

solución de sucrosa fenolada, se agitó bien, se agregó más sucrosa hasta 2-3 mm por debajo del borde del tubo, se centrifugó a 1000 rpm por 10 minutos. Con un asa bacteriológica en argolla se tomó la capa más superficial, se colocaron varias asadas del material en un portaobjetos, se colocó un cubreobjetos y se observaron los ooquistes rosados de *C. cayetanensis*, primero buscando con lente objetivo seco débil, luego pasando a seco fuerte para confirmar.

#### 7.4.2 Kinyoun modificado para coccidios:

Se aplicó la modificación según Leonardo Mata (INISA, Costa Rica).

Técnica de INISA: Se hizo un frote degado de heces, se fijó por calor, se aplicó Fucsina básica fenolada, se calentó hasta sacar vapores blancos y se dejó por 5 minutos. Se decoloró con alcohol ácido 5%, se coloreó 2 minutos con azul de metileno según Loeffler, se lavó, se dejó secar, se observó con lente de inmersión.

#### 7.4.3 Concentración Acetato de Etilo-Formalina según Ritchie modificada:

Se suspendió aproximadamente un gramo de heces en 15 mL de solución salina, se filtró hacia un tubo de centrifuga a través de un vaso cónico de cartón con gasa, se centrifugó a 1,500 rpm por 2 minutos, se descartó el sobrenadante, se resuspendió el sedimento en 9 mL de formalina al 10%, se adicionaron 3 mL de acetato de etilo para análisis, se tapó y agitó vigorosamente por 30 segundos. Se centrifugó a 1.500 rpm por 2 minutos, se decantó y se observó el sedimento.

#### 7.4.4 Tinción de Kinyoun:

A partir del sedimento obtenido de la concentración se hizo un

frote delgado de heces, se fijó en metanol absoluto, se aplicó fucsina básica fenolada y se dejó por 5 minutos, se decoloró con alcohol ácido al 5% por 2 minutos, se coloreó por 2 minutos con verde de malaquita al 3%, se lavó, se dejó secar.

#### 7.5 Observación Microscópica:

Los frotos teñidos se observaron en el microscopio y los ooquistes encontrados se midieron con un lente graduado en micras para diferenciarlos de otros coccidios. Cada muestra positiva fue confirmada por epifluorescencia en los laboratorios de la Unidad de Entomología médica (MERTU) de la Universidad del Valle de Guatemala.

#### 7.6 Diseño de la Investigación:

##### 7.6.1 Tipo de Estudio:

Estudio observacional para determinación de prevalencia de *Cyclospora cayetanensis* como agente causal de diarrea (transversal).

##### 7.6.2 Tipo de Muestreo:

Se realizó un muestreo por conveniencia, se incluyeron todas las muestras de heces frescas procedentes de la consulta externa del Hospital General San Juan de Dios, dividiéndolas en grupos: inmunocompetentes: pediátricos de cero a 12 años, adultos de 12 años en adelante e inmunodeprimidos pacientes que cumplan con la definición de caso de SIDA de cualquier edad (anexo 1)

##### 7.6.3 Determinación del número de muestras:

El número total de muestras "n" se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Nc^2 \delta^2}{\Delta^2}$$

donde Nc para  $\alpha = 0.05$  1.96 (95% de confianza)

$\delta^2 =$  Varianza = pq

p = prevalencia esperada de *Cyclospora cayetanensis* positivo

q = prevalencia esperada de *Cyclospora cayetanensis* negativo

p = 0.1

q = 0.9

$\Delta =$  Límite de error del 10 %

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.1) (0.9)}{(0.10)^2} = 35$$

Se analizarían como mínimo 35 muestras. Con el objeto de analizar los meses de verano e inicio de lluvia, se tomaron las 170 muestras que ingresaron en este período.

#### 7.6.4 Selección de Muestra

Se analizaron muestras de heces frescas, diarreicas de pacientes de la consulta externa. Se incluyeron aquellos pacientes que aceptaron participar en el estudio, firmando un consentimiento (anexo 2). Para cada paciente se llenó una ficha de recolección de datos (anexo 3).



### 7.6.5 Análisis de Resultados

7.6.5.1 Con los resultados obtenidos se estimó la prevalencia (estadística descriptiva) de casos positivos para *C. cayetanensis* utilizando un intervalo de confianza del 95 por ciento mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\# \text{ de personas que tienen la enfermedad en un momento dado}}{\# \text{ de personas que forman parte del grupo en ese momento}}$$

Se utilizó el intervalo de confianza:

$$\text{I.C.} = p \pm (1.96) \frac{\sqrt{pq}}{n}$$

### 7.6.5.2 Prueba de Hipótesis

$H_0$  : población 1 = población 2 ( hipótesis de Investigación)

$H_1$  : población 1  $\neq$  población 2

Población 1 = pacientes inmunodeprimidos

Población 2 = pacientes inmunocompetentes (pediátricos)

$$Z_{\text{calc}} = \frac{P_1 - P_2}{\frac{\sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2}}{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$Z_{\text{calc}} = 0.08$$

$$Z_{\text{teórico}} = 1.96$$

$$Z_{\text{calc}} < Z_{\text{teórico}} = \text{se acepta } H_0$$

### 7.6.5.3 Sensibilidad de Técnicas empleadas

Se comparó cada una de las técnicas de tinción (Kinyoun y Kinyoun modificado) con la técnica de referencia epifluorescencia. Para el análisis se utilizó una tabla de contingencia o de dos por dos, utilizando el programa de computadora Análisis Epidemiológico de datos tabulados, Epidat (OPS), versión 1.0 diciembre de 1994.

## 8. RESULTADOS

El estudio fue llevado a cabo en el transcurso de seis meses (marzo a agosto) período en el cual se analizaron 170 muestras fecales, diarréicas de pacientes de la consulta externa. En cada grupo y en la totalidad de pacientes, se trabajó con intervalos de confianza del 95 por ciento

Se obtuvo un total de 14 muestras positivas con lo que se estableció una prevalencia de ocho por ciento, con un intervalo de confianza que corresponde a un máximo del 12 por ciento y un mínimo de cuatro por ciento.

En el grupo de pacientes inmunodeprimidos se analizaron 18 muestras de las cuales tres fueron positivas (2 por ciento), para un 17 por ciento, con un máximo del 34 por ciento y un mínimo de cinco por ciento.

De la consulta externa se analizaron 152 muestras, siendo 63 pediátricas y 89 de adultos. De las muestras pediátricas se obtuvo 11 muestras positivas (6 por ciento), para un 17 por ciento, con un 27 por ciento de máximo y ocho por ciento de mínimo. En el grupo de adultos no se obtuvo ninguna muestra positiva.

Entre los síntomas más importantes se encontraron que 12 pacientes presentaron fiebre, 11 dolor abdominal y tres vómitos. De los 14 pacientes infectados con *C. cayetaniensis* tres ya habían sido tratados con albendazole.

La mayoría de las muestras tenía un color blanco cremoso con partículas cafés y moco. Tres pacientes inmunodeprimidos presentaron sangre en sus deposiciones.

El grupo de pacientes inmunocompetentes infectados, estuvo comprendido entre los dos y cinco años de edad, 73 por ciento hombres y 27 por ciento mujeres, mientras que en el grupo de inmunodeprimidos 67 por

ciento hombres y 33 por ciento mujeres, comprendidos entre 30 y 43 años de edad.

La mayor frecuencia de infección se observó durante los meses de mayo y junio.

Con respecto a la técnicas de tinción, comparadas con la técnica de epifluorescencia, el Kinyoun presentó el 79 por ciento de sensibilidad, con un intervalo de confianza de 49 a 94 por ciento y el 100 por ciento de especificidad, con un intervalo de confianza de 97 a 100 por ciento.

El Kinyoun modificado presentó el 100 por ciento de sensibilidad, con un intervalo de confianza de 73 a 99 por ciento y un 99 por ciento de especificidad, con un intervalo de confianza de 96 a 100 por ciento.

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados del estudio demuestran que *C. cayetanensis* no es un coccidio intestinal exclusivo de los pacientes inmunodeprimidos, sin embargo los síntomas asociados a esta infección se hacen más evidentes en pacientes inmunocompetentes.

En los grupos de pacientes analizados (inmunocompetentes e inmunodeprimidos) sólo se pudo comparar entre el grupo de inmunodeprimidos y los pediátricos, debido a que en el grupo de adultos no hubo casos positivos. En ambos grupos se presentó un 17 por ciento de positividad, en el grupo pediátrico los pacientes que resultaron positivos todos fueron menores de cinco años.

En el grupo de pacientes inmunodeprimidos se observó un 17 por ciento de positivos y en la totalidad de las muestras un dos por ciento. Comparativamente en un estudio anterior de coccidios en pacientes con SIDA(40) se encontró un 12 por ciento de casos de *C. cayetanensis* que al compararlos estadísticamente indican que la frecuencia de este coccidio en este grupo de pacientes, no es diferente.

Respecto a estudios hechos en otros países se presenta un porcentaje similar al de países como Honduras y Perú (26,39). Esto puede deberse a la similitud de condiciones climatológicas y socioeconómicas prevalentes en esos países. Los síntomas que presentaron todos los pacientes inmunocompetentes e inmunodeprimidos del presente estudio, son similares a los descritos en la literatura (3,4,18,19).

SECRETARÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS

Las infecciones presentadas por *C. cayetanensis* se dieron en los meses de abril a agosto, existiendo un pico en los meses de mayo a junio. En estudios anteriores se ha observado el mismo comportamiento para todos los coccidios (19,20,40), debido a que en estos meses se encuentran las condiciones de temperatura y humedad que hasta la fecha se asumen idóneas para el desarrollo de la fase infectiva de este parásito.

Las técnicas utilizadas, Kinyoun normal y modificado fueron comparadas con la técnica de referencia de epifluorescencia. Se observó una mayor sensibilidad del Kinyoun modificado, debido a que se utiliza calor (flamear el frote con una torunda de algodón empapada en alcohol, hasta que el colorante despidiera humos blancos, aproximadamente 30 segundos) para que el colorante primario fije, por lo que los ooquistes se observan mucho mejor coloreados que con Kinyoun normal, esta técnica presentó un 100 por ciento de sensibilidad, lo que a diferencia de la epifluorescencia es de menor costo y se puede utilizar sin la necesidad de microscopios especiales.

Con los métodos de concentración que se usaron, flotación con sucrosa y sedimentación con acetato de etilo-formalina se observó que con flotación se obtenía mayor número de ooquistes que con sedimentación, por lo que en muestras con pocos ooquistes es de más utilidad la flotación con sucrosa según Sheather.

SECRETARÍA DE LA SALUD  
SECRETARÍA DE LA SALUD  
SECRETARÍA DE LA SALUD

## 10. CONCLUSIONES

- 10.1 La prevalencia de *C. cayetanensis* en muestras diarréicas de pacientes de la consulta externa incluidos en el estudio, del Hospital General San Juan de Dios, en los meses de marzo a agosto 1997, fue del ocho por ciento, con un intervalo de confianza del 95 por ciento que corresponde a un máximo de cuatro por ciento y un mínimo de 12 por ciento.
  
- 10.2 *C. cayetanensis* esta relacionado con un número importante de episodios de diarrea tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes pediátricos, en el grupo bajo estudio, en los meses de marzo a agosto.
  
- 10.3 La técnica de tinción de Kinyoun modificada presentó mayor sensibilidad para el diagnóstico de *C. cayetanensis*. comparada con la técnica de referencia epifluorescencia.

## 11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Aplicar las técnicas diagnósticas para coccidios intestinales a todas las muestras diarréicas procedentes de pediatría, especialmente en niños menores de 5 años y cuando la diarrea presente un cuadro recurrente.
  
- 11.2 Realizar investigaciones sobre *C. cayetanensis* en diferentes áreas del país, en donde existan condiciones climatológicas distintas a las de la capital, para luego definir las condiciones óptimas de desarrollo de la infección.
  
- 11.3 Definir factores de riesgo en los distintos grupos de población, para evitar su propagación.

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS  
INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA  
LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA Y ENTOMOLOGÍA  
CALLE 212, PUNTO FICP, CAROLINA, GUAYAS



## 12. REFERENCIAS

- 1.- Ashford RW. Occurrence of an undescribed coccidian in man in Papua New Guinea. *Annals of tropical Medicine and Parasitology* 1979;73(5):497-500.
- 2.- Ortega YR, . *Cyclospora* species a new protozoan pathogens of humans. *The New England Journal of Medicine* 1993;238(18):1308-1312.
- 3.- Shlim DR, *et al.* An alga-like organism associated with an outbreak of prolonged diarrhea among foreigners in Nepal. *J Trop Med Hyg* 1991;45(3):383-389.
- 4.- Center for Disease Control. Outbreaks of diarrheal illness associated with cyanobacteria (blue-green algae)-like bodies- in Chicago and Nepal, 1989 and 1990. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*1991;40(19):325-327.
- 5.- Hoge CW, *et al.* Prevalence of *Cyclospora* species and other enteric pathogens among children less than 5 years of age in Nepal. *Journal of Clinical Microbiology* 1995;33(11):3058-3060.
- 6.- Zerpa R, Uchima N, Huicho L. *Cyclospora cayetanensis* associated with watery diarrhea in peruvian patients. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1995;98:325-329.
- 7.- Roxas C, *et al.* Potential transmission of *Cryptosporidium* and *Cyclospora* oocysts in vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. *Journal of Parasitology* 1995;81(5):785-786.
- 8.- Pradesaba RA, Velásquez T & Torres MF. Ocurrance of *Isospora belli* and cyanobacterium-like bodies in Guatemala. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1994;88(4):449-450.

- 9.- Pratdesaba RA. Investigación de *Isospora belli* y comparación de métodos diagnósticos en grupos a riesgo en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 36p.
- 10.- Levine ND, *et al.* A newly revised classification of the *Protozoa*. J Protozool 1980;27:37-58.
- 11.- Relman DA, *et al.* Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora* the human pathogen, suggest that it is closely related to *Eimeria* species. J Infect Dis 1996;173(2):440-445.
- 12.- Ortega YR, Gilman RH & Sterling CR. A new coccidian parasite (*Apicomplexa: Eimeriidae*) from humans. Journal of Parasitology 1994;80(4):625-629.
- 13.- Long EG, *et al.* Alga associated with diarrhea in patient with acquired immunodeficiency syndrome and in travelers. Journal of Clinical Microbiology 1990;28(6):1101-1104.
- 14.- Wurtz R. *Cyclospora* a newly identified intestinal pathogen of humans. Clin Infec Dis 1994;18(4):620-623.
- 15.- Marshal, *et al.* Waterborne Protozoan Pathogens. Clin Microbiol Rev 1997;10:76-77.
- 16.- Bendall RP, *et al.* Diarrhea associated with cyanobacterium like bodies: a new coccidian enteritis of man. Lancet 1993;341:590-592.
- 17.- Long EG, *et al.* Morphologic and staining characteristics of a cyanobacterium like organism associated with diarrhea. Concise Communications JID 1991;164:199-202.
- 18.- Gascon J, *et al.* Cyanobacteria-like body (CLB) in travelers with diarrhea. Scand J Infect Dis 1993;25:253-257.
- 19.- Huang P, *et al.* The first reported outbreak of diarrheal illness associated with *Cyclospora* in the United States. Ann Intern Med 1995;123:409-414.

- 20.- Hoge CW, *et al.* Epidemiology of diarrheal illness associated with coccidian-like organism among travelers and foreign residents in Nepal. *Lancet* 1993;341:1175-1179.
- 21.- Wurtz RM, *et al.* Clinical characteristics of seven cases of diarrhea associated with a novel acid-fast organism in the stool. *CID* 1993;16:136-138.
- 22.- Connor BA, *et al.* Pathologic changes in the small bowel in nine patients with diarrhea associated with a coccidia-like body. *Annals of Internal Medicine* 1991;119(5):377-382.
- 23.- Chiodini PL. A new parasite: human infection with *Cyclospora cayetanensis*. *Transactions of the Royal Society of Clinical Pathologists* 1987;88:369-371.
- 24.- Ash LR & Orihel TC. Parasites: A guide to laboratory procedures and identification. *American Society of Clinical Pathologists* 1987;XXII+328:18-53.
- 25.- Organización Panamericana de la Salud, Universidad Autónoma de Honduras. Manual de Parasitología. 1996:41-43.
- 26.- Mintz ED & Long EG. CTC: Nueva causa infecciosa de diarrea crónica. *Infectious Diseases in Clinical Practice (en español)*. 1994;3(2):59-62.
- 27.- Ma P & Soave R. Three-step stool examination for criptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *J Infect Dis* 1983;147:824-828.
- 28.- Brown J. From out of nowhere *Cyclospora cayetanensis*. *MLO* 1997;2:32-38.
- 29.- Long EG, *et al.* Alga associated with diarrhea in patients with acquired immunodeficiency syndrome in travelers. *Journal of Clinical Microbiology* 1990;28(6):1101-1104.

- 30.- Hoge CW, *et al.* Placebo-controlled trial of cotrimoxazole for *Cyclospora* infections among travelers and foreign residents in Nepal. *Lancet* 1995;345:691-693.
- 31.- Madico G, *et al.* Treatment of *Cyclospora* infections with cotrimoxazole. *Lancet* 1993;342:122-123.
- 32.- Centers for Disease Control. *Cyclospora*: Information for health professionals. Folleto Informativo 1996.
- 33.- Herwaldt BL, *et al.* Waterborne-Disease Outbreaks 1989-1990. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1991;40:1-13.
- 34.- Sterling CR. *Cyclospora*: A recently discovered parasite. Department of veterinary science, University of Arizona. 1996.
- 35.- Ortega YR. Comunicación Personal University of Arizona. 1996.
- 36.- Soave R. *Cyclospora*: An overview. *CID* 1996;23:429-435.
- 37.- Hart AS, *et al.* Novel organism associated with chronic diarrhea in AIDS. *Lancet* 1990;335:169-170.
- 38.- Ooi WW, Zimmerman SK, Needham CA. *Cyclospora* species as a gastrointestinal pathogen in immunocompetent host. *J Clin Microbiol* 1995;33(5):1267-1269.
- 39.- Kaminsky RG. Cuerpos semejantes a Cyanobacteria asociados con Diarrea en Honduras. *Revista Médica Hondureña* 1991;59:179-182.
- 40.- Cuellar N. Prevalencia de Infecciones Intestinales causadas por coccidios: *Cryptosporidium sp.*, *Cyclospora cayetanensis* e *Isospora belli* en pacientes con SIDA. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1997. 71p.
- 41.- Center of Disease Control. Outbreaks of *Cyclospora cayetanensis* infection in United States 1996. *MMWR* 1996;45(25):549-551.

- 42.- Centers of Disease Control. Update: outbreaks of *Cyclospora cayetanensis* infection in United States and Canada 1996. MMWR 1996;45(28):611-612.
- 43.- Centers of Disease Control. Update: outbreaks of Cyclosporiasis United States and Canada 1997. MMWR 1997;46(23): 521-523.
- 44.- Bautista M. Departamento de Climatología del Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Metereología e Hidrología (INSIVUMEH).

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

## DEFINICION DE CASO DE SIDA

<u>Signos/ Sintomas/ Diagnóstico</u>	<u>Puntos</u>
<b>GRUPO A</b>	
Sarcoma de Kaposi	6
Tuberculosis:Diseminada extrapulmonar/ pulmonar no cavitaria (pero sin Rx. confirmatorio, considerada como grupo B)	6
<b>GRUPO B</b>	
Candidosis oral, Leucoplaquia pilosa	3
Tuberculosis pulmonar con cavitación inespecífica	3
Herpes zoster (<60 años)	3
Disfunción del S.N.C. indicado por confusión mental, demencia estupor o coma, convulsiones, meningitiso encefalitis, pruebas cerebelosas anormales.	3
<b>GRUPO C</b>	
Diarrea > 1 mes	2
Fiebre > 1 mes	2
Caquexia o pérdida el 10 % del peso normal	2
Astenia > 1 mes	2
Dermatitis persistente	2
Anormalidades hematológicas ( 1 ó más de las siguientes) anemia, hematocrito < 30% hombres y < 25% mujeres ó Hb. < 11g/dl hombres y < 10 g/dl mujeres. Linfopenia (absoluta < 10000/mm <sup>3</sup> ) trombocitopenia < 100,000/mm <sup>3</sup> , infiltrados intersticiales, difusos o bilaterales.	2
Tos persistente	2

**Si es igual o mayor de 6 puntos, más serología positiva, es diagnóstico confirmatorio de SIDA.**

---

Tabla de Criterio Diagnóstico de SIDA, Caracas, Venezuela

Fuente: Asociación Guatemalteca Para el Control del SIDA - AGPCS-

ANEXO 2

**CONSENTIMIENTO DE AUTORIZACION PARA LA PARTICIPACION EN EL ESTUDIO**

CONSENTIMIENTO DE PADRES O TUTORES

Número de identificación del niño \_\_\_\_\_

Apellido, nombre del niño \_\_\_\_\_

Apellido, nombre del padre \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Se me explicó la forma de consentimiento, y estoy de acuerdo en participar en el estudio.

\_\_\_\_\_ (d) \_\_\_ (m) \_\_\_ (a) \_\_\_

firma o huella digital del padre                      fecha

\_\_\_\_\_  
firma del testigo

CONSENTIMIENTO DE ADULTOS

Número de identificación \_\_\_\_\_

Apellido, nombre \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Se me explicó la forma de consentimiento, y estoy de acuerdo en participar en el estudio.

\_\_\_\_\_ (d) \_\_\_ (m) \_\_\_ (a) \_\_\_

firma o huella digital                                      fecha

\_\_\_\_\_  
firma del testigo



**ANEXO 3**

**HOJA DE CONTROL**

No. \_\_\_\_\_

**\* DATOS GENERALES**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Sexo : \_\_\_\_\_

Sala: \_\_\_\_\_ No. de Expediente : \_\_\_\_\_

**\* CARACTERISTICAS FISICAS DE LA MUESTRA:**

Color :      Café: \_\_\_\_\_ Verde: \_\_\_\_\_ Pardo: \_\_\_\_\_ Otro: \_\_\_\_\_

Moco: \_\_\_\_\_ Sangre: \_\_\_\_\_ Otro: \_\_\_\_\_

**\* CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS DE LA MUESTRA:**

Observación en fresco : \_\_\_\_\_

Observación en fresco post concentración: \_\_\_\_\_

Observación con tinción Kinyoun : \_\_\_\_\_

Observación con tinción Kinyoun modificado: \_\_\_\_\_

# Anexo 4

## Ciclo propuesto

### Ciclo de Vida de *Cyclospora cayentanensis*

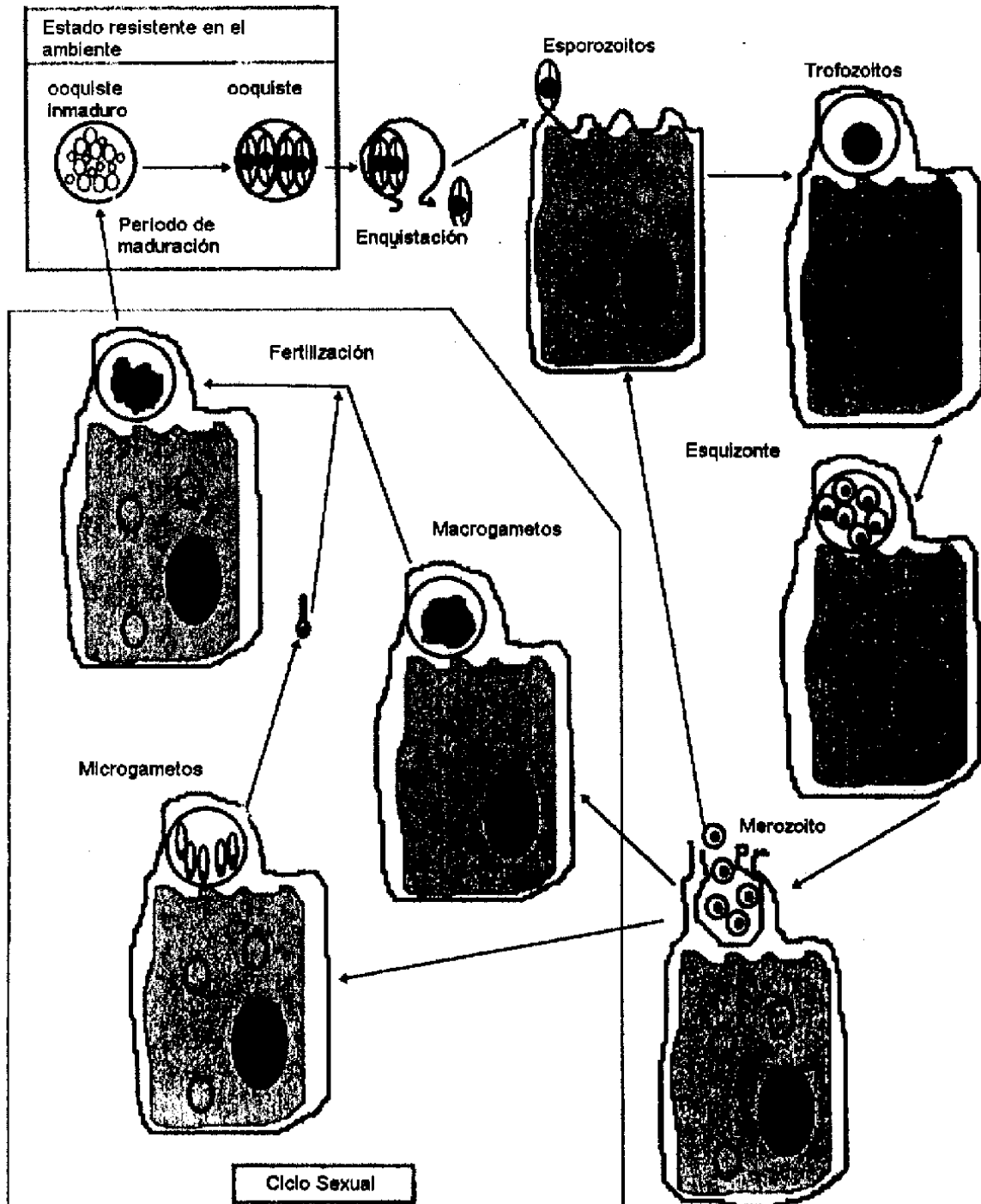


Tabla No. 1

**PREVALENCIA DE *C. cayetanensis* EN LOS DISTINTOS GRUPOS DE ESTUDIO**

Grupo de Estudio	casos positivos	Porcentaje
Inmunodeprimidos	3	2
Pediátricos	11	6
Adultos	0	0
Total	14	8

Datos de porcentaje corresponden a n= 170 muestras

SECRETARÍA DE SALUD  
INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS  
LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA Y MICOLOGÍA  
CAROLINA, VENEZUELA

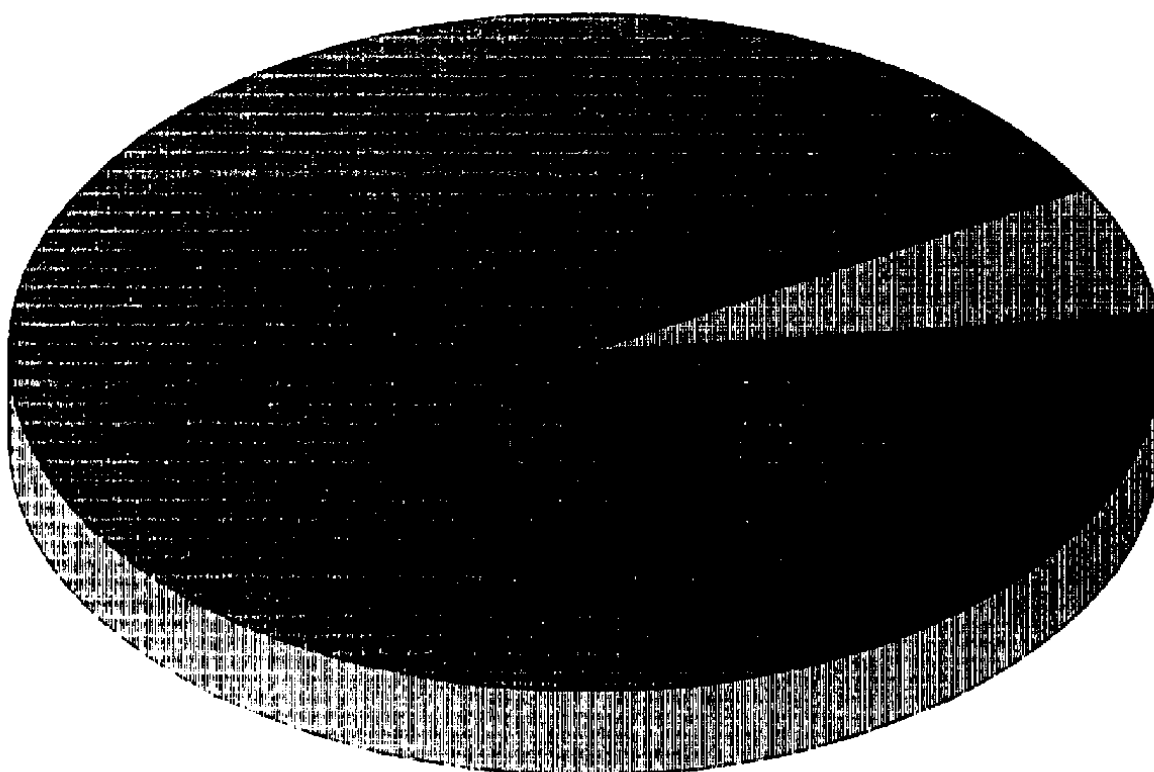
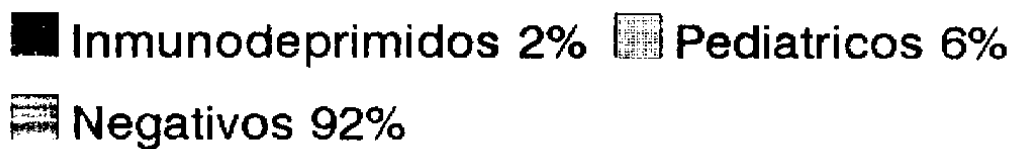
Tabla No. 2

**FRECUENCIA POR MES DE INFECCIONES POR**  
*C. cayetanensis*

Mes	frecuencia
marzo	0
abril	1
mayo	6
junio	6
julio	1
agosto	0
Total	14

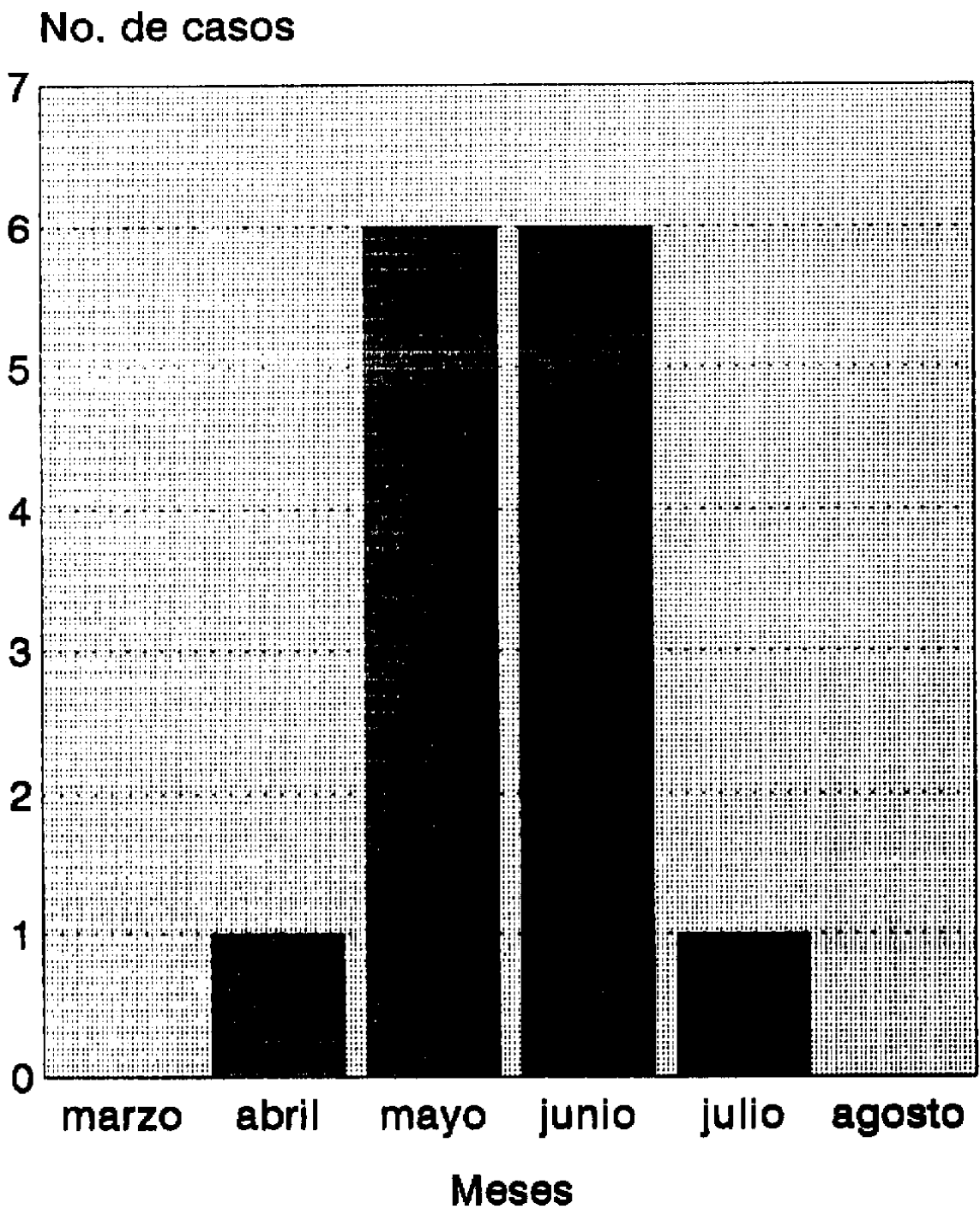
Gráfica No. 1

PREVALENCIA DE C. cayetanensis EN GRUPOS DE ESTUDIO DEL HGSJD

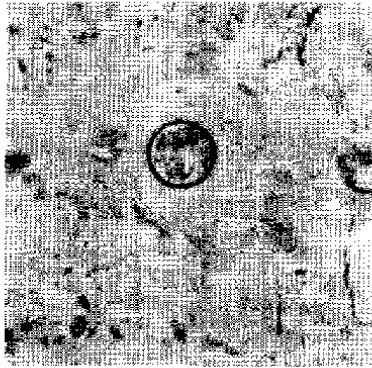


n = 170

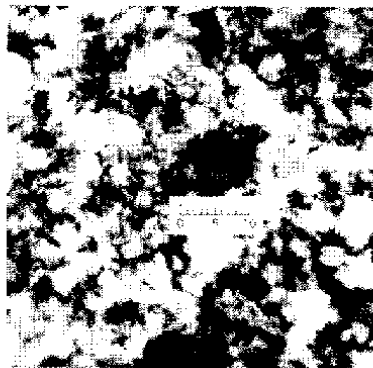
Grafica No. 2  
FRECUENCIA DE C. cayetanensis EN LOS MESES DE ESTUDIO



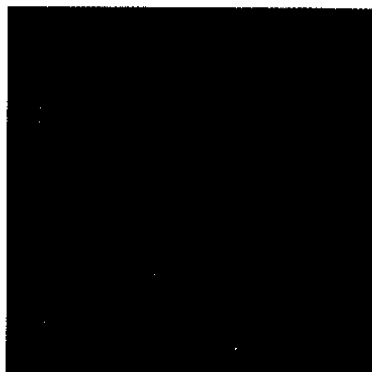
## Anexo 5



*Cyclospora cayetanensis* en fresco

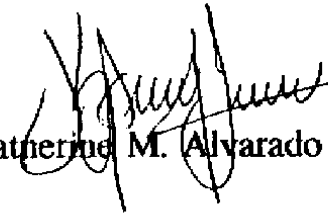


*Cyclospora cayetanensis* teñida con Kinyoun



*Cyclospora cayetanensis* confirmada por epifluoresencia

**Fuente: MERTU/G-CDC / UVG**




Katherine M. Alvarado Illescas



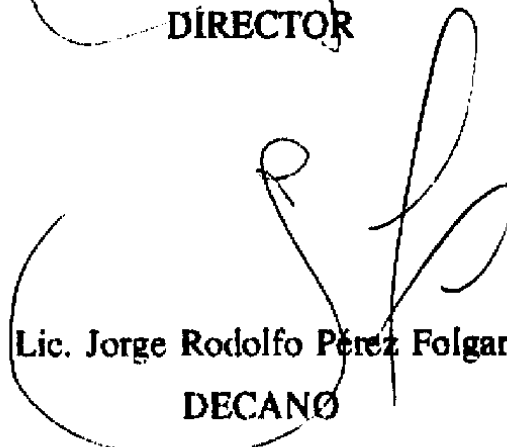
Lic. Raúl Antonio Paniagua  
ASESOR



Lic. Miguel F. Torres  
ASESOR



Lic. Gerardo Leonél Arroyo Catalán  
DIRECTOR



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar  
DECANO