

COCCIDIOSIS INTESTINAL EN EL PERÚ: ACTUALIZACIÓN DE SU FRECUENCIA, TRANSMISIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Silva-Díaz Heber ^{1,a}

RESUMEN

La coccidiosis intestinal es una enfermedad parasitaria causada por un grupo de protozoos apicomplejos de infección intracelular obligada (*Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. y *Cystoisospora belli*). La infección en humanos por *C. cayetanensis* y *Cryptosporidium* spp. es en personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas de todas las edades. En Perú se han registrado frecuencias que varían entre el uno a más del 40%, siendo superiores en la población inmunocomprometida. Asimismo *C. belli* se ha registrado principalmente en pacientes inmunocomprometidos con infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

Si bien estos parásitos pueden ser detectados en el laboratorio mediante el convencional examen microscópico directo de heces, son las coloraciones ácido-resistentes (Kinyoun y Ziehl-Neelsen modificado), las recomendadas para su diagnóstico debido a sus ventajas de sensibilidad, practicidad y menor costo. No obstante existen otras opciones microscópicas, enzimo-inmunoensayos y pruebas moleculares para su detección.

Los humanos son los únicos reservorios conocidos para *C. cayetanensis* y *C. belli*, mientras que existen especies zoonóticas en *Cryptosporidium* spp. La sobrevivencia de los ooquistes de los coccidios por largos periodos de tiempo en el ambiente y la resistencia relativa a la desinfección con cloro, constituyen características biológicas particulares de estos parásitos que permiten su transmisión a través de agua y alimentos contaminados, convirtiendo a estos parásitos en potentes agentes infecciosos en países con escaso saneamiento básico como el Perú. Se destaca la necesidad del diagnóstico oportuno y vigilancia de esta enfermedad en el país.

Palabras clave: Coccidios intestinales, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Isospora*, Perú. (Fuente: DeCS- BIREME).

INTESTINAL COCCIDIOSIS IN PERU: UPDATE OF ITS FREQUENCY, TRANSMISSION AND LABORATORY DIAGNOSIS

ABSTRACT

Intestinal coccidiosis is a parasitic disease caused by a group of apicomplexa protozoa with obligate intracellular infection (*Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli*). Human infection with *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. is in immunocompetent and immunocompromised patients of all ages. In Peru, frequencies ranging from one to more than 40% have been recorded, being higher in the immunocompromised population. *C. belli* has also been reported mainly in immunocompromised patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection.

Although these parasites can be detected in the laboratory by conventional direct microscopic examination on feces, the acid-resistant stains (Kinyoun and modified Ziehl-Neelsen), which are recommended for diagnosis, due to their advantages of sensitivity, practicality and lower cost. However there are other microscopic options, enzyme immunoassays and molecular tests for detection. Humans are the only known reservoirs for *C. cayetanensis* and *C. belli*, while there are zoonotic species in *Cryptosporidium* spp. Survival of oocysts of coccidia for long time in the environment and relative resistance to disinfection with chlorine are particular biological characteristics of these parasites that allow their transmission through contaminated food and water, making these parasites into potent agents Infectious diseases in countries with scarce basic sanitation such as Peru. The need for timely diagnosis and surveillance of this disease in the country is highlighted.

Keywords: Intestinal coccidia, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Isospora*, Peru. (Source: MeSH-NLM).

INTRODUCCIÓN

Los coccidios intestinales (*Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. y *Cystoisospora belli*) son parásitos protozoos apicomplejos de infección intracelular obligados, que afectan preferencialmente la mucosa intestinal. La infección en humanos es importante en pacientes inmunocomprometidos; no obstante, en inmunocompetentes la infección es también frecuente, principalmente en niños. Las coccidiosis son causa importante y emergente de diarrea

alrededor de todo el mundo, con significativa morbilidad y mortalidad ⁽¹⁻³⁾.

La ciclosporiasis en pacientes inmunocompetentes produce diarrea autolimitada, leve a moderada. Mientras que, en los inmunocomprometidos se observa una diarrea prolongada y con severa lesión intestinal e incluso diseminación extraintestinal⁽⁴⁾. La cryptosporidiosis puede ser zoonótica^(5,6), y se presenta con varias características clínicas y niveles de gravedad; es potencialmente mortal en pacientes

¹ Laboratorio de Parasitología, Metaxénicas y Zoonosis, Dirección de Investigación del Hospital Regional Lambayeque, Lambayeque, Perú.

^a Biólogo, Microbiólogo, Doctor en Ciencias.

inmunocomprometidos. Similares características clínicas y patogénicas se ha observado en la cisticercosis, no obstante la enfermedad intestinal por *C. belli* es de mayor asociación a infiltración eosinofílica local, eosinofilia periférica y afección extraintestinal^(2,7).

Las afecciones intestinales de curso agudo y crónico de etiología desconocida es frecuente en la práctica clínica⁽⁸⁾. De hecho, parte de los casos podría deberse a infección por coccidios intestinales no diagnosticados debido al escaso uso de pruebas específicas en los laboratorios, en especial en países en desarrollo como Perú^(1,9). Al respecto, las pruebas coproparasitológicas rutinarias, tales como, el examen directo microscópico con solución salina y lugol, y técnicas de concentración presentan baja sensibilidad o son ineficaces para detectar los coccidios, razón por el cual el diagnóstico de laboratorio se basa en pruebas específicas⁽¹⁰⁾.

Perú ha sido considerado como país endémico para las coccidiosis intestinales, en particular a la ciclosporiasis⁽³⁾. Esto debido a que, como país en desarrollo tanto en poblaciones urbanas y rurales, prestan las condiciones ambientales y socioeconómicas que permiten mantener las fuentes de infección y transmisión de los parásitos intestinales exitosamente.

En Perú y otros países de Latinoamérica donde la infección por coccidios intestinales son endémicos, la prevalencia y los factores de riesgo asociadas son variables según el estado inmune del paciente y las condiciones ambientales al que están expuesto. Las tasas de prevalencia son a menudo subestimados debido a: la baja sensibilidad de los métodos de detección convencionales, presencia del parásito en niveles subclínicos y a la naturaleza intermitente de la eliminación de los ooquistes⁽¹¹⁾.

En el presente estudio se realizó una revisión actual del diagnóstico de laboratorio y la epidemiología en el Perú de los tres coccidiosis intestinales más frecuentes (*C. cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. y *C. belli*).

FRECUENCIA DE LA COCCIDIOSIS INTESTINAL EN EL PERÚ

Ciclosporiasis

Desde su descubrimiento en 1993 en Lima Perú⁽¹²⁾, la mayor conciencia de la infección y el desarrollo de técnicas de tamizaje diagnóstico; se ha incrementado la investigación sobre la prevalencia de la ciclosporiasis en todo el mundo. La infección por *C. cayetanensis* se ha descrito en países desarrollados y en desarrollo, en zonas urbanas y rurales, en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos de todas las edades, sintomáticos y asintomáticos⁽¹³⁾. No obstante, los estudios realizados en Perú son escasos y varios aspectos de la enfermedad aún permanecen inexplorados.

En Perú, se han reportado prevalencias desde 1,1% en niños aparentemente inmunocompetentes⁽¹⁶⁾, hasta 41,6% en pobladores de áreas periféricas de Lima⁽¹⁴⁾. En este último estudio también se reporta 7,3 % de ciclosporiasis en

pacientes que acudieron a un centro de atención privada por presentar trastornos digestivos (tabla 01). Asimismo, la ausencia de síntomas en este grupo de pacientes es frecuente, habiéndose reportado entre 68,2 a 73,2 % del total de pacientes infectados (12,15,16). Las diferencias probablemente se explican por los distintos métodos de diagnóstico utilizados, diseño de muestreo y factores de riesgo asociados.

Por otro lado, en Perú también se reportaron dos brotes de ciclosporiasis, ambos en reclutas militares. El primero tuvo lugar en el año 2004 con 77 casos de enfermedad, de los cuales en 24 se demostró la infección (31,2%). La probable fuente de exposición fueron salsas de verduras⁽¹⁷⁾. Mientras que, el segundo brote en el 2008 se reportaron 35 casos de enfermedad, de los cuales se demostró la infección en 20 (57,1%). La fuente de infección probable fue el alimento y agua⁽¹⁸⁾. La epidemiología de la ciclosporiasis en pacientes inmunocomprometidos es actualmente poco conocido en Perú.

Tabla 01. Prevalencia de *C. cayetanensis* en personas inmunocompetentes de Perú

Población	(%)	N°casos/total	Año	Referencias
Niños	(2,6)	22/845	2008	(15)
Niños	(1,8)	6/325	2016	(1)
Niños	(1,1)	63/5,836	1997	(16)
Niños	(10,9)	41/377	1993	(12)
Adultos	(4,3)	11/256	2009	(43)
Todas las edades	(7,3)	217/2,968	2005	(14)
Todas las edades (comunitario)	(41,6)	121/291	2005	(14)
Todas las edades	(7,8)	7/90	1995	(44)

Cryptosporidiosis y Cisticercosis

En individuos inmunocompetentes la cryptosporidiosis y cisticercosis es autolimitado y con leves síntomas gastrointestinales, pero en individuos inmunocomprometidos pueden poner en riesgo la vida. En Perú, la epidemiología de la Cryptosporidiosis y Cisticercosis tanto en individuos adultos, niños, inmunocompetentes e inmunocomprometidos ha sido poco estudiada. No obstante los pocos estudios realizados demuestran un importante problema de salud pública^(1,9).

Un estudio comunitario sobre enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas de Amazonas, reportó 1,9% (20/1,049) de prevalencia de cryptosporidiosis⁽¹⁹⁾. Asimismo, en otro estudio realizado en niños asintomáticos de una comunidad urbano marginal de Lima describió 7,6 % (6/79) de prevalencia de cryptosporidiosis y 1,3 % (1/79) de Cisticercosis⁽¹⁰⁾. En este último estudio se hace referencia a un procedimiento de esporulación con dicromato de potasio 2,5% efectuado a las muestras antes de la coloración, lo cual tuvo resultados satisfactorios debido a que incrementó la sensibilidad de detección. En niños de población hospitalaria al norte del Perú se ha demostrado la presencia de *Cryptosporidium* spp. en frecuencias de 2,8 % (2/70) a 3,7 % (6/325)^(1,9), sin embargo, *C. belli* no fue observado, lo que podría indicar su mayor restricción a personas inmunocomprometidas.

Por otro lado, en pacientes con enfermedad diarreica e infección por VIH/SIDA atendidos en un Hospital de Lima, Perú; los coccidios intestinales *Cryptosporidium spp* y *C. belli* fueron la causa más frecuente de diarrea, con 18,9 % (41/217) y 10,6 % (23/217) respectivamente⁽²⁰⁾. Asimismo, otro estudio realizado en Lima, se presentaron seis casos de cistosisporosis recurrente y refractaria en pacientes con infección por VIH, en quienes se diagnosticó cistosisporosis pese a que previamente se encontraban recibiendo profilaxis con trimetoprim / sulfametoxazol (TMP / SMX). Cinco de ellos evolucionaron de manera tórpida y fallecieron, a pesar de una buena respuesta a la Terapia Antirretroviral de Gran Actividad - TARGA y de tratamiento con TMP / SMX por vía oral y otros medicamentos de segunda línea⁽²¹⁾.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Los coccidios intestinales, debido a las características estructurales ácido-resistentes de sus ooquistes, rutinariamente son detectados en muestras biológicas por microscopía óptica mediante coloración de Ziehl-Neelsen modificado y Kinyoun, consideradas como pruebas de oro (1,11,22). Si bien *C. cayetanensis* y *C. belli* pueden observarse mediante examen microscópico directo (EMD), su baja sensibilidad dependiente de varios factores, no lo hace la prueba de elección para el diagnóstico de este grupo de parásitos.

Cycloporosis

El diagnóstico de la Cycloporosis se basa por lo general en la observación microscópica de los ooquistes en las heces, y puede realizarse mediante montajes en fresco y en formol al 10% o mediante tinciones y técnicas de concentración por flotación y sedimentación^(22,23).

Los ooquistes de *C. cayetanensis* son esféricos, miden de 8 a 10 um de diámetro, muestran tinción variable y un aspecto granular con manchas ácido-resistentes. Ésta característica ácido resistente permite colorearse con la tinción de Ziehl-Neelsen modificado y Kinyoun, además de safranina y cristal violeta⁽²⁴⁾. Los ooquistes también se pueden detectar por tinción con auramina⁽²⁵⁾, luz ultravioleta epiluminiscente⁽²⁶⁾ y posterior a la esporulación con dicromato de potasio 2,5%⁽²¹⁾.

Las pruebas inmunológicas para la detección de *C. cayetanensis* no han sido ampliamente desarrolladas aún. No obstante, los ensayos moleculares son de creciente interés para el diagnóstico de la infección en humanos y se pueden aplicar a las heces en fresco o en 2,5 % de dicromato de potasio, con mayor sensibilidad que la microscopía⁽¹⁸⁾. Sin embargo, el uso extensivo de estas técnicas moleculares aún se siguen probando y mejorando los procedimientos para la eficiente extracción y recuperación de ADN⁽²⁷⁾.

Cryptosporidiosis

Se han sugerido y sustentado varias técnicas de coloración y observación microscópica de los ooquistes esféricos de 4 a 6 um: ácido-resistente de Kinyoun, ácido-resistente modificada (caliente), ácido-resistente de Ziehl-Neelsen (caliente), Giemsa, entre otras⁽²⁸⁾. Asimismo, se han descrito coloraciones fluorescentes como fenol auramina o inmunofluorescencia⁽²⁹⁾.

También están disponibles inmunoensayos enzimáticos, los cuales se utilizan ampliamente en laboratorios privados y públicos⁽²⁹⁾. Al respecto un reciente estudio al norte del Perú comparó la técnica ácido-resistente modificada (TARM) y el ELISA para detección de coproantígenos, concluyendo que ambas pueden usarse para la detección del parásito en estudios epidemiológicos y en el diagnóstico de laboratorio; sin embargo, la capacidad de detectar otros coccidios y el menor costo da una ventaja a la TARM en la práctica diaria⁽¹⁾. Las pruebas rápidas inmunocromatográficas también se han descrito y tienen disponibilidad comercial y ofrecen resultados rápidos y seguros para diagnóstico de enfermedad aguda, pero no presentan suficiente sensibilidad para estudio de portadores⁽²⁹⁾.

El diagnóstico de *Cryptosporidium spp.* por técnicas moleculares se ha descrito ampliamente. La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar el ADN del parásito, debe estar precedida de una eficiente extracción de ADN, debido a los obstáculos que representa recuperar material molecular de muestras fecales y por la naturaleza resistente de los ooquistes^(30,31). La identificación de especies también está basada en técnicas de PCR, debido a que, las pruebas por microscopía e inmunoensayo han probado no ser capaces de diferenciarlas^(32,34).

Cystoisosporosis

Los ooquistes de *C. belli* son fácilmente distinguibles a la observación microscópica debido a su forma elíptica y tamaño (10 a 30 um). Si bien, los ooquistes pueden observarse mediante EMD, comúnmente son visualizados a través de coloraciones ácido-resistentes, como la de Ziehl-Neelsen modificado y Kinyoun⁽¹¹⁾. Otras técnicas que también han sido usadas incluyen, coloración con azul de lactofenol, técnica auramina-rodamina, coloración Giemsa y la técnica de azul de metileno-safranina caliente. La eliminación de los ooquistes con las heces puede ser intermitente y la detección puede requerir el examen de tres muestras⁽³⁵⁾.

Test serológicos para cistosisporosis no son disponibles comercialmente. Sin embargo, ensayos moleculares de PCR en tiempo real están siendo desarrollados por laboratorios de investigación para uso en muestras de heces⁽³⁶⁾. También se ha sugerido el estudio histológico como herramienta importante para el diagnóstico de cistosisporosis en pacientes con SIDA⁽³⁷⁾.

TRANSMISIÓN DE LOS COCCIDIOS INTESTINALES

Numerosas características biológicas de los coccidios, tales como: la no necesidad de dos o más hospederos para completar su ciclo biológico, la sobrevivencia de los ooquistes durante largos periodos de tiempo en el ambiente, la resistencia relativa a la desinfección con cloro, su alta infecciosidad y su transmisión a través de agua y alimentos contaminados; hacen de estos parásitos potentes agentes infecciosos en países con escaso saneamiento básico como el Perú^(38,39).

Los animales como reservorios naturales de *C. cayetanensis* son inciertos aún, pero cada vez más preocupante⁽³⁾. De forma similar, el humano es el único reservorio conocido para *C. belli*. Sin embargo, los animales son importantes en la transmisión de *Cryptosporidium spp.* en aquellas especies zoonóticas (*C. parvum*, *C. meleagridis*); pero no en otras especies antroponóticas^(5,6,40).

La propagación de los coccidios de humano a humano se produce indirectamente a través del medio ambiente cuando los ooquistes contaminan el agua, los alimentos o el suelo. En las zonas endémicas, los factores de riesgo asociados con la infección incluyen el agua o los alimentos contaminados, contacto con la tierra o de los animales, el tipo de servicios de saneamiento y el nivel socioeconómico bajo⁽³⁾.

En Lima, Perú, se investigó a la mosca doméstica (*Musca domestica*) como vector mecánico de protozoos parásitos del humano. Se examinaron 100 lotes de moscas, de los cuales en el 2,0 % (2/100) y 1,0 % (1/100) se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium spp.* y *Cyclospora* respectivamente⁽⁴¹⁾. Se sugiere la importancia de los vectores mecánicos extra e intra domiciliarios en el transporte y transmisión de los coccidios intestinales.

La transmisión de coccidios a través de alimentos contaminados se evidencia en un estudio en Lima, Perú, donde se buscó detectar enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) proveniente de establecimientos de consumo público⁽⁴²⁾. En 6,7 % (13/105) de muestras se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium spp.* mientras que, en el 3,8% (4/105) se detectaron *C. belli*. La contaminación de las verduras y alimentos en general se produce en las actividades de producción (cuidados, agua de riego y otros), durante la elaboración por una inadecuada manipulación, uso de agua contaminada y malas prácticas higiénicas.

Por otra parte, la contaminación del agua y alimentos son otros factores de riesgo importantes asociados a transmisión de coccidios intestinales, tal como lo demuestra un reporte realizado en Trujillo, Perú⁽¹⁵⁾. Donde se detectó a *Cyclospora* y *Cryptosporidium* en muestras de agua de acequia y pozo. Mientras que, en muestras de alimentos se recuperaron ooquistes de *Cryptosporidium spp.*

CONCLUSIONES

La coccidiosis intestinal, enfermedad parasitaria causada por *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium spp.* y *C. belli*; ha registrado frecuencias en Perú que varían entre el uno a más del 40%, siendo superior en la población inmunocomprometida. No obstante, la información disponible aún es escasa.

Los métodos de laboratorio más usados y recomendados para su detección son las coloraciones ácido-resistentes (Kinyoun y Ziehl-Neelsen modificado), sin embargo pueden usarse varias técnicas microscópicas, enzimo-inmunoensayos y pruebas moleculares.

Los coccidios intestinales son considerados importantes agentes infecciosos transmitidos por agua y alimentos en países con escaso saneamiento básico como el Perú, debido a que su forma infectante (ooquiste), sobrevive a largos periodos de tiempo en el ambiente y resiste a concentraciones desinfectantes de cloro residual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Silva-Díaz H, Campos-Flores H, Llagas-Linares JP, LLatas-Cancino D. Coccidiosis intestinal en niños admitidos en un hospital de Perú y comparación de dos métodos para la detección del *Cryptosporidium spp.* Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2016 Dec 13;33(4):739
- Dillingham R, Houpt ER. 93 – *Cystoisospora belli* (syn. *Isospora belli*). In: Magill AJ. et al. eds, editor. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease (Ninth Edition). London: W.B. Saunders; 2013. p. 683–4.
- Chacin-Bonilla L. Epidemiology of *Cyclospora cayetanensis*: A review focusing in endemic areas. Acta Trop. 2010 Sep;115(3):181–93.
- Shields JM, Olson BH. *Cyclospora cayetanensis*: a review of an emerging parasitic coccidian. Int J Parasitol. 2003 Apr;33(4):371–91.
- Wang R, Li G, Cui B, Huang J, Cui Z, Zhang S, et al. Prevalence, molecular characterization and zoonotic potential of *Cryptosporidium spp.* in goats in Henan and Chongqing, China. Exp Parasitol. 2014 Jul;142:11–6.
- Helmy YA, Krucken J, Nockler K, von Samson-Himmelstjerna G, Zessin KH. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in livestock animals and humans in the Ismailia province of Egypt. Vet Parasitol. 2013 Mar 31;193(1–3):15–24.
- Navaneethan U, Venkatesh PG, Downs-Kelly E, Shen B. *Isospora belli* superinfection in a patient with eosinophilic gastroenteritis? A diagnostic challenge. J Crohn's Colitis. 2012 Mar;6(2):236–9.
- Beraun-Villa M, Manuel Valdez L. Revisión: Diarrea del viajero. Rev Med Hered Rev Med Hered. 2013;24(24):54–6154.
- Ipanaque-Chozo J, Seclen-Bernabe E, Bustamante-Canelo O, Aguilar-Gamboa FR, Mera-Villasis K, Vergara-Espinoza M, et al. Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú. Rev Horiz Med. 2017;17(1):38–44.
- Huiza A, Espinoza Y, Rojas R, Sevilla C, Alva P, Verástegui R, et al. Detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales. An la Fac Med. 2013 Mar 6;65(4):239.
- Silva-Díaz H. Coccidios Intestinales. Rev Exp en Med. 2016;2(1):39.
- Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Cama VA, Diaz F. *Cyclospora* Species - A New Protozoan Pathogen of Humans. N Engl J Med. 1993 May 6;328(18):1308–12.
- Massoud NM, Said DE, El-Salamouny AR. Prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among symptomatic and asymptomatic immune-competent children less than five years of age in Alexandria, Egypt. Alexandria J Med. 2012 Sep;48(3):251–9.
- Burstein Alva S. Cyclosporiasis: una parasitosis emergente (I). Aspectos clínicos y epidemiológicos. Rev Gastroenterol Perú. 2005;25:328–35.
- Pérez-Cordón G, Rosales MJ, Valdez RA, Vargas-Vásquez F, Cordova O. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2008;25(1):144–8.
- Madico G, McDonald J, Gilman RH, Cabrera L, Sterling CR. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in Peruvian children. Clin Infect Dis. 1997 May;24(5):977–81.
- Torres-Slimming PA, Mundaca CC, Moran M, Quispe J, Colina O, Bacon DJ, et al. Outbreak of cyclosporiasis at a naval base in Lima, Peru. Am J Trop Med Hyg. 2006 Sep;75(3):546–8.
- Mundaca CC, Torres-Slimming PA, Araujo-Castillo R V., Moron M, Bacon DJ, Ortega Y, et al. Use of PCR to improve diagnostic yield in an outbreak of cyclosporiasis in Lima, Peru. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008 Jul 1;102(7):712–7.
- Ibáñez N, Jara C. C, Guerra M. A, Díaz L. E. Prevalencia del Enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas del Alto Marañón, Amazonas, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2004;21(3):126–33
- García C, Rodríguez E, Do N, López de Castilla D, Terashima A, Gotuzzo E. Parasitosis intestinal en el paciente con infección VIH-SIDA. Rev Gastroenterol Perú. 2006;26:21–4.
- Montalvo R, Ticona E, Ñavincopa M, García Y, Chávez G, Chávez V, et al. Diarrea recurrente por *Cystoisospora belli* en pacientes con infección por VIH con TARGA. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2013;30(2):326–30.
- Eberhard ML, Pieniazek NJ, Arrowood MJ. Laboratory diagnosis of *Cyclospora* infections. Arch Pathol Lab Med. 1997 Aug;121(8):792–7.
- Kimura K, Kumar Rai S, Takemasa K, Ishibashi Y, Kawabata M, Belosevic M, et al. Comparison of three microscopic techniques for diagnosis of *Cyclospora cayetanensis*. FEMS Microbiol Lett. 2004 Sep 1;238(1):263–6.

24. Burstein Alva S. Cyclosporiasis: una parasitosis emergente (II). Diagnóstico Microbiológico mediante una nueva técnica de coloración. *Rev Gastroenterol Perú*. 2005;25:336–40.
25. Pape JW, Verdier R-I, Boney M, Boney J, Johnson WD. Cyclospora Infection in Adults Infected with HIV: Clinical Manifestations, Treatment, and Prophylaxis. *Ann Intern Med*. 1994 Nov 1;121(9):654.
26. Berlin OG, Peter JB, Gagne C, Contreas CN, Ash LR. Autofluorescence and the detection of cyclospora oocysts. *Emerg Infect Dis*. 1998;4(1):127–8.
27. Shields JM, Joo J, Kim R, Murphy HR. Assessment of three commercial DNA extraction kits and a laboratory-developed method for detecting *Cryptosporidium* and *Cyclospora* in raspberry wash, basil wash and pesto. *J Microbiol Methods*. 2013 Jan;92(1):51–8.
28. Garcia LS, Bruckner DA, Brewer TC, Shimizu RY. Techniques for the Recovery and Identification of *Cryptosporidium* Oocysts from Stool Specimens. *J Clin Microbiol*. 1983;18(1):185–90.
29. 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*. 2011 Nov 1;60(11):1598–604.
30. Widmer G, Sullivan S. Genomics and population biology of *Cryptosporidium* species. *Parasite Immunol*. 2012 Feb;34(2–3):61–71.
31. Bruijnesteijn van Coppenraet LES, Wallinga JA, Ruijs GJHM, Bruins MJ, Verweij JJ. Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Sep;15(9):869–74.
32. Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*. 2000 Nov;30(12–13):1305–22.
33. Jex AR, Smith HV, Monis PT, Campbell BE, Gasser RB. *Cryptosporidium* — Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnol Adv*. 2008 Jul;26(4):304–17.
34. Aghamey P, Sarfati C, Pinel C, Rabodonirina M, Kapel N, Dutoit E, et al. Evaluation of Four Commercial Rapid Immunochromatographic Assays for Detection of *Cryptosporidium* Antigens in Stool Samples: a Blind Multicenter Trial. *J Clin Microbiol*. 2011 Apr 1;49(4):1605–7.
35. Valentiner-Branth P, Steinsland H, Fischer TK, Perch M, Scheutz F, Dias F, et al. Cohort Study of Guinean Children: Incidence, Pathogenicity, Conferred Protection, and Attributable Risk for Enteropathogens during the First 2 Years of Life. *J Clin Microbiol*. 2003;41(9):4238–45.
36. Ten Hove RJ, van Lieshout L, Brien EAT, Perez MA, Verweij JJ, Rooyen MAA van, et al. Real-time polymerase chain reaction for detection of *Isospora belli* in stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Jul 1;61(3):280–3.
37. Rao AC, Geetha V, Kudva R, Vidhyalakshmi S, Rupashree S. Histology as a diagnostic tool for intestinal isosporiasis in immunocompromised patients. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2012 Mar;2(3):251–2.
38. Chalmers RM. Chapter Sixteen – *Cryptosporidium* In: Percival SL et al. eds, editor. *Microbiology of Waterborne Diseases (Second Edition)*. London. Academic Press; 2014. p.287–326.
39. Chalmers RM. Chapter Seventeen – *Cyclospora cayetanensis*. In: Percival SL et al. eds, editor. *Microbiology of Waterborne Diseases (Second Edition)*. London. Academic Press; 2014. p.327–53.
40. Fayer R, Santín M, Macarisin D. *Cryptosporidium* ubiquitum n. sp. in animals and humans. *Vet Parasitol*. 2010 Aug 27;172(1–2):23–32.
41. Cárdenas M, Martínez R, Martínez R. Protozoarios parásitos de importancia en salud pública transportados por *Musca domestica* Linnaeus en Lima, Perú. *Rev Peru Biol*. 2013 Jun 3;11(2):149–53.
42. Tananta VI, Chávez VA, Casas AE, Suárez AF, Serrano ME. Presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el Cercado de Lima. *Rev Inv Vet Perú*. 2013 Mar 19;15(2):157–62.
43. Roldán WH, Espinoza YA, Huapaya PE, Huiza AF, Sevilla CR, Jiménez S. Frequency of human toxocaríasis in a rural population from Cajamarca, Peru determined by DOT-ELISA test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2009;51(2):67–71.
44. Zerpa R, Uchima N, Huicho L. *Cyclospora cayetanensis* associated with watery diarrhoea in Peruvian patients. *J Trop Med Hyg*. 1995 Oct;98(5):325–9.

Revisión de pares: Recibido: 22/07/17 Aceptado: 04/8/17