



Diagnóstico y Caracterización molecular de los Coccidios Intestinales en pacientes panameños con VIH. 2011 (Resultados Preliminares)

Alvarez D⁽¹⁾, Pineda V⁽²⁾, Rujano A⁽⁴⁾, Castillo B⁽³⁾, Calzada JE⁽²⁾, Saldaña A^(1,2).

¹Depto. De Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá,

² Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

³ Sala de Infectología, CHMAAM, CSS, ⁴ Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá



INTRODUCCIÓN

Los coccidios intestinales son parásitos intracelulares estrictos que pueden causar graves afecciones intestinales en pacientes inmunocompetentes e intestinales/extraintestinales en inmunocomprometidos, principalmente en pacientes con VIH/ SIDA. Dentro de los agentes etiológicos responsables tenemos a *Cystoisospora belli*, *Cyclospora cayetanensis* y *Cryptosporidium* spp. La prevalencia de estos coccidios es bien conocida en países desarrollados, sin embargo en países en vías de desarrollo los reportes y estudios son menos frecuentes; aunque se suponen prevalencias similares o en muchos casos mayores. En nuestro país el diagnóstico y la caracterización de estos coccidios intestinales es escasa, lo que conlleva a una pobre información clínico/epidemiológica así como la identidad específica de las coccidiosis intestinales en pacientes con VIH.

OBJETIVO GENERAL

Implementar las técnicas de diagnóstico y caracterización molecular de los coccidios intestinales en pacientes panameños con VIH.

METODOLOGIA

En el presente estudio se contempla analizar 100 muestras de heces de pacientes con VIH de la Sala de Infectología del CHMAAM, CSS.

Preliminarmente se analizaron 20 muestras mediante la aplicación de microscopia tradicional (Tinción de Kinyoun) y el uso de pruebas inmunológicas comerciales que detectan coproantígenos de *Cryptosporidium* spp y *Giardia lamblia* (Certest Crypto /Giardia). Luego de realizar la extracción del ADN (Quiagen®), el total de las muestras fueron analizadas mediante una prueba de PCR anidado (gene SSU rRNA) para *Cryptosporidium* sp y un PCR anidado para determinar la región SSU rDNA, específica para *C. cayetanensis*. Finalmente se realizó un análisis de RFLP para determinar las especies de *Cryptosporidium* spp.

RESULTADOS

La frecuencia de la infección con protozoarios intestinales en los pacientes VIH positivos evaluados fue de 15% (3/20). *G. lamblia* fue el parásito más frecuente 10% (2/20). *Cryptosporidium* spp se encontró en un 5% (1/20) mediante análisis microscópico. No obstante, las pruebas moleculares detectaron 2 muestras positivas a este coccidio (10%). Los análisis de RFLP confirmaron que la especie involucrada fue *C. parvum*. Se implementó, por primera vez en Panamá, una metodología diagnóstica molecular para *C. cayetanensis*. Sin embargo, todas las muestras hasta ahora evaluadas resultaron negativas para este coccidio.

DISCUSIÓN: Estos resultados preliminares confirman que los pacientes con VIH-SIDA del CHMAAM-CSS con frecuencia presentan infecciones con protozoarios intestinales. Las infecciones con *G. lamblia* y *Cryptosporidium parvum* sugieren la presencia de estos parásitos en las aguas de consumo de estos pacientes. Se confirma también que la metodología molecular es más sensible que la microscopía, además de permitir la identificación de las especies de *Cryptosporidium* involucradas. El hecho de que la especie hasta ahora identificada sea *C. parvum* llama la atención sobre el potencial origen zoonótico de esta coccidiosis. Por otro lado, la estandarización de una prueba de PCR para *C. cayetanensis* es un importante aporte de este trabajo. Aun cuando a la fecha no se han logrado detectar casos positivos de ciclosporiasis en pacientes VIH positivos, no se descartan las infecciones con este y/o otros coccidios al analizar un número mayor de muestras.

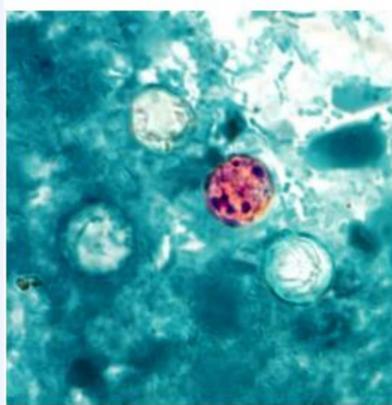


Fig.4 Ooquiste de *Cyclospora cayetanensis*



Fig. 3. Estandarización de PCR Secundario para *Cyclospora cayetanensis*. Línea 1, Marcador de Peso Molecular de 100bp, Líneas 5-8 Controles Positivos a *C. Cayetanensis*, producto amplificado de 308bp



Fig. 1 PCR SECUNDARIO-*Cryptosporidium* spp en Pacientes con VIH-SIDA. Línea 1 Marcador de peso molecular de 100bp, Línea 5 y 6 Pacientes Positivos a *Cryptosporidium* spp. Líneas 10-12 Controles Positivos *Cryptosporidium* spp., (823bp)



Fig. 5. EIC, positivo a *Cryptosporidium* spp. (Línea Roja)



Fig. No.2 Digestión con *VspI*, Línea 1, Marcador (100bp), 2, Producto Amplificado sin digerir(823bp); 3-Control positivo a *C. parvum*; 4-Control positivo a *C. hominis*; 5-Control positivo a *C. meleagridis*; 6-7: *C. parvum* de muestras de pacientes con VIH-SIDA.

Se le agradece a la SENACYT por su aporte a través del Proyecto APY-N110-004A Programa de Apoyo a Nuevos Investigadores. Sistema Nacional de Investigadores (SIN), Universidad de Panamá y Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES).