

2010 Octubre, 2(1): 1-2

## HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN LA EVOLUCIÓN DE CRIPTOSPORIDIOSIS INTESTINAL MURINA

Autores: Sidoti, A<sup>1</sup>, Córdoba, A<sup>2,3</sup>, Del Coco, V<sup>2,3</sup>, Druet, R<sup>1</sup>; Basualdo, J<sup>2</sup>.

Lugar de Trabajo: <sup>1</sup>Cátedra de Patología A, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

<sup>2</sup>Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

Calle 60 y 120 s/n. La Plata (1900). <sup>3</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. Calle 526 entre 10 y 11. La Plata (1900).

e-mail de contacto: acordoba@aetos.med.unlp.edu.ar

### Introducción

*Cryptosporidium* spp. es un parásito protozoo que afecta un amplio rango de hospedadores, incluido el hombre. Su estadio infectivo, el ooquiste, es eliminado con las heces e ingresa al ambiente donde permanece viable e infectivo por meses. Su ubicación privilegiada en el intestino del hospedador dentro de una vacuola a nivel microvellositario, afecta considerablemente la penetración de fármacos antiparasitarios. En huéspedes con inmunocompromiso celular, la infección suele hacerse crónica y hasta puede desencadenar su muerte debido al gran desequilibrio hidroelectrolítico secundario a la diarrea. La infección intestinal experimental por *Cryptosporidium* spp. es diagnosticada habitualmente mediante estudio coproparasitológico utilizando tinciones especiales como la coloración de Ziehl Neelsen modificada. El estudio histopatológico de biopsia intestinal permite el diagnóstico de certeza, al identificar la presencia de *Cryptosporidium* spp. en las microvellosidades intestinales.

### Objetivo

Evaluar la infección intestinal por *Cryptosporidium* spp. en modelo murino mediante estudio histopatológico.

### Materiales y métodos

como fuente de obtención de ooquistes de *Cryptosporidium* se utilizó materia fecal de terneros. La concentración de los parásitos se realizó por la técnica de agua éter, y se purificaron por gradiente discontinuo de sacarosa. Los ooquistes obtenidos fueron suspendidos en antibiótico-antimicótico al 1% (Gibco). Se inocularon Ratones N: NIH-Swiss machos de 1 mes de edad (n=30), inmunosuprimidos (IS) con 200 µg/día DXM/oral, el día 8 del inicio de la experiencia con  $1 \times 10^6$  ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Este grupo contó con el correspondiente control de infección.

Para evaluar la infección se efectuó:

1) Score de salud diario. 2) Estudio coproparasitológico: la materia fecal fue procesada los días 7, 14, 21, 28 y 35 post infección, mediante técnica de agua éter, posterior coloración de Ziehl Neelsen modificada y observación al microscopio óptico a 1000X. El número de ooquistes presentes en cada muestra se calculó empleando el siguiente criterio de semicuantificación: promedio del número de ooquistes en 20 campos observados. 3) Estudio anatomopatológico: los días 7, 14, 21, 28 y 35 post infección, sacrificando 2 ratones de cada grupo. Las muestras de tejidos obtenidos por necropsia provenientes de intestino (duodeno, yeyuno proximal, yeyuno distal, ciego y colon), hígado y vías biliares, páncreas y pulmones fueron fijadas en formol al 10%, incluidas en parafina, seccionadas y se colorearon con hematoxilina y eosina, y se examinaron al microscopio óptico a 400X. El score de infección intestinal que se estableció fue: I- 1 unidad criptovellositaria comprometida; II- 2 ó 3 unidades criptovellositarias comprometidas; III- varias unidades criptovellositarias comprometidas; IV- extensivo compromiso criptovellositario.

Resultados: El score de salud indicó que los ratones presentaban signos de deterioro físico. El análisis de materia fecal demostró que sólo los ratones IS e inoculados con  $1 \times 10^6$  ooquistes de *Cryptosporidium* spp. desarrollaron infección intestinal. Al cuantificar el número de ooquistes en materia fecal, se detectaron dos picos de máxima excreción, al día 14 y 35 post infección, respectivamente. La excreción persistió en bajos niveles durante toda la experiencia. El estudio anatomopatológico de hígado, vías biliares, páncreas y pulmones no evidenció infección. De las 6 secciones de intestino estudiadas, *Cryptosporidium* spp. se localizó predominantemente en ileon; en segundo lugar en yeyuno distal, y en menor

2010 Octubre, 2(1): 1-2

proporción en duodeno, yeyuno proximal, y colon. La presencia del parásito se correlacionó con apoptosis de células epiteliales vecinas.

### **Conclusiones**

El presente estudio demuestra el desarrollo de criptosporidiosis intestinal crónica en ratones Swiss inmunosuprimidos con dexametasona. La utilización de 200 µg de dexametasona y una dosis infectiva de  $1 \times 10^6$  ooquistes de *Cryptosporidium* spp. permitió un rápido y consistente establecimiento de una infección persistente, con marcada morbilidad y escasa mortalidad; afectación de la mayor parte del intestino con importantes cambios histopatológicos, lo cual se asemeja a la infección en humanos severamente inmunocomprometidos. Estas características sugieren que este modelo puede ser utilizado en futuros ensayos para evaluar el efecto de diferentes agentes terapéuticos en la dinámica de la infección.