

ASPECTOS CLINICO-EPIDEMIOLOGICO DE LA CRIPTOSPORIDIOSIS EN COSTA RICA

Dra. Rosario Achí*, Dr. Leonardo Mata*
Dra. Marcela Vives* y Dr. Daniel Pizarro**

INTRODUCCION

Cryptosporidium es un coccidio (9,10) que en los últimos años ha cobrado mucha importancia por su papel en la etiología de la diarrea en diversas especies de animales y del hombre (4,16,23,27). Desde que el parásito fue descrito por Tyzzer a principios de siglo en ratones (21,22), la infección ha sido descrita en una amplia gama de animales vertebrados (1,4,23), parasitando las células epiteliales del tracto gastrointestinal y en algunas ocasiones del árbol respiratorio (4,23,27). De particular importancia han sido las infecciones notificadas en terneros, ovejas y pavos, así como en otros vertebrados en que produce diarreas severas e incluso fatales (1,4,23,27).

El interés por *Cryptosporidium* despertó en 1976 al hallarse el parásito en una niña inmunocompetente con diarrea severa (17). A partir de entonces se intensificó el estudio de infecciones en humanos inmunológicamente competentes (4,6,8,12,19,25). Ya se conocía la naturaleza oportunista de *Cryptosporidium* en pacientes inmunocomprometidos pues se habían descrito varios casos (3,5,16,26). Entre estos últimos, destacan las descripciones de infecciones fatales de *Cryptosporidium* en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (11,16,20,27).

La enfermedad diarreica en individuos inmunocompetentes, se caracteriza por un cuadro clínico de evolución aguda y autolimitado (8,12,25,26); ha sido posible determinar la presencia de anticuerpos contra el parásito (23).

Se sabe que la criptosporidiosis es una zoonosis de amplia distribución geográfica (1,4,16,17,23). Las investigaciones en niños inmunocompetentes en Costa Rica se destaca por su naturaleza longitudinal de tres años consecutivos. Además del estudio clínico, parasitológico y terapéutico del problema, se ha logrado comparar epidemiológicamente una población rural con una urbana, lo que ha revelado ciertas diferencias en relación a la edad, la lactan-

* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) Universidad de Costa Rica

** Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" CCSS, San José, Costa Rica.

cia materna y la estación del año (12,13,26,27). Algunos resultados correspondientes a los años 1982 y 1983 ya han sido presentados en informes previos (2,12,13,26,27). El presente trabajo resume los hallazgos de esos años más los correspondientes a 1984.

MATERIAL Y METODOS

Población:

De enero de 1982 hasta diciembre de 1984 se estudiaron 1.226 niños y preescolares con diarrea, y 205 niños equiparados por edad y localidad sin diarrea, seleccionados como testigos, Cuadro 1.

De los casos de diarrea, 280 correspondieron a niños rurales del estudio prospectivo de Puriscal, atendidos en la Estación de Campo del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) situada en esa localidad (14); 946 niños del área metropolitana fueron captados en el Servicio de Emergencias Médicas del Hospital Nacional de Niños (HNN), en su mayoría de zonas urbanas y semiurbanas de San José y de algunos cantones semiurbanos de San José, Heredia y Cartago (15).

Los niños de Puriscal constituyen la mayoría de los casos de diarrea que ocurrieron durante el estudio longitudinal en esa localidad. Los niños del área metropolitana representan una muestra de los atendidos por diarrea y vómitos en el HNN.

Estudio clínico:

Tanto en la Estación de Campo del INISA como en el Servicio de Emergencias Médicas del HNN, los niños fueron examinados por un médico con el fin de establecer las características clínicas, grado de deshidratación y tratamiento aplicado. La información fue registrada en formularios precodificados diseñados para tal fin.

Estudio de laboratorio:

Se recogió una muestra de heces de cada niño en frascos de vidrio estériles. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Niños en busca de *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* enteropatógena y *Campylobacter fetus jejuni*. En el INISA se investigó la presencia de rotavirus, *Campylobacter*, parásitos intestinales y celularidad según técnicas descritas (15).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* fueron investigados en preparaciones al fresco con solución salina y lugol. Además, se prepararon frotos delgados en

CUADRO 1

Frecuencia de Ooquistes de *Cryptosporidium* en Niños Preescolares
Con y sin Diarrea, Costa Rica 1982-1984

Edad, mes	Rural			Metropolitana		
	Con diarrea		Sin* Diarrea	Con diarrea		Sin* Diarrea
	No. Niños	Positivos (%)		No. Niños	Positivos (%)	
0- 5	60	0	21	413	18(4,4)	50
6-11	63	0	19	318	17(5,4)	44
12-17	61	3(4,9)	22	158	8(5,1)	16
18-23	54	4(7,4)	19	51	2(4,0)	6
24-29	18	1(5,6)	6	6	1(16,7)	NR
30-35	24	2(8,3)	2	NR		NR
Total	280	10(3,6)**	89	946	46(4,9)**	116

NR: No se recolectó muestra

* : Testigos: todos los testigos fueron negativos por *Cryptosporidium*

** : ($X^2=0,83$; $p > 0,05$)

portaobjetos limpios y desengrasados, que fueron fijados por 3 a 5 minutos con alcohol metílico absoluto, y luego coloreados durante 30 minutos con Giemsa diluido 1:10 en solución amortiguadora de fosfatos de pH 7,2 (11). A mediados de 1983, se implementó la técnica de ácido resistencia modificada en frío (16,26) para corroborar el diagnóstico de Giemsa (11). Las muestras positivas por *Cryptosporidium* fueron concentradas por la técnica de flotación en sacarosa de Sheather (11). Los frotos teñidos fueron examinados al microscopio a fin de buscar estructuras ovoides que en Giemsa se observan como "huecos" de aproximadamente 5 μ m, débilmente teñidos de color azulado, con corpúsculos rojos internos correspondientes a los esporozoitos. En la tinción de ácido-resistencia se observa el ooquiste como una estructura ovoide de color rosado a rojo intenso, Figura 1.

RESULTADOS

Frecuencia relativa de *Cryptosporidium*

Fue posible diagnosticar el parásito en 10 de los 280 niños con diarrea del área rural y en 46 de los 946 niños del área metropolitana. Cuadro 1. Esto representa una frecuencia relativa global para los tres años de estudio de 3,6% y 4,9% respectivamente. Todos los niños testigo fueron negativos por *Cryptosporidium*.

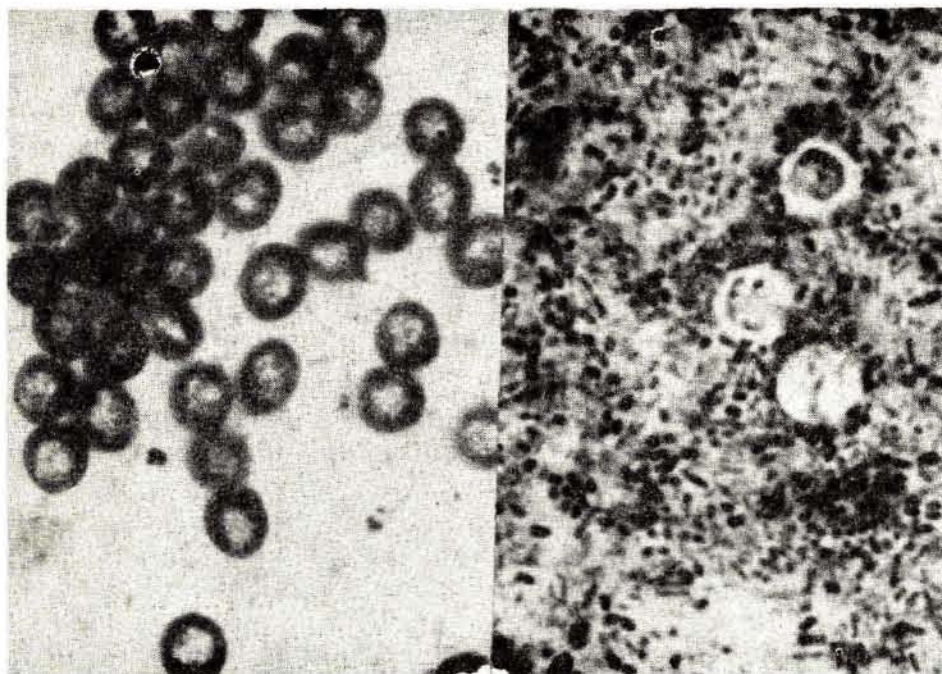


FIG. 1 - Ooquistes de *Cryptosporidium*. A la Izquierda una preparación coloreada con Giemsa. A la derecha, se observan estructuras fuertemente teñidas de rojo correspondientes a ooquistes ácido resistentes. Aumento final = 4000 X.

De los 460 niños del área metropolitana estudiados durante 1984, se aisló al menos un agente etiológico de la diarrea en el 50,6% de los casos, Cuadro 2. De éstos, rotavirus en infección sencilla ocupó el primer lugar con un 28,5%; *Campylobacter* el segundo lugar con un 7,8% y *Cryptosporidium* el tercero con 4,8%. Al sumar las infecciones sencillas y múltiples, rotavirus alcanzó una frecuencia de 32,2%, *Campylobacter* de 12,6% y *Cryptosporidium* de 7,0%. Al analizar estos resultados debe tomarse en cuenta que no se investigó *Escherichia coli* enterotoxigénica, la cual se asocia con el 10% (toxina estable) y el 8% (toxina lábil) de las diarreas, según estudios anteriores (15).

Frecuencia del parásito según edad y tipo de alimentación:

La frecuencia relativa de *Cryptosporidium* para el área rural fue ligeramente menor (3,6%) que la encontrada en el área metropolitana (4,9%), Cuadro 1.

Asímismo, la distribución por edad de los casos fue diferente en las dos poblaciones, pues todos los casos de Puriscal fueron niños mayores de un año distribuidos homogéneamente entre los 12 y los 35 meses. En contraste, en el área metropolitana la infección fue más frecuente en niños lactantes, incluso de muy corta edad. En éstos, el 39% fueron menores de 5 meses y el 37% tenían entre 6 y 12 meses de edad.

De 614 niños del área metropolitana estudiados entre 1983 Y 1984, 476 (77,5%) ya estaban destetados al momento del examen, en tanto que 138 (22,5%) todavía recibían el pecho materno, Cuadro 3. A excepción de una niña de dos meses de edad quien aún recibía el seno materno, los restantes 24 casos de diarrea asociada a *Cryptosporidium* en ese grupo etario ya habían sido destetados. Esto significa que el parásito se encontró en 5,0% de los niños destetados, pero solamente en 0,7% de los niños con lactancia materna, una diferencia significativa.

Variación estacional:

Este estudio confirma la marcada variación estacional de *Cryptosporidium* (12,13,26). En 1982, todos los casos aparecieron entre mayo y setiembre; en 1983 exceptuando un caso en marzo, todos ocurrieron entre julio y setiembre. El mismo patrón de comportamiento se observó en 1984, aunque en este año los casos aparecieron desde febrero, Figura 2. No aparecieron casos de octubre a diciembre en ninguno de los tres años, Cuadro 4.

Características clínicas y tratamiento:

Se analizaron los signos y síntomas en los niños con diarrea estudiados en el Hospital Nacional de Niños, desde enero de 1983 hasta setiembre de 1984. En los casos de diarrea asociada a *Cryptosporidium* los vómitos fueron altamente frecuentes, presentándose en 24 de los 25 niños, Cuadro 5. El 60% de éstos presentó fiebre importante de 38°C o más. Un 42% de niños con diarrea asociada a este agente, llegaron al hospital con deshidratación de algún grado de los cuales el 17% correspondió a deshidratación severa de 10% o más y un 25% fue moderada de 5 a 9%. Además, hubo convulsiones en el 5% y dolor abdominal en el 60% de los niños.

En la mayoría de los casos, la diarrea se caracterizó por evacuaciones líquidas o semilíquidas de color amarillento o verdoso, con moco pero sin sangre ni células inflamatorias (2). Sin embargo, se observó sangre en heces en 3 de los 25 niños que se consideró presentaban infección sencilla por este coccidio. Dado que la evidencia señala que este parásito no produce daño profundo en la mucosa intestinal (16), ese hallazgo podría deberse a otro agente invasor concomitante no diagnosticado.

El tratamiento utilizado en los casos de diarrea asociada a *Cryptosporidium* fue la rehidratación oral en 12 de 25 niños, Cuadro 6. Se usó gastroclisis en 8 de ellos y fue necesaria la venoclisis en 2 casos. En el resto se emplearon combinaciones de estos tratamientos.

CUADRO 2

Infecciones únicas y múltiples en 460 Niños con Diarrea Aguda
atendidos en el Hospital Nacional de Niños, Costa Rica, 1984

Infección con	Número	%	Porcentaje acumulado
Rotavirus, solo	131	28,5	
<i>Campylobacter</i> , solo	36	7,8	36,3
<i>Cryptosporidium</i> , solo	22	4,8	41,1
<i>Shigella</i> , solo	9	2,0	43,1
<i>Salmonella</i> , solo	6	1,3	44,4
ECEP*, solo	2	0,4	44,8
Rota + Campy	14	3,0	47,8
Campy + Crypto	5	1,1	48,9
Giardia + Rota	2	0,4	49,3
Giardia + Crypto	2	0,4	49,7
Campy + Salam	1	0,2	49,9
ECEP* + Crypto	1	0,2	50,1
Crypto + Campy + Shig	1	0,2	50,3
Campy + Crypto + Rota	1	0,2	50,5

*ECEP = *Escherichia coli* enteropatógena INISA

No se investigó *E. coli* enterotoxigénica, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*.

CUADRO 3

Diarrea por *Cryptosporidium* y Lactancia Materna en Niños atendidos
en el Hospital Nacional de Niños, Costa Rica, 1983-1984

Edad meses	Total	Con lactancia*		Destetados	
		No.	Positivos (%) <i>Cryptosporidium</i>	No.	Positivos (%) <i>Cryptosporidium</i>
0-2	127	55	1 (1,8)	72	1 (1,4)
3-5	138	29	0	109	10 (9,2)
6-8	113	20	0	93	5 (5,4)
9-11	91	18	0	73	4 (5,5)
12 +	145	16		129	4 (3,1)
Total	614	138	1 (0,7)*	476	24 (5,0)*

* ($X^2=5,5$; $p < 0,05$)

CUADRO 4

Variación Estacional de la Infección por *Cryptosporidium* en Niños Preescolares del Area Urbana y del Area Rural de Costa Rica, 1982–1984

Período	Rural			Metropolitana		
	Con Diarrea			Con Diarrea		
	No. Niños	Positivos (%)	Sin* Diarrea	No. Niños	Positivos (%)	Sin* Diarrea
1982						
Ene–Mar	32	0	12	NR		NR
Abr–Jun	23	1 (4,4)	11	71	8 (11,3)	12
Jul–Set	24	3 (12,5)	6	49	0	16
Oct–Dic	16	0	10	63	0	23
Sub–Total	95	4 (4,2)	39	183	8 (4,4)	51
1983						
Ene–Mar	63	0	25	58	1 (1,7)	9
Abr–Jun	22	0	4	41	0	13
Jul–Set	14	4 (28,6)	NR	99	4 (4,0)	NR
Oct–Dic	18	0	2	104	0	4
Sub–Total	117	4 (3,4)	31	302	5 (1,7)	26
1984						
Ene–Mar	18	0	3	102	5 (4,9)	NR
Abr–Jun	28	0	9	111	18 (16,2)	NR
Jul–Set	22	2 (9,1)	4	137	10 (7,3)	18
Oct–Dic	NR		3	110	0	21
Sub–Total	68	2 (2,9)	19	460	33 (7,2)	39
Total	280	10 (3,6)	89	945	46 (4,9)	116

NR: No se recolectó muestra

* : Todos los casos sin diarrea fueron negativos por *Cryptosporidium*

VARIACION ESTACIONAL DE CRYPTOSPORIDIUM, COSTA RICA, 1982 - 1984

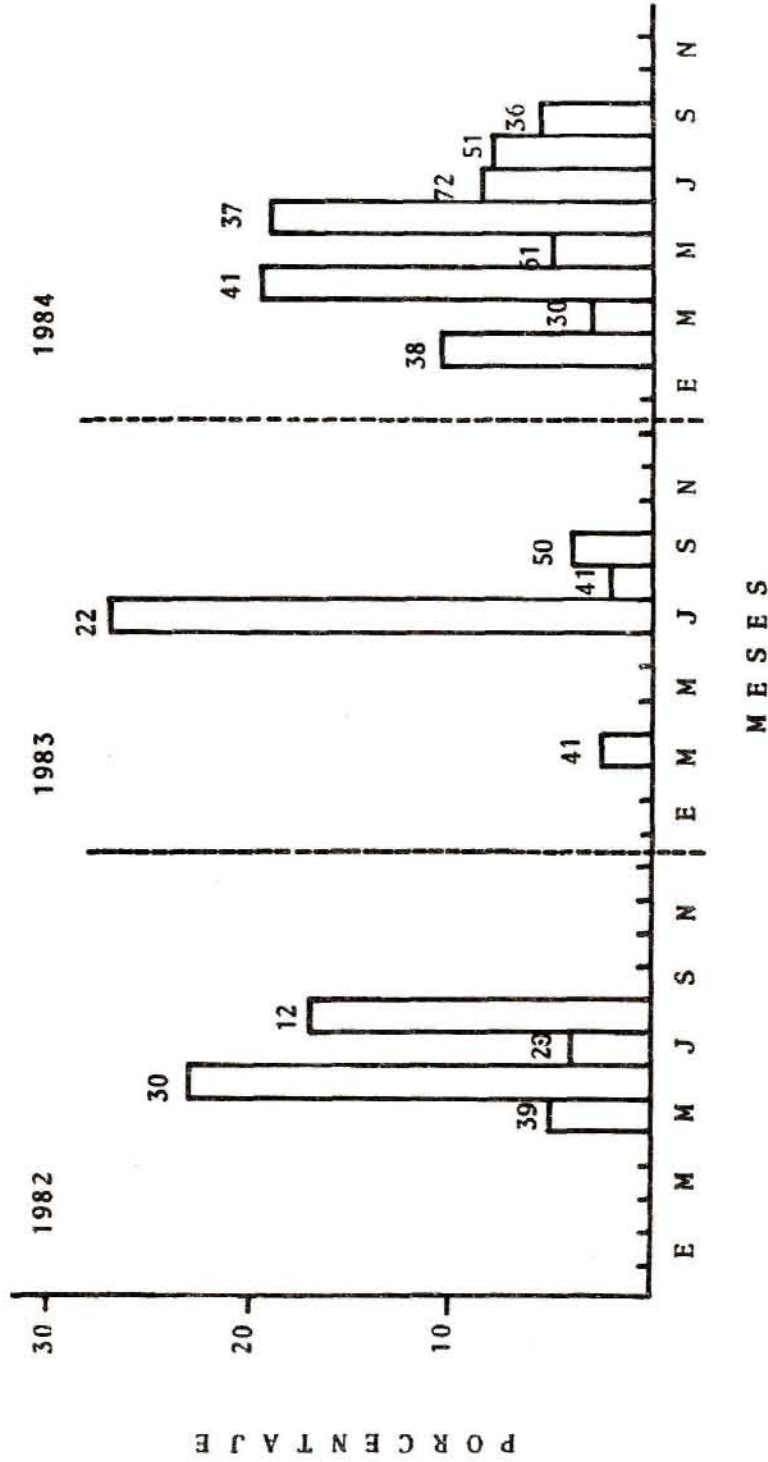


FIG. 2 - Variación estacional de *Cryptosporidium* durante 3 años de estudio de niños con diarrea del área metropolitana y del área rural del país (Puriscal). Las cifras indican el número de niños examinados en cada mes.

CUADRO 5

Características Clínicas de la Diarrea por *Cryptosporidium* en Niños Preescolares, Costa Rica, 1983-1984

Característica Clínica	<i>Cryptosporidium</i>		Rotavirus		<i>Campylobacter</i>		<i>E. coli</i>	
	No. Niños	No. %	No. Niños	No. %	No. Niños	No. %	No. Niños	No. %
Vómitos	25	24 (96)	170	158 (92,9)	49	40 (82)	20	17 (85)
Fiebre	14		139		35		15	
< 37,6		3 (21)		49 (35,2)		16 (46)		11 (73)
37,6 - 37,9		1 (7)		4 (2,9)		1 (3)		
38,0 - 38,5		3 (21)		34 (24,5)		9 (26)		3 (20)
+ 38,5		7 (50)		52 (37,4)		9 (26)		1 (7)
Deshidratación	24		171		42		18	
< 5		14 (58)		146 (85,4)		32 (76)		5 (28)
5 - 9		6 (25)		22 (12,9)		9 (21)		11 (61)
10+		4 (17)		3 (1,8)		1 (2)		2 (11)
Convulsiones	23	1 (4)	172	10 (5,8)	45	3 (7)	23	2 (9)
Dolor abdominal	22	12 (55)	165	92 (55,8)	48	28 (58)	18	6 (33)
Sangre en Heces	25	3 (12)	172	21 (12,2)	49	4 (8)	20	1 (5)

CUADRO 6

Tratamiento en 25 Niños* con Diarrea Aguda asociada a *Cryptosporidium*
Hospital Nacional de Niños, 1983–1984

Tratamiento	No. de niños	Porcentaje
Rehidratación oral (RO)	12	48
Gastroclisis (G)	8	32
Venoclisis (V)	2	8
RO + G	1	4
RO + V	1	4
RO + G + V	1	4
Total	25	

* Deshidratación = 10 niños (42%); moderada = 6 niños (25%); severa = niños (17 %).

DISCUSION

Son pocos los estudios sobre frecuencia y prevalencia de *Cryptosporidium* en poblaciones humanas y animales. Sin embargo, los pocos trabajos existentes concuerdan en que el coccidio aparece con cierta frecuencia en individuos inmunológicamente competentes. Un estudio amplio realizado en Australia (24,25), mostró una frecuencia de 4,1% en pacientes hospitalizados por gastroenteritis, con mayor prevalencia en el verano (16,23). El presente trabajo demuestra que la criptosporidiosis en Costa Rica es relativamente frecuente en niños lactantes y preescolares con diarrea. El 5% en Costa Rica de las gastroenteritis en menores de 3 años se asocian a *Cryptosporidium* (12,13,26) lo que le ubica en un lugar importante entre los agentes etiológicos de la diarrea, después de rotavirus, *Campylobacter* y *Escherichia coli* enterotoxigénica (15). Además, puede alcanzar frecuencias de hasta 27% durante ciertos meses del año (mayo, junio) en que parece ser más importante que otros agentes reconocidos.

En relación a los aspectos clínicos, se observó que *Cryptosporidium* puede causar diarreas moderadas a severas, donde el vómito es un hallazgo importante y la deshidratación en algunos casos es mayor del 10%. Aunque se han probado una serie de drogas antiparasitarias, ninguna ha dado buen resultado (16), el tratamiento de elección en la mayoría de los casos en personas inmu-

nucompetentes es de rehidratación oral (7,18). En nuestra serie el 36% de los casos requirió gastroclisis debido a los vómitos. Cuando los tratamientos anteriores fracasaron, fue necesaria la venoclisis (16% de casos). El cuadro diarreico siempre fue autolimitado concordando con los hallazgos de otros autores en pacientes inmunocompetentes (16,27). Diferente es la situación de pacientes inmunocomprometidos en donde la diarrea por *Cryptosporidium* es severa, prolongada, resistente al tratamiento y a menudo fatal (20,27).

Como se mencionó anteriormente, la frecuencia de *Cryptosporidium* en el área rural fue ligeramente menor que en el área metropolitana. Además, la infección no se presentó en lactantes del área rural, mientras que en lactantes urbanos *Cryptosporidium* fue más frecuente. El fenómeno parece estar asociado a la lactancia materna (14), pues los niños urbanos son destetados precozmente o del todo no son amamantados, en tanto que en Puriscal la edad promedio del destete osciló entre los 6 y 8 meses aproximadamente (14). En niños atendidos en el Hospital Nacional de Niños fue posible diagnosticar el parásito en el 5,0% de los que estaban destetados al momento del examen, en tanto que solamente el 0,7% de los niños con lactancia materna fueron positivos, una diferencia significativa ($X^2 = 5,5$; $P = 0,05$).

El coccidio mostró una marcada variación estacional pues apareció casi exclusivamente en los meses cálidos y húmedos de 1982 y 1983, en relación con el inicio de las lluvias. Esto fue confirmado en 1984, pues los primeros casos aparecieron en febrero, correlacionando con algunas lluvias que se presentaron tempranamente. En años anteriores, la mayoría de los casos aparecieron entre abril y agosto.

Se sabe que la criptosporidiosis es una zoonosis de amplia distribución geográfica y que el coccidio presenta gran inespecificidad por el huésped (16,23,27). En Costa Rica, hemos logrado inducir diarrea en un ternero recién nacido de 5 días que había recibido calostro. Para ese fin, se le suministró una dosis de aproximadamente 5 millones de ooquistes de origen humano por vía oral que fueron obtenidos de las evacuaciones diarreicas de uno de los niños del estudio. Cuatro días más tarde el ternero presentó diarrea con deshidratación severa, fue posible identificar ooquistes en las heces del animal.

La investigación sobre *Cryptosporidium* ha avanzado rápidamente en los últimos años. Se ha logrado implementar pruebas serológicas que permiten determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra el coccidio (16) y ya es posible reproducir su ciclo de vida en cultivos celulares (16). Sin embargo, existen aún interrogantes como las condiciones epidemiológicas en que se transmite el parásito, por lo que es necesario estudiar el papel de los contactos humanos y animales en la transmisión así como los patrones de excreción de ooquistes, a fin de establecer las pautas para la prevención y control de la infección. Al mismo tiempo, se debe estudiar el *Cryptosporidium* en casos de diarrea crónica.

RESUMEN

Entre enero de 1982 y diciembre de 1984, se estudiaron niños lactantes y pre-escolares con diarrea aguda, pertenecientes al área rural de Puriscal y a áreas urbanas y semi-urbanas de San José, Heredia y Cartago. Un grupo de niños equiparados por edad y localidad, sin diarrea, fue también estudiado como testigo. Se recolectaron muestras de heces para estudiar rotavirus, *Campylobacter fetus jejuni* y otros agentes etiológicos de la diarrea. *Cryptosporidium* fue identificado en frotos de heces coloreados con Giemsa y ácido resistencia.

Se encontró *Cryptosporidium* en 3,6% de niños del área rural y en 4,9% de niños del área metropolitana, lo que le ubica en el cuarto lugar como agente de la diarrea, después de rotavirus, *Campylobacter* y *Escherichia coli* enterotoxigénica. En el área rural la infección se presentó solamente en niños mayores de un año; en contraste, en el área metropolitana apareció principalmente en lactantes. Esta distribución puede deberse a la protección conferida por la lactancia materna que es más frecuente, intensa y prolongada en el área rural. La edad promedio del destete en niños con diarrea asociada a *Cryptosporidium* fue de dos meses en casos urbanos y 6 meses en los rurales.

Cryptosporidium presentó una marcada variación estacional pues los casos aparecieron solamente en los meses cálidos y húmedos del año (abril a agosto). Durante los meses más fríos y secos (octubre a marzo) la infección fue rara o inexistente.

Los niños con diarrea asociada a *Cryptosporidium* presentaron signos y síntomas severos como vómitos (96%) y deshidratación (42%); la deshidratación fue severa en el 17% de los casos. El tratamiento utilizado en forma exitosa fue la rehidratación oral; en el 36% de los casos con vómitos se requirió de la gastroclisis. La venoclisis fue necesaria en 4 de los 25 niños (16%).

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a los Doctores Cecilia Lizano y Jaime Guevara del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Niños así como a su personal, por su colaboración en la realización de este trabajo. Asimismo, agradecemos a los estudiantes del Trabajo Comunal Universitario (TCU) por su participación en la recolección y transporte de las muestras y al personal del INISA por su valiosa ayuda técnica. El estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y el CONICIT.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, B.C. Cryptosporidiosis: a review. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 180: 1455, 1982.
2. Bolaños, H., A. Simhon & L. Mata. Citología de excretas diarreas asociadas a rotavirus, *Campylobacter* y *Cryptosporidium*. En prensa, 1985.
3. Clinicopathological conference. Immunodeficiency and cryptosporidiosis: demonstration at The Royal College of Physicians of London. *Brit. Med. J.* 281: 1123, 1980.
4. Current, W.L. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis of domestic animals and man. Fourth International Symposium on Neonatal Diarrhea, Saskatoon. Veterinary Infectious Disease Organization. Canada. p. 293-307, 1983.
5. Current, W.L., N.C. Reese, J.V. Ernst, W.F. Bailey, M.B. Heyman & W.M. Weinstein. Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons: studies of an outbreak and experimental transmission. *New Engl. J. Med.* 308: 1252, 1983.
6. Ericsson, C.D. & H.L. Dupont. *Cryptosporidium* and Diarrhea. *Lancet* 2: 914, 1983.
7. Jiménez, P., L. Mata, M.E. García & W. Vargas. Estudio de Puriscal VI. Transferencia de la tecnología de rehidratación oral del hospital al hogar rural. *Rev. Med. Hosp. Nal. de Niños, Costa Rica* 17: 71, 1982.
8. Jokipil, L., S. Pohjola & A.M. Jokipil. *Cryptosporidium*: a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet* 2: 358, 1983.
9. Levine, N.D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J. Parasitol.* 66: 830, 1980.
10. Levine, N.D., J.O. Corliss, F.E.G. Cos, G. Deroux, J. Grain, B.M. Honigberg, G.F. Leedale, A.R. Loeblich, J. Lom, D. Lynn, E.G. Merinfelf, F.C. Page, G. Poljanski, V. Sprague, J. Vavra & F.G. Wallace. A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.* 27: 37, 1980.
11. Ma, P. & T. Soave. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *J. Infect. Dis.* 147: 824, 1983.
12. Mata, L., H. Bolaños, D. Pizarro & M. Vives. Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 33: 24, 1984.
13. Mata, L., H. Bolaños, D. Pizarro & M. Vives. Cryptosporidiosis en niños de Costa Rica: estudio transversal y longitudinal. *Rev. Biol. Trop.* 32: 129, 1984.
14. Mata, L., P. Jiménez, M.A. Allen, W. Vargas, M.E. García, J.J. Urrutia & R.G. Wyatt. Diarrhea and malnutrition: breast-feeding interventions in a transitional population. IN: Acute enteric infections in children. New prospects for treatment and prevention. Holme, T., Jr. Holmgren, M. H. Merson & R. Mollby (eds), Elsevier/North Holland, Biomedical Press, London. p. 233-251, 1981.
15. Mata, L., A. Simhon, R. Padilla, M.M. Gamboa, G. Vargas, F. Hernández, E. Mohs & C. Lizano. Diarrhea with rotavirus, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter* and other agents in Costa Rican children, 1976-1981. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 32: 146, 1983.
16. Navin, T.R. & D.D. Juranek. Cryptosporidiosis: Clinical, Epidemiologic and Parasitology review. *Rev. of Inf. Dis.* 6: 313, 1984.
17. Nime, F.A., J.D. Burek, D.L. Page, M.A. Holscher & J.H. Yardley. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterol.* 70: 592, 1976.

18. Pizarro, D., G. Posada, D.R. Nalin, L. Mata & E. Mohs. Rehidratación por vía oral y su mantenimiento en pacientes de 0 a 3 meses de edad deshidratados por diarrea. *Bol. Med. Hosp. Inf. Méx.* 37: 879, 1980.
19. Shahid, N.S., A.S.M.H. Rahman, B.C. Anderson, L. Mata & S.C. Sanyal. Cryptosporidiosis in Bangladesh. *Brit. Med. J.*, 1984.
20. Soave, R., R. Danner, C. Honing, P. Ma, C. Hart, Th. Nash & R. Roberts. Cryptosporidiosis in homosexual men. *Ann. Int. Med.* 100: 504, 1984.
21. Tyzzer, E.E. An extracellular coccidium *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.* 23: 487, 1910.
22. Tyzzer, E.E. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Archiv. Protistenkd.* 26: 394, 1912.
23. Tzipori, S. Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol. Rev.* 47: 84, 1983.
24. Tzipori, S., K.W. Angus, E.W. Gray & I. Campbell. Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *New. Engl. J. Med.* 303: 818, 1980.
25. Tzipori, S., M. Smith, C. Birch, G. Barnes & R. Bishop. Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 32: 931, 1983.
26. Urbina, A., L. Mata & D. Pizarro. *Cryptosporidium* en niños de Costa Rica: cuadro clínico, variación estacional y tratamiento. *Acta Med. Cost.* 27: 191, 1984.
27. Urbina, A., L. Mata & J.C. Rojas. Cryptosporidiosis: una zoonosis de reciente interés. *Adelantos en Microbiología y Enfermedades infecciosas.* En prensa, 1985.