

***Cryptosporidium* y criptosporidiosis**

Juan Carlos Rodríguez y Gloria Royo

**Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche.
Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante).**

CARACTERÍSTICAS DEL PARÁSITO

Cryptosporidium parvum es un protozoo intracelular descrito en 1907. Taxonómicamente, se encuadra dentro del Phylum *Apicomplexa* (presentan complejo apical), clase *Sporozoa* (reproducción sexual y asexual con formación de ooquistes), subclase *Coccidiasina* (el ciclo presenta merogonias, gametogonias y esporogonias), orden *Eucoccidiorida* (hay esquizogonia), suborden *Eimeriorina* (se desarrollan macro y microgametos de forma independiente, y el cigoto es inmóvil) y familia *Cryptosporidiidae* (los ooquistes presentan cuatro esporozoitos y ciclo vital monoxeno, es decir, con un solo hospedador). Los géneros *Plasmodium*, *Babesia*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Cyclospora*, *Isospora* y *Eimeria* son también coccideos. Se han descrito 20 especies dentro del género *Cryptosporidium*. *Cryptosporidium parvum* es la especie que se asocia a enfermedad humana, aunque también puede encontrarse en otros hospedadores, ya que no existe una completa especificidad de huésped.

El estudio de los genes de la subunidad pequeña del rRNA divide a las especies del género *Cryptosporidium* en dos grupos; uno formado por *C. muris* y *C. serpentis*, y otro formado por *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. wrairi*, y *C. parvum*. Se han descrito ocho genotipos en *C. parvum* al estudiar los genes que codifican la proteína externa de membrana (COWP), la *thrombospondin-related adhesive protein C1* (TRAP-C1) y el 18S rRNA, siendo los de origen humano y bovino los que presentan mayor importancia clínica. El genotipo bovino se asocia a infecciones humanas producidas por contacto directo con bóvidos infectados o sus heces. Excepcionalmente, se ha descrito infecciones en los pacientes inmunodeprimidos asociadas a otras especies o a otros genotipos. También se han demostrado diferencias de virulencia entre los aislados en cultivo celulares y en ratones.

Los parásitos son esféricos o elípticos. En las células epiteliales del intestino presentan un tamaño entre 2 y 6 μm y se encuentran localizados en vacuolas parasitóforas. Los ooquistes presentan cuatro esporozoitos, sin esporocistos, son ovoides y pueden medir entre 4,5 y 7,9 μm . Tienen ocho cromosomas de tamaños moleculares semejantes y presenta uno de los genomas más pequeños de los organismos unicelulares eucarióticos.

El ciclo se completa en un solo hospedador en dos días. La infección se produce por ingestión de ooquistes, provenientes de la contaminación fecal ambiental o de una persona o animal infectados. La exquistación se produce por contacto con agentes reductores, generalmente sales biliares o enzimas digestivas, aunque puede producirse de forma espontánea. Aparecen cuatro esporozoitos móviles con forma de plátano que invaden la pared del epitelio intestinal. Se forma una vacuola parasitófora superficial formada por dos membranas provenientes del hospedador y por otras dos provenientes del parásito; esto hace que tenga localización intracelular, pero extracitoplasmática. Aparecen merozoitos

intraluminalmente y, mientras algunos infectan otras células epiteliales del hospedador (originando un proceso de autoinfección), otros maduran sexualmente y forman cigotos. El ooquiste, que contiene cuatro nuevos esporozoítos, es infectivo al excretarse por las heces.

Los ooquistes están recubiertos de una pared gruesa que les confiere protección en el medio ambiente, pero un 20% de éstos presentan una pared fina y, por lo tanto, exquistan endógenamente, originando un fenómeno de autoinfección. En el medio ambiente se mantienen infecciosos durante meses en un intervalo amplio de temperaturas. La autoinfección es importante clínicamente, ya que la ingestión de pocos ooquistes puede originar procesos clínicos graves. La exquistación espontánea, en ausencia de sustancias reductoras, explica las infecciones pulmonares por este microorganismo.

EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de este microorganismo es variable, en función de las características socioeconómicas de la población, ya que es más frecuente en los lugares con problemas de infraestructura en las canalizaciones de agua potable, en las piscinas, en la eliminación de aguas residuales o con estrecho contacto con animales. Se encuentra en las heces del 1 al 3% de los habitantes de los países desarrollados (Europa y América del Norte), en el 5% de los de Asia y en el 10% de los de África. Es más frecuente en los menores de dos años. Mediante estudios serológicos se demuestra la presencia de anticuerpos en el 25-35% de los habitantes de los países desarrollados y en el 60-75% de los de países pobres. Un estudio realizado en niños de Salamanca mostró una seroprevalencia de IgG del 22,6%. En los países de clima tropical, es más frecuente en los meses cálidos y húmedos, mientras que, en los de clima templado, como España, es más frecuente en otoño y en invierno. Se han descrito grandes brotes asociados generalmente a deficiencias en los sistemas de potabilización del agua; el mayor descrito hasta la fecha se produjo en Milwaukee (USA) y afectó a 403.000 personas. En el Reino Unido se describieron 18 brotes en el período de 1989 a 1999 asociado a conducciones de agua contaminada con ooquistes.

La infección se transmite de persona a persona, por contacto con animales infectados, por el agua de bebida, por las piscinas o por los alimentos contaminados (frutas, verduras, zumos de frutas, moluscos, etc.), aunque un estudio llevado a cabo en Los Angeles en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) mostró que el agua potable tenía poca importancia en la transmisión de la enfermedad; las moscas también podrían desempeñar un papel como vectores mecánicos del parásito. Se ha demostrado la transmisión entre miembros de la familia, entre parejas sexuales, en guarderías, y entre pacientes y personal sanitario, e incluso se producen infecciones nosocomiales. Esto puede pasar desapercibido porque, en muchos casos, no existen síntomas clínicos importantes. Las infecciones por animales se producen, generalmente, a partir de animales de compañía infectados, de laboratorio o de granja. En un estudio llevado a cabo en Zaragoza, el 7% de los perros, el 44,4% de los terneros recién nacidos, el 17% de las vacas adultas y el 21,9% de los cerdos excretaban el parásito en las heces. La importancia de la transmisión de este parásito a través de los alimentos se refleja en los datos aportados por un sistema de vigilancia de las infecciones de origen alimentario. El *Foodborne Diseases Active Surveillance Program (FoodNet)*, comunicó en 1997 los siguientes datos: 2205 casos de *Salmonella*, 1273 de *Shigella*, 468 de *Cryptosporidium*, 340 de *Escherichia coli* O157:H7, 139 de *Yersinia*, 77 de *Listeria*, 51 de *Vibrio* y 49 de *Cyclospora*.

En los pacientes infectados por el VIH con diarrea, la presencia del parásito se demuestra en el 11-21% de los casos, siendo más elevado el porcentaje en los enfermos de países pobres. Un estudio llevado a cabo en Barcelona en 1994 sobre 1456 pacientes infectados por el VIH mostró la presencia de algún enteropatógeno en 253 (17%); la incidencia fue mayor en los homosexuales (26%) que en los adictos a drogas por vía

parenteral (12%). El patógeno más frecuente fue *Cryptosporidium* (104 enfermos), seguido de *Salmonella* (78 pacientes). En otro estudio llevado a cabo en Madrid, en el 30% de los pacientes con cryptosporidiosis intestinal aparecieron infecciones extraintestinales, que en el 61,5% fueron de localización biliar, y se observaron en el esputo en el 16,3% de los casos.

PATOGENIA Y MODELOS EXPERIMENTALES

Puede producirse la infección por la ingestión de ooquistes y en el desarrollo de la enfermedad influye la exposición previa al microorganismo y el estado inmunológico del sujeto infectado. Estudios realizados en voluntarios sanos demuestran que puede producirse infecciones por la ingestión de menos de 3000 ooquistes. Histológicamente, el parásito se localiza dentro de las células epiteliales y pueden aparecer procesos de fusión o pérdida de vellosidades intestinales, hiperplasia de las criptas y cambios inflamatorios en la lamina propia con presencia de linfocitos, neutrófilos, células plasmáticas y macrófagos.

El ciclo completo del parásito puede reproducirse en embrión de pollo, en pulmón fetal humano y en células de riñón de cerdo. Se han desarrollado varias líneas celulares de origen intestinal, siendo la HT29.74 la más empleada en la evaluación de la utilidad terapéutica de diversos compuestos, pero esta línea, originada a partir de enterocitos humanos, sólo permite el desarrollo asexual del parásito. También se ha usado la línea Caco-2, originaria de carcinoma de colon, para la producción de ooquistes. Las células de riñón canino Madin-Darby permiten el desarrollo asexual y sexual del parásito, pero no se producen ooquistes esporulados. Los estudios en animales se realizan en neonatos de varias especies como ratones, ratas, hamsters, cerdos, corderos y primates no humanos, pero la infección remite al desarrollarse los animales, lo que limita las investigaciones prolongadas. También se han empleado ratas y ratones atómicos, roedores inmunodeprimidos y primates infectados por el virus de la inmunodeficiencia de los simios. La mayoría de las investigaciones se han desarrollado con el genotipo 2, que es el que infecta a los animales de laboratorio, ya que el genotipo 1 sólo se ha identificado en hombres y en primates.

Los linfocitos T CD4+ son mediadores inmunológicos importantes en el control de la infección y se ha demostrado, en modelos experimentales, la asociación entre el déficit de los linfocitos T y la persistencia de la infección. Se detecta la presencia de anticuerpos del tipo IgG e IgM en todos los enfermos, incluidos los infectados por el VIH. Aparecen a los seis días de la infección y se mantienen durante muchos meses, incluso más de un año. También es posible detectar la presencia de IgA en el líquido duodenal de los pacientes, apareciendo a los 4-6 días de la infección y desapareciendo a los 15-20 días; según algunos datos experimentales, estos anticuerpos podrían estar implicados en la resolución del cuadro clínico.

La proteína CSL, de aproximadamente 1300 kDa es la glucoproteína apical de los esporozoítos y merozoítos y su neutralización con anticuerpos monoclonales protege de la infección en un modelo *in vivo*. Es la responsable de la infectividad del esporozoíto, ya que se une a las células epiteliales intestinales y, por lo tanto, es una diana prometedora en el diseño de vacunas.

CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD

El cuadro clínico más frecuente es la diarrea, aunque también se ha asociado a infecciones pulmonares. Pueden existir infecciones asintomáticas, incluso en las personas inmunodeprimidas. La diarrea suele ser abundante y acuosa; raramente aparece sangre o leucocitos. En pacientes VIH se ha descrito cuadros de diarrea secretora y diarrea asociada al síndrome de malabsorción, con absorción anormal de D-xilosa y vitamina B₁₂, y

esteatorrea. Se ha sugerido la presencia de una toxina, pero no se ha podido demostrar su existencia.

La enfermedad se ha descrito en los individuos de todas las edades y sin distinción de sexo, pero los menores de dos años son más susceptibles a la infección, probablemente debido al mayor riesgo de transmisión fecal-oral, a la falta de inmunidad protectora por exposiciones anteriores y a la relativa inmadurez inmunológica. En los países pobres es una causa relativamente importante de desnutrición y muerte infantil. La protección de la lactancia materna está en discusión ya que, aunque se ha demostrado la eficacia de la administración pasiva de anticuerpos, no protege de la infección en un modelo experimental con primates. En ancianos aumenta también el riesgo de padecer la infección por el deterioro inmunológico, y este parásito puede asociarse con diarreas producidas por la toxina de *Clostridium difficile* en ancianos enfermos crónicos.

Entre la ingestión de ooquistes y la aparición de síntomas clínicos existe una demora de 7-10 días y la duración de la diarrea en personas sanas puede variar entre 2 y 26 días, llegando incluso a 90 días. En el brote de Milwaukee, la duración media de la enfermedad fue de nueve días (intervalo, entre 1 y 55) y la media del número de deposiciones al día fue de 12 (entre 1 y 90). En los cuadros graves puede excretarse de 12 a 17 litros al día, y puede acompañarse de febrícula (<39°C), malestar general, pérdida del apetito, náuseas y vómitos. Puede producirse megacolon tóxico.

También se ha asociado este parásito con cuadros de colecistitis y pancreatitis. La presencia de este microorganismo en las secreciones respiratorias se puede deber a verdaderas infecciones o a microorganismos aspirados. Los síntomas son inespecíficos, y no produce una disfunción pulmonar grave. También se ha asociado a laringotraqueítis y sinusitis. Suele encontrarse junto con infecciones por *Pneumocystis carinii* y citomegalovirus. No existen asociaciones claras con las infecciones intestinales. No se han descrito infecciones diseminadas. Existen, frecuentemente, infecciones asintomáticas, incluso en los infectados por el VIH.

La capacidad de eliminar al parásito depende de la naturaleza del déficit inmune. Se ha descrito infecciones por este parásito en casos de hipogammaglobulinemia congénita, deficiencia de IgA, infecciones virales, cáncer, talasemia, diabetes mellitus dependiente de insulina, y en los transplantados. La persistencia de la diarrea por *Cryptosporidium* durante más de 30 días en los pacientes infectados por el VIH es un criterio establecido por los *Centers for Disease Control* para la definición de SIDA. En estos pacientes suele remitir el proceso si los CD4 se elevan por encima de 200 linfocitos CD4/mm³ y, en procesos avanzados, raramente remite la diarrea, contribuyendo a la muerte de estos pacientes. Además, en torno al 25% de los casos, se asocia a una infección por microsporidios. La incidencia de esta enfermedad ha disminuido con la aparición de los nuevos tratamientos antirretrovirales, ya que mejoran el estado inmunitario de estos enfermos.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de las formas intracelulares del parásito se realiza mediante el estudio de las biopsias intestinales; la mayoría de los estadios del parásito son basófilos y se tiñen bien con hematoxilina-eosina o con la tinción de Giemsa. La detección de ooquistes se realiza en las heces del paciente y su excreción coincide con los síntomas clínicos, aunque pueden aparecer de forma esporádica después de la resolución de los síntomas. Si se sospecha una infección extraintestinal, pueden buscarse ooquistes en la bilis o en muestras respiratorias. Los ooquistes tienen un tamaño semejante a las levaduras y, para su identificación correcta, es necesario realizar tinciones; en estas, los ooquistes pueden presentar variaciones en función de la edad, de la viabilidad y del estado de desarrollo. Para diferenciar los ooquistes de *Cryptosporidium* de las levaduras en los sedimentos de las

heces, se puede realizar una tinción temporal con lugol, tomando el color amarillo las levaduras y permaneciendo incoloros los ooquistes, también es frecuente la aparición de cristales romboidales de Charcot-Leyden junto a los *Cryptosporidium* en estos sedimentos.

La fijación de las heces puede realizarse con formalina al 10% o con SAF (acetato de sodio/ácido acético/formol). La fijación con alcohol polivinílico (PVA) puede interferir en las tinciones y en el método de concentración formol-éter. La tinción de referencia está basada en la demostración de las características de ácido-alcohol resistencia del parásito, tanto en frío como en caliente. Como decolorante se emplea ácido sulfúrico o ácido clorhídrico en concentraciones entre el 1 y el 3% (en metanol y en etanol al 70%, respectivamente) durante 15-20 seg. Las tinciones con fluorocromos (auramina-rodamina) requieren confirmación mediante una tinción de Ziehl-Neelsen modificada. La viabilidad de los ooquistes puede determinarse con el empleo del colorante DAPI (diamidino-fenil-indol).

La concentración mediante centrifugación por la técnica del formol-eter o formol-acetato de etilo ha demostrado su eficacia en el procesamiento de las muestras clínicas, pero mejora su sensibilidad prolongando el tiempo de centrifugación. En un estudio se comparó la centrifugación a 400 x g durante 2 min con la de 500 x g durante 10 min, y se observó que esta última aumentaba la sensibilidad del 86 al 99%. También se pueden emplear técnicas de flotación, como soluciones saturadas de cloruro sódico, sulfato magnésico, sacarosa, ioduro potásico y sulfato de zinc, y Ficoll®. La comparación de las diversas técnicas de concentración ha mostrado resultados discrepantes.

Algunos estudios cuantitativos llevados a cabo en modelos experimentales demuestran que sólo un pequeño porcentaje de los ooquistes excretados presentan la característica de ácido-alcohol resistencia, pero este porcentaje se incrementa cuando aumenta el tiempo entre el momento de la excreción y de la tinción. El tratamiento de las heces con agua oxigenada (a una concentración final de 5 volúmenes, durante 10 min) hace que todos los ooquistes sean ácido-alcohol resistentes y, por lo tanto, la sensibilidad de las tinciones puede incrementarse hasta 40 veces. Debido a que, frecuentemente, se asocia la presencia de *Cryptosporidium* y *Microsporidium* en los pacientes con VIH, se han diseñado tinciones que detectan la presencia de ambos parásitos. Existen métodos de detección de antígenos en heces por inmunofluorescencia, hemaglutinación y ELISA que presentan buenos resultados, incluso superiores a los métodos tradicionales. También hay técnicas de inmunofluorescencia para la detección conjunta de *C. parvum* y *Giardia intestinalis*.

Se han descrito varios métodos de amplificación, basados en la PCR, con la utilización de cebadores específicos para *Cryptosporidium*, que consiguen una alta sensibilidad y especificidad en la detección de este parásito en muestras clínicas y ambientales. También mediante técnicas de biología molecular se ha conseguido diferenciar las distintas especies del género (amplificación de un fragmento de 554 pb y corte con el enzima de restricción *MaeI*, que identifica *C. parvum*). La diferenciación de los genotipos de *C. parvum* también se realiza por esta metodología. La amplificación de un fragmento de 298 pb del rRNA 18S mostró que, en ocho de nueve cepas animales y tres humanas aparecía la secuencia TATATTT, mientras que en siete de las 10 de origen humano la secuencia era TTTTTTTTTT, lo que permitió diseñar cebadores que diferenciaban el origen de cada cepa.

Para el diagnóstico del parásito en los pacientes inmunocompetentes es necesario el procesamiento de tres muestras de heces mientras que, en los pacientes infectados por el VIH, podría examinarse una única muestra, recomendándose el procesamiento de una segunda si la primera fuera negativa y existiera una elevada sospecha clínica.

TRATAMIENTO Y MEDIDAS PREVENTIVAS

En los pacientes inmunocompetentes o con una inmunodepresión temporal la enfermedad es autolimitada, aunque no existe ningún tratamiento idóneo. Se emplea la paromomicina por vía oral durante 14 días, a dosis de 0,5 g/6 h en adultos (algunos autores sugieren la administración de 1 g/6h) y 7,5 mg/kg/día en niños. En los pacientes con menos de 100 CD4/mm³ se recomienda la asociación de paromomicina (1g) y azitromicina (600 mg) durante cuatro semanas, y después se debe continuar con la administración de la paromomicina. Como tratamiento sintomático se emplea, con cierto éxito, la octreótida (derivado sintético de la somatostatina) a dosis de 100-500 µg/8 h; también la loperamida, el difenoxilato y la tintura de opio.

En estudios experimentales en ratas se ha demostrado la utilidad de la paromomicina en las infecciones intestinales, pero no presenta actividad en las infecciones biliares, mientras que azitromicina presenta actividad en estas últimas. La espiramicina es ocasionalmente efectiva si se administra en la fase inicial de la infección. Se han obtenido resultados prometedores con la administración de la nitazoxamida. Hay algunos datos que indican que la roxitromicina podría tener buena actividad en el tratamiento de las diarreas en los pacientes VIH. También se han comunicado resultados alentadores en modelos *in vitro* con la asociación entre la nitazoxamida con azitromicina y rifabutina, y también con ranalexina, lasalocid® y azitromicina, solas o en combinación. La administración de concentrados de anticuerpos (calostro hiperinmune bovino) ha presentado cierta utilidad en la profilaxis y en el tratamiento de este proceso.

Los ooquistes son resistentes a la cloración, y la filtración es el sistema más útil para eliminar este microorganismo. Son sensibles a la actividad desinfectante del óxido de etileno, pero mantienen la infectividad después de un proceso de congelación. No resisten los procesos de pasteurización. Los pacientes con infección por el VIH con menos de 200 linfocitos CD4/mm³ deben beber agua hervida o embotellada, ya que los sistemas de purificación de agua que se emplean habitualmente no aseguran la completa destrucción de los ooquistes de este parásito y la dosis infecciosa es muy pequeña. Deben evitar el contacto con fuentes de ooquistes, como personas infectadas y animales de granja. El riesgo de infección por animales de compañía es bajo y no supera a los beneficios psicológicos que estos animales aportan a los pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de la Dra. Mercedes Subirats del Hospital Carlos III (Madrid)

BIBLIOGRAFIA

ALLES AJ, WALDRON MA, SIERRA LS, MATTIA AR. Prospective comparison of direct immunofluorescence and conventional staining methods for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in human fecal specimens. J Clin Microbiol 1995; 33:1632-1634.

BALATBAT AB, JORDAN GW, TANG YJ, SILVA J. Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in human feces by nested PCR. J Clin Microbiol 1996; 34:1769-1772.

BISSUEL F, COTTE L, RABODONIRINA M, ROUGIER P, PIENS MA, TREPO C. Paromomycin: an effective treatment for cryptosporidial diarrhea in patients with AIDS. Clin Infect Dis 1994; 18:447-449.

DUPONT HL, CHAPPELL CL, STERLING CR, OKHUYSEN PC, ROSE JB, JAKUBOWSKI W. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. N Engl J Med 1995; 332:855-859.

- ENTRALA E, RUEDA RUBIO M, JANSSEN D, *et al.* Influence of hydrogen peroxide on acid-fast staining of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Int J Parasitol* 1995; 25:1473-1477.
- FROST FJ, MULLER T, CRAUN GF, *et al.* Serological analysis of a cryptosporidiosis epidemic. *Int J Epidemiol* 2000; 29:376-379.
- GLASER CA, ANGULO FJ, ROONEY JA. Animal-associated opportunistic infections among persons infected with the human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994; 18:4-24.
- KEHL KS, CICIRELLO H, HAVENS PL. Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. *J Clin Microbiol* 1995; 33:416-418.
- LÓPEZ VELEZ R, TARAZONA R, GARCÍA CAMACHO A, *et al.* Intestinal and extraintestinal cryptosporidiosis in AIDS patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14:677-681.
- MAC KENZIE WR, HOXIE NJ, PROCTOR ME, *et al.* A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med* 1994; 331:161-167.
- MAGGI P, LAROCCA AM, QUARTO M, *et al.* Effect of antiretroviral therapy on cryptosporidiosis and microsporidiosis in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:213-217.
- MORENO A, GATELL JM, MENSA J, *et al.* Incidencia de enteropatógenos en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)* 1994; 102:205-208.
- MORGAN UM, CONSTANTINE CC, FORBES DA, THOMPSON RC. Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using rDNA sequencing and direct PCR analysis. *J Parasitol* 1997; 83:825-830.
- MORGAN UM, PALLANT L, DWYER BW, FORBES DA, RICH G, THOMPSON RC. Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *J Clin Microbiol* 1998; 36:995-998.
- MORGAN U, WEBER R, XIAO L, *et al.* Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human immunodeficiency virus infected individuals living in Switzerland, Kenya, and the United States. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1180-1183.
- O'DONOGHUE PJ. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol*. 1995; 25:139-195.
- SPANO F, CRISANTI A. *Cryptosporidium parvum*: the many secrets of a small genome. *Int J Parasitol* 2000; 30:553-365.
- THEODOS CM, GRIFFITHS JK, D'ONFRO J, FAIRFIELD A, TZIPORI S. Efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in cell culture and in animal models. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:1959-1965.