

Cyclospora cayetanensis en pacientes con SIDA y diarrea crónica

Jorge Néstor Velásquez;¹ Silvana Carnevale;² Marta Cabrera;² Lien Kuo;³ Agustín Chertcoff;³ Marta Mariano;³ Juan Pablo Bozzini;³ Cristina Etchart;⁴ Rosana Argento;⁴ Cecilia di Risio.⁴

Acta Gastroenterol Latinoam 2004;34:133-137

Resumen

Cyclospora spp. es un parásito protozoo responsable de enfermedad gastrointestinal, importante en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana. En este trabajo describimos las características clínicas de dos pacientes con diarrea crónica y ciclosporiasis intestinal causada por *Cyclospora cayetanensis*. El recuento de CD4 en estos pacientes fue menor o igual a 100 células/mm³. Los oocistos se detectaron en extendidos de materia fecal coloreados con las técnicas de Kinyoun o safranina. La microscopía óptica reveló parásitos en los enterocitos y éstos estaban asociados con atrofia vellositaria. La infección con *Cyclospora cayetanensis* podría ser una importante causa de diarrea en pacientes con SIDA en nuestro país.

Summary

Cyclospora spp. is a protozoan parasite responsible for significant gastrointestinal disease in patients infected with the human immunodeficiency virus. We report the clinical features of two patients with chronic diarrhea and intestinal cyclosporiasis caused by *Cyclospora cayetanensis*. The average value for CD4 count in the-

se patients was lower than or equal to 100 cells/mm³. The oocysts were detected in smears from stool samples stained with modified acid-fast or safranin technique. Light microscopy revealed parasites in the enterocytes and these parasites were associated with villous atrophy. *Cyclospora cayetanensis* infection might be an important cause of diarrhea in patients with AIDS in Argentina.

Index (palabras claves): *Cyclospora cayetanensis*, AIDS, chronic diarrhea.

Introducción

Cyclospora cayetanensis es un protozoo perteneciente al orden Eucoccidii, familia Eimeriidae, que posee un solo género con diferentes especies.¹

La ciclosporiasis es una importante causa de infecciones entéricas en el hombre y en algunas especies animales.^{2,3,4} La especie *Cyclospora cayetanensis* es causa de cuadros diarreicos en el hombre. La diarrea es autolimitada en individuos previamente sanos y crónica en inmunosuprimidos.^{5,6} En pacientes con SIDA es considerado un organismo oportunista productor de severos cuadros diarreicos que aumentan la morbilidad y mortalidad de los mismos.^{6,7}

El propósito de este trabajo es la descripción clínica y microbiológica de *Cyclospora cayetanensis* en pacientes con SIDA y diarrea crónica.

Caso 1

Paciente de 27 años, sexo masculino, quien ingresó por presentar diarrea, 5-6 deposiciones diarias de más de un mes de evolución, dolor de tipo cólico generalizado en abdomen y pérdida de peso (8 kg). Como antecedentes de importancia presentaba adicción intravenosa y serología positiva para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Al examen físico, como datos positivos presentaba deshidratación severa, hipotrofia muscular, candidiasis

¹ Sala 4, Hospital Municipal de Infecciosas "Dr. Francisco J. Muñiz". Buenos Aires, Argentina.

² Departamento de Parasitología, Instituto de Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires, Argentina.

³ Servicio de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires, Argentina.

⁴ Hospital Municipal General de Agudos "Dr. José María Penna". Buenos Aires, Argentina.

oral y hepatomegalia. Se realizaron exámenes de rutina: hemograma (anemia), hepatograma y amilase-mia normales. El recuento de células CD4 fue de 50/mm³. Las materias fecales se procesaron mediante la técnica de concentración de merthiolate-formol (MF) y Telemann modificado.^{8,9} Se realizaron extendidos de heces de los concentrados de las mismas. Éstos fueron coloreados con las técnicas de Kinyoun y safranina.^{7,10} En las muestras de materia fecal no coloreadas se observaron estructuras esféricas y en las coloreadas se presentaron como ácido-alcohol resistentes.

Se le efectuó una videoesofagogastroduodenoscopia (VEDA) con un equipo Pentax EPM 2000. Se consideró duodenitis endoscópica a la afectación de la mucosa duodenal visualizable en la VEDA. El paciente presentaba un duodeno denominado granular que corresponde a vellosidades blancas ensanchadas sobre una mucosa enrojecida.¹¹ Se tomaron biopsias de la porción distal del duodeno, tres de la cara anterior y tres de la cara posterior. Inmediatamente a la toma de las muestras, las mismas se dispusieron en papel Millipore y se fijaron en formol y glutaraldehído. Los tejidos incluidos en parafina se colorearon con hematoxilina-eosina y Giemsa para su observación por microscopía óptica convencional.

Las biopsias fijadas en glutaraldehído y post-fijadas en osmio se incluyeron en polybedaraldita. Se realizaron cortes de 1 µm de espesor que se colorearon con Azur II y se observaron por microscopía óptica.¹² Se determinó el grado de inflamación y/o atrofia y la presencia de microorganismos con la microscopía óptica.¹³ En las biopsias se identificaron estructuras intraepiteliales compatibles con *Cyclospora cayetanensis*, atrofia vellositaria y duodenitis. Se realizó tratamiento específico con trimetoprima (160 mg) y sulfametoxazol (800 mg). El paciente evolucionó con reducción en el número de deposiciones a partir de los 10 días. Luego, durante su internación, presentó como intercurencia una neumonía intrahospitalaria, insuficiencia respiratoria y falleció.

Caso 2

Paciente de 37 años, sexo masculino, quien ingresó por presentar diarrea, 3 a 4 deposiciones diarias de 15 días de evolución. Como antecedentes de importancia presentaba serología positiva para VIH en tratamiento con antirretrovirales (EFV, 3TC y D4T) y episodios previos de diarrea crónica de dife-

rentes etiologías (uno por microsporidios y dos por *Isoospora belli*). Su trabajo era la jardinería, constituyendo estas labores su probable fuente de infección. Al examen físico como dato positivo presentaba deshidratación leve. Se realizaron exámenes de rutina que resultaron normales. El recuento de células CD4 fue de 100/mm³. Las materias fecales se procesaron por los mismos métodos descriptos para el caso 1. En las muestras de heces coloreadas se observaron estructuras esféricas ácido-alcohol resistentes.

Se le efectuó una VEDA donde se observó un duodeno granular.¹¹ Se tomaron biopsias de la porción distal del duodeno que fueron procesadas como en el caso 1. En las mismas se identificaron estructuras intraepiteliales compatibles con *Cyclospora cayetanensis* y atrofia vellositaria.¹³ Se realizó tratamiento específico con trimetoprima (160 mg diarios) y sulfametoxazol (800 mg diarios). El paciente evolucionó con reducción en el número de deposiciones a partir de los 5 días, siendo luego dado de alta.

Descripción microbiológica

Con estos métodos se identificaron dos pacientes con ciclosporiasis. La identificación de *Cyclospora cayetanensis* se realizó por el examen histológico y el hallazgo de ooquistes en materia fecal.

Hallazgos microbiológicos

Los ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* son estructuras esféricas o elipsoides de un tamaño aproximado de 8 a 10 µm.

El examen de los concentrados sin colorear muestra a los ooquistes con una pared refráctil y doble. Los ooquistes son no esporulados cuando se eliminan con las heces. Los ooquistes no esporulados contienen en su interior una estructura esférica denominada esporonte. El examen de los ooquistes en dicromato de potasio muestra a los ooquistes esporulados que contienen en su interior dos estructuras ovoides de un tamaño aproximado cada uno de 3.3 a 4.4 µm por 5.5 por 7.1 µm, denominados esporoquistes. En el interior de cada esporoquiste se encuentran dos esporozoítos. Estos tienen cuerpo de Stieda y cuerpo de sub Stieda. El residuo del esporoquiste tiene glóbulos esféricos y por último, no se observó micropilo. (Figs. 1 y 2)

La característica de los ooquistes en los extendidos de los concentrados coloreados con las tinciones de Kinyoun y safranina es la de ácido-alcohol resistencia. (Fig. 3)



Figura 1. Ooquiste de *Cyclospora cayetanensis* no esporulado en materia fecal.



Figura 2. Ooquiste de *Cyclospora cayetanensis* esporulado en materia fecal, en dicromato de potasio.

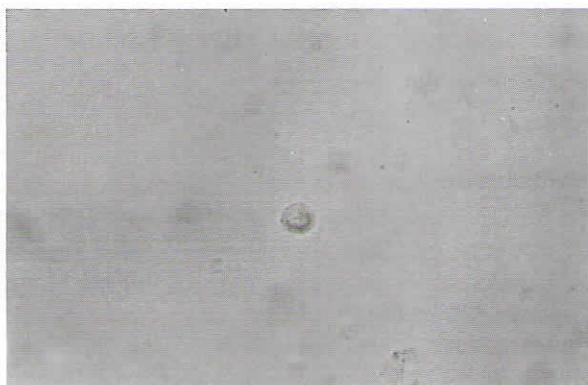


Figura 3. Ooquiste de *Cyclospora cayetanensis* no esporulado en materia fecal, coloreado con safranina.

Hallazgos histológicos (microscopía óptica)

Los estadios de *Cyclospora cayetanensis* en los tejidos incluidos en parafina son estructuras de forma esférica u ovalada que asientan en el interior de las células epiteliales de las vellosidades. En los cortes

coloreados con hematoxilina-eosina, Giemsa y Azur II es posible diferenciar trofozoítos, gametos y esquizontes con merozoítos.

En los pacientes con diagnóstico de ciclosporiasis se identificaron esquizontes con merozoítos. En los mismos no se observaron trofozoítos o gametos.

En los cortes coloreados con hematoxilina-eosina y Giemsa los esquizontes son ovalados o redondos con merozoítos en su interior. Los merozoítos son elementos en forma de bananas.

Los microorganismos aparecen basófilos con hematoxilina-eosina y azul-negros con Giemsa.

En los cortes ultrafinos coloreados con Azur II es posible identificar los esquizontes que son ovalados o redondos con merozoítos azul-negros en su interior. (Fig.4)

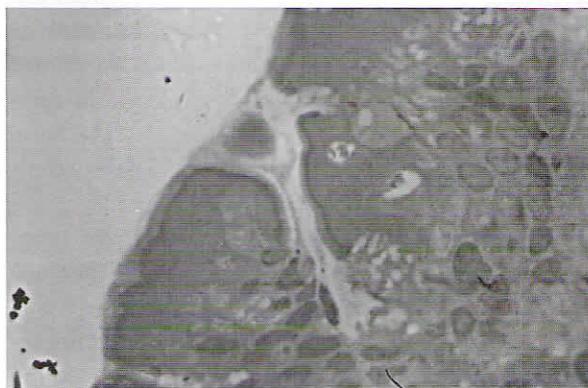


Figura 4. Esquizonte de *Cyclospora cayetanensis* con merozoítos en su interior, en biopsia duodenal coloreada con Azur II.

Discusión

La primera descripción de *Cyclospora* spp fue realizada por Eimer en 1870 en el intestino del topo.¹⁴ Los primeros casos en humanos de infección intestinal por *Cyclospora* spp. se dieron a conocer en 1979 en tres pacientes en Papua, Nueva Guinea.⁴ La especie *Cyclospora cayetanensis* se describió en niños en Perú en el año 1994.¹⁵

El diagnóstico de ciclosporiasis en pacientes con SIDA se incrementó desde 1994 a partir de su descripción como infección oportunista en este grupo de pacientes.^{6,16}

La tasa de prevalencia de las infecciones con *Cyclospora cayetanensis* puede ser baja, de un 0.3%, o alta, hasta un 18%.^{17,18} En pacientes inmunocompetentes la prevalencia es aproximadamente del 1% o menos en los países industrializados y alcanza el

20% en los países no industrializados.^{19,20,21} En pacientes con SIDA la prevalencia es aproximadamente del 1% en los países industrializados y del 11% en los países no industrializados.^{6,7}

En pacientes inmunocompetentes la mortalidad es baja, de alrededor de 0.05%.²² Hasta el presente la mortalidad en pacientes con SIDA no se encuentra bien documentada.^{6,7}

Las formas clínicas en pacientes con SIDA incluyen formas asintomáticas^{19,23} y sintomáticas. Estas últimas pueden ser intestinales o extraintestinales. Los pacientes con formas clínicas sintomáticas intestinales presentan diarrea aguda, persistente o crónica.^{5,7} En este grupo de pacientes es importante tener presente el valor del recuento de las células CD4.²⁴ En los pacientes con un recuento de CD4 mayor de 250/mm³, los cuadros clínicos que se presentan son de diarrea aguda o persistente.²⁴ Con recuentos de CD4 mayores de 250/mm³, los cuadros de diarrea aguda y crónica pueden evolucionar hacia la curación.²⁴ Los pacientes con recuentos de CD4 entre 100 y 250/mm³ presentan cuadros de diarrea crónica.²⁴

Las formas sintomáticas extraintestinales comprenden colecistitis alitiásica y colangitis esclerosante.²³

El hallazgo de los ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* en muestras de materia fecal es dificultoso dado su tamaño y el bajo número de los mismos que son excretados con las heces.^{19,25} La utilización de las técnicas de Kinyoun y safranina en extendidos de materia fecal permite la identificación de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*.^{7,10}

En humanos se ha encontrado *Cyclospora cayetanensis* en el intestino delgado. El yeyuno es el área infectada más frecuentemente.^{5,7}

La VEDA presentó imagen patológica en el duodeno en los dos casos, siendo el duodeno granular el hallazgo descripto. Sin embargo, el número de casos es reducido y la infección por el VIH modifica la histología intestinal, por lo que no es posible determinar un patrón endoscópico específico de ciclosporiasis con los datos estudiados.^{2,13}

Las lesiones histológicas asociadas con ciclosporiasis intestinal no son específicas. El hallazgo de atrofia vellositaria, duodenitis o ambas es variable y coincide con lo descripto por otros autores.^{26,27}

El diagnóstico de *Cyclospora cayetanensis* en el examen histológico en los cortes coloreados con Giemsa y hematoxilina-eosina es sospechado por la presencia de estructuras esféricas en el citoplasma de las

células epiteliales. Esto sucede con otros coccidios y es necesario diferenciarlos de los mismos.¹⁶

Los cortes coloreados con Giemsa, hematoxilina-eosina y Azur II permiten observar por medio de la microscopía óptica algunas formas del ciclo del *Cyclospora cayetanensis*, que incluyen trofozoítos, esquizontes y gametos.^{27,28}

La mayoría de los organismos observados en la microscopía óptica incluyeron esquizontes con merozoítos. Los trofozoítos y gametos no se identificaron en los pacientes estudiados, siendo coincidente con lo descripto en otras publicaciones.^{27,28}

El tratamiento con antirretrovirales mejora la inmunidad y al elevar el recuento de las células CD4 a valores mayores de 250/mm³, los síntomas desaparecen y disminuyen o desaparecen los ooquistes en materia fecal.²⁴

El tratamiento específico con trimetoprima (160 mg) y sulfametoxazol (800 mg) es cuatro veces por día, por 10 días.²⁹ La respuesta clínica se observa a partir de los 3 días de comenzar el tratamiento.⁶ Las recaídas clínicas se producen en el 43% de los casos a los 30 días o más (rango 1 a 3 meses) de completar el tratamiento.⁶ El tratamiento de las recaídas se realiza con un nuevo ciclo de trimetoprima y sulfametoxazol.⁶ La profilaxis de las recaídas se realiza con trimetoprima (160 mg diarios) y sulfametoxazol (800 mg diarios) tres veces por semana, hasta que el recuento de células CD4 supere 250/mm³.^{6,24}

En conclusión, *Cyclospora cayetanensis* es otro de los coccidios oportunistas cuyo diagnóstico debe ser considerado en pacientes con SIDA y diarrea crónica en nuestro medio.

Referencias

1. Levine ND. Introduction, history and taxonomy. In: Hammond, DM and Long. PL(EdS): The coccidia; eimeria, isospora, toxoplasma, and related genera. Baltimore: University Park Press, 1973.
2. Eberhard ML, da Silva AJ, Lilley GB, Pieniazek JN. Morphologic and molecular characterization of new *Cyclospora* species from Ethiopian monkeys: *C. cercopitheci* sp.n., *C. colobi* sp.n., and *C. papionis* sp.n. Emerg Infect Dis 1999; 5:651-658.
3. Lainson R. Parasitological studies in British Honduras: *Cyclospora niniae* sp. nov. (Eimeriidae, Cyclosporinae) from the snake *Ninia sebae* (Colubridae). Ann Trop Med Parasitol 1965; 59:159-163.
4. Ashford RW. Occurrence of an undescribed coccidian in man in Papua, New Guinea. Ann. Trop Med Parasitol 1979; 73:497-500.

5. Soave R. Cyclospora: An overview. Clin Infect Dis 1996; 23:429-437.
6. Pape JW, Erdier R, Boncy M, Boncy J, Johnson WD. Cyclospora infection in adults infected with HIV. Ann Intern Med 1994;121:654-657.
7. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH. Cyclospora cayetanensis. Adv Parasitol 1998;40:399-418.
8. Blage W, Schloegel E, Mansour N, Khalaf G. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. Am J Trop Med Hyg 1954;2:23-28.
9. García LS, Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology. In American Society for Microbiology, 2nd ed. Washington, D.C.; 1993; pp 49-74
10. Eberhard ML, Pieniazek NJ, Arrowood MJ. Laboratory diagnosis of Cyclospora infections. Arch Pathol Lab Med 1997;121:792-797.
11. Fontan A. Seguimiento endoscópico en la bulbitis. Revista Argentina de Gastroenterología 1991;8:22-31.
12. Dobbins I. Diagnostic pathology of the intestine and colon. In: Trump BF, Jones RT, Eds. Diagnostic electron microscopy. New York: John Wiley & Sons; 1978; pp253-339.
13. Kitler DP, Gaetz MP, Lange M. Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med 1984;101:421-427.
14. Eimer T. Ueber die ei-und kugelförmigen sogenannten Psorospermien der Wibelthiere: Würzburg A. Stuber's Verlagshandlung, 1870; pp 1-58
15. Ortega YR, Gilman RH, Sterling CR. A new coccidian parasite (apicomplexa: eimeriidae) from humans. J Parasitol 1994;80:625-629.
16. Wurtz R. Cyclospora: A newly identified intestinal pathogen of human. Clin Infect Dis 1994;18:620-623.
17. Wurt RM, Kocka FE, Peters CS, Weldon-Linne CM, Kuritza A, Yung-blut P. Clinical characteristics of seven cases of diarrhea associated with a novel acid-fast organism in the stool. Clin Infect Dis 1993;16:136-138.
18. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Cama VA, Diaz F. Cyclospora species: a new protozoan pathogen of human. N Engl J Med 1993;328:1308-1312.
19. Herwaldt BL. Cyclospora cayetanensis: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. Clin. Infect. Dis 2000;31:1040-1057.
20. Clarke SC, McIntyre M. The incidence of Cyclospora cayetanensis in stool samples submitted to district general hospital. Epidemiol Infect 1996;117:189-193.
21. Bern C, Hernández B, López MB. Epidemiologic studies of Cyclospora cayetanensis in Guatemala. Emerg Infect Dis 1999;5:766-774.
22. Herwaldt BL, Ackers ML. An outbreak in 1996 of cyclosporiasis associated with imported raspberries. The Cyclospora Working Group. N Engl J Med 1997;336:1548-1556.
23. Sifuentes-Osornio J, Porrás-Cortés G, Bendall RP, Morales-Villarreal F, Reyes-Terán G, Ruiz-Palacios GM. Cyclospora cayetanensis infection in patients with and without AIDS: biliary disease as another clinical manifestation. Clin Infect Dis 1995;21:1092-1097.
24. Kartalija M, Sande MA. Diarrhea and AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy. Clin Infect Dis 1999;28:701-707.
25. Ashford RW, Joshi AB. Cyclospora cayetanensis: is its emergence real or only apparent?. Health Renaissance 1999;1:55-60.
26. Connor BA, Shlim DR, Scholes JV, Rayburn JL, Reidy J, Rajah R. Pathologic changes in the small bowel in nine patients with diarrhea associated with a coccidia-like body. Ann Int Med 1993;119:377-382.
27. Ortega YR, Nagle R, Gilman RH, Watanabe J, Miyagui J, Quispe H, Kanagusuku P, Roxas C, Sterling CR. Pathologic and clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of intracellular parasite life-cycle stages. J Infect Dis 1997;176:1584-1589.
28. Connor BA, Reidy J, Soave R. Cyclosporiasis: Clinical and histopathologic correlates. Clin Infect Dis 1999;28:1216-1222.
29. Verdier RI, Fitzgerald DW, Johnson WD, Pape JW. Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with ciprofloxacin for treatment and prophylaxis of Isospora belli and Cyclospora cayetanensis infection in HIV-infected patients. Ann Intern Med 2000;132:885-888.