

◆ CASO CLÍNICO

Identificación de *Cryptosporidium hominis* en un paciente con colangitis esclerosante y SIDA

Silvana Carnevale,^{1,2} Jorge Néstor Velásquez,³ Edgardo Marta,⁴
Oswaldo Germán Astudillo,¹ Cristina Etchart,⁴ Agustín Víctor Chertcoff,¹
Cecilia Di Risio⁴

¹ INEI - ANLIS "Dr Carlos G. Malbrán"; ² CONICET; ³ Hospital Municipal de Enfermedades Infecciosas "Dr Francisco J Muñiz";

⁴ Hospital Municipal General de Agudos "Dr José María Penna";

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Acta Gastroenterol Latinoam 2010;40:271-275

Resumen

El *Cryptosporidium hominis* (*C hominis*) es el protozoo que más comúnmente ha sido identificado en pacientes con SIDA. En este trabajo se describen las manifestaciones clínicas de un paciente con diarrea crónica y colangitis esclerosante asociada a SIDA. Los estudios por imágenes con ultrasonografía y colangiopancreatografía retrógrada endoscópica revelaron alteraciones en la vía biliar intra y extrahepática, idénticas a aquellas observadas en la colangitis esclerosante. Se detectó *C hominis* en duodeno y duodeno peripapilar por microscopía óptica y se confirmó por la reacción en cadena de la polimerasa anidada (nested PCR) en biopsias frescas seguida de análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción. La infección con *C hominis* debería sospecharse en nuestro país en pacientes con inmunodeficiencia severa y colangitis esclerosante asociada a SIDA.

Palabras claves. *Cryptosporidium hominis*, SIDA, colangitis esclerosante.

Identification of *Cryptosporidium hominis* in a patient with sclerosing cholangitis and AIDS

Summary

Cryptosporidium hominis (*C hominis*) is the most

common protozoan parasite recognized in human patients with AIDS. We report the clinical features of a patient with chronic diarrhea and AIDS-related sclerosing cholangitis. The imaging studies with ultrasonography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography disclosed intrahepatic and extrahepatic bile duct changes identical to those seen in sclerosing cholangitis. *C hominis* was detected in the duodenum and peri-papillary duodenum by means of light microscopy and confirmed by nested polymerase chain reaction (PCR) amplification from fresh biopsy specimens followed by restriction length polymorphism analysis. *C hominis* infection should be suspected in our country in patients with advanced immunodeficiency and AIDS-related sclerosing cholangitis.

Key words. *Cryptosporidium hominis*, AIDS, sclerosing cholangitis.

La anormalidad de las vías biliares ha sido reconocida como complicación en los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Las mismas incluyen cuadros clínicos de colecistitis alitiásica y colangiopatía asociada al síndrome de la inmunodeficiencia humana.¹ La causa de estas anormalidades está relacionada con infecciones oportunistas producidas por coccidios, microsporidios, citomegalovirus, micobacterias y el propio VIH.^{2,3} *Cryptosporidium sp* es un importante patógeno oportunista que ha sido reconocido como agente causal de colecistitis alitiásica y colangitis esclerosante.^{2,3} Las especies más frecuentes de *Cryptosporidium* que infectan a los pacientes con SIDA son *Cryptosporidium parvum* (*C parvum*) y *Cryptospori-*

Correspondencia: Silvana Carnevale
Lituania 539 (1826), Remedios de Escalada, Provincia de Buenos Aires, Argentina
Tel. +54 11 4242 9010
E-mail: jorgeysilvana@speedy.com.ar

dium hominis (*C hominis*).⁴

El propósito de esta presentación es la descripción de un paciente con SIDA y colangitis esclerosante causada por la especie *C hominis*.

Caso clínico

Se presenta un paciente de 36 años, heterosexual, adicto intravenoso, con VIH positivo, que ingresó por presentar dolor abdominal localizado en hipocondrio derecho, diarrea y pérdida de peso de aproximadamente 5 kg. El cuadro se acompañaba de tos y expectoración. El paciente tenía antecedente de diagnóstico de hepatitis C un año antes. Los datos positivos en el examen físico incluían ictericia y rales en la base pulmonar derecha. A la palpación del abdomen presentaba dolor difuso con predominio en hipocondrio derecho y epigastrio. El hígado estaba aumentado de tamaño con el borde inferior palpable a 2 cm. El laboratorio presentaba como datos significativos anemia, amilaseemia 40 UA/dl (valor normal 60-120 UA/dl), bilirrubina total (BT) 1,74 mg/dl, TGO 201 UI/l (valor normal 0-41 UI/l), TGP 42 UI/l (valor normal 0-42 UI/l), fosfatasa alcalina (FAL) 1.556 UI/l (valor normal 98-279 UI/l), concentración de protrombina (*Quick*), (Q) 100%, CD₄ 53 por mm³.

Estudios por imágenes. En la ecografía abdominal se consideró dilatación de la vía biliar extrahepática (VBEH) cuando su diámetro superaba 4 ó 5 mm. Además, se informó la presencia o no de engrosamiento de la pared. El conducto de Wirsung se consideró dilatado si su diámetro era mayor de 2 mm.⁵ Las alteraciones morfológicas halladas en la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) se interpretaron siguiendo los criterios descritos por Cello.¹² En la videoesofagogastroduodenoscopia (VEDA) la visualización de imágenes anormales en el duodeno se clasificó según los criterios de Maratka.⁶

Estudios microbiológicos. Las muestras de materia fecal fueron procesadas para búsqueda de bacterias y parásitos. El diagnóstico de parásitos se realizó con un coproparasitológico seriado con examen de los concentrados directos y coloreados con las técnicas de Kinyoun y tricrómico de Weber.^{8,9} No se estudiaron muestras de bilis. Las biopsias de duodeno, duodeno peripapilar y colon fueron fijadas en

formol, incluidas en parafina y coloreadas con Giemsa y hematoxilina-eosina.⁹ El diagnóstico molecular de *Cryptosporidium sp* y la identificación de especie se estableció utilizando un proceso de extracción de ADN a partir de biopsias congeladas a -20°C. Éste fue empleado en una técnica de reacción en cadena de polimerasa anidada (*nested PCR*), cuyos amplicones fueron analizados para polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP).¹⁰

Resultados. En la ecografía abdominal (EA) se observaban imágenes heterogéneas compatibles con hepatopatía crónica. La vía biliar intrahepática (VBIH) era normal y la VBEH presentaba un colédoco de 5 mm de diámetro y paredes engrosadas (Figura 1). La vesícula biliar era normal. En el páncreas, el conducto de Wirsung tenía un calibre normal y el tamaño del bazo era 142 mm. La radiografía de tórax presentaba un patrón heterogéneo en la

Figura 1. Ecografía abdominal donde se observa el colédoco dilatado con engrosamiento de la pared.



base derecha. Se efectuó una VEDA en donde se observó un duodeno jaspeado. Se tomaron muestras de duodeno distal y de duodeno peripapilar. En las muestras histológicas del duodeno se observó atrofia vellositaria e infiltrado linfoplasmocitario de la lámina propia. En el ribete en cepillo de las células epiteliales se observaron estructuras de aspecto redondeado u ovalado compatibles con *Cryptosporidium sp* con las coloraciones utilizadas. En las biopsias del duodeno peripapilar también se observaron las mismas estructuras en las células epiteliales (Figura 2).

Se efectuó una CPRE en la que se observó una papila normal, con la VBEH y la VBIH con dilata-

ciones y estenosis. En la VBEH se observó una estenosis distal sugestiva de estenosis papilar (Figura 3). No se colocó un *stent*.

Los estudios de materia fecal fueron negativos. El examen bacteriológico y el directo para micobacterias fue negativo, iniciándose tratamiento empírico con claritromicina a dosis de 1g diario.

La reacción de *nested* PCR permitió identificar un amplicón de 214 pares de bases (Figura 4A). La

técnica de RFLP mostró un patrón compatible con la especie *C hominis* (Figura 4B).

Evolución. En el cuarto día de su internación disminuyó el dolor abdominal en hipocondrio derecho y epigastrio y persistió la diarrea. Disminuyeron la tos y la expectoración. En el octavo día de su internación no presentó diarrea. En el noveno día de internación fue dado de alta.

A los tres meses fue internado por presentar diarrea, colangiopatía y neumonía por *Rhodococcus equi*, y falleció.

Figura 2. Microscopía óptica de biopsia de duodeno peripapilar coloreada con hematoxilina-eosina mostrando diferentes estadios de *Cryptosporidium* sp.

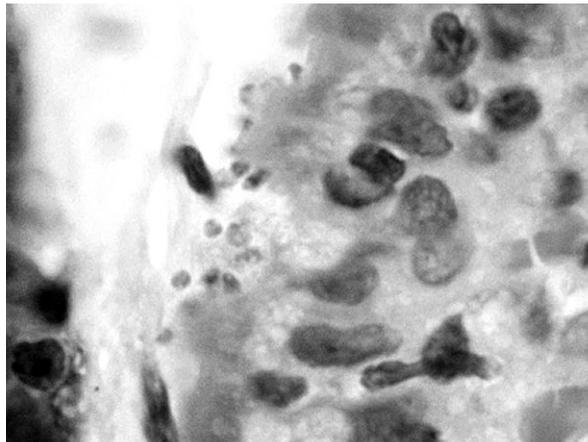
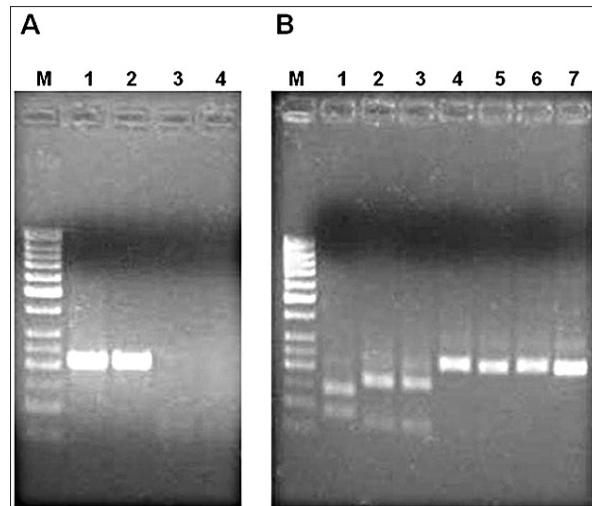


Figura 3. Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica en la que se visualizan las dilataciones y estenosis de las vías biliares.



Figura 4. A) Electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio de los productos de amplificación por *nested* PCR con primers para el gen de la subunidad pequeña del RNA ribosomal de *Cryptosporidium* sp. Calle M: marcador de tamaño molecular 50 bp ladder; calle 1: amplicón generado empleando como templado ADN de biopsia de duodeno del paciente descrito; calle 2: control positivo (amplicón generado a partir de ADN obtenido de *Cryptosporidium* sp cultivado in vitro); calle 3: control negativo de ADN humano; calle 4: mezcla de reacción. **B)** Electroforesis en gel de agarosa coloreado con bromuro de etidio de los productos de digestión del amplicón del paciente descrito mostrando patrón de restricción compatible con *C hominis*. Calle M: marcador de tamaño molecular 50 bp ladder; calle 1: digestión con *Taq* I; calle 2: digestión con *Vsp* I (isoesquizómero de *Ase* I); calle 3: digestión con *Tru* I (isoesquizómero de *Mse* I); calle 4: digestión con *Bsh1236* I (isoesquizómero de *BstU* I); calle 5: digestión con *Ssp* I, calle 6: digestión con *Smi* I; calle 7: amplicón sin digerir.



Discusión

La primera descripción de infección de las vías biliares por *Cryptosporidium* sp en pacientes con SI-

DA fue realizada en el año 1983 por Pitlik y col.¹¹ En nuestro país los primeros casos bien documentados de colangiopatías asociadas a *Cryptosporidium sp* fueron reportados en el año 1998 por Currás y col.¹²

El uso de métodos moleculares es importante para diferenciar las especies y genotipos de *Cryptosporidium sp* que infectan al hombre. Hasta el presente siete especies (*C hominis*, *C parvum*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium suis* y *Cryptosporidium muris*) y dos genotipos (mono y ciervo) están asociados con enfermedad en el hombre.^{4,13}

La criptosporidiosis en los pacientes con SIDA tiene diferentes manifestaciones clínicas que dependen de la especie que causa la infección.¹⁴

C hominis tiene subtipos de familias, de los cuales sólo algunos causan diarrea, mientras que *C parvum* se acompaña habitualmente de diarrea y vómitos.¹⁴ Sin embargo, no hay reportes que describan las diferencias clínicas en los cuadros de colangiopatías según la especie de *Cryptosporidium*.^{1,3,11,12}

C hominis tiene mayor prevalencia en América del Norte y Sur, Australia y África, mientras *C parvum* causa más infecciones en Europa. Hasta el presente se carece de información sobre la prevalencia de las especies que predominan en nuestro medio. La especie *C hominis* se transmite en forma directa o indirecta de persona a persona, pero sólo en raras ocasiones ha sido encontrado en animales.⁴

El compromiso de la vía biliar causada por *C hominis* se caracteriza por su aparición tardía en el curso de la enfermedad, diarrea crónica en algún momento de la evolución y recuento de células CD4 con valores iguales o inferiores a 50 por mm³ en coincidencia con el caso descrito.¹⁵

Las manifestaciones clínicas del paciente con vómitos, dolor en hipocondrio derecho y/o epigastrio y valores de FAL elevados, es similar a lo descrito en un reporte previo.¹⁵ Los valores de FAL normales se asocian a colecistitis en el mismo reporte.¹⁵

La EA fue el método inicial para evaluar el tamaño, las características y las anomalías de las paredes de la vesícula, las vías biliares y el conducto de Wirsung. La VBIH no se encontraba dilatada y el colédoco tenía un tamaño de 5 mm con paredes engrosadas. La dilatación y estenosis con o sin engrosamiento de las paredes de las vías biliares son los hallazgos más frecuentes.^{5,15} En algunos pacientes la ecografía no permite identificar anomalías de

las vías biliares siendo aconsejable los estudios con tomografía o resonancia.^{5,15}

En la CPRE se observaron lesiones compatibles con colangitis esclerosante y estenosis papilar, siendo un hallazgo similar a otros casos en que se diagnosticó *C hominis* como agente causal.¹⁵ Otro hallazgo en este grupo de pacientes es la dilatación de los conductos pancreáticos.¹⁶

En el caso descrito se diagnosticó *C hominis* en las biopsias peripapilares y de duodeno mediante la técnica de *nested* PCR-RFLP.¹⁰ La especie *C hominis* puede ser categorizada en subtipos de familias mediante el análisis de la secuencia de la glicoproteína GP60.^{14,17} A su vez, cada subtipo de familia de la glicoproteína GP60 tiene múltiples subtipos.^{14,17} En el caso descrito no se identificó el subtipo de familia. La identificación de la especie *C hominis* es importante para reconocer sus manifestaciones clínicas y su epidemiología en este grupo de pacientes.

Referencias

1. Cello J. Acquired immunodeficiency syndrome cholangiopathy: spectrum of disease. *Am J Med* 1989;86:539-546.
2. Cello J. Human immunodeficiency virus-associated biliary tract disease. *Semin Liver Dis* 1992;12:213-218.
3. Hind ST, Godwin TA, Ramirez EA. Cryptosporidiosis of the biliary tract in AIDS. *Radiology* 1991;180:51-56.
4. Cacció SM. Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parasitologia* 2005;47:185-192.
5. Saverbrei, EE, Nguyen KT, Nolan RL, eds. *Abdominal sonography*. New York: Raven Press, 1992.
6. Maratka Z. Terminología, definiciones y criterios diagnósticos en endoscopia. Madrid: Normed-Verlag, 1984.
7. Franzen C, Müller A. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:243-285.
8. Carey CM, Lee H, Trevors JT. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Res* 2004;38:818-862.
9. Velasquez JN, Carnevale S, Corti M, di Risio C, Bramajo J, Pinto M, Labble JH, Chertcoff A, Cabrera M, Rodriguez M, Guarnera EA. Estrategias clásicas para el diagnóstico de criptosporidiosis en pacientes con SIDA y diarrea crónica. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1997;3:107-111.
10. Coupe S, Sarfati C, Hamane S, Derouin F. Detection of *Cryptosporidium* and identification to the species level by nested PCR and restriction fragment length polymorphism. *J Clin Microbiol* 2005;43:1017-1023.

11. Pitlik SD, Fainstein V, Garza D, Guarda L, Bolivar R, Rios A, Hopfer RL, Mansell PA. Human cryptosporidiosis: spectrum of disease, report of six cases and review of the literature. *Arch Intern Med* 1983;143:2269-2275.
12. Curras A, Olmos M, Martinez A, Baez E, Coronado Quesada E, Magnanini F, Peralta C. La colangiografía endoscópica en afecciones de la vía biliar en pacientes HIV positivos. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1998;28:237-241.
13. Jex AR, Smith HV, Monis PT, Campbell BE, Gasser RB. *Cryptosporidium*, biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology Advances* 2008;26:304-317.
14. Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Chavez-Valdez R, Vargas D, Vivar A, Ticona E, Navincopa M, Williamson J, Gilman RH, Bern C, Xiao L. Differences in clinical manifestation among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *J Infect Dis* 2007;196:684-691.
15. Vakil NB, Schwartz SM, Buggy BP, Brummitt CF, Kerellah M, Letzer DM, Gilson IH, Jones PG. Biliary Cryptosporidiosis in HIV-infected people after the waterborne outbreak of Cryptosporidiosis in Milwaukee. *N Engl J Med* 1996;334:19-23.
16. Barther M, Chauveau E, Bonnet E, Petit N, Bernard J, Gastaut J, Sahel J. Pancreatic ductal changes in HIV-infected patients. *Gastrointest Endosc* 1997;45:59-63.
17. Leoni F, Mallon ME, Smith HV, Tait A, McLauchlin J. Multilocus analysis of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* isolates from sporadic and outbreak-related human cases and *C parvum* isolates from sporadic livestock cases in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2007;45:3286-2394.