

## PRESENTACIÓN DE CASOS

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÌ"

### Emergencia de un nuevo patógeno: *Cyclospora cayetanensis* en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana

Dra. Mercedes Santana Añé,<sup>1</sup> Dr. Fidel Ángel Núñez Fernández,<sup>2</sup> Dr. Jorge Pérez Ávila,<sup>3</sup> Téc. Martha Barrero Bringuez<sup>4</sup> y Téc Beltrán Velázquez Viamontes<sup>4</sup>

#### RESUMEN

La emergencia de un nuevo patógeno, *Cyclospora cayetanensis*, como causa de enfermedad clínica en hospederos inmunodeprimidos, se asocia con diarrea prolongada, severa y con un alto porcentaje de recurrencia. En este trabajo se reportaron 2 casos cubanos de *cyclosporiasis* asociada con la infección por virus de inmunodeficiencia humana, en los cuales se detectaron ooquistes no esporulados de *Cyclospora cayetanensis* en heces por la técnica Ziehl Neelsen modificada. Las manifestaciones clínicas más significativas fueron la diarrea crónica y la pérdida de peso corporal, con niveles de CD4 inferiores a 200 células por mm<sup>3</sup>. La ocurrencia de síntomas digestivos severos en pacientes con *Cyclospora cayetanensis* e importante compromiso inmunológico soportó el concepto de que éste puede actuar como un nuevo patógeno oportunista en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana.

**Descriptor DeCS:** INFECCIONES OPORTUNISTAS RELACIONADAS CON SIDA/parasitología; DIARREA/parasitología; COCCIDIOSIS; HECES/parasitología.

Desde la década de los años 80, comenzaron a publicarse reportes sobre individuos inmunocompetentes o no, con diarreas, en los que se hallaron microorganismos similares a una gran coccidia, ooquistes grandes de *Cryptosporidium*, algas verde-azulosas o cuerpos similares a cianobacterias. En el año 1993, Ortega y otros, indujeron la esporulación *in vitro* de estos organismos y mostraron que cuando maduraban, cada ooquiste liberaba 2 esporoquistes y cada uno de éstos, a su vez 2 esporozoitos. Su clasificación

taxonómica se propuso dentro del género *Cyclospora* y se denominó esta especie encontrada en humanos como *Cyclospora cayetanensis*, por el nombre de la universidad peruana "Cayetano Heredia" donde se desarrollaron estos primeros estudios.<sup>1</sup> En Cuba fue reportado por primera vez en un lactante con diarreas, a finales del año 1993<sup>2</sup> y en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en 1995.<sup>3</sup>

En la actualidad los estudios anatómopatológicos han demostrado la localización en la

<sup>1</sup> Especialista de I Grado en Microbiología. Aspirante a Investigador.

<sup>2</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar.

<sup>3</sup> Especialista en Farmacología Clínica.

<sup>4</sup> Técnico en Laboratorio Clínico.

parte superior del intestino delgado, siendo capaz de producir importantes cambios histológicos con reacción inflamatoria, atrofia vellosa, e hiperplasia de las criptas en el tejido yeyunal de los pacientes con diarrea y especímenes fecales positivos a *Cyclospora*.<sup>4,5</sup> Sin embargo, los mecanismos patogénicos por los cuales causa enfermedad clínica no se conocen bien aún.<sup>6,7</sup> El examen de preparaciones húmedas de heces frescas, puede revelar la presencia de esferas no refringentes de 8 a 10  $\mu$ m de diámetro, con numerosos glóbulos refringentes encerrados dentro de la membrana.<sup>8,9</sup>

Como se trata de estructuras ácido alcohol resistentes, pueden ser vistas usando la técnica modificada de Ziehl-Neelsen, y por tener apariencia variable pueden presentarse sin teñir, de color rojo claro o rojo oscuro con dicha coloración.<sup>8-10</sup> Constituye un organismo recientemente reconocido, que emerge como patógeno, asociado en alta frecuencia con pacientes inmunodeprimidos.<sup>11,12</sup>

En este trabajo se reportan 2 casos de pacientes positivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); ambos con diarrea, asociada con la presencia de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* en heces, detectados por la técnica de Ziehl-Neelsen modificada, en los que fue común un conteo de CD4 inferior a 200 células por  $\text{mm}^3$ , lo que evidencia el carácter oportunista de esta parasitosis.

## MÉTODOS

Se colectaron 3 muestras seriadas de heces para cultivo bacteriológico y estudio coproparasitológico. La siembra para estudio bacteriológico fue realizada en los medios de Agar-SS y Mac Conkey.

Para el estudio coproparasitológico se realizó el examen directo de las heces con coloración de lugol entre cubreobjeto y portaobjeto, técnica de concentración de Willis (solución acetofornio-azucarada de densidad igual a 1 200) y técnica de centrifugación para concentración de huevos pesados en heces bien homogeneizadas con agua corriente y proceso de centrifugado durante 15 min a 1 500 rpm.<sup>13</sup>

La técnica de Ziehl-Neelsen modificada<sup>9</sup> para la detección de parásitos protozoarios oportunistas

fue realizada a las 3 muestras como se describe a continuación: Se preparó una extensión fina de la materia fecal y se fijó con metanol 5 min. Se aplicó fuschina básica de Ziehl por 1 h, seguida de lavado y decoloración con solución de ácido sulfúrico 2 %, por 20 s. Se realizó un segundo lavado y se procedió a dar coloración de contraste verde malaquita 3 % por 5 min. Se efectuó el último lavado y se observó después de secar a temperatura ambiente, con objetivo de inmersión (100 x).

Para poder diferenciar con certeza los ooquistes de *Cyclospora* de los de *Cryptosporidium* se realizó su medición y se comprobó siempre que su tamaño fluctuaba entre 8 y 10  $\mu$ m de diámetro.

## REPORTE DE CASOS

### CASO 1

Paciente de 33 años de edad, homosexual, con antecedentes de sífilis en septiembre del año 1991 y diagnóstico de VIH en ese mismo año. Clasificado en el grupo IV C2 por haber presentado *Herpes zoster* multidermatoma en mayo de 1992 y *candidiasis* oral.

En junio de 1995 se inició un cuadro diarreico caracterizado por deposiciones líquidas en número de 6 a 7 al día, abundantes en cantidad (2 L/d) con cólicos abdominales, pérdida de 15 lb de peso, anorexia y decaimiento. No se constataron datos positivos al examen físico. Los complementarios mostraron niveles de hemoglobina en 110 g/L con velocidad de sedimentación en 53 mm y leucograma a predominio linfocítico en el estudio diferencial. Los parámetros de química sanguínea se encontraron en límites normales y el conteo global de CD4 estaba en valores de 185 células/ $\text{mm}^3$  para 6,1 %.

Los coprocultivos y otros estudios coprológicos no demostraron otros agentes causales, bacterianos o parasitarios que pudieran explicar el cuadro diarreico.

El extendido del material fecal, teñido por la técnica Ziehl-Neelsen modificada, mostró ooquistes no esporulados, ácido alcohol resistentes en la preparación (6 x lámina), compatibles con *Cyclospora cayetanensis*.

Se inició el tratamiento con trimetropim-sulfametoxazol a la dosis de 160/800 mg, 3 veces por día durante 10 d por vía oral. Hubo remisión total de los síntomas 20 d más tarde, con negativización de las heces.

## CASO 2

Paciente de 32 años de edad, con diagnóstico de infección por VIH en agosto del año 1995 y antecedentes de *candidiasis* esofágica en octubre del mismo año. Ingresó en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" por síndrome diarreico de un mes de evolución, caracterizado por deposiciones en número de 7 al día, dolor abdominal de tipo cólico, pérdida de peso de 20 lb y decaimiento extremo.

El examen físico mostró: palidez cutánea mucosa, lesiones sugestivas de candidiasis oral, erupción eritematopapular generalizada y adenopatías de medio centímetro, móviles y dolorosas en la región lateral del cuello. Abdomen discretamente doloroso a la palpación y hepatomegalia que sobrepasaba 2 cm el reborde costal, con un borde fino y superficie lisa.

Los exámenes complementarios arrojaron niveles de hemoglobina en 110 g/L, eritrosedimentación de 13 mm, leucocitos en  $6,5 \times 10^9$  y conteo diferencial con discreta desviación a la izquierda (segmentados 054, linfocitos 034, eosinófilos 009 y monocitos 003), para un conteo de CD4 en 18,2 células/mm<sup>3</sup>.

Las transaminasas, glicemia y creatinina se encontraron en niveles normales.

Los coprocultivos, exámenes directos y por concentración de las heces, resultaron negativos a otros patógenos intestinales.

Las heces, enviadas para diagnóstico de coccidias, fueron positivas a ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* por la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen modificada.

Recibió tratamiento específico con cotrimoxazol (trimetropim-sulfametoxazol, 1 tableta = 160/800 mg) a la dosis de 2 tabletas cada 6 h durante 10 d. El cuadro diarreico desapareció con el tratamiento específico, hubo mejoría en general y un aumento de peso de 9 lb. A los 3 meses se produjo una recaída de iguales características.

## DISCUSIÓN

En los casos reportados estuvo presente un cuadro diarreico de presentación abrupta, caracterizado por deposiciones acuosas y acompañado de astenia, anorexia y pérdida de peso, con conteos de CD4 inferiores a 200 células/mm<sup>3</sup> y se detectaron ooquistes de *C. cayetanensis* por la técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Este cortejo sintomático, así como la forma de presentación, coincide con los casos descritos en reportes anteriores.<sup>14-17</sup>

A pesar de que se han ensayado varios fármacos contra *C. cayetanensis*,<sup>11</sup> la única droga que ha demostrado ser efectiva hasta el momento es el cotrimoxazol,<sup>18,19</sup> por lo que se considera el tratamiento de elección para esta coccidiosis. En algunos casos se ha planteado la posibilidad de que la profilaxis con este medicamento, para la infección por *Pneumocystis carinii*, pudiera ofrecer protección cruzada contra esta parasitosis.<sup>19</sup> En el caso del paciente donde se produjo una recidiva del cuadro a los 3 meses, no se realizó quimio-profilaxis con cotrimoxazol, lo que refuerza su importancia, en estos pacientes con graves alteraciones inmunes.

Si bien este agente no constituye un nuevo organismo, ha emergido como nuevo patógeno en ciertas circunstancias, es capaz de producir síndrome de mal absorción y diarreas en frecuente asociación con inmunodepresión y recidivas a pesar de una terapia efectiva.<sup>11,12</sup>

Los cambios histopatológicos encontrados en pacientes con *C. cayetanensis* y diarreas consisten en alteraciones de la arquitectura en el nivel de la mucosa, con atrofia de las vellosidades, reacción inflamatoria e hiperplasia críptica del tejido yeyunal, que remeda al *sprue* tropical.<sup>20,21</sup> También se ha encontrado hiperemia reactiva con dilatación vascular y congestión de los capilares en las vellosidades.<sup>21</sup> Estas alteraciones patológicas pudieron haber estado presentes en los casos reportados, en los que la asociación de la diarrea con la infección por *Cyclospora* se evidenció, al desaparecer los síntomas con el tratamiento y negativizar las heces.

Los autores de este trabajo piensan que la técnica de Ziehl-Neelsen modificada debe ser de uso obligado en todos los pacientes inmunode-

primidos con síndrome diarreico en búsqueda de coccidias como *Cyclospora cayetanensis*, pues este protozoo se puede comportar como un importante patógeno oportunista causante de diarreas en pacientes inmunodeprimidos con conteos de CD4 inferiores a 200 células/mm<sup>3</sup>. Por otra parte sería importante reforzar en estos pacientes las medidas higiénicas, y tener en cuenta que este protozoo puede ser transmitido por el agua de consumo, y por los vegetales y alimentos contaminados.<sup>22,23</sup>

#### SUMMARY

The emergence of a new pathogen *Cyclospora cayetanensis* as a cause of clinical disease in immunosuppressed hosts is related with prolonged, severe and highly recurrent diarrheas. This paper reports two Cuban cases of cyclosporiasis associated with infection from human immunodeficiency virus in which non sporulated oocysts of *Cyclospora cayetanensis* were detected in feces by modified Zielhl Neelsen's technique. The most significant clinical symptoms were chronic diarrheas and loss of body weight, with CD4 levels below 200 cells per mm<sup>3</sup>. The occurrence of severe digestive symptoms in patients with *Cyclospora cayetanensi* and important immune compromise backed up the concept that this pathogen may act as a new opportunistic pathogen in patients with HIV.

**Subject headings:** AIDS-RELATED OPPORTUNISTIC INFECTIONS/parasitology; DIARRHEA/parasitology; COCCIDIOSIS; FECES/parasitology.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Soave R. Cyclospora: An overview. Clin Infect Dis 1996;23(1):429-37.
- Núñez FA, Gálvez MD, Finlay CM. Primer reporte en Cuba de infección intestinal humana por *Cyclospora cayetanensis*, Ortega, 1993. Rev Cubana Med Trop 1995;47(3):211-4.
- Escobedo AA, Núñez FA. Prevalence of intestinal parasites in Cuban acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients. Acta Trop 1999;72(1):125-30.
- Nhieu JT, Nin F, Fleury Feith J, Chaumette MT, Schaeffer A, Bretagne S. Identification of intracellular stages of *Cyclospora* species by light microscopy of thick sections using hematoxylin. Hum Pathol 1996;27(10):1107-9.
- Deluol AM, Teilhac MF, Poirrot JL, Heyer F, Beaugerie L, Chatelet FP. *Cyclospora* sp: Life cycle studies in patient by electron microscopy. J Euk Microbiol 1996;43(5):128s-9s.
- Clarke SC, McIntyre: human infection with *Cyclospora*. Rev Med Microbiol 1996;7(3):143-50.
- Farthing MD, Kelly MP, Veitch AM. Recently recognised microbial enteropathies and HIV infection. J Antimicrob Chemother 1996;37(Suppl B):61-70.
- Soave R, Herwaldt BL; Relman DA. *Cyclospora*. Infect Dis Clin North Am 1998;12(1):1-12.
- Eberhard ML, Pieniazek NJ, Arrowood MJ. Laboratory diagnosis of *Cyclospora* infections. Arch Pathol Lab Med 1997;121(8):792-7.
- Jelinek T, Lotse M, Eichenlaub S, Loscher T, Nothdurft HD. Prevalence of infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* among international travellers. Gut 1997;41(6):801-4.
- Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH. *Cyclospora cayetanensis*. Adv Parasitol 1998;40:399-418.
- Brennan MD, Mc Pherson DW, Palmer J, Keystone JS. Cyclosporiasis: a new cause of diarrhea. Can Med Assoc J 1996;155(9):1293-6.
- García LS, Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology. Ira ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1993:87.
- Chiodini PL. A "new" human infection with *Cyclospora cayetanensis*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994;88:369-71.
- O'Mahony C, Mannion PT. *Cyclospora cayetanensis* and HIV related diarrhoea [letter]. Int J Stud AIDS 1998;9(1):59.
- Sifuentes-Osorio J, Porras Cortés G, Bendall RP, Morales Villarreal F, Reyes Terán G, Ruiz-Palacios M. *Cyclospora cayetanensis* in patients with and without AIDS: Biliary disease as another clinical manifestation. Clin Infect Dis 1995;21:1092-7.
- Pape JW, Verdier RI, Boney M, Boney J, Johnson WD. Cyclospora infection in adults infected with HIV. Ann Inter Med 1994;121:654-7.
- Hoge C, Shlim D, Ghimire M, Rabold JG, Pandey P, Walch R, et al. Placebo-controlled trial of co trimoxazole for *Cyclospora cayetanensis* infections among travelers and foreign residents in Nepal. Lancet 1995;345:691-3.
- Madico G, McDonald J, Gilman RH, Cabrera L, Sterling CR. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in Peruvian children. Clin Infect Dis 1997;24(5):977-81.
- Bendall RP, Lucas S, Moody A, Tovey G, Chiodini PL. Diarrhoea associated with cyanobacterium like bodies: a new coccidian enteritis of man. Lancet 1993;341:590-2.
- Ortega YR, Nagle R, Gilman RH, Watanabe J, Miyagui J, Quispe H, et al. Pathologic and clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of intracellular parasite life-cycle stages. J Infect Dis 1997;176(6):1584-9.
- Marshall MM, Naumovitz D, Ortega Y, Sterling CR. Waterborne Protozoan Pathogens. Clin Microbiol Rev 1997;10(1):67-85.
- Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, Miller NJ, Cabrera L, Taquiri C, et al. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. Am J Trop Med Hyg 1997;57(6):683-6.

Recibido: 13 de diciembre de 1999. Aprobado: 20 de diciembre de 1999.

Dra. Mercedes Santana Añé. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Apartado 601, Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu