

Cyclospora Cayetanensis: Nuevo Apicomplexa Intestinal, con observaciones en el Hospital Escuela

Cyclospora Cayetanensis: New Intestinal Apicomplexa

Rina Girard de Kaminsky, M.Sc. *

RESUMEN. Se presenta una actualización sobre *Cyclospora cayetanensis*, organismo conocido inicialmente como "Cuerpos parecidos a Cyanobacteria" o "CLB", identificado en 1993 como un parásito del Phylum Apicomplexa, que en el humano causa enfermedad entérica. Filogenéticamente se relaciona con *Eimería*; los ooquistes inmaduros expulsados en heces forman en varios días dos esporoquistes dizoicos. Clínicamente la enfermedad es indistinguible de una isosporiasis o una criptosporidiosis, afectando individuos normales de todas las edades. Se diagnosticó en 11.3% de haitianos con infección VIH. Produce diarrea de semanas de duración, acompañada de retortijón, fiebre, dolor muscular, anorexia, náusea y cefalea. Remite espontáneamente, seguida de un ciclo de recaídas durante varias semanas. En pacientes haitianos tratados con trimetoprim sulfametoxazol por 10 días los síntomas remitieron entre 1 y 5 días y las heces se negativizaron en 2.5 días. En Honduras entre 1985 y 1991 se registró 19 casos y de 1991 a 1996 29 casos adicionales, diagnosticados por frote de heces o en una coloración ácido resistente modificada. Veintiuno eran mujeres y 27 hombres, con edades entre 1 y 41 años. La consistencia de las heces era formada en 12, blanda en 11, diarreica en

8 y líquida en 14; en 3 esto no fue informado. De los últimos 29 casos, solamente 6 expedientes fueron encontrados retrospectivamente, en los que se indicaba una historia de diarrea entre 2 días y 5 semanas de duración. En un estudio prospectivo en Honduras (1996), se encontró *Cyclospora* en 6.8% (9 de 133) de pacientes VIH positivos.

SUMMARY. This publication is an updated review on an emerging disease and its etiologic agent, *Cyclospora cayetanensis*, known before as "Cyanobacteria-like Bodies" or "CLB", identified in 1993 as a parasite of the Phylum Apicomplexa, causing in humans an enteric disease. A review of the literature indicates that the immature oocysts found in stools of infected persons mature in a few days, forming 2 sporocysts with 2 sporozoites each. A phylogenetic analysis relates it to the genus *Eimería*. Clinically, the illness is indistinguishable from isosporiasis and cryptosporidiosis, affecting normal individuals of all ages. *Cyclospora* was diagnosed in 11.3% of Haitians with HIV infection. The diarrhea may last several weeks, accompanied by abdominal cramps, fever, muscular pain, anorexia, nausea and headache. The spontaneous remission may be followed by relapses lasting several weeks. In Haiti, patients treated with trimetoprim sulfamethoxazole had a remission in 1-5 days and stool examinations were negative in 2.5 days. In Honduras, a total of 48 cases have been

Profesor Titular III. Dirección de Investigación Científica, Universidad Nacional Autónoma de Honduras y Hospital Escuela, Tegucigalpa, Honduras.

identified from 1985 to 1996 in a private laboratory and at the Hospital-Escuela, diagnosed in a direct saline smear or a modified acid fast stain. Twenty one were females and 27 males, with ages ranging from 1 to 41 years old. Stool consistency was formed in 12, soft in 11, diarrheic in 8, liquid in 14 and in 3 this data was not registered. Only 6 of 29 patient files were found, indicating a history of diarrhea lasting between 2 days and 5 weeks. In a prospective study in Honduras (1996), *Cyclospora* was found in 6.8% (9 of 133) HIV positive patients.

INTRODUCCIÓN

En 1991 se dio a conocer localmente la presencia de unas estructuras recobradas de las heces en Honduras y otros países desde 1985 y asociadas con un cuadro entérico, que en las publicaciones científicas de la época eran llamadas "Cuerpos Parecidos a Cyanobacteria" o "CLB" ⁽¹⁾. El artículo mencionado daba a conocer los datos acumulados en Honduras sobre 19 individuos infectados con "CLB" y hacía, además, una revisión de la literatura mundial sobre las características clínicas, epidemiológicas y de diagnóstico conocidas hasta ese momento. Esta comunicación actualiza los conocimientos sobre esta enfermedad emergente y el nuevo patógeno humano, identificado como perteneciendo al Phylum Apicomplexa. Se le encuentra asociado con diarrea persistente y recurrente, en individuos inmunocompetentes e inmunocomprometidos.

Clasificación de *Cyclospora cayetanensis*, antes CLB.

Inicialmente, a este nuevo organismo esférico de 8-10 μ m de diámetro encontrado en heces de pacientes con diarrea, se le llamó "organismo parecido a *Cryptosporidium*", una "espora de hongo", un "cuerpo parecido a un coccidio", un "alga verde-azul o Cyanobacteria" ("CLB") ⁽²⁾, un "*Cryptosporidium grande*" o un "flagelado".

En 1993 Ortega y col. informaron, por estudios morfológicos, de esporulación y exquistación de ooquistes, que se trataba de un parásito apicomplexa y no de un alga verde-azul, que denominaron *Cyclospora cayetanensis* ®. El hecho de poseer dos esporoquistes con dos esporozoítos cada uno, lo incluía en la descripción del género *Cyclospora*. Este género fue descrito por Eimer en 1870 en topos y

luego fue encontrado en reptiles, miriápodos, insectívoros y en un múrido ⁽⁴⁾.

Estudios con el microscopio electrónico han demostrado que miembros del Phylum Apicomplexa en general son de una complejidad asombrosa ⁽⁵⁾. Todos son parásitos obligados intracelulares, con una reproducción asexual y una sexual, el ooquiste resultante que es excretado al ambiente es prácticamente indestructible, su grado de especificidad, tanto de hospedador como de órgano que parasita es notoria, así como la especificidad y complejidad de la respuesta inmune que originan. La relación evolucionaria de *Cyclospora* no está muy clara, pero un análisis filogenético utilizando la amplificación y secuenciación de pequeñas subunidades de rARN que codifican para regiones en los ooquistes de *Cyclospora*, purificados de heces humanas, reveló que está relacionado con miembros del género *Eimeria* ⁽⁶⁾. Especies de este género infectan animales únicamente. La obtención de pequeñas subunidades de secuencias de rARN del género *Eimeria* y otras especies permitirá definir más precisamente esta relación y por ende la especificidad de hospedador, el ciclo de vida, patogenia y epidemiología, así como el desarrollo de una reacción en cadena de la polimerasa específica para asistir en el diagnóstico ⁽⁶⁾.

Observaciones histopatológicas.

El examen de biopsias de yeyuno tomadas de 9 individuos parasitados con *Cyclospora* entre las edades de 21 y 71 años, mostró una inflamación del yeyuno de moderada a severa, acortamiento de las microvellosidades y parásitos intracelulares. Algunos enterocitos contenían formas con 4 y 8 merozoítos y macrogametocitos, formas que estaban ausentes en biopsias de 5 pacientes control ⁽⁷⁾. En otro estudio de un paciente con SIDA y una infección severa por *Cyclospora*, una biopsia del duodeno medio reveló infiltrado de linfocitos y células plasmáticas, con parásitos intracitoplásmicos, de localización supranuclear, más prominentes en las vellosidades de la mucosa, pero no en las porciones profundas de las criptas ⁽⁸⁾. Se identificó cuatro estadios asexuales del parásito, vistos dentro de vacuolas parasitóforas localizadas en la región apical supranuclear de los enterocitos. Los esporozoítos invasores y los merozoítos eran alargados (1-2 μ m x 6 μ m), los trofozoítos eran más ovales (2 μ m x 4 μ m); los esquizontes inmaduros tenían de 2-4 núcleos y los maduros de 10-16 merozoítos. Todos los estadios

presentaban un núcleo, numerosos micronemas en el citoplasma, roptrias y retículo endoplásmico rugoso. Sin embargo, no se ha podido aún dilucidar su ciclo de vida, aunque se asume que la presencia de ooquistes en heces indica una fase sexual en el humano.

Características clínicas de ciclosporiasis.

Varios estudios en niños de áreas marginadas en Lima, Perú, documentaron prevalencias entre 6% y 18% de infección, pero solo notaron síntomas de enfermedad en 11% y 28% de los infectados⁽⁸⁾. Es decir, puede estar presente en individuos asintomáticos. Un análisis de 184 muestras de heces de ciudadanos nepaleses detectó el parásito en 6 individuos (3%)⁽¹⁰⁾.

La enfermedad entérica asociada con *Cyclospora* ha sido informada como indistinguible de la producida por isosporiasis y criptosporidiosis. Huang y col. hicieron un estudio retrospectivo de un brote de diarrea asociado con *Cyclospora* entre médicos y administradores de un hospital en Chicago, Estados Unidos y concluyeron que *Cyclospora* puede ser un patógeno humano capaz de causar episodios de diarrea aguda con recaídas y que debe ser considerada en pacientes con enfermedad diarreica prolongada e inexplicada⁽⁹⁾. El síndrome clínico fue caracterizado como diarrea con un rango de duración de 3 a 18 días, retortijón (76%), dolor muscular (58%), disminución del apetito (48%), fiebre (48%), náusea (43%), dolor de cabeza (38%), constipación (24%), vómito (21%) y escalofríos (19%). Un grupo de 6 pacientes informó sobre síntomas prodrómicos de fiebre y malestar de un día de duración, seguidos de diarrea líquida explosiva, acompañada de anorexia, retortijón severo, náusea y vómito ocasional. La remisión ocurrió a los pocos días, seguida de un ciclo de recaídas durante varias semanas (9-11). En un brote de ciclosporiasis en adultos extranjeros que residían en Nepal, la duración promedio de la diarrea fue de 43 ± 24 días (rango 4-107 días); 80% de los pacientes tenía de 4-8 o más episodios por día⁽¹¹⁾. La pérdida de peso en 48 pacientes tuvo un rango de 3.6 ± 3 kg/paciente; una prueba de absorción de D-xilosa en orina de 5 horas en 4 individuos resultó anormal con valores entre 2.6 y 4 g⁽¹⁰⁾.

En Haití, en 51 pacientes adultos 11.3% de un grupo de 450 individuos infectados con VIH con diarrea crónica de más de 3 semanas de duración que tenían

Cyclospora en heces, los síntomas clínicos de enfermedad entérica eran indistinguibles de los de aquellos pacientes con isosporiasis o criptosporidiosis⁽¹²⁾. En 16 de 43 (37%) de estos individuos la aparición de *Cyclospora* precedió al desarrollo de SIDA. Los síntomas de los pacientes tratados con trimetoprim sulfametoxazol (160/800 mg.), vía oral 4 veces al día por 10 días, remitieron entre 1 y 5 días post-tratamiento. Pacientes con recurrencia de la diarrea y *Cyclospora* en heces respondieron de igual manera a una profilaxis con la misma droga a igual dosis oral, tres veces por semana. En Nepal, 34 pacientes recibieron un total de 78 cursos de antibióticos, incluyendo norfloxacina, tinidazole y quinacrina, 14 pacientes no recibieron tratamiento. Se observó que la duración de la enfermedad fue similar en ambos grupos⁽¹⁰⁾.

Diagnóstico de laboratorio.

Los ooquistes de *Cyclospora* son fácilmente detectables en frotis de heces en solución salina. Vistos al microscopio óptico, aparecen como cuerpos redondos, no refráctiles, hialinos, de 8 a 10 μ m de diámetro. En el interior de los mismos se puede observar una masa compuesta de un acumulo de granulos o glóbulos de un material claro, con un tinte levemente verdoso. Si las heces han sido previamente preservadas en formalina al 10%, el contenido del ooquiste aparece como glóbulos refringentes de forma irregular. Bajo luz ultravioleta fluorescen como círculos brillantes azules⁽²⁾⁽¹⁰⁾.

Los organismos han sido refractarios a colorantes como Giemsa, Gomori metenamina de plata, Gram, Gridley para hongos, hematoxilina y eosina, azul de metileno, ácido periódico Schiff y tricromo⁽²⁾. Los más satisfactorios son: una coloración ácido-resistente modificada, que tiñe los ooquistes variablemente, desde incoloros, rosa pálido y rojo intenso, con un interior esponjoso o de apariencia indefinida y la safranina, que los tiñe de color naranja, manteniendo su tamaño y simetría. Pueden ser concentrados por formalina-etil acetato y por el método de Sheather. Aún no existen estudios serológicos para su identificación en heces, como para *Cryptosporidium*.

Observaciones epidemiológicas en Honduras y otros países coinciden en que la adquisición del parásito está relacionada con el inicio de la estación lluviosa y

con el consumo de aguas almacenadas en tanques de reserva que se contaminan con ooquistes o de algunos vegetales que se comen crudos fr⁹⁻¹¹).

Observaciones en el Hospital-Escuela.

De diciembre de 1991 a agosto de 1996 se registró un total de 29 pacientes con *Cydospora cayetanensis* en examen de heces, entre los meses de abril y agosto de cada año. Quince eran femeninos y 14 masculinos, con edades de 1 a 10 años (17 casos), de 21 a 35 años (7 casos), más de 35 años (4 casos) y 4 casos sin edad consignada. La consistencia de las heces era formada en 7, blanda en 8, diarrea en 5 y líquida en 9. En una revisión retrospectiva de expedientes, 10 no se encontraron, 4 pacientes no tenían número de expediente anotado, en 3 expedientes no habían datos, 5 expedientes correspondían a embarazadas sin historia de diarrea ni boleta de laboratorio, diagnóstico de bolo hístico en 1, historia de diarrea (entre 2 días y 5 semanas de evolución) en 6. En dos casos la presencia de *Cydospora* estaba asociada a *G. lamblia*. En un estudio prospectivo en diferentes ciudades del país (1996), 9 de 133 (6.8%) pacientes VIH positivos tenían ooquistes de *C. cayetanensis* en heces.

Los ooquistes de 8-10 μm de diámetro fueron identificados en frotis de heces en solución salina, que es nuestro método más útil (Figura No. 1a). La presencia de ooquistes varió de escasos a numerosos. Organismos teñidos con una coloración ácido-resistente modificada (Figura No. 1b) aparecieron coloreados en diferente intensidad, rosado, rojo o incoloros, algunos de aspecto sólido y otros como esponjosos en su interior, con poca definición de estructuras, diferentes en tamaño y aspecto de *Cryptosporidium parvum* (Figura No. 2c y d). Para confirmar que se trata de *Cydospora*, se recomienda hacer mediciones y embrionar los ooquistes en el laboratorio ®.

La ciclosporiasis es una enfermedad emergente cuyo agente etiológico está en espera de estudios más completos. La presencia de infección no siempre se acompaña de enfermedad, pero cuando se presenta, la gastroenteritis es indistinguible de la ocasionada por otros apicomplexa intestinales. Una medida de prevención sería hervir el agua de consumo siempre

o sobretodo durante los meses lluviosos y lavar los vegetales antes de comerlos crudos. Su diagnóstico relativamente sencillo requiere de personal informado sobre su posible presencia y su identificación correcta.

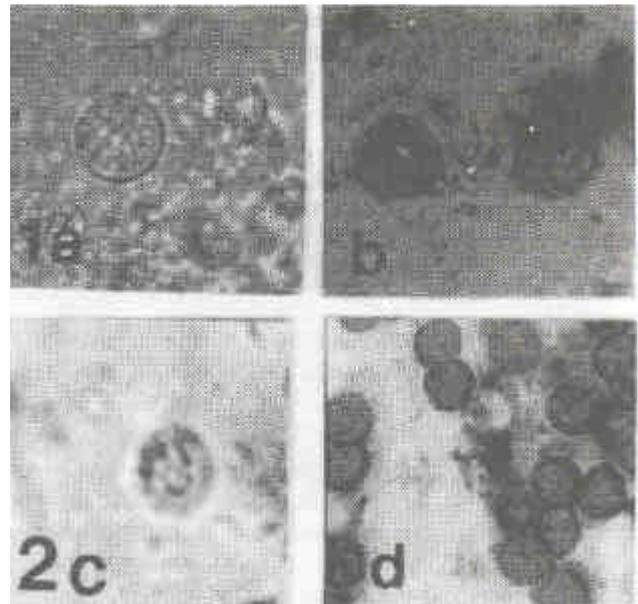


Figura No. 1 .a. *Cydospora cayetanensis*, ooquiste en frote de heces fijadas en formalina al 10%. Diámetro 8-10 μm (x 1000).

b. Ooquistes de *Cydospora* en heces, en una coloración ácido-resistente modificada. En otros campos del microscopio, había ooquistes color rosa o incoloros. El interior se observa un poco esponjoso (x 1 000).

Figura No. 2.c. *Cryptosporidium parvum*, ooquiste en frote de heces, para comparar morfológicamente con el ooquiste 1 ade *Cydospora*. Su diámetro es de 46 μm , la pared es menos gruesa, interiormente presenta una vacuola o a veces un granulo. Formalina al 10%. (x 1000).

d. *Cryptosporidium parvum*, ooquistes en una coloración ácido—resistente modificada, en la que se aprecia una coloración más o menos uniforme de todos los ooquistes, un diámetro uniforme, sin mostrar estructuras interiores o en ocasiones con una vacuola y un granulo, (x 1000). Todas las fotografías originales de R.G.Kaminsky.

REFERENCIAS

1. Kaminsky, RG. Cuerpos semejantes a Cyanobacteria asociados con diarrea en Honduras. *Revista Médica Hondureña* 1991;59:179-182.
2. Long, E., Ebrahimzadeh, A., White, E., Swicher, B. and Calaway, C. Alga Associated with diarrhea in patients with acquired immunodeficiency syndrome and in travelers. *Journal of Clinical Microbiology* 1990;28:1101-1104.
3. Ortega, L, Sterling, Ch., Gilman, R., Cama, F. and Díaz, F. Cyclospora species - a new protozoan pathogen of humans. *The New England Journal of Medicine* 1993;328:1308-1312.
4. Rod, P., Duszynski, D. and McAllister T. Coccidia (Apicomplexa) from heteromyid rodents in the southwestern United States, Baja California, and Northern México with three new species from *Chaetodipus hispidus*. *Journal of Parasitology* 1990;76:325-331.
5. Chobotar, B. and Scholtyseck, E. Ultrastructure. In: *The Biology of the Coccidia*. P.L. Long, ed. University Park Press, 1982, pp. 101-165.
6. Relman, D., Schmidt, Th., Gajadhar, A., Sogin, M., Cross, J., Yoder, K., Sethabutr, O. and Echeverría, P. Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggests that it is closely related to *Eimeria* species. *The Journal of Infectious Diseases* 1996; 173:440-445.
7. Ortega, Y., Miyagui, J-, Watanabe, J., Kanagusutu, P., Gilman, R. and Sterling, Ch. Partial description of the life cycle of *Cyclospora* and humoral response in acute infections. Program and Abstracts of the 44th. Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, San Antonio, Texas, 17-21 November, 1995.
8. Sun, T., Uardi, C, Asnis, D., Bresciani, A., Goldenber, S., Roberts, B. and Teichberg, S. Light and electron microscopic identification of *Cyclospora* species in the small intestine. *Clinical Microbiology and Infectious Disease* 1996;105:216-220.
9. Huang, P., Weber, T., Sosin, D., Griffin, P., Long, E., Murphy, J., Kocka, F., Peters, C. and Kallick, Ch. The first reported outbreak of diarrheal illness associated with *Cyclospora* in the United States. *Annals of Internal Medicine* 1995;123:409-414.
10. Shlim, D., Cohén, M., Eaton, M., Rajah, R., Long, E. and Ungar, B. An alga-like organism associated with an outbreak of prolonged diarrhea among foreigners in Nepal. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1991;45:383-389.
11. Outbreaks of diarrheal illness associated with Cyanobacteria (blue-green algae)-like bodies - Chicago and Nepal, 1989,1990. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1991;40:325-327.
12. Pape, W., Verdier, RI., Boncy, M., Boncy, J. and Johnson, W. *Cyclospora* infection in adults infected with HIV. *Annals of Internal Medicine* 1994;121:654-657.

"La maravillosa riqueza de la experiencia humana perdería parte de su alegría gratificante sino existieran limitaciones que superar.

La cima de la colina no sería ni la mitad de maravillosa si no hubiera oscuros valles que atravesar".

Heilen Kelier