

***Cyclospora* Y CICLOSPOROSIS**

**Ana García, Álvaro Guerrero, Josefina Magraner, Remedios Guna, Victoria Domínguez
y Rafael Borrás**

**Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario.
Valencia**

Cyclospora cayetanesis es un coccidio intestinal de reciente descripción, productor de diarreas y de procesos extraintestinales en el hombre. La primera descripción de este organismo fue realizada por Ashford quien observó, en las heces de tres pacientes de Papúa-Nueva Guinea, la existencia de unos elementos esféricos, algunos de ellos esporulados y con cuatro esporozoítos, lo que le sugirió que podría tratarse de una nueva especie del género *Isospora*. La asociación entre la presencia en las heces de unos organismos esféricos de unos 8-10 µm de diámetro y la aparición de unos cuadros diarreicos explosivos fue posterior, y se pensó que dichos elementos podrían ser los ooquistes de un nuevo coccidio patógeno para el hombre

La aparente forma quística de este nuevo organismo y su característica ácido-alcohol resistencia sugirieron que podría tratarse de un protozoo flagelado intestinal o de una nueva especie del género *Cryptosporidium*, respectivamente. Sin embargo, la observación de estructuras internas similares a los cuerpos tilacoides, típicos de las cianobacterias, determinó su denominación como "CLB" (*cyanobacterium-like-body*). El tamaño de los CLB, las características de su esporulación cuando se incuban en dicromato potásico, y la liberación de células ultraestructuralmente similares a los esporozoítos de los coccidios intestinales, permitieron incluir a estos organismos en el género *Cyclospora* y la creación de una nueva especie, *Cyclospora cayetanensis*, en honor a la Universidad Cayetano Heredia (Lima, Perú), lugar donde se habían realizado los estudios iniciales.

DESCRIPCIÓN DEL PARÁSITO

El género *Cyclospora* fue creado por Scheneider en 1881 para designar a un parásito hallado en los miriápodos, al que denominó *Cyclospora glomerica*. El ciclo vital de *C. caryolitica*, parásito de los enterocitos del intestino delgado del topo, fue descrito por Schaudinn, en 1902.

Las especies pertenecientes a este género pueden afectar a distintos animales y se diferencian de otros coccidios intestinales por la producción de ooquistes que, cuando son maduros, responden a la fórmula 1:2:2, es decir, cada ooquiste maduro contiene dos esporocistos, cada uno de ellos con dos esporozoítos. Por esta razón, cuando se comprobó que los CLB incubados en dicromato potásico a 25-37 °C, durante 5 a 13 días, se transformaban en ooquistes de fórmula 1:2:2, y que su tamaño era diferente a los *Cyclospora* descritos, estos organismos fueron incluidos en el género *Cyclospora* y denominados *C. cayetanesis* (tabla 1). Estudios posteriores demostraron la presencia de dos formas: una inmadura, no esporulada y otra madura, esporulada. Ambas formas presentan una envoltura fibrilar de 63 nm de espesor, por debajo de la cual se localiza una pared de 50 nm de espesor. En el interior de la forma inmadura, se observan unos gránulos similares a los cuerpos tilacoides de *Cyanobacterium*, mientras que la forma madura contiene dos esporocistos (3,3-4,4 µm x 5,5-7,1 µm) con dos esporozoítos (1,06-1,34 µm x

8-10 μm), cada uno de ellos, con un área apical estructuralmente compleja, similar al conoide de los coccidios, con rophtrias y micronemas.

Tabla 1. Especies del género *Cyclospora* descritas antes de 1993.

Especie	Hospedador	Tamaño del ooquiste (μm)
<i>C. angiomurinensis</i>	<i>Chaetodipus hispidus</i>	19-24 x 16-22
<i>C. ashtabulensis</i>	<i>Parascalops breweri</i>	14-23 x 11-19
<i>C. babaulti</i>	<i>Vipera berus</i>	-
<i>C. caryolytica</i>	<i>Talpa europea</i>	16-19 x 13-16
<i>C. cayetanensis</i>	<i>Homo sapiens</i>	8-10
<i>C. glomerica</i>	<i>Glomeris sp</i>	25-36 x 9-10
<i>C. megacephali</i>	<i>Scalopus aquaticus</i>	14-21 x 12-18
<i>C. parascalopi</i>	<i>Parascalops breweri</i>	13-20 x 11-20
<i>C. talpae</i>	<i>Talpa europea</i>	12-19 x 6-13
<i>C. tropidonoti</i>	<i>Tropidonotus natrux</i>	-
<i>C. viperae</i>	<i>Vipera aspic</i>	16,8 x 12,6

Han sido descritas diferentes especies, según al tamaño de los ooquistes y el hospedador, cuatro de las cuales han sido aisladas en primates: *C. cayetanensis*, en *Homo sapiens*; *C. cercopithecii*, en *Cercopithecus aethiops*; *C. colobi*, en *Colobus spp*, y *C. papionis*, en *Papio spp*. En el caso de *C. cayetanensis*, el examen microscópico en fresco a partir de heces no conservadas permite la observación de unas estructuras esféricas de 8-10 μm , hialinas, no refráctiles, que contienen una mórula de color verdoso, de aproximadamente 6-7 μm de diámetro, con varios glóbulos, de aspecto lipídico, de unos 2 μm , dispuestos en racimo o roseta. La morfología interna es observable sólo en las heces recién emitidas, y se conserva únicamente manteniendo las heces en agua, ya que la adición de conservantes provoca la coalescencia de los glóbulos intramorulares y da lugar a un número variable de cuerpos irregulares mal definidos.

Al igual que sucede con el género *Cryptosporidium*, los ooquistes de *C. cayetanensis* son ácido-alcohol resistentes pero, a diferencia de los primeros, éstos presentan una autofluorescencia periférica cuando son excitados con luz ultravioleta. La ácido-alcohol resistencia es una característica muy variable, ya que hay ooquistes que no se tiñen y tienen un aspecto vítreo, mientras que otros se pueden observar de color rojo oscuro o rosado, con aspecto moteado, fenómeno que ha sido atribuido a la extremada sensibilidad a la desecación de estos organismos y a la deshidratación intrínseca de los métodos de tinción.

Los estudios de secuenciación del rDNA han permitido relacionar *Cyclospora* con el género *Eimeria*. No obstante, el estudio filogenético de *Cyclospora* requiere un mayor conocimiento de la secuencia de la subunidad pequeña del rRNA de especies de los géneros *Isospora* y *Eimeria* para establecer la situación exacta de aquel parásito con respecto a estos dos géneros.

CICLO BIOLÓGICO

Este organismo realiza un ciclo vital enteroepitelial y monoxénico, funcionalmente complejo, como el de los restantes *Apicomplexa*, con alternancias de ciclos de reproducción asexual, esquizogónico o merogónico, y de reproducción sexual, esporogónico o gamogónico.

El ciclo de reproducción asexual se inicia tras la ingestión de los ooquistes maduros, y se producen los siguientes eventos: i) exquistación de los ooquistes en el duodeno y liberación de cuatro esporozoítos por ooquiste; ii) fijación de los esporozoítos en la membrana de los enterocitos del intestino delgado e internalización; iii) división esquizogónica de los esporozoítos en el interior de las vacuolas parasitóforas localizadas en el polo luminal y formación de merontes tipo I, con 8-12 merozoítos; iv) liberación de los

merozoítos, infección de nuevos enterocitos e inicio de nuevos ciclos esquizogónicos; v) en un momento dado, la esquizogonia genera merontes tipo II, con 4 merozoítos gamontes. El ciclo de reproducción sexual se inicia con la liberación de los merozoítos gamontes, y se caracteriza por: i) penetración de los merozoítos gamontes en los enterocitos, y su diferenciación en gametos macho, o microgametos, y gametos hembra, o macrogametos; ii) maduración de los gametos en macro y microgametocitos, y posterior fecundación; iii) transformación de los macrogametocitos fecundados en ooquistes y su liberación a la luz intestinal. Los ooquistes liberados son inmaduros, contienen un esporoblasto, y la esporulación o maduración se realiza en el exterior del tubo digestivo.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Las diarreas asociadas a *C. cayetanensis* han sido descritas tanto en los países en vías de desarrollo como en los desarrollados, lo que sugiere la distribución cosmopolita de este organismo. Sin embargo, en muchos de los casos descritos en los países desarrollados, existe el antecedente epidemiológico de estancias recientes en países en vías de desarrollo. Por otro lado, este parásito ha sido identificado tanto en individuos sanos como en pacientes sintomáticos inmunocompetentes e inmunodeprimidos (tabla 2).

Los estudios de prevalencia son limitados y muestran variaciones dependientes del área geográfica, del periodo de estudio y del tipo de población. Además, ponen de manifiesto la existencia de portadores asintomáticos y el hecho, anteriormente comentado, de que los casos aislados descritos en los países desarrollados se relacionan con estancias en países tropicales y subtropicales (tabla 2). En dichas áreas geográficas parece existir una asociación estacional entre la aparición de brotes diarreicos producidos por este organismo y los meses cálidos del año. Así, en Nepal, dicho fenómeno coincide con las lluvias monzónicas, y cuando la temperatura oscila entre 20 y 25°C, es decir en los meses de junio a agosto, mientras que son infrecuentes los casos durante los períodos secos del año.

Tabla 2. Prevalencia de la parasitación por *Cyclospora cayetanensis*.

País	Autores (año)	Población	Prevalencia (%)
Alemania	Jelinke <i>et al.</i> (1997)	Adultos con diarrea del viajero	1,1
Bangladesh	Albert <i>et al.</i> (1999)	Niños sintomáticos	0
Egipto	Rizk y Soliman, (2001)	Niños malnutridos	5,6
		Niños sanos	2,8
España	Gascón <i>et al.</i> 2001	Adultos con diarrea del viajero	2 a 4
Guatemala	Bearn <i>et al.</i> (1999)	Niños sintomáticos	2,3
		Productores de fambuesas	3,3
	Pratdesaba <i>et al.</i> (2001)	Niños malnutridos	0,9
		Productores de frambuesas	0
Nepal	Hoge <i>et al.</i> (1995)	Pacientes VIH	3,8
		Niños sintomáticos	6
		Niños sanos	2
Perú	Sherchand <i>et al.</i> (1999)	Niños y adultos sintomáticos	29,8
	Ortega <i>et al.</i> (1994)	Niños sintomáticos	10,9
	Madico <i>et al.</i> (1997)	Niños sintomáticos	1,6
Reino Unido	Clarke <i>et al.</i> (1996)	Niños y adultos sintomáticos	0,07 ^a
Venezuela	Chacín-Bonilla <i>et al.</i> (2001)	Niños sintomáticos	5,3
		Pacientes VIH	9,8

^acuatro pacientes adultos con diarrea del viajero

El reservorio de este organismo es el hombre, aunque la reciente descripción de organismos similares en otros primates y en aves de corral abre la posibilidad de que la ciclosporiasis sea una zoonosis. Este organismo ha sido detectado en aguas residuales y cloradas, en vegetales y en las heces de pollos destinados al consumo humano. Estos

hallazgos sugieren la transmisión oral-fecal, por ingestión de agua y alimentos contaminados con ooquistes maduros. A diferencia de la criptosporidiosis, no existe transmisión interhumana ya que los ooquistes fecales son inmaduros.

Los brotes epidémicos descritos se han asociado al consumo de bayas, procedentes de Guatemala, de salsa de albahaca -pesto-, y a la contaminación de depósitos de agua potable.

PATOGENIA

El hombre adquiere la parasitación como consecuencia de la ingestión de los ooquistes maduros, con posterior liberación de los esporozoítos y su fijación e internalización en los enterocitos yeyunales. El mecanismo íntimo de estos eventos es desconocido, pero se supone que será similar al de otros *Apicomplexa*: i) reconocimiento intercelular, fijación a través del conoide y formación de la "unión móvil" esporozoíto-enterocito; ii) liberación del contenido de las rhoptrias e invaginación de la membrana de los enterocitos, facilitada por los movimientos de deslizamiento, flexión y torsión de los esporozoítos; iii) fusión de la membrana invaginada, localización de los esporozoítos en el interior de vacuolas parasitóforas de origen celular, cerca del polo luminal, y su multiplicación cíclica.

El estudio histopatológico de biopsias de intestino delgado procedentes de pacientes con ciclosporiasis ha permitido la observación, en todos los casos, de alteraciones similares, de gravedad variable: i) reacción inflamatoria difusa y crónica, con infiltrado polimorfonuclear -leucocitos neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas- de la lámina propia; ii) aplastamiento, atrofia parcial o pérdida de vellosidades, e hiperplasia de las criptas, de modo que la relación del número de *villi* por cripta es de 0,6-1,5 en la parasitación, frente a 3-4 en condiciones normales. Estas evidencias, unidas a la ausencia de invasión tisular, han sugerido la posibilidad de que este proceso estuviese mediado por una enterotoxina.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Cyclospora cayetanensis es el organismo productor de la ciclosporiasis, parasitación asintomática o sintomática del hombre. La proporción de individuos portadores, en áreas tropicales, es variable y oscila entre el 2 y el 10% de la población (tabla2).

En los individuos inmunocompetentes, la infección sintomática presenta características similares a las de cualquier patógeno no invasor del intestino delgado, con un perfil sindrómico indistinguible del de otros coccidios intestinales. El periodo de incubación es variable, de 1 a 14 días, aunque por término medio suele ser de una semana. Los prodromos, de 1 a 2 días de duración, consisten en malestar general y febrícula. La fase de estado se caracteriza por la aparición abrupta de diarrea acuosa, con 5 a 10 deposiciones diarias, acompañada de astenia, anorexia, náuseas, vómitos, flatulencia y, ocasionalmente, de dolor abdominal, esteatorrea, malabsorción de D-xilosa, y mialgias. La diarrea inicial dura de tres a cuatro días, pero a los pocos días, y durante varias semanas, aparecen episodios diarreicos intermitentes, de intensidad variable, que pueden determinar una pérdida de masa corporal del 5 al 10%. En los periodos no diarreicos se mantienen la astenia y la anorexia. La duración de la diarrea es muy variable, oscilando entre 4 y 107 días, con una media de cuatro a nueve semanas. La resolución de los síntomas se produce de forma abrupta y se asocia con la desaparición de los ooquistes fecales.

En los pacientes inmunodeprimidos, el cortejo sintomático es similar al observado en los pacientes inmunocompetentes aunque, a diferencia de éstos, en los que el proceso es autolimitado, en los primeros es más insidioso y prolongado en el tiempo, con tendencia a la cronicación, y siempre revistiendo una mayor gravedad. Aunque *C. cayetanensis* es un patógeno intestinal primario, también ha sido relacionado con la producción de colecistitis alitiásica en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, y con los síndromes de Reiter y de Guillain-Barré. También se ha descrito una infección broncopulmonar en un paciente excretor fecal de ooquistes.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de laboratorio de la ciclosporiasis es directo, y se basa en la observación microscópica de los ooquistes inmaduros en preparaciones húmedas, o en tinciones diferenciales, realizadas a partir de heces frescas o conservadas. Es aconsejable la concentración fecal, mediante centrifugación, Ritchie modificado, o flotación, sacarosa de Sheather, en muestras seriadas de heces, dada la baja o moderada, e incluso discontinua, excreción de ooquistes. En las preparaciones húmedas, los ooquistes de este organismo se observan como esférulas de 8-10 μm de diámetro, hialinas, no refráctiles, con una mórula formada por 6 a 9 glóbulos refráctiles verdosos.

Las tinciones diferenciales se utilizan para demostrar la característica ácido-alcohol resistencia de los ooquistes de este organismo. Mediante la tinción de Ziehl-Neelsen modificada, los ooquistes se observan como estructuras esféricas de 8 a 10 μm , unas veces incoloras, otras de color rosado o rojo intenso de aspecto moteado, mientras que con fluorocromos (vg. auramina-rojo de tiazina) aparecen como esférulas de pared fluorescente, en grado variable.

La observación en preparaciones húmedas de los típicos ooquistes, con la mórula interna, permite efectuar el diagnóstico de certeza de la parasitación. Sin embargo, su detección mediante tinciones diferenciales plantea problemas de diferenciación con las especies de *Cryptosporidium* parásitas del hombre, *C. parvum* y *C. muris*, especialmente esta última. La diferenciación se realiza atendiendo a las características morfométricas y a la autofluorescencia parietal de los ooquistes de *C. cayetanensis*, azul con filtro de 365 nm o verde con filtro de 450 a 490 nm (tabla3).

Tabla 3. Diferencias entre los ooquistes de *Cryptosporidium* y de *C. Cayetanensis*.

Organismo	Característica del ooquiste			
	Tamaño (μm)	AAR ^a	Autofluorescencia	Fórmula
<i>Cryptosporidium parvum</i>	4 a 6	+	–	1:0:2
<i>Cryptosporidium muris</i>	8 a 10	+	–	1:0:2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	8 a 10	+/-	+	1:2:2

^aAAR: ácido-alcohol resistencia.

TRATAMIENTO

El antimicrobiano de elección es el cotrimoxazol que produce la curación clínica y parasitológica del proceso. La dosificación y la duración del tratamiento dependen de la edad y la situación inmunitaria de los pacientes. En los pacientes inmunocompetentes, la duración será de siete días; en los adultos se administrarán 160 mg de trimetoprima (TMP) más 800 mg de sulfametoxazol (SMX) por vía oral, cada 12 h y, en los niños, 5 mg de TMP más 25 mg de SMX/kg, por vía oral, cada 12 h. En los pacientes adultos inmunodeprimidos, vg. afectados de sida, se recomienda la administración de 160 mg de TMP más 800 mg de SMX por vía oral, cada 6 h, durante 10 días. En estos casos, es conveniente someter al paciente a una profilaxis secundaria con cotrimoxazol tres veces a la semana mientras perdure el estado de inmunodepresión.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERT MJ, FARUQUE ASG, FARUQUE SM, SACK RB, MAHALANABIS D. Case-control study of enteropathogens associated with childhood diarrhea in Dhaka, Bangladesh. J Clin. Microbiol 1999; 37:3458-3464.

- BEARN UC, HERNÁNDEZ B, LÓPEZ MB, *et al.* Epidemiologic study of *Cyclospora cayetanensis* in Guatemala. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:766-774.
- CHACÍN-BONILLA L, ESTEVEZ J, MONSALVE F, QUIJADA L. *Cyclospora cayetanensis* infections among diarrheal patients from Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 351-354.
- CLARKE SC, MCINTYRE M. The incidence of *Cyclospora cayetanensis* in the stools samples submitted to a district hospital. *Epidemiol Infect* 1996; 117:189-193.
- COLOMINA J, VILLAR J. Características morfológicas, clínicas y terapéuticas de *Cyclospora cayetanensis*. *Bol Chil Parasitol* 1997; 52:26-32.
- CONNOR BA, JOHNSON EJ, SOAVE R. Reiter syndrome following protracted symptoms of *Cyclospora* infection. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:453-454.
- DI GLIULLO AB, CRIBARI MS, BOVA AJ, CICONETTI JS, COLLAZOS R. *Cyclospora cayetanensis* in sputum and stool samples. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2000; 42:115-117.
- EBERHARD ML, DA SILVA AJ, LILLEY BG, PIENIAZEK NJ. Morphological and molecular characterization of new *Cyclospora* species from ethiopian monkeys: *C. cercopithecii* sp. n., *C. colobi* sp. n., and *C. papionis* sp. n. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5:651-658.
- FLEMING CA, CARON D, GUNN JE, BARRY MA. A foodborne outbreak of *Cyclospora cayetanensis* in a wedding: clinical features and risk factors for illness. *Arch Inter Med* 1998; 158:1121-1125.
- GARCÍA LS, BRUCKNE DA. *Diagnostic Medical Parasitology*. (2 ed). Washington: AMS Press, 1993.
- GARCÍA-LÓPEZ HL, RODRÍGUEZ-TOVAR LE, MEDINA-DE LA GARZA CE. Identification of *Cyclospora* in poultry. *Emerg Infect Dis* 1996; 2: 356-357.
- GASCÓN J, ÁLVAREZ M, VALLS ME, BORDAS JM, JIMÉNEZ DE ANTA MT, CORACHÁN M. Cyclosporiasis: estudio clinicoepidemiológico en viajeros con *Cyclospora cayetanensis* importada. *Med. Clin (Barc)* 2001; 116:461-464.
- HOGUE CW, ECHEVARRÍA P, RAJAH R, JACOBS J, *et al.* Prevalence of *Cyclospora* species and other the enteric pathogens among children less than 5 years at age in Nepal. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3058-3060.
- JAYSHREE RS, ACHARYA RS, SRIDHAR H. *Cyclospora cayetanensis* associated diarrhoea in a patient with acute myeloid leukaemia. *J Diarrhoeal Dis* 1998; 16:254-255.
- JELINKE T, LOTZE M, EICHENLAUN M, LOSCHER T. Prevalence of infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis*. *Gut* 1997; 41:801-804.
- MADICO C, MCDONALD J, GILMAN RH, CABRERA L, STERLING CR. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in peruvian children. *Clin Infect Dis* 1997; 24:977-981.
- MARSHALL MM, NAUMOVITZ D, ORTEGA YR, STERLING CR. Waterborne protozoan pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:67-85.

- MENSA J, GATELL JM, JIMÉNEZ DE ANTA MT, PRATS G, DOMÍNGUEZ-GÍL A. Guía de terapéutica antimicrobiana (12^a ed). Masson. Barcelona: Masson, 2002.
- ORTEGA YR, GILMAN RH, STERLING CR. A new coccidian parasite (Apicomplexa: *Eimeriidae*) from humans. J Parasitol 1994; 80:625-629.
- ORTEGA YR, NAGLE R, GILMAN RH, *et al.* Pathologic and clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of the intracellular parasite life-cycle stages. J Infect Dis 1997; 176:1584-1589.
- PRATDESABA RA, GÓNZALEZ M, PIEDRASANTA E, *et al.* *Cyclospora cayetanensis* in three populations at risk in Guatemala. J. Clin. Microbiol. 2001; 39:2951-2953.
- RICHARDSON RF, REMLER BF, KATIRJI B, MURAD MH. Guillain-Barré syndrome after *Cyclospora* infection. Muscle Nerve 1998; 21:669-671.
- RIZK H, SOLIMAN M. Coccidiosis among malnourished children in Mansoura, Dakahlia Governorate, Egypt. J Egypt Soc Parasitol 2001; 31:877-886.
- SHERCHAND JB, CROSS JH, JIMBA M. SHERCHAND S, SHRESTHA MP. Study of *Cyclospora cayetanensis* in health care facilities, sewage water and green leafy vegetables in Nepal. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999; 30:58-63.
- ZAR FA, EL-BAYOUMI E, YUNGBLUTH MM. Histological proof of acalculous cholecystitis due to *Cyclospora cayetanensis*. Clin Infect Dis 2001; 33: 140-141.