

## CAPÍTULO 8

### *Cyclospora cayetanensis*. Ciclosporosis humana

*Leonora Kozubsky*

#### Generalidades

Al presente se han identificado al menos 22 especies del género *Cyclospora* que producen infecciones en diversos animales como serpientes, topos, miriápodos, aves, roedores, monos, pero solamente *Cyclospora cayetanensis* se ha documentado como causante de infección en el hombre. La prevalencia global de *C. cayetanensis* en humanos es del orden de 3,6%. Otra especie como

*C. papionis* se detectó en el 17,9% de babuinos capturados en Kenia y *C. macacae* en el 6,8% de monos rhesus en China.

En el hombre la mayoría de las infecciones se contraen por la vía fecal-oral. La ciclosporosis es endémica en países tropicales y subtropicales, pero se han registrado numerosos brotes en zonas no endémicas en los últimos 20 años. Muchos de ellos estuvieron asociados al consumo de aguas no tratadas y verduras crudas como lechuga, frambuesa, cilantro, albahaca, cebolla de verdeo, entre otras, contaminadas con ooquistes maduros. Otros se relacionaron con viajeros a zonas endémicas como Nepal, Perú, Guatemala, República Dominicana, México, Haití, etc. En general se ha observado un aumento de brotes en estaciones cálidas y lluviosas, manifestando un comportamiento estacional. No se descarta la transmisión a través de vectores mecánicos como insectos y fómites.

#### Ciclo biológico

*Cyclospora cayetanensis* tiene un ciclo vital monoxénico que incluye una fase sexuada (gametogonia) y otra asexual (esquizogonia) que se llevan a cabo en el mismo hospedador, aunque los ooquistes maduran (esporulación) fuera del mismo. Es un protozoo intracelular obligado, desarrollándose en los enterocitos del intestino delgado dentro de una vacuola parasitófora. El ciclo se inicia con la ingesta de ooquistes maduros que liberan esporozoítos, los cuales ingresan a las células hospedadoras. En ellas, mediante esquizogonia o reproducción asexual, se forman esquizontes o merontes que contienen merozoítos. Mediante este proceso se forman merontes de tipo I y de tipo II con 8 a 12 y 4 merozoítos respectivamente. Al lisarse el enterocito, se

liberan los merozoítos. Los provenientes de los merontes de tipo I tienen capacidad para invadir nuevas células y llevar a cabo otra esquizogonia, mientras que los segundos conducen a la formación de gametocitos. El gametocito masculino fertiliza al femenino produciendo un cigoto y finalmente a partir de éste y como producto de reproducción sexual, se forman ooquistes que se eliminan inmaduros con las heces, a diferencia de lo que ocurre con otro coccidio como *Cryptosporidium* (Almeria et al., 2019; Li et al., 2020).

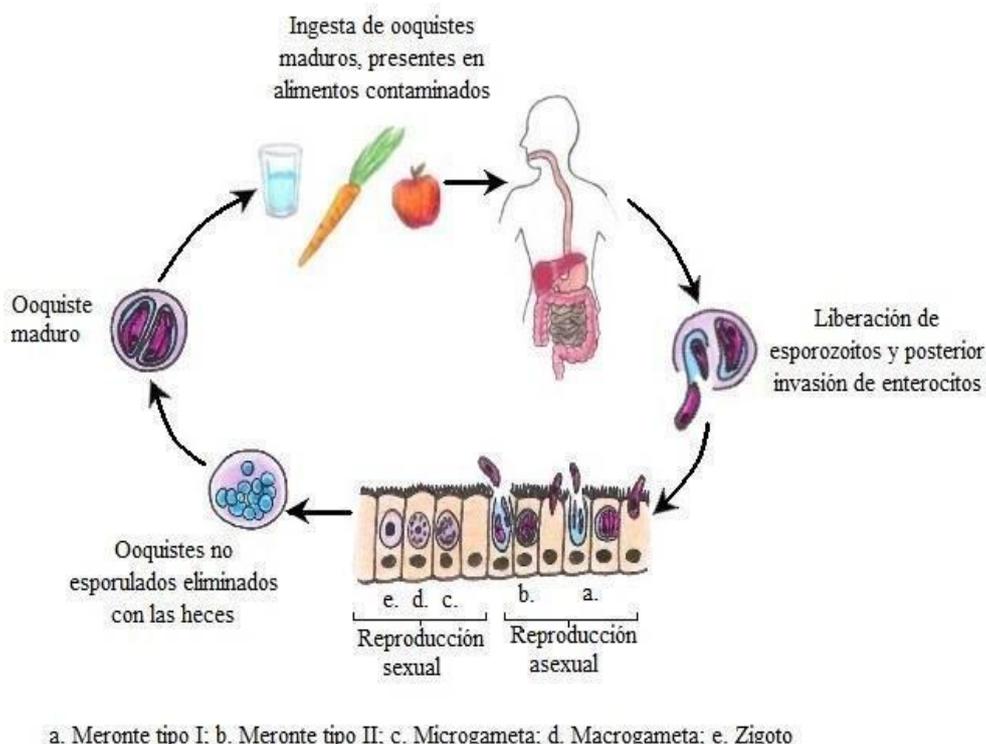


Figura 1. Ciclo biológico de *C. cayetanensis*

Estos ooquistes son esféricos, hialinos, no refráctiles y miden de 8 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro con doble pared de 63 y 50 nm de espesor. Una vez en el exterior sufren un proceso de maduración o esporulación, transformándose en infectivos al cabo de 5 a 13 días según las condiciones ambientales (humedad, temperatura, disponibilidad de oxígeno). Una vez en el ambiente, los ooquistes maduran, formando finalmente ooquistes infectivos que contienen 2 esporozoítos con 2 esporozoítos cada uno, respondiendo a la relación 1:2:2. Los esporozoítos miden 1,2  $\mu\text{m}$  de ancho por 9  $\mu\text{m}$  de longitud y presentan un complejo apical constituido por roptrias y micronemas. Tanto los ooquistes maduros como los inmaduros presentan una envoltura fibrilar de 63 nm de espesor, por debajo de la cual se localiza una pared de 50 nm de espesor.

La dosis infectiva no se conoce exactamente, pero extrapolando del conocimiento de algunos brotes epidémicos y del comportamiento comparativo de otros coccidios intestinales, se supone que es baja, del orden de 10 a 100 ooquistes maduros. El contagio se produce por vía oral mediante la ingestión de ooquistes maduros que pueden estar presentes en frutas o verduras, así

como de agua de bebida contaminada (Hadjilouka & Tsaltas, 2020). Una vez ingeridos, el desengastamiento se produce por la acción de jugos digestivos, liberándose los esporozoítos que invaden a los enterocitos y desarrollándose entonces los ciclos asexual y sexual.

Los ooquistes se rompen en condiciones de desecación en 15 minutos, pero son resistentes a los desinfectantes comúnmente usados y al tratamiento de clorinado empleado en la potabilización del agua. Pueden sobrevivir en medio acuoso 2 meses a 4°C y 7 días a 37°C. No resisten el calentamiento a 60°C durante una hora y el congelamiento a -18°C durante 24 horas puede anular su capacidad de esporulación. Los métodos de filtración del agua de consumo pueden ser útiles para prevenir la exposición a los ooquistes del parásito, así como también someterla a ebullición.

## Patogenia

En el duodeno distal y yeyuno, localización habitual de este protozooario, se observa por endoscopia, eritema e inflamación. Las biopsias muestran un aplanamiento de las vellosidades con hiperplasia de las criptas. Este compromiso del intestino delgado proximal produce defectos de absorción. Se ha propuesto una cascada de sucesos que se desarrollan cuando los parásitos intracelulares obligados invaden a los enterocitos. Luego de que los esporozoítos ingresan en los enterocitos, éstos liberan citoquinas (IL-8) que activan a fagocitos locales; estos atraen y reclutan a otros fagocitos desde el torrente sanguíneo hacia la lámina propia. Los leucocitos activados liberan factores solubles que incrementan la secreción intestinal de cloruros y agua e inhiben su absorción. Algunos mediadores, como la histamina, la serotonina y la adenosina, afectan la secreción y absorción porque actúan de manera indirecta sobre las células epiteliales.

Además, el factor activador de plaquetas, prostaglandinas y leucotrienos ejerce su acción sobre la inervación entérica, que induce la secreción intestinal mediada por neurotransmisores. Por otra parte, la invasión, multiplicación y liberación de los parásitos daña directamente los enterocitos al someterlos a la lisis celular. En forma adicional, los linfocitos T activados afectan el crecimiento de las células epiteliales y producen atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas, sucesos que llevan, por un lado, al aumento del peristaltismo y por otro, a la disminución de la absorción de nutrientes (Archelli & Kozubsky, 2012).

## Signología clínica

Producida la infección, el período de incubación varía entre 2 a 11 días. La infección puede cursar en forma asintomática o sintomática. Los síntomas incluyen diarrea acuosa y profusa con un promedio de 7 deposiciones diarias, acompañada de dolor abdominal, náuseas, vómitos, fatiga, astenia, fiebre y pérdida del apetito. Estos síntomas, así como la infección, se autolimitan

luego de aproximadamente 50 días en pacientes inmunocompetentes. Se han observado recidivas en algunos de ellos. La resolución de los síntomas se produce de forma abrupta y se asocia con la desaparición de los ooquistes en materia fecal. En general la sintomatología se presenta más florida en infantes y en adultos mayores, y más moderada o asintomática en niños de mayor edad y adultos jóvenes.

En inmunocomprometidos, al igual que en otras coccidiosis intestinales, la sintomatología mencionada suele ser más prolongada, insidiosa, con tendencia a la cronicidad y muy severa, produciéndose malabsorción y significativa pérdida ponderal. Los cuadros graves en individuos con SIDA se vinculan con mayor frecuencia a pacientes con porcentajes de linfocitos T CD4+ menores que 200 células/mm<sup>3</sup>.

Se han reportado en pacientes con tuberculosis la presencia de ooquistes de *Cyclospora* en esputo y en heces en forma concomitante, lo que sugeriría la posibilidad de diseminación broncopulmonar (Di Gliullo et al., 2000). 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 (artritis reactiva) y de Guillain-Barré.

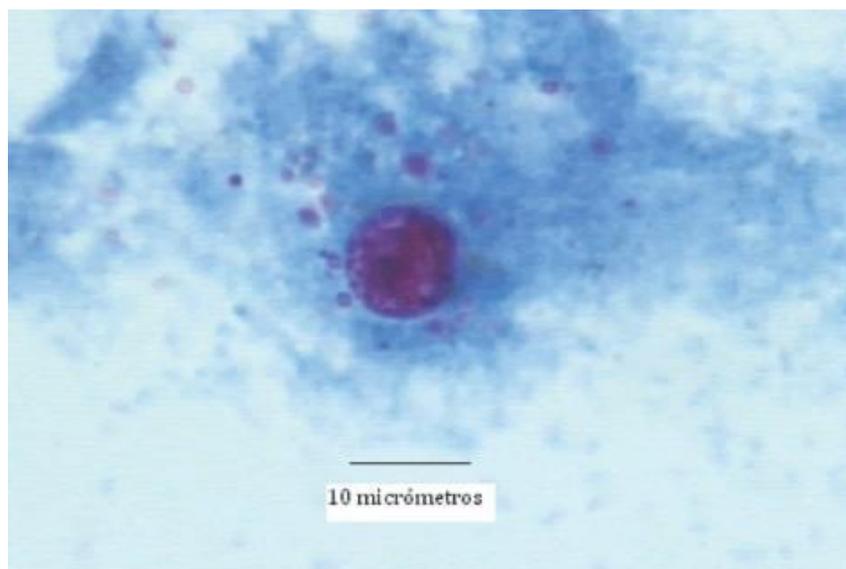
## Diagnóstico

El estadio diagnóstico es el ooquiste inmaduro, no esporulado que se elimina en forma discontinua con las heces. Por esta razón se sugiere la recolección de muestras fecales seriadas (3 días alternados o 5 continuos) con conservantes y en fresco. El examen microscópico a partir de heces no conservadas permite la observación de estructuras esféricas de 8-10 µm, hialinas, no refráctiles, que contienen una estructura semejante a 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 en las heces en agua, ya que la adición de conservantes provoca la coalescencia de los glóbulos intramurales y da lugar a un número variable de cuerpos irregulares mal definidos (Imagen 1). Se pueden buscar los ooquistes en preparaciones húmedas, previo enriquecimiento por métodos de sedimentación y flotación a fin de maximizar su recuperación.



*Imagen 1. Ooquistes de C. cayetanensis en una preparación húmeda. 40X. Cortesía E. Portiansky.*

Son impermeables al lugol, pero pueden efectuarse tinciones como la de Ziehl Neelsen u otras tinciones ácido alcohol resistentes de fundamento similar. En este caso aparecen como esferas ácido alcohol resistentes variables, coloreadas desde rojo intenso a pálido, con un aspecto “vidriado” (Imagen 2). Este ooquiste inmaduro debe ser diferenciado de los de otros coccidios intestinales, fundamentalmente por su forma y tamaño, ya que comparten comportamientos tintoriales semejantes siendo ácido- alcohol resistentes.



*Imagen 2. Ooquiste de C. cayetanensis. Coloración de Ziehl Neelsen. 100X. Cortesía E. Portiansky.*

Otras coloraciones empleadas habitualmente para la tinción de protozoos como Giemsa, tricrómica, Gram cromotropo, no tiñen a los ooquistes de *Cyclospora*.

Cuando se tratan los ooquistes con fluorocromos como auranina-rojo de tiazina, se observa la pared con fluorescencia variable.

Es importante recordar que los ooquistes de *C. cayetanensis* son esféricos y miden 8-10  $\mu\text{m}$  de diámetro, los de *Cryptosporidium* spp., esféricos de 4  $\mu\text{m}$  de diámetro y los de *Cystoisospora belli* son elipsoidales de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de longitud por 10-19  $\mu\text{m}$  de ancho.

Para el diagnóstico puede aprovecharse otra característica particular del parásito como es su capacidad de autofluorescer, observándose a los ooquistes de color azul brillante cuando los preparados húmedos se exponen a la luz UV con filtros de excitación en el rango de 330 a 380 nm o verdes con filtros de 450 a 490 nm (Li et al, 2020; CDC, 2021).

Los ooquistes inmaduros pueden madurarse in vitro incubando una muestra en fresco en solución de dicromato de potasio al 2,5 ó 5% durante 5 a 15 días a 25-37°C, luego de lo cual se obtendrán los ooquistes maduros con dos esporoquistes, conteniendo dos esporozoitos en cada uno de ellos.

También puede efectuarse una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *C. cayetanensis*, método que puede aplicarse tanto a muestras de materia fecal como de aguas, suelo y alimentos contaminados con el parásito, con una sensibilidad del orden de 40 ooquistes por 100 g de muestra (Resendiz-Nava et al., 2020).

Sobre la base de las propiedades morfológicas y de autofluorescencia de los ooquistes se han desarrollado métodos de detección en diversos materiales mediante citometría de flujo, pero aún no se han adaptado al laboratorio clínico. Estudios comparativos entre esta metodología y la PCR, han demostrado presentar una sensibilidad semejante (Temesgen et al., 2019).

Si bien los relevamientos serológicos facilitarían los estudios epidemiológicos, especialmente en los brotes, no se encuentran disponibles aún equipos comerciales. Se han desarrollado algunos con la metodología de ELISA para detectar anticuerpos IgM e IgG contra *C. cayetanensis*, pero los resultados no han sido concluyentes en cuanto a la definición del estado de infección de los pacientes.

## Tratamiento

El tratamiento de elección se basa en trimetoprima (160 mg) y sulfametoxazol (800 mg). En general la diarrea y la eliminación de ooquistes cesan entre los 2 y 6 días de tratamiento. Además, deben implementarse en caso necesario, medidas de soporte para mantener el equilibrio hidroelectrolítico y reposo (Li et al., 2020).

## Profilaxis

Las medidas de prevención están enfocadas a las principales fuentes de infección: agua, alimentos y suelo contaminados y son similares a las aplicadas para otros parásitos intestinales. En caso de brote epidémico es recomendable hervir el agua de bebida.

Son importantes los programas de educación y saneamiento ambiental, con adecuada eliminación de excretas humanas, tratamiento de residuos cloacales y control de aguas de riego, bebida y lavado de hortalizas y frutas de consumo crudo.

En cuanto a individuos inmunocomprometidos, la prevención debe ser muy cuidadosa por la persistencia y severidad de los cuadros diarreicos, que a su vez contribuyen a magnificar la diseminación parasitaria.

## Referencias

- Almeria, S., Cinar, H.N. & Dubey, J.P. (2019). *Cyclospora cayetanensis* and Cyclosporiasis: An Update. *Microorganisms*. 7(9):317.
- Archelli, S., & Kozubsky, L.E. (2012). *Cyclospora cayetanensis*: Un coccidio emergente. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 46(4): 683-688.
- Centers for Disease Control (CDC). (2017). Cyclosporiasis. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/parasites/cyclosporiasis/index.html>
- Di Giulio, A.B., Cribari, M.S., Bava, A.J., Cicconetti, J.S., & Collazos, R. (2000). *Cyclospora cayetanensis* in sputum and stool samples. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 42(2): 115-117.
- Hadjilouka, A. & Tsaltas, D. (2020). *Cyclospora Cayetanensis*—Major Outbreaks from Ready to Eat Fresh Fruits and Vegetables. *Foods*. 9(11): 1703.
- Li, J., Cui, Z., Qi, M. & Zhang, L. (2020). Advances in Cyclosporiasis Diagnosis and Therapeutic Intervention. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 10: 43. doi: 10.3389/fcimb.2020.00043.
- Li, J., Wang, R., Chen, Y., Xiao, L. & Zhang, L. (2020). *Cyclospora cayetanensis* infection in humans: Biological characteristics, clinical features, epidemiology, detection method and treatment. *Parasitology*. 147(2): 160-170.
- Resendiz-Nava, C.N., Orozco-Mosqueda, G.E., Mercado-Silva, E.M., Flores-Robles, S., Silva-Rojas, H.V. & Nava, G.M. (2020). A molecular tool for rapid detection and traceability of *Cyclospora cayetanensis* in fresh berries and berry farm soils. *Foods*. 9(3): 261.
- Temesgen, T.T., Tysnes, K.R. & Robertson, L.J. (2019). A New Protocol for Molecular Detection of *Cyclospora cayetanensis* as contaminants of berry fruits. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 10:1939.