

AISLAMIENTO DE OOQUISTES DE *Cystoisospora belli* EN MUESTRAS DE LÍQUIDO PLEURAL DE UN PACIENTE CON SIDA

ISOLATION OF *Cystoisospora belli* OOCYSTS IN PLEURAL FLUID SAMPLES OF A PATIENT WITH AIDS

MARÍA EUGENIA ACOSTA-QUINTERO^{1,2,3}, DALMIRO CAZORLA-PERFETTI¹

Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" (UNEFM), Decanato de Investigaciones, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), ¹Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET), ²Consulta de Medicina Tropical, Coro, Venezuela, ³Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Instituto de Medicina Experimental, Postgrado en Neuroinmunofarmacología, Caracas, Venezuela. E-mail: lutzomyia@hotmail.com / cdalmiro@gmail.com

RESUMEN

Se presenta el caso de un paciente venezolano, masculino de 37 años de edad con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), a quien se le diagnosticó tardíamente *cystoisosporiosis* (= *isosporiasis*) intestinal y diseminada, el cual fallece. Se resalta la necesidad para realizar el diagnóstico correcto en el momento apropiado y poder aplicar con éxito el tratamiento quimioterapéutico anticoccidioso (trimetropin/sulfametoxazol; TMP/SMX).

PALABRAS CLAVE: *Cystoisosporiosis*, infección extraintestinal, VIH.

ABSTRACT

We report a case of 37 years old Venezuelan patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), who was lately diagnosed with intestinal and disseminated *cystoisosporiosis* (= *isosporiasis*) and died. The need to perform a correct diagnosis at proper time and for a successfully anticoccidian chemotherapeutical treatment (trimethoprim-sulfamethoxazole; TMP/SMX), is highlighted

KEY WORDS: *Cystoisosporiosis*, extraintestinal infection, HIV.

Sr. Editor

La *cystoisosporiosis* (= *isosporiasis*) humana es una coccidiosis intestinal ocasionada por el eucariota simple del reino Chromista (Harosa: Halvaria, Alveolata, *sensu* Ruggiero *et al.* 2015), filo Myozoa (Apicomplexa: Myozoa, Sporozoa, *sensu* Ruggiero *et al.* 2015) *Cystoisospora belli* (= *Isospora belli*) (Coccidiomorpha: Coccidia, Eimeriida: Eimeridae, *sensu* Cavalier-Smith 2014) (Botero y Restrepo 2012, Ruggiero *et al.* 2015). Similarmente como en otras enterococcidiosis humanas (criptosporiosis, ciclosporiosis), la *cystoisosporiosis* es una infección oportunista altamente prevalente en individuos inmunocomprometidos, con especial énfasis en aquellos infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) o que presentan el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), que se caracteriza por presentar diarrea crónica con pérdida de peso (Neira *et al.* 2010).

En la presente comunicación, se hace el reporte de un caso de infección por *C. belli* en un individuo con SIDA; lo que resalta del caso es que se trata de una infección con diseminación extra intestinal, ya

que el hábitat principal de este coccidio son las células epiteliales del intestino delgado (Neira *et al.* 2010). Previo a la recolección de la información y muestras, se solicitó la colaboración voluntaria del paciente, recalándose la confidencialidad del estudio. Se siguieron las normas de bioética establecidas en la Declaración Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo del año 2000. Se proporcionó "Consentimiento Informado", en el que quedó por escrito su deseo de colaborar voluntariamente.

Se trata de paciente masculino de 37 años de edad, natural y procedente de Caracas (Lat. 10°30'00" N; Long. 66°56'00" O), D.C., Venezuela, homosexual, de profesión peluquero, VIH positivo desde 1995 (al ingreso: 63 linfocitos T CD4/mm³; carga viral de 1.210.000 copias ARN/mL; categoría C3); como antecedente relevante, el paciente mantenía irregularidad en sus controles y mala adherencia a la terapia antirretroviral (TARV). El paciente acude a la consulta del Servicio de Emergencias de Adultos del Hospital Universitario de Caracas (HUC), D.C., Venezuela, por síntomas respiratorios dados por tos

frecuente, que inicialmente es seca y luego se hace húmeda con expectoración blanco-verdosa abundante, emética a predominio nocturno; concomitantemente alza térmica cuantificada en 40°C con predominio nocturno sin sudoración ni escalofríos, que mejora transitoriamente con antipiréticos (acetaminofén, 500 mg/8 horas), dolor torácico punzante de predominio en base de hemitórax derecho (dolor en punta costado), sin irradiación que se exacerba con la tos y el movimiento y se atenúa en el reposo. Al examen físico el paciente se encuentra caquéxico, febril al tacto, con palidez cutáneo-mucosa y signos de deshidratación (*e.g.*, resequedad de mucosas, signo del pliegue). El tórax era simétrico, hipoexpansible con signos de dificultad respiratoria dados por tiraje intercostal y aleteo nasal, matidez a la percusión en base de hemitórax derecho, murmullo vesicular audible con roncus y crepitanes dispersos, francamente disminuido en hemitórax derecho y silente en la base de este último. Se realizan paraclínicos correspondientes que reportan leucopenia ($< 3.000/\text{mm}^3$) con predominio segmentado 90%; hemoglobina: 7,4 g/dL; plaquetas 250.000/ μL , examen de orina normal, saturación de oxígeno 93%, y RX de tórax: neumonía basal derecha. En vista de hallazgos clínicos, se decide hospitalizar al paciente con el diagnóstico de insuficiencia respiratoria aguda secundaria a infección: neumonía basal derecha.

El paciente refiere como antecedente de importancia episodios diarreicos frecuentes abundantes desde hace 1 año, que conducían a la deshidratación, y en cuyos exámenes de heces (simples y seriados) sólo se reportaban levaduras, gotas de almidón y restos alimentarios; por ello, le dieron restituyentes de flora intestinal (Florestor[®] y Liolactil[®]).

El paciente permanece hospitalizado durante tres semanas recibiendo tratamiento con base en antibiótico terapia (Ceftriazona[®], 1 g endovenoso cada 12 h), y terapia respiratoria (nebulizaciones con Gudecort[®] 20 gotas en 3 cc de solución salina cada 12 h, y Berodual[®] 15 gotas en 3 cc de solución salina cada 8 h). Hidrocortisona 100 mg endovenoso cada 8 h y oxígeno terapia (5 L/minuto). Se descarta el diagnóstico de tuberculosis, neumocistosis e infección por bacteria Gram-negativa *Pseudomona aeruginosa*. En virtud de que el paciente empeora clínicamente, ya que se asocia derrame pleural derecho y aparecen los episodios de diarrea, se solicita la interconsulta con especialista en Medicina Tropical (MEAQ) de la consulta de Medicina Tropical del Laboratorio de

Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET), Centro de Investigaciones Biomédicas, Decanato de Investigaciones, Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM), estado Falcón, Venezuela, quien previa evaluación del paciente toma muestra de heces y de líquido pleural, ya que el mismo es sometido a una toracocentesis diagnóstica-terapéutica. Se hizo examen simple de heces y coloración de Kinyoun, reportándose levaduras abundantes (*Candida* spp.) y ooquistes de *C. belli*; al líquido pleural se le realizó exámenes microbiológicos *ad hoc* para la detección de bacterias, hongos, y parasitológicos (directo y coloración de Kinyoun); solo se detectó la presencia de ooquistes de *C. belli*.

Desafortunadamente, a los dos días de haberse efectuado las pruebas microbiológicas y parasitológicas, el paciente presenta paro cardiorrespiratorio irreversible y deshidratación severa secundaria a síndrome diarreico, por lo que no se pudo aplicar el tratamiento anticoccidio *ad hoc* (trimetropin/sulfametoxazol: TMP/SMX, 160-800 mg/4 veces por día, durante 10 días).

Hasta donde se ha podido indagar, en Venezuela solo se han documentado casos de infección por *C. belli* en individuos con VIH/SIDA a nivel intestinal (De Heredia y Calvo 1992, Chacín-Bonilla y Sánchez de Chávez 1993, Certad *et al.* 2003, Requena *et al.* 2007, Rivero-Rodríguez *et al.* 2013); por lo que el presente caso aparece como el primer reporte para el país de un individuo con cistosisporiosis extraintestinal en este tipo de pacientes. Es importante señalar que Certad *et al.* (2003) no observaron asociación estadísticamente significativa entre la enterococcidiosis y esplenomegalia o hepatomegalia en algunos pacientes VIH⁺ en Caracas, Venezuela; sin embargo, ellos sugirieron que “estos podrían ser signos clínicos de infecciones avanzadas de VIH o una manifestación de otras infecciones oportunistas o enfermedades asociadas” (Certad *et al.* 2003). Inclusive a nivel mundial son pocos los casos documentados, siendo observados estadios del enterococcidio en nódulos linfáticos (mesentéricos, traqueobronquiales, mediastínicos, periaórticos), hígado y bazo de pacientes VIH/SIDA (Restrepo *et al.* 1987, Michiels *et al.* 1994, Frenkel *et al.* 2003, Neira *et al.* 2010). Es importante acotar que en otras especies de *Cystoisospora* spp. propias de gatos, se ha reportado experimentalmente su diseminación extraintestinal en nódulos linfáticos mesentéricos, hígado, bazo, pulmón y cerebro (Dubey y Frenkel 1972).

No existe consenso del mecanismo mediante el cual los estadios de *C. belli* se diseminan extra intestinalmente, como en el presente caso. Sin embargo, se ha propuesto, como ya se mencionó, que a juzgar por los hallazgos de los estadios sexuales y asexuales del parásito en tejidos (*e.g.*, linfáticos, vesícula biliar) los mismos pudieran diseminarse por las vías linfáticas y hematógenas (Restrepo *et al.* 1987, Michiels *et al.* 1994, Frenkel *et al.* 2003). A pesar de lo comentado, no debe descartarse de plano la posible transmisión de los ooquistes de *C. belli* por emesis, así como tampoco por vía inhalatoria, tal como se ha documentado esta última en otros enterococcidios, como *Cryptosporidium* spp. (criptosporidiasis respiratoria) y posiblemente en *Cyclospora cayetanensis* (Hussein *et al.* 2005, Sponseller *et al.* 2014). Por lo discutido, se hace necesario realizar estudios más detallados y controlados, especialmente con técnicas de microscopía electrónica, histoquímicas, inmunológicas y/o moleculares, para demostrar las vías de diseminación de los diversos estadios de este parásito intestinal (Frenkel *et al.* 2003).

Por otra parte, se ha señalado la existencia de estadios extraintestinales de *C. belli* que son menos susceptibles a la acción quimioprotéutica anticoccidiana, como una posible causa de recidivas, tanto en individuos inmunocompetentes como inmunocomprometidos; inclusive se ha llegado a sugerir que esto se debe a que *C. belli* posee diferentes genotipos (Frenkel *et al.* 2003, Neira *et al.* 2010). En el caso del paciente presentado, el mismo nunca recibió tratamiento anticoccidio *ad hoc*, además de su irregularidad en los controles y para el TARV, lo que aparentemente no le permitía incrementar el número de linfocitos T CD4, que muchas veces son necesarios para controlar la infección y la sintomatología (Frenkel *et al.* 2003, Boyles *et al.* 2012).

Los ooquistes de *C. belli* son de mayores dimensiones que los de sus congéneres coccidios *Cryptosporidium* spp. y *C. cayetanensis*, por lo que es relativamente fácil de visualizar bajo microscopía fotónica en un examen directo (Neira *et al.* 2010, Botero y Restrepo 2012); sin embargo, debe tenerse en cuenta que el diagnóstico parasitológico de este coccidio se dificulta por las pequeñas cantidades de ooquistes excretadas de forma intermitente, además de que la membrana del ooquiste se puede fragmentar durante el procesamiento de la muestra (Neira *et al.* 2010). Por ello, es recomendable repetir los coproanálisis

varias veces y aplicar métodos diagnósticos complementarios como la coloración de Kinyoun o con fluorocromos, especialmente en los pacientes VIH/SIDA con conteos CD4 bajos; aunque los métodos moleculares (*e.g.*, PCR) poseen mayor sensibilidad y especificidad, no obstante, sus costos son muy elevados (Neira *et al.* 2010). Estas premisas deben considerarse como en el presente caso, donde el paciente presentaba un cuadro de diarrea crónica y no se le detectaba la enterococcidiosis, y no fue posible aplicarle a tiempo la quimioterapia anticoccidiana (TMP/SMX). Similar consideración debe tenerse con muestras de líquidos corporales en general, y particularmente en los pleurales, así como también en las de tejidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTERO D, RESTREPO M. 2012. Parasitosis humanas. 5a ed. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia. pp. 3-211.
- BOYLES T, BLACK J, MEINTJES G, MENDELSON M. 2012. Failure to eradicate *Isoospora belli* diarrhoea despite immune reconstitution in adults with HIV - A Case Series. PLoS ONE. 7(8):e42844.
- CAVALIER-SMITH T. 2014. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. Eur. J. Protistol. 50(5):472-495.
- CERTAD G, ARENAS-PINTO A, POCATERRA L, FERRARA G, CASTRO J, BELLO A, NÚÑEZ L. 2003. Isosporiasis in Venezuelan adults infected with human immunodeficiency virus: clinical characterization. Am. J. Trop. Med. Hyg. 69(2):217-222.
- CHACÍN-BONILLA L, SÁNCHEZ DE CHÁVEZ Y. 1993. Isosporiasis in Venezuela: a report of two cases in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 35(2):211-212.
- DE HEREDIA W, CALVO B. 1992. Isosporiasis como primera infección oportunista en un paciente con infección por virus de inmunodeficiencia humana. Reporte de un caso. Kasmera. 20(1-4):127-132.
- DUBEY J, FRENKEL J. 1972. Extra-intestinal stages

- of *Isoospora felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. *J. Protozool.* 19(1):89-92.
- FRENKEL J, SILVA M, SALDANHA J, DE SILVA-VERGARA M, CORREIA D, BARATA C, SILVA E, RAMIREZ L, PRATA A. 2003. Presença extra-intestinal de cistos unizóicos de *Isoospora belli* em paciente com SIDA. Relato de caso. *Rev. Soc. Bras. Med Trop.* 36(3):409-412.
- HUSSEIN E, ABDUL-MANAEM A, EL-ATTARY S. 2005. *Cycloospora cayetanensis* oocysts in sputum of a patient with active pulmonary tuberculosis, case report in Ismailia, Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 35(3):787-793.
- MICHIELS J, HOFMAN P, BERNARD E, SAINT PAUL M, BOISSY C, MONDAIN V, LEFICHOUX Y, LOUBIERE R. 1994. Intestinal and extraintestinal *Isoospora belli* infection in an AIDS patient. A second case report. *Pathol. Res. Pract.* 190(11):1089-1093.
- NEIRA P, BARTHEL E, WILSON G, MUÑOZ N. 2010. Infección por *Isoospora belli* en pacientes con infección por VIH. Presentación de dos casos y revisión de la literatura. *Rev. Chil. Infect.* 27(3):219-227.
- REQUENA I, AÑEZ H, LACOURT E, BLANCO Y, CASTILLO H, RIVERA M, DEVERA R. 2007. Elevada prevalencia de coccidios intestinales en pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev. Biomed.* 18(1):73-75.
- RESTREPO C, MACHER A, RADANY E. 1987. Disseminated extraintestinal isosporiasis in a patient with acquired immune deficiency syndrome. *Am. J. Clin. Pathol.* 87(4):536-542.
- RIVERO-RODRÍGUEZ Z, HERNÁNDEZ A, BRACHO A, SALAZAR S, VILLALOBOS R. 2013. Prevalencia de microsporidios intestinales y otros enteroparásitos en pacientes con VIH positivo de Maracaibo, Venezuela. *Biomédica.* 33(4):538-545.
- RUGGIERO M, GORDON D, ORRELL T, BAILLY N, BOURGOIN T, BRUSCA R, CAVALIER-SMITH T, GUIRY M, KIRK P. 2015. A higher level classification of all living organisms. *PLoS ONE.* 10(4):e0119248.
- SPONSELLER J, GRIFFITHS J, TZIPORI S. 2014. The evolution of respiratory cryptosporidiosis: evidence for transmission by inhalation. *Clin. Microbiol. Rev.* 27(3):575-586.