
**CICLOSPORIASE INTESTINAL: RELATO DOS
PRIMEIROS CASOS HUMANOS NO ESTADO DE
GOIÁS, BRASIL**

Marco Tulio A García-Zapata,¹ Ricardo Sousa Manzi,¹ Ana Lucia Ruano Nieto,¹ Luciana Leite Pineli,² Márcia Livia Faria,¹ Fátima Helena Cecchetto,¹ Edson Sidião de Souza Júnior,¹ Maria Célia Otero³ e Alverne Passos Barbosa¹

RESUMO

A ciclosporiase é uma doença emergente em humanos, caracterizada por dores abdominais, náusea, anorexia e diarreia aquosa. Neste trabalho, são relatados os primeiros casos de ciclosporiase intestinal humana no Estado de Goiás, Brasil. O diagnóstico foi baseado no encontro de oocistos álcool-acidorresistentes de *Cyclospora cayetanensis* nas fezes de indivíduos infectados. Empregaram-se métodos por coloração coprológica para coccídios intestinais, com posterior indução da esporulação pelo bicromato de potássio a 2,5%. Este estudo pretende assinalar a presença da ciclosporiase no estado de Goiás, onde a doença acomete indivíduos imunocompetentes, assim como aqueles imunodeprimidos, particularmente com síndrome da imunodeficiência humana (Sida/Aids), e infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH/HIV). Destaca ainda o fato da existência de métodos viáveis e eficientes para o diagnóstico desse parasito através da microscopia de luz.

DESCRITORES: *Cyclospora cayetanensis*. Diagnóstico laboratorial. Ciclosporiase.

INTRODUÇÃO

O gênero *Cyclospora* sp foi criado em 1881 por Schneider e descrito pela primeira vez em 1870 por Eimer como um parasito presente no intestino de toupeiras (9). Taxonomicamente, *Cyclospora cayetanensis* pertence ao subfilo apicomplexa, à subclasse coccidia, ordem eucoccidiida e família Eimeriidae (13).

1 Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) / Universidade Federal de Goiás (UFG)

2 Hospital de Doenças Tropicais / SES – GO, Goiânia – GO.

3 Laboratório Central de Saúde Pública Giovanni Cysneiros / SES – GO, Goiânia – GO.

Endereço para correspondência: Caixa Postal 12911 – Setor Leste Vila Nova, 74643-970, Goiânia – GO, Brasil. E-mail: zapata@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em 27/12/2001. Revisto em 17/3/2003. Aceito em 22/4/2003.

A ciclosporíase foi reconhecida como doença em humanos somente a partir de 1977, quando foi observada em pacientes de Papua, Nova Guiné, onde provocava diarréia prolongada em viajantes (1).

Por muito tempo, os oocistos de *Cyclospora* sp foram erroneamente catalogados como cianobactérias (cyanobacterium like bodies – CLB) e principalmente como big-Cryptosporidium (*Cryptosporidium grande*), em virtude das suas características morfológicas semelhantes (7). Somente em 1991, através da esporulação *in vitro* e de estudos de microscopia eletrônica, foi esse parasito caracterizado como uma nova espécie de coccídio (9). Com o surgimento da pandemia da Sida/Aids ocasionada pelo VIH, o encontro desse coccídio intestinal começa a ser relatado no mundo com mais freqüência, catalogando-se desta forma como um novo agente emergente e oportunista. Estudos epidemiológicos assinalam que ele é amplamente distribuído no mundo, estando presente na América do Norte, Central e Sul, Caribe, Inglaterra, Oeste da Europa, África, Índia, sudeste da Ásia e Austrália (12).

Esse parasito é um protozoário intracelular obrigatório, aparentemente com desenvolvimento completo em um único hospedeiro (ciclo monoxeno). Os oocistos são esféricos e medem de 8 a 10µm de diâmetro. São excretados junto com as fezes de forma não esporulada, tendo no seu interior uma mórula ou glóbulos refráteis. Após duas semanas, os oocistos excretados tornam-se esporulados, resultando em dois esporocistos ovais (4,0-6,3µm), cada um com dois esporozoítos (1,2-9,0 µm) (9), sendo este o estágio infectante para a transmissão da ciclosporíase.

Apesar de episódios de ciclosporíase serem reportados freqüentemente em indivíduos imunossuprimidos (5, 11), especialmente VIH positivos e aidéticos, casos de gastroenterite por esse agente também já foram relatados em imunocompetentes (6, 11), além da existência de portadores assintomáticos (11).

A ciclosporíase é caracterizada pela presença de sintomas gastrointestinais, incluindo diarréia, flatulência, perda de peso, desconforto abdominal e náuseas (8). Em biópsia duodenal obtida de pacientes, os achados histopatológicos revelaram o aumento de células plasmáticas e dos números de linfócitos intra-epiteliais, assim como atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas (3). O espectro clínico varia principalmente de acordo com o estado imune do hospedeiro infectado. Em indivíduos com competência imune, a diarréia pode durar de duas a seis semanas, seguida da resolução espontânea do quadro (12). Naqueles com déficit imunitário, a diarréia é severa e recidivante (12), podendo estar associada com acometimento do trato biliar (11).

O diagnóstico laboratorial é usualmente baseado no encontro de oocistos em material fecal pela microscopia óptica (Figura 1), mas em virtude da limitação pelo exame a fresco foram desenvolvidos vários métodos por coloração coprológica, capazes de identificar esse parasito. Os oocistos da

Cyclospora cayetanensis possuem a característica de ser álcool-acidorresistentes nas colorações, sendo, por essa razão, utilizadas na rotina laboratorial, como técnicas-padrão para a demonstração do parasito, as colorações de Ziehl Neelsen modificado e/ou Kinyoun. Recentemente, outros métodos estão sendo usados, tais como a safranina modificada (14) e a microscopia de epifluorescência (autofluorescência) (2). Atualmente, estudos por biologia molecular, através da reação em cadeia pela polimerase (PCR) (10), estão sendo realizados para o diagnóstico desse parasito, porém seu uso é inviável na prática laboratorial de rotina. A análise morfométrica (ocular micrométrica) é um recurso indispensável para o diagnóstico diferencial entre o *Cryptosporidium parvum* (4-6 μm) e a *Cyclospora cayetanensis* (8-10 μm), em virtude das características morfológicas e tintoriais semelhantes entre essas duas espécies, sendo tal diferenciação essencial para a escolha do manejo terapêutico adequado (4). A solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 2,5%, com posterior visualização pelo microscópio óptico, é outro recurso para o diagnóstico da ciclosporíase, possibilitando a esporulação dos oocistos em torno de cinco a dez dias (Figura 2).

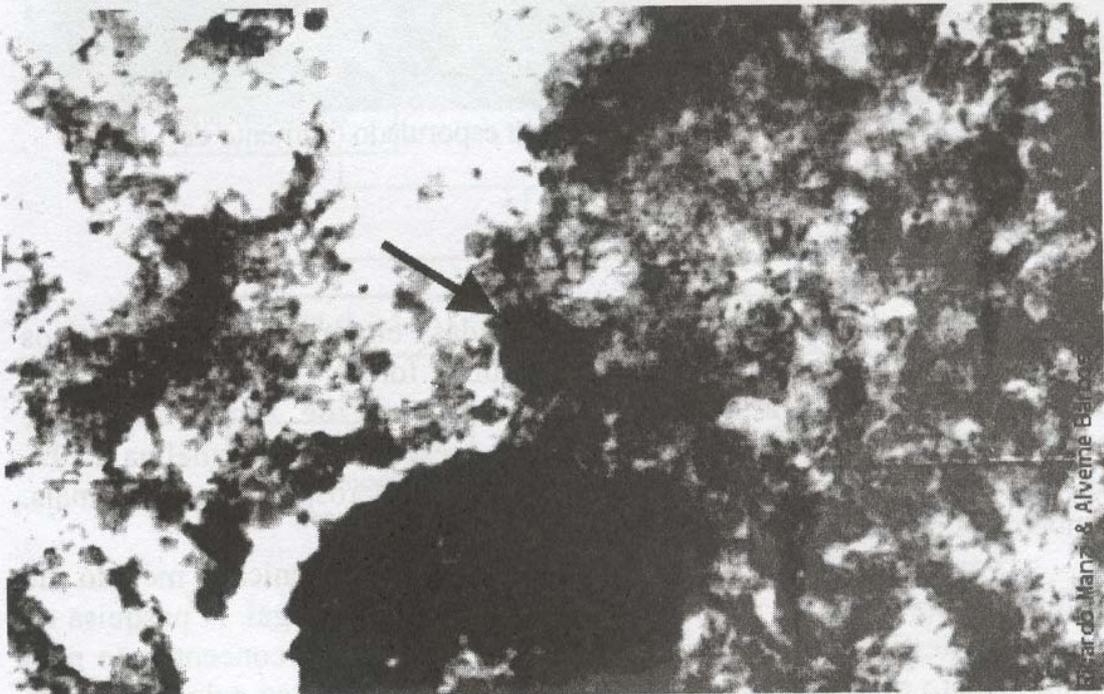


Figura 1. Oocisto de *Cyclospora cayetanensis* (aumento de 1.000 X) corado pela coloração de Kinyoun a quente

Neste trabalho pretendemos comunicar o registro dos três primeiros casos de ciclosporíase intestinal no Estado de Goiás, e particularmente salientar a importância dessa enfermidade em nosso meio como um agente patogênico aos humanos. Nosso intuito é que o estudo da ciclosporíase faça

parte da rotina clínica e laboratorial, em prol de uma melhor qualidade de vida dos pacientes infectados.



Figura 2. Oocisto de *Cyclospora cayentanensis* esporulado (aumento de 1.000 x) no exame direto

MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as amostras foram coletadas em recipientes plásticos individuais, identificadas e divididas da seguinte forma: parte da amostra foi mantida *in natura* para a realização das técnicas de rotina do exame parasitológico de fezes (EPF), e a outra parte preservada em formalina a 10% para a execução da pesquisa de coccídeos e microsporídios intestinais. Também foi realizada coprocultura de todas as amostras.

Para o EPF foram utilizadas as seguintes técnicas: método de Hoffman, Ponz e Janner, método de Faust e método de Rugai. A pesquisa de coccídeos intestinais foi realizada por meio da técnica de concentração pelo formol-acetato de etila, com posterior coloração coprológica pelo método de Kinyoun (a quente). Outro recurso utilizado para o diagnóstico foi solução aquosa de bicromato de potássio a 2,5% ($K_2Cr_2O_7$ a 2,5%), sendo os oocistos esporulados visualizados pela microscopia óptica. Para a pesquisa de microsporídios intestinais as amostras foram coradas pelo método de Weber Chromotrope Modificado (a quente). A metodologia é representada no fluxograma que mostra a dinâmica dos procedimentos utilizados para diagnóstico nos pacientes do estudo (Figura 3).

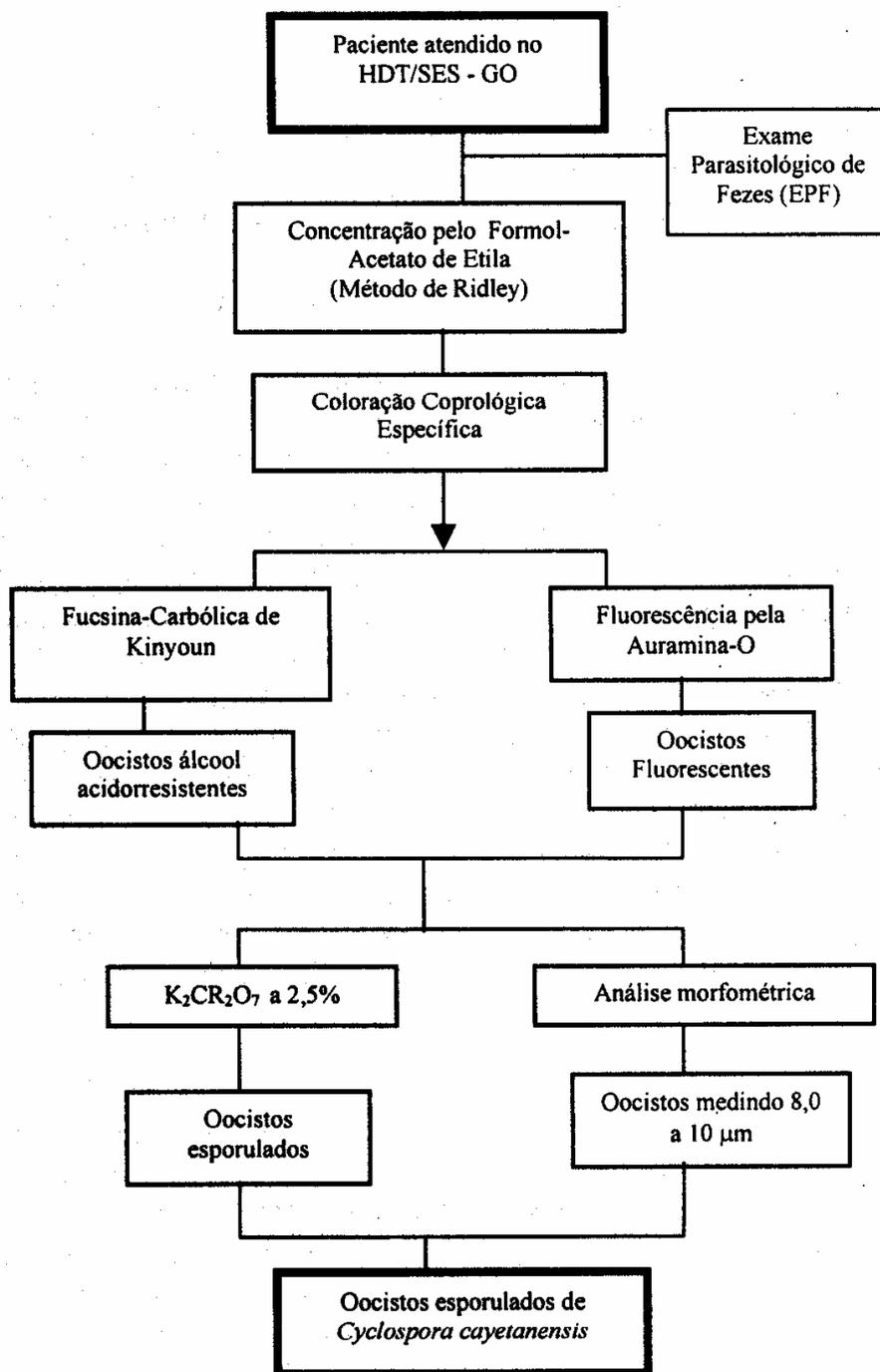


Figura 3. Fluxograma de procedimentos laboratoriais realizados para o diagnóstico de *Cyclospora cayetanensis*

RELATO DE CASOS

Caso 1

Um paciente de 47 anos, sexo masculino, casado, heterossexual, natural de Barro de Corda – MA, procedente de Aparecida de Goiânia – GO (região da grande Goiânia), previamente saudável, procurou atendimento no Hospital de Doenças Tropicais (HDT/SES-GO), queixando-se de dores abdominais, mialgia, emagrecimento, fadiga e presença de diarreia aquosa persistente, com restos alimentares sem muco, pus ou sangue por mais de duas semanas.

Durante a avaliação clínica (anamnese), houve relato de episódios prévios de diarreia de caráter fugaz. O paciente relatou a ocorrência de diarreia limitada no cão doméstico um mês antes do início dos sintomas. Houve a informação de trabalho na instalação hidráulica da rede de esgoto na grande Goiânia, sugerindo uma possível fonte de infecção, assim como de contato com galinhas no quintal de residência. Sorologia específica confirmou a ausência de infecção pelo VIH, e a imunocompetência foi observada pelas contagens de linfócitos TCD4+ (Tabela 1). Oocistos esféricos e ovalados de *Cyclospora cayetanensis* foram identificados pela técnica coprológica de coloração de Kinyoun (a quente) e confirmados por análise morfométrica e indução da esporulação pela solução aquosa de $K_2Cr_2O_7$ a 2,5%. Um mês após o término do tratamento específico da ciclosporíase com sulfametoxazol-trimetoprim (800 mg, via oral, de doze em doze horas por catorze dias) realizamos novos estudos clínicos e laboratoriais, utilizando as técnicas supracitadas. Os resultados obtidos confirmaram o sucesso do tratamento, com cura clínica e parasitológica.

Caso 2

Um paciente com 28 anos, sexo masculino, lavrador, casado, heterossexual, natural de Miracema do Tocantins – TO, procedente de Compressa – MT, negando promiscuidade e transfusão de hemoderivados, procurou atendimento médico no HDT/SES-GO, com queixa de diarreia aquosa profusa por mais de quinze dias, com odor fétido, desabsortiva, sem muco, pus ou sangue, além de dores musculares, inapetência, náuseas e vômitos. Ao exame físico o paciente apresentou-se desidratado, com perda de peso, palidez cutaneomucosa e presença de edema de membros inferiores, hepatomegalia e ascite. Na anamnese foram relatados perda de peso (cerca de 20 kg), vômitos e dispnéia aos pequenos esforços. Há um ano apresentava crise de diarreia aquosa com restos alimentares, recidivante e persistente por até quatro semanas, sem dor abdominal ou tenesmo. Pela sorologia específica constatou-se ser um caso de hepatite B crônica (Tabela 1). Na coloração das amostras fecais, foram identificados oocistos ovais e esféricos acidorresistentes

sugestivos de *Cyclospora* sp. A presença desse parasito foi confirmada posteriormente pela análise morfométrica (medindo de 8-10 µm) e pela indução da esporulação com solução aquosa de K₂Cr₂O₇ a 2,5%, instrumentos indispensáveis para o diagnóstico diferencial dessa parasitose. O tratamento específico da ciclosporíase nesse paciente foi à base de sulfametoxazol-trimetoprim (800 mg, via oral, de doze em doze horas por dez dias). Não houve remissão do quadro diarreico.

Tabela 1. Exames laboratoriais realizados nos pacientes com ciclosporíase

Exame	Resultados		
	CASO 1	CASO 2	CASO 3
Sorologia para HIV (ELISA)	SNR	SNR	SR
Sorologia para hepatites virais	SNR	SR (HBs Ag e anti-HBc total)	—
Anatomopatológico	—	Hepatite B crônica	—
Contagem de linfócitos T CD4+	758 céls./µl	74 céls./µl	1 cél./µl
Carga viral p/ VIH	—	—	3.400 cópias Log = 3,56
Coprocultura	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
Urinocultura	NR	NR	<i>Salmonella</i> sp.
Exame parasitológico de fezes	Ovos de <i>A. lumbricoides</i> Cistos de <i>G. lamblia</i> e <i>E. coli</i>	Larvas <i>S. strongyloides</i>	Negativo
Coloração para coccídios (Fucsina carbólica de Kinyoun)	Oocistos sugestivos de <i>Cyclospora</i> sp	Oocistos sugestivos de <i>Cyclospora</i> sp	Oocistos compatíveis com <i>Cryptosporidium parvum</i> (4,5 – 6,5µm) Raros oocistos sugestivos de <i>Cyclospora</i> sp
Análise morfométrica	<i>Cyclospora cayetanensis</i> (7,5 – 9,5µm)	<i>Cyclospora cayetanensis</i> (8,0 - 10 µm)	<i>Cryptosporidium parvum</i> (4,5 – 6,5µm) <i>Cyclospora cayetanensis</i> (7,5 – 8,5µm)
Bicromato de potássio a 2,5%	Oocistos de <i>Cyclospora cayetanensis</i> (10º dia)	Oocistos de <i>Cyclospora cayetanensis</i> (7º dia)	Oocistos de <i>Cyclospora cayetanensis</i> (8º dia)

Caso 3

Uma paciente de trinta anos, do sexo feminino, com 46,5 kg, casada, heterossexual, promíscua, natural e procedente de São Luis de Montes Belos — GO, procurou atendimento no HDT/SES-GO, com quadro de herpes genital extenso, pneumonia e diarreia persistente de três meses,

caracterizando-se por fezes aquosas em grande volume, com duração em cerca de dez dias e remissão de uma a duas semanas. O quadro evoluiu com emagrecimento intenso chegando à caquexia. Através de sorologia para VIH foi diagnosticada a Sida. Inicialmente, não foi registrado estudo específico para a causa da diarreia. No mês subsequente a paciente foi reinternada com diarreia severa e pneumopatia, esta assumida empiricamente como tuberculose devido a achados radiográficos. Houve a intercorrência de infecção do trato urinário por *Salmonella* sp (Tabela 1).

No Laboratório de Saúde Pública Lacen-Go, foram realizados o EPF e a concentração coprológica com formalina e acetato de etila, seguidos de coloração coprológica (auramina-O e Kinyoun) para a pesquisa de coccídeos, que revelaram a presença de estruturas esféricas e ovais sugestivas de oocistos de *Cryptosporidium* sp e/ou *Cyclospora* sp. O diagnóstico confirmatório foi efetivado no IPTSP/UFG, mediante a análise morfométrica, que evidenciou a maioria dos oocistos mensurados entre 4,5 e 6,5 µm (*Cryptosporidium* sp.), e raros oocistos mensurados com 7,5 a 8,5 µm (*Cyclospora* sp.). Posteriormente, seguindo nosso fluxograma metodológico, foi aplicada a solução de K₂Cr₂O₇ a 2,5%, sendo que, no 13º dia, foram constatados oocistos esporulados com dois esporocistos cada, o que confirmou a presença de *Cyclospora* sp no material coprológico. Essa paciente recebeu tratamento para criptosporidiose com azitromicina (1g/dia) e continuou fazendo uso do sulfametoxazol-trimetropim em doses profiláticas para *Pneumocystis carini*. Houve remissão do quadro diarreico após três dias de tratamento. Esse caso revela pela primeira vez no nosso meio a co-infecção intestinal de ciclosporíase associada a criptosporidiose.

COMENTÁRIOS

O presente relato de casos visa assinalar a presença da ciclosporíase no Estado de Goiás, relatada aqui, pela primeira vez, na Universidade Federal de Goiás em três pacientes (um deles procedente de outro estado) que foram atendidos no hospital de referência estadual do programa de doenças sexualmente transmissíveis (DST)/Sida/Aids. Em dois deles foram comprovadas infecções que predisõem a um estado de déficit imunitário (Sida, hepatite B crônica) e que poderiam ser um dos fatores etiopatogênicos responsáveis pelo quadro. Entretanto em um dos pacientes não houve aparentemente nenhum quadro debilitante associado, e sim o fato de exposição a prováveis fontes de infecção desse parasito (águas contaminadas e animais suspeitos).

A *Cyclospora cayetanensis* é um parasito emergente descoberto recentemente (9, 13); por isso é pouco conhecido pela classe médica, porém cada vez mais relatado em populações de pacientes imunossuprimidos, particularmente com Sida/Aids infectados pelo VIH (3, 5, 11). Entretanto, é

encontrado, também, em surtos que acometem inclusive indivíduos imunocompetentes (6, 11). Ademais provavelmente é associado à infecção advinda de determinados animais domésticos (12, 13), especialmente aves, revelando certa semelhança com o ciclo biológico de outros parasitos dessa mesma família, como os do gênero *Eimeria*. Esse fato coloca a necessidade de implantar maiores estudos sobre esse intrigante parasito – sobretudo no que se refere à dinâmica dos mecanismos de transmissão, em que se envolve o meio ambiente das populações de risco (físico e biológico) – e sobre sua real taxonomia.

Finalmente, deve ser destacado que o estudo desse parasito fica facilitado pela existência, no momento atual, de métodos viáveis, eficientes e baratos para o seu diagnóstico. Tais métodos empregam a microscopia de luz, com técnicas de coloração baseadas na detecção de oocistos álcool-acidorresistentes, associadas à morfometria, e técnicas de esporulação artificial.

AGRADECIMENTOS

À Unidade de Parasitologia do Laboratório Giovanni Cysneiros, Lacen/SES – GO, pelo apoio oferecido, na pessoa da Dra. Maria Célia Otelo, que nos forneceu importantes informações a respeito.

Apoio: CNPq – DF e CONCYTEG – FUNAPE / UFG.

ABSTRACT

Intestinal Cyclosporiasis: Report of the first human cases in the State of Goiás, Brazil.

Cyclosporiasis is an emerging disease in humans, characterized by abdominal pains, nausea, anorexia and aqueous diarrhea. In this work, we are reported the first cases of human intestinal Cyclosporiasis in Goiás, Brazil. The diagnosis was based on the finding of acid-resistant oocysts of *Cyclospora cayetanensis* in the infected individuals' feces, through coprological dye techniques for intestinal coccidian, with subsequent induction of the sporulation for the Bichromate of Potassium to 2,5%. This study aimed to half mark the presence of this entity in our environment, attacking immunocompetent hosts, as well as in those immunocompromised, particularly AIDS patients infected by HIV. Outstanding the fact of the existence of viable and efficient methods for the diagnosis of this parasite through the light microscopes.

KEYWORDS: *Cyclospora cayetanensis*. Laboratorial diagnosis. Cyclosporiasis.

REFERÊNCIAS

1. Ashford RW, Warhust DC, Reid GDF. Human Infection with cyanobacterium-like bodies. *Lancet* 341:1034, 1993.
2. Berlin OGW, Peter JB, Gagne C. et al. Autofluorescence and detection of *Cyclospora* oocysts. *Emerg Infect Dis* 4:127-128, 1998.
3. Brennan MK, MacPherson DW, Palmer J et al. Cyclosporiasis: a new cause of diarrhea. *Can Med Assoc J* 155:1293-1296, 1996
4. González-Ruiz A, Bendall RP. Size Matters: the use of the ocular micrometer in diagnostic parasitology. *Parasitol Today* 11:83-85, 1995.
5. Hart AS, Ridinger MT, Soudarajan R. et al. Novel Organism associated with chronic diarrhoea in AIDS. *Lancet* 335:169-170, 1990.
6. Ooi WWW, Zimmerman SK, Needham CA. Cyclospora species as a gastrointestinal pathogen in immunocompetent hosts. *J Clin Microbiol* 33:1267-1269, 1995.
7. Ortega YR, Charles RS, Gilman RH, et al. Cyclospora Species- A New Protozoan Pathogen Humans. *N Engl J Med* 328:1308-1312, 1993.
8. Ortega YR, Nagle R, Gilman RH et al. Pathologic and Clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of intracellular parasite life cycle stages. *J Infect Dis* 176:1584-1589, 1997.
9. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH. *Cyclospora cayetanensis*. *Adv Parasitol* 40:399-418, 1998.
10. Pieniżek NJ, Slemenda SB, da Silva AJ, et al. PCR confirmation of infection with *Cyclospora cayetanensis*. *Emerg Infect Dis* 2:342-343, 1996
11. Sifuentes-Osornio J, Porrás-Cortés G, Bendall RP et al. *Cyclospora cayetanensis* infection in patients with and without AIDS: Biliary Disease as Another Clinical Manifestation. *Clin Infect Dis* 21:1092-1097, 1995.
12. Soave R. Cyclospora: an overview. *Clin Infect Dis* 23:429-437, 1996.
13. Sterling CR, Ortega YR. *Cyclospora*: An enigma worth unraveling. *Emerg Infect Dis* 5:48-53, 1999.
14. Visvesvara GS, Moura H, Kovacs-Nace E. et al. Uniform Staining of *Cyclospora* oocysts in fecal smears by a modified safranin technique with microwave heating. *J Clin Microbiol* 35:730-733, 1997.