

Η κρυπτοσποριδίωση σε ασθενείς με AIDS μετά από την εφαρμογή της ισχυρής αντιρετροϊκής θεραπείας HAART

ΣΚΟΠΟΣ Η μελέτη της επίδρασης της ισχυρής αντιρετροϊκής θεραπείας HAART στη συχνότητα και στην έκβαση της κρυπτοσποριδίωσης σε ασθενείς με HIV-λοίμωξη/AIDS. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Σε 110 ασθενείς με HIV-1-λοίμωξη και διάρροια έγινε εξέταση κοπράνων, η οποία περιελάμβανε (α) παρασιτολογική εξέταση για ωάρια και παράσιτα, (β) καλλιέργεια για εντεροπαθογόνα και μύκητες και (γ) χρώσεις επιχρίσματος για *Cryptosporidium* και *Microsporidium* spp. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Σε 4 ασθενείς από τους 110 (ποσοστό 3,6%) ανιχνεύθηκαν ωοκύστες του *Cryptosporidium*. Στους 3 ασθενείς το HIV-1 RNA (ιικό φορτίο) και ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων πριν από την έναρξη της αγωγής με HAART κυμαίνονταν, αντίστοιχα, από $244,488 \times 10^3$ – $842,500 \times 10^3$ αντίγραφα/mL και από 6–25 CD4 λεμφοκύτταρα/μL. 26–29 (διάμεση χρονική περίοδος 28) ημέρες μετά από την έναρξη της θεραπείας υποχώρησαν κλινικά οι διάρροιες και εξαφανίστηκαν οι ωοκύστες από τα κόπρανα, ενώ στον τέταρτο ασθενή, που ήταν υπό HAART, αυτό συνέβη την 8η μέρα από την έναρξη του διαρροϊκού συνδρόμου. Το ιικό φορτίο και ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων την περίοδο απαλλαγής από την κρυπτοσποριδίωση κυμαίνονταν από 70–6.435 αντίγραφα/mL και από 10–51 CD4 λεμφοκύτταρα/μL, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τον τέταρτο ασθενή τη στιγμή της διάγνωσης ήταν $2,602 \times 10^3$ αντίγραφα/mL και 532 CD4 λεμφοκύτταρα/μL. Κατά τη διάρκεια παρακολούθησης των 4 ασθενών (διάμεση χρονική περίοδος 10 μήνες) δεν διαπιστώθηκε υποτροπή της κρυπτοσποριδίωσης. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** (α) Η σοβαρότητα και η διάρκεια της διάρροιας συνδέονται καθαρά με τον αριθμό των CD4 λεμφοκυττάρων (βαρύ διαρροϊκό σύνδρομο συσχετίστηκε με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων $< 50/\mu\text{L}$, ενώ ήπιο διαρροϊκό σύνδρομο, μικρής διάρκειας, συσχετίστηκε με υψηλό αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων, $> 500/\mu\text{L}$). (β) Η θεαματική μείωση του ιικού φορτίου με τη χρήση HAART, ακόμα και με μικρή ή καμία αύξηση των CD4 λεμφοκυττάρων, οδηγεί σε πλήρη εξάλειψη των ωοκυστεων του *Cryptosporidium* από τα κόπρανα και κλινική αποκατάσταση του διαρροϊκού συνδρόμου, χωρίς τη χορήγηση ειδικής αντιμικροβιακής αγωγής. (γ) Η καλύτερη πρόληψη και θεραπεία της κρυπτοσποριδίωσης σε ασθενείς με HIV-λοίμωξη είναι η χορήγηση HAART.

Η κρυπτοσποριδίωση προκαλείται από το πρωτόζωο *Cryptosporidium*, το οποίο μεταδίδεται με τη λήψη των ωοκυστεων του παρασίτου, που αποβάλλονται με τα κόπρανα των μολυσμένων ανθρώπων ή ζώων. Ως εκ τούτου, η λοίμωξη μεταδίδεται από άτομο σε άτομο και από ζώα σε άνθρωπο διαμέσου μολυσμένου ύδατος και τρο-

φών. Οι ωοκύστες φθάνουν στο λεπτό έντερο, ρήγνυνται και ελευθερώνουν 4 σποροζώιτες, οι οποίοι είναι κινητοί και εισβάλλουν στα εντεροκύτταρα. Όλα τα στάδια ανάπτυξης συμβαίνουν μέσα σε ένα παρασιτοφόρο κενοτόπιο, όχι βαθιά μέσα στο κύτταρο, περιοριζόμενα σε μια ενδοκυτταρική, αλλά εξωκυτταροπλασματική θέση. Το πα-

Κ. Τζανέτου,¹
Ε. Σαμπατάκου,²
Μ. Χίνη,²
Ε. Καυκούθα,¹
Ι. Περδίοις,²
Ε. Δοθαψάκη,¹
Α. Στρούζα,¹
Μ. Λεηέκης,²
Π. Γαργαλιάνος,²
Ε. Μαθήμου-Λαδά¹

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο,
²Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων,
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο
Αθηνών «Γ. Γεννηματάς»

Cryptosporidiosis in AIDS patients
after application of highly active
antiretroviral therapy

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

AIDS
Αναστολείς της πρωτεάσης
HAART
Κρυπτοσποριδίωση

Υποβλήθηκε 28.3.2001
Εγκρίθηκε 2.4.2001

ράσιπο πολλαπλασιάζεται σε 8 μεροζώιτες, οι οποίοι ρήγνυται έξω από το κύτταρο του ξενιστή και μολύνουν άλλα κύτταρα. Μερικοί μεροζώιτες διαφοροποιούνται σε μικρο- και μακρογαμετοκύτταρα, τα οποία δίνουν τις ωκύστεις, που αποβάλλονται με τα κόπρανα.

Σε ανοσοεπαρκή άτομα η κρυπτοσποριδίωση εκδηλώνεται με οξεία, αυτοπεριοριζόμενη διαρροϊκή νόσο, διάρκειας 7–14 ημερών. Έχουν αναφερθεί^{1,2} επιδημίες από μολυσμένο πόσιμο νερό και μολυσμένα τρόφιμα. Το *Cryptosporidium* είναι κυρίως αίτιο διάρροιας στα παιδιά των αναπτυσσόμενων χωρών και η λοίμωξη συχνά συνδέεται με υποσιτισμό.³

Αν και η κρυπτοσποριδίωση στους ασθενείς με AIDS συχνά εκδηλώνεται με χρόνιο διαρροϊκό σύνδρομο, δυσαπορρόφηση και απώλεια βάρους, υπάρχει ένα σημαντικό εύρος κλινικών εκδηλώσεων της λοίμωξης. Έτσι, έχουν τυποποιηθεί 4 κλινικές κατηγορίες κρυπτοσποριδίωσης συνδεδεμένης με AIDS: (α) νόσος προσομοιάζουσα με χολέρα (33%), (β) χρόνια διαρροϊκή νόσος (36%), (γ) διαλείπουσα διαρροϊκή νόσος (15%) και (δ) παροδική διαρροϊκή νόσος (15%).⁴ Ένα από τα χαρακτηριστικά της κρυπτοσποριδίωσης είναι η αντίσταση στα αντιμικροβιακά φάρμακα. Το γεγονός αυτό έχει αποδοθεί στην ενδοκυτταρική, αλλά εξωκυτταροπλασματική θέση του παρσίτου, καθώς το παρασιτοφόρο κενωτόπιο φαίνεται ότι το προστατεύει από τα αντιμικροβιακά φάρμακα.⁵ Μερικά αντιβιοτικά που εμφανίζουν κάποιου βαθμού αποτελεσματικότητα έναντι του *Cryptosporidium* και έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως είναι η azithromycin, η paromomycin, ο συνδυασμός paromomycin και azithromycin,⁶ καθώς και η nitazoxanide, που έχει τελευταία δοκιμαστεί.

Η θεραπεία της HIV-1-λοίμωξης άρχισε με τη χορήγηση ενός νουκλεοσιδικού αναλόγου, της zidovudine (AZT), και συνεχίστηκε με την εφαρμογή συνδυασμού 2 νουκλεοσιδικών αναλόγων, μέχρι την ανακάλυψη και κλινική εφαρμογή των αναστολέων της HIV-1 πρωτεάσης.^{7,8} Ο συνδυασμός ενός φαρμάκου της ομάδας αυτής (PI) με 2 νουκλεοσιδικά ανάλογα, αναστολείς της HIV-1 αναστροφής μεταγραφάσης (NRTI), αποτέλεσε τον κλασικό ισχυρό αντιρετροϊκό συνδυασμό με την ονομασία HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy).

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η εκτίμηση της επίδρασης του τριπλού συνδυασμού αντιρετροϊκών φαρμάκων (1 PI+2 NRTI) στη συχνότητα, στην κλινική και εργαστηριακή πορεία, καθώς και στην έκβαση της κρυπτοσποριδίωσης σε ασθενείς με AIDS.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Στη διάρκεια των ετών 1998–2000 έγινε εξέταση κοπράνων σε 110 ασθενείς με HIV-1-λοίμωξη. Η εξέταση περιελάμβανε (α) άμεσο παρασκεύασμα για πυσσφαίρια και ερυθρά, (β) παρασιτολογική εξέταση για κύστεις ή τροφοζώιτες πρωτοζώων και ωάρια ή προνύμφες ελμίνθων, (γ) καλλιέργεια για εντεροπαθογόνα σε κοινά και εκλεκτικά υλικά (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* και *Vibrio* spp), (δ) τροποποιημένη οξεάντοχη χρώση επιχρίσματος κοπράνων για οξεάντοχες ωκύστεις (*Cryptosporidium*, *Isospora belli* και *Cyclospora*) και (ε) τριχρωμή μπλε χρώση, καθώς και Quick-Hot Gram-chromotrope χρώση για *Microsporidia*.

Σε κανέναν από τους ασθενείς, στους οποίους το αίτιο της διάρροιας βρέθηκε να είναι το *Cryptosporidium*, δεν έγινε ενδοσκόπηση του ανώτερου γαστρεντερικού, κολονοσκόπηση ή ορθοσιγμοειδοσκόπηση και λήψη υλικού βιοψίας.

Στη μελέτη περιελήφθη και ένας ασθενής με AIDS και χρόνια κρυπτοσποριδίωση από παλαιότερη ομάδα μελέτης,⁹ πριν από την κλινική εφαρμογή των αναστολέων της πρωτεάσης, ο οποίος επέζησε και υποβλήθηκε σε αγωγή με HAART.

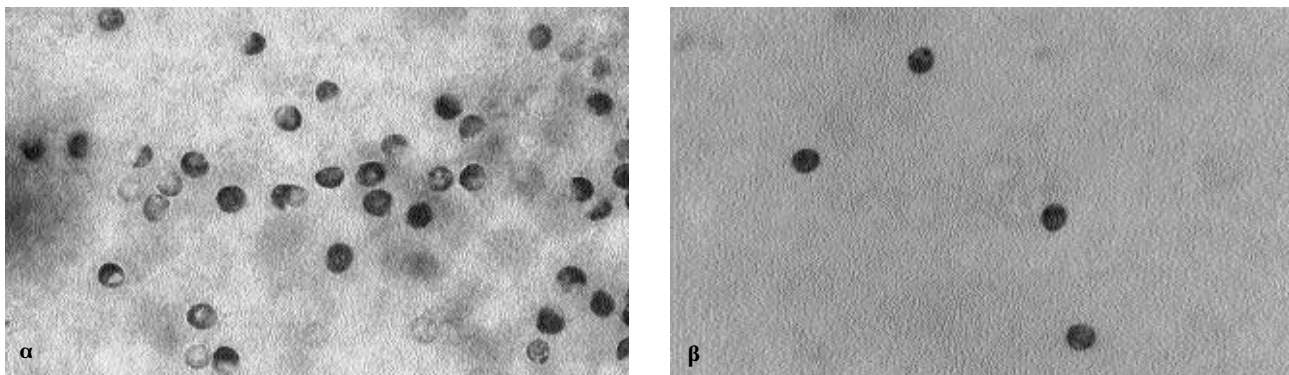
Σε όλους τους ασθενείς γινόταν, ως εξέταση ρουτίνας, μέτρηση του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων και του HIV-1 RNA (ιικού φορτίου) για την παρακολούθησή τους, αλλά και ως δεικτών αποτελεσματικότητας της αντιρετροϊκής θεραπείας.

Η αντιρετροϊκή αγωγή των ασθενών περιελάμβανε έναν αναστολέα της HIV-1 πρωτεάσης (1 PI) και 2 νουκλεοσιδικά ανάλογα αναστολείς της HIV-1 αναστροφής μεταγραφάσης (NRTI). Στους ασθενείς με κρυπτοσποριδίωση, μετά την έναρξη της αντιρετροϊκής αγωγής, γινόταν εξέταση επιχρίσματος κοπράνων με τροποποιημένη Ziehl-Nielsen για ωκύστεις κάθε 7 ημέρες.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σε 4 ασθενείς (2 άνδρες, 2 γυναίκες), ηλικίας 26–50 (μέσος όρος 40,25) ετών, από τους 110 που εξετάστηκαν (ποσοστό 3,6%), ανιχνεύθηκαν στα κόπρανα ωκύστεις *Cryptosporidium* (εικ. 1). Κανένας ασθενής δεν βρέθηκε με μικροσποριδίωση. Άλλα αίτια διάρροιας που διαγνώστηκαν (βακτήρια, μύκητες ή παράσιτα) δεν περιλαμβάνονταν στη μελέτη. Από την καλλιέργεια και την παρασιτολογική εξέταση των κοπράνων δεν βρέθηκε να συνυπάρχει με το *Cryptosporidium* άλλο αίτιο της διάρροιας.

Οι 3 από τους 4 ασθενείς με κρυπτοσποριδίωση είχαν επιμένουσες διάρροιες διάρκειας >30 ημερών, με μεγάλο αριθμό κενώσεων, 5–9/ημέρα (μέσος αριθμός 6,6/ημέρα) και απώλεια βάρους 6–14 kg/μήνα (μέση απώλεια 9 kg/μήνα). Η ανεύρεση των ωκυστεων και το βαρύ και χρόνιο διαρροϊκό σύνδρομο, συνοδευόμενο από μεγάλη απώλεια βάρους, έθεσαν την υποψία HIV-1-λοίμωξης, η οποία στη συνέχεια επιβεβαιώθηκε εργαστηριακά. Το ιικό φορτίο και ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων, αμέσως μετά τη διάγνωση και πριν από την



Εικόνα 1. (α) Μεγάλος αριθμός οξεάντοχων ωοκύστεων *Cryptosporidium* μεγέθους 4–6 μm σε επίχρισμα κοπράνων ασθενούς της μελέτης. (β) Σημαντική μείωση του αριθμού των ωοκύστεων στα κόπρανα του ίδιου ασθενούς κατά την παρακολούθησή του, μέχρι πλήρους εξαφάνισης αυτών και υποχώρησης του διαρροϊκού συνδρόμου. (Τροποποιημένη οξεάντοχη χρώση $\times 1.000$).

έναρξη της θεραπείας, κυμαίνονταν αντίστοιχα από $244,488 \times 10^3$ – $842,500 \times 10^3$ (μέση τιμή $455,189 \times 10^3$) αντίγραφα/mL και από 6–25 (μέση τιμή 18,3) CD4 λεμφοκύτταρα/μL. 26–29 ημέρες (διάμεση χρονική περίοδος 28 ημέρες) μετά από την έναρξη της θεραπείας υποχώρησαν κλινικά οι διάρροιες και στα κόπρανα των 3 ασθενών δεν ανιχνεύονταν ωοκύστες του πρωτοζώου. Το ιικό φορτίο και ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων την περίοδο της απαλλαγής από την κρυπτοσποριδίωση κυμαίνονταν, αντίστοιχα, από 70–6.435 (μέση τιμή 2.400) αντίγραφα/mL και από 10–51 (μέση τιμή 29,3) CD4 λεμφοκύτταρα/μL. Κανείς από τους 3 ασθενείς,

πλην της αντιρετροϊκής αγωγής και της χημειοπροφύλαξης για *P. carinii* και MAC (*Mycobacterium Avium Complex*), δεν έλαβε azithromycin, paromomycin, συνδυασμό αυτών ή nitazoxanide. Οι ασθενείς, μετά την υποχώρηση του διαρροϊκού συνδρόμου, επανέκτησαν βάρος (μέση τιμή αύξησης του βάρους 6,7 kg/μήνα) και 6–18 μήνες μετά την εξάλειψη της λοίμωξης (διάμεση χρονική περίοδος 11 μήνες) δεν παρατηρήθηκε υποτροπή (πίν. 1). Ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων 6, 9 και 18 μήνες μετά από την υποχώρηση της κρυπτοσποριδίωσης ήταν, αντίστοιχα, 113, 193 και 127 (μέση τιμή 144,3) CD4 λεμφοκύτταρα/μL (πίν. 2), ενώ το ιικό

Πίνακας 1. Ασθενείς με επιμένουσες διάρροιες από *Cryptosporidium* και πρώτη διάγνωση HIV-νόσο.

	Ασθενείς			Μέσες τιμές στο σύνολο των ασθενών
	1	2	3	
Μέσος αριθμός διαρροϊκών κενώσεων/ημέρα	5	9	6	6,6
Απώλεια βάρους (kg)/μήνα	14	7	6	9
HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL πριν από την έναρξη της θεραπείας	842.500/6	278.581/24	244.488/25	455.189/18,3
Αντιρετροϊκή θεραπεία	AZT/3TC/IDV	d4T/3TC/IDV	AZT/3TC/IDV AZT/3TC/NLF	–
Χρονικό διάστημα (σε ημέρες) –μετά την έναρξη της αντιρετροϊκής θεραπείας– μη ανίχνευσης των ωοκύστεων του παρασίτου	28	29	26	27,7
HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/ αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL την περίοδο απαλλαγής από την κρυπτοσποριδίωση	6.435/10	70/51	697/27	2.400/29,3
Επανάκτηση βάρους (kg)/μήνα αμέσως μετά την απαλλαγή από το διαρροϊκό σύνδρομο	8	7,5	4,5	6,7
Μήνες μετά την εξάλειψη της λοίμωξης χωρίς υποτροπή	6	9	18	11

Πίνακας 2. Συγκριτική μεταβολή του ιικού φορτίου και του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων πριν και μετά την έναρξη της αγωγής HAART στους 3 ασθενείς με AIDS και κρυπτοσποριδίωση.

Ασθενείς	Πριν από την έναρξη της θεραπείας	Μετά την έναρξη της θεραπείας	
	HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL	Μήνες*	HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL
1	842.500/6	6	<50/113
2	278.581/24	9	<50/193
3	244.488/25	18	<50/127

* Μήνες μετά την εξέλιξη της κρυπτοσποριδίωσης, με τις αντίστοιχες τιμές του ιικού φορτίου και του αριθμού του CD4 λεμφοκυττάρων

φορτίο σε όλες τις περιπτώσεις ήταν κάτω από τα ανιχνευόμενα επίπεδα (<50 αντίγραφα/mL).

Στην 4η ασθενή με HIV-λοίμωξη διαγνώστηκε κρυπτοσποριδίωση ως πρώτη καιροσκοπική λοίμωξη, ενώ ελάμβανε αντιρετροϊκή αγωγή (AZT/3TC/IDV). Η ασθενής αυτή είχε ιικό φορτίο $2,602 \times 10^3$ αντίγραφα/mL και αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων 532/μL. Το διαρροϊκό της σύνδρομο ήταν ήπιο (3–4 κενώσεις την ημέρα) και μικρής διάρκειας. Οκτώ ημέρες μετά την έναρξη του διαρροϊκού συνδρόμου εξαφανίστηκαν οι ωοκύστες του πρωτοζώου από τα κόπρανα και κλινικά υποχώρησαν πλήρως οι διάρροιες, χωρίς ειδική αντιμικροβιακή θεραπεία, πλην της αντιρετροϊκής αγωγής που ελάμβανε η ασθενής (πίν. 3). Επτά μήνες μετά την υποχώρηση του διαρροϊκού συνδρόμου, χωρίς καμία υποτροπή, δεν ανιχνεύθηκε HIV-1 RNA (<50 αντίγραφα/mL), ενώ τα CD4 λεμφοκύτταρα παρουσίασαν μικρή ελάττωση του απόλυτου αριθμού (377 CD4 λεμφοκύτταρα/μL).

Στον ασθενή με το AIDS και τη χρονία κρυπτοσποριδίωση, από την πρώτη ομάδα των ασθενών, που μελετήθηκαν⁹ πριν από την κλινική εφαρμογή των αναστολέων της πρωτεάσης, και ο οποίος έλαβε HAART, δεν παρατηρήθηκε ουσιαστική βελτίωση από το διαρροϊκό σύνδρομο ούτε έπαυσαν να ανιχνεύονται ωοκύστες στα κόπρανα. Παρά την αρχική μείωση του ιικού φορτίου και την αύξηση των CD4 λεμφοκυττάρων (πίν. 4), στην πορεία της νόσου υπήρχαν ενδείξεις αντοχής του ιού (περαιτέρω μείωση των CD4 λεμφοκυττάρων και αύξηση του ιικού φορτίου), χωρίς τη δυνατότητα γονοτυπικής επιβεβαίωσης και ο ασθενής έλαβε τετραπλό συνδυασμό αντιρετροϊκής αγωγής (d4T/3TC/SQV/RTV). Παρά το νέο σχήμα, ο ασθενής ουδέποτε απαλλάχθηκε από τη λοίμωξη και τελικά κατέληξε με σύνδρομο απίσχνασης (wasting syndrome) οφειλόμενο στην κρυπτοσποριδίωση.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ένα από τα χαρακτηριστικά της κρυπτοσποριδίωσης είναι η αντοχή στα αντιμικροβιακά φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της (azithromycin, paromomycin

Πίνακας 3. Ασθενής με HIV-λοίμωξη υπό αντιρετροϊκή αγωγή και ήπιο διαρροϊκό σύνδρομο από *Cryptosporidium* ως πρώτη καιροσκοπική λοίμωξη.

Αριθμός διαρροϊκών κενώσεων/ημέρα	3–4
HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL την περίοδο ανίχνευσης των ωοκύστεων του παρασίτου	$2,602 \times 10^3/532$
Αντιρετροϊκή θεραπεία	AZT/3TC/IDV
Ημέρες μετά την έναρξη του διαρροϊκού συνδρόμου μη ανίχνευσης των ωοκύστεων του παρασίτου στα κόπρανα	8
Μήνες μετά την ίαση χωρίς υποτροπή	7

Πίνακας 4. Ασθενής με AIDS και χρονία κρυπτοσποριδίωση από την προ της εφαρμογής των αναστολέων της πρωτεάσης εποχή, που υποβλήθηκε σε ισχυρή αντιρετροϊκή αγωγή (HAART).

HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL αμέσως πριν από την έναρξη HAART	$147 \times 10^3/26$
Αντιρετροϊκή αγωγή προ και μετά την εισαγωγή αναστολέων της πρωτεάσης	AZT AZT/3TC AZT/3TC/SQV AZT/3TC/IDV d4T/3TC/SQV/RTV
HIV-1 RNA αντίγραφα/mL/αριθμός CD4 λεμφοκυττάρων/μL μετά τη θεραπεία HAART	$73,8 \times 10^3/42$
Μέσος αριθμός κενώσεων/ημέρα	5
Απώλεια βάρους (kg)/μήνα	5
Έκβαση	Θάνατος από σύνδρομο απίσχνασης (wasting syndrome) οφειλόμενο στην κρυπτοσποριδίωση

ή nitazoxanide) και η έλλειψη ειδικής αποτελεσματικής αντιπαρασιτικής αγωγής, με αποτέλεσμα η λοίμωξη από *Cryptosporidium* να συμβάλλει σημαντικά στη νοσηρότητα και θνητότητα των ατόμων με HIV-λοίμωξη.

Η αντιρετροϊκή θεραπεία με συνδυασμό δύο νουκλεοσιδικών αναλόγων αναστολέων της HIV-1 αναστροφής

μεταγραφάσης προκαλεί μείωση του ιικού φορτίου και αύξηση των CD4 λεμφοκυττάρων, με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου και της εμφάνισης των καιροσκοπικών λοιμώξεων.¹⁰ Ο συνδυασμός όμως αυτός δεν είναι αρκετός για να επιτύχει μακράς διάρκειας μείωση του ιικού φορτίου κάτω από τα ανιχνεύσιμα επίπεδα, που είναι ο τελικός σκοπός της θεραπείας, ούτε μπορεί να αναστρέψει κάποια εγκατασταθείσα καιροσκοπική λοίμωξη.¹¹

Σε προηγούμενη μελέτη μας,⁹ όλοι οι ασθενείς που ελάμβαναν διπλό συνδυασμό αντιρετροϊκής αγωγής (2 NRTI) μαζί με azithromycin ή paromomycin ουδέποτε απαλλάχθηκαν από την κρυπτοσποριδίωση.

Τα τελευταία χρόνια, η θεραπεία της HIV-λοίμωξης άλλαξε με την προσθήκη των αναστολέων της HIV-1 πρωτεάσης, οι οποίοι προκαλούν μείωση του ιικού φορτίου, αύξηση των CD4 και CD8 λεμφοκυττάρων και βελτίωση της λειτουργίας τους και είναι δραστικοί σε κύτταρα χρονίως μολυσμένα με τον HIV-1, όπως τα μακροφάγα.¹² Οι αναστολείς της πρωτεάσης προκαλούν πιο παρατεταμένη ιολογική και ανοσιακή απάντηση, όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με νουκλεοσιδικά ανάλογα.¹³

Η εφαρμογή της τριπλής αντιρετροϊκής αγωγής HAART έχει προκαλέσει θεαματική μείωση των καιροσκοπικών λοιμώξεων.

Στη μελέτη μας αυτή, από τον πλήρη εργαστηριακό έλεγχο 110 ασθενών με HIV-λοίμωξη και διαρροϊκό σύνδρομο, βρέθηκε ως αίτιο της διάρροιας το *Cryptosporidium* μόνο σε 4 ασθενείς (3,6%). Το ποσοστό αυτό είναι μερικώς π्लाσματικό, διότι μεγάλος αριθμός των διαρροϊών ήταν φαρμακευτικής αιτιολογίας, αποτέλεσμα της ισχυρής αντιρετροϊκής αγωγής (HAART). Η μείωση αυτή της κρυπτοσποριδίωσης, συγκριτικά με το ποσοστό 10% που βρέθηκε σε προηγούμενη μελέτη μας,⁹ πριν από την εφαρμογή των αναστολέων της πρωτεάσης, δεν είναι στατιστικώς σημαντική.

Οι 3 ασθενείς με τις επιμένουσες διάρροιες διάρκειας >30 ημερών, το μεγάλο αριθμό διαρροϊκών κενώσεων (μέση τιμή 6,6 κενώσεις/ημέρα) και τη μεγάλη απώλεια βάρους (μέση τιμή 9 kg/μήνα) είχαν αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <50/μL (μέση τιμή 18,3 CD4 λεμφοκύτταρα/μL). Κατά τον Griffiths,¹⁴ η πλέον βαριά κρυπτοσποριδίωση παρατηρείται σε ασθενείς με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <50/μL. Σοβαρή λοίμωξη από *Cryptosporidium*, με επιμένουσες διάρροιες και απώλεια βάρους, σε προηγούμενη μελέτη μας⁹ συσχετίστηκε με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <100/μL (μέση τιμή 50 CD4 λεμφοκύτταρα/μL). Η τέταρτη ασθενής, με το ήπιο διαρροϊκό σύνδρομο, το οποίο υποχώρησε σε 8 ημέρες, εί-

χε αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων >500/μL. Κατά τους Flanigan et al,¹⁵ ασθενείς με κρυπτοσποριδίωση και αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων >180/μL απαλλάσσονται αυτόματα από τη λοίμωξη μέσα σε 4 εβδομάδες, ενώ 87% των ασθενών με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <140/μL εμφανίζουν χρονία κρυπτοσποριδίωση. Όπως προκύπτει και από τις δικές μας περιπτώσεις, η σοβαρότητα και η διάρκεια των κλινικών συμπτωμάτων συνδέονται καθάρως με τον αριθμό των CD4 λεμφοκυττάρων. Παρόλα αυτά, άλλοι συγγραφείς,⁴ οι οποίοι διακρίνουν το διαρροϊκό σύνδρομο σε χρόνιο, προσομοιάζον με χολέρα, υποτροπιάζον και παροδικό ή αυτοπεριοριζόμενο, δεν συσχετίζουν την κλινική κατηγορία με τον αριθμό των CD4 λεμφοκυττάρων, ενώ η αναφερόμενη επιβίωση δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των κλινικών κατηγοριών κρυπτοσποριδίωσης.

Η χορήγηση HAART (1 PI+2 NRTI) και στους 3 ασθενείς με το βαρύ διαρροϊκό σύνδρομο προκάλεσε θεαματική μείωση του ιικού φορτίου μετά από ένα περίπου μήνα (διάμεση χρονική περίοδος 28 ημέρες), η οποία συνέπεσε με την εξαφάνιση των ωοκύστεων του *Cryptosporidium* από τα κόπρανα και την κλινική υποχώρηση του διαρροϊκού συνδρόμου. Ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων στον έναν ασθενή παρέμεινε σταθερός, στον άλλο παρουσίασε μικρή αύξηση, ενώ στον τρίτο διπλασιάστηκε (μέση τιμή αύξησης 11 CD4 λεμφοκύτταρα/μL). Η τέταρτη ασθενής, και ενώ ελάμβανε HAART, παρουσίασε ήπιο διαρροϊκό σύνδρομο, το οποίο υποχώρησε αυτόματα σε 8 ημέρες με σύγχρονη εξάλειψη των ωοκύστεων του πρωτοζώου από τα κόπρανα. Σε μεμονωμένες περιπτώσεις¹⁶ ή σε μικρές σειρές ασθενών,^{17,18} έχει αναφερθεί υποχώρηση της διάρροιας και εξαφάνιση των ωοκύστεων του *Cryptosporidium*, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από την έναρξη της θεραπείας με αναστολείς της πρωτεάσης. Έτσι, οι Carr et al¹⁷ υποστηρίζουν ότι η ισχυρή αντιρετροϊκή αγωγή (HAART) καταστέλλει μάλλον, παρά εκριζώνει το παράσιτο, οι δε Miao et al¹⁸ αναφέρουν ότι θεραπεία ενός μήνα καταστέλλει μόνο τη λοίμωξη από *Cryptosporidium*, ενώ αγωγή 6 μηνών μπορεί να την εκριζώσει. Παρόλα αυτά, στη δική μας μελέτη, σε διάρκεια παρακολούθησης κατά μέσο όρο 10 μηνών, δεν παρουσιάστηκε μέχρι σήμερα καμία υποτροπή της διάρροιας.

Ο μηχανισμός εξάλειψης των ωοκύστεων από τα κόπρανα και υποχώρησης του διαρροϊκού συνδρόμου κλινικά, μόνο με τη μείωση του ιικού φορτίου, χωρίς καμία ή μικρή αύξηση των CD4 λεμφοκυττάρων, δεν είναι γνωστός. Ο πιο πιθανός μηχανισμός είναι η ανοσολογική αποκατάσταση, αριθμητικά ή λειτουργικά.¹⁷ Η HIV-λοίμωξη προκαλεί ελάτπωση του αριθμού των CD4 και του λοιπού ρεπερτορίου των T-λεμφοκυττάρων (T-cell reper-

toire), τα οποία δεν αποκαθίστανται αμέσως από την αντιρετροϊκή αγωγή.¹⁹ Η αποκατάσταση των απωλεσθέντων Τ-κυττάρων μοιάζει απίθανη (τούτο είναι εμφανές στη μελέτη μας για τα CD4 λεμφοκύτταρα), διότι η απάντηση στην αντιρετροϊκή θεραπεία για τους 3 ασθενείς έγινε σχετικά γρήγορα, ένα μήνα αργότερα (διάμεση χρονική περίοδος 28 ημέρες).

Η καταστολή του πολλαπλασιασμού του HIV-1 χωρίς ανοσολογική βελτίωση φαίνεται απίθανο να οδηγήσει σε υποχώρηση της κρυπτοσποριδίωσης. Η διαρκής κλινική απάντηση εξαρτάται από τη σταθερή βελτίωση τόσο της ανοσιακής λειτουργίας όσο και του αριθμού των Τ-λεμφοκυττάρων παρά από τη συνεχή καταστολή του πολλαπλασιασμού του HIV-1. Στη μελέτη μας, οι 3 ασθενείς είχαν πλήρη καταστολή του πολλαπλασιασμού του ιού σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα και μια μέση τιμή αύξησης του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων κατά 115 CD4 λεμφοκύτταρα/μL, μετά από μια διάμεση χρονική περίοδο 11 μηνών. Η 4η ασθενής, παρά τη μη ανίχνευση του ιικού φορτίου 7 μήνες αργότερα, παρουσίασε μικρή ελάττωση του απόλυτου αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων.

Η μη εμφάνιση υποτροπής της κρυπτοσποριδίωσης μέχρι τώρα οφείλεται πιθανά στη λειτουργική αλλά και τη διαφανόμενη αριθμητική βελτίωση των CD4 λεμφοκυττάρων, η διαταραχή της λειτουργίας των οποίων προηγείται της ελάττωσης του αριθμού των στο περιφερικό αίμα.¹⁹

Η χορήγηση HAART (1 PI+2 NRTI) ή άλλου εφάμιλλου σχήματος (2 PI+2 NRTI) στον ασθενή με την προχωρημένη HIV-νόσο, τη χρονία κρυπτοσποριδίωση και τη χρονία προηγηθείσα θεραπεία με 2 νουκλεοσιδικά ανάλογα (2 NRTI) απέτυχε να καταστείλει ή να εκριζώσει τη λοίμωξη από *Cryptosporidium*, διότι, κατά την πορεία

της νόσου, με κριτήρια την περαιτέρω μείωση του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων και την αύξηση του ιικού φορτίου, διαπιστώθηκε αντοχή του ιού στην αντιρετροϊκή αγωγή, με αποτέλεσμα το θάνατο του ασθενούς από σύνδρομο απίσχνασης (wasting syndrome).

Συμπερασματικά: (α) Η σοβαρότητα και η διάρκεια της διάρροιας συνδέονται καθαρά με τον αριθμό των CD4 λεμφοκυττάρων. Βαρύ διαρροϊκό σύνδρομο με επιμέρους διάρροιες και μεγάλη απώλεια βάρους συσχετίστηκε με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <50/μL, ενώ ήπιο διαρροϊκό σύνδρομο μικρής διάρκειας και χωρίς απώλεια βάρους συσχετίστηκε με υψηλό αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων, >500/μL. (β) Η θεαματική μείωση του ιικού φορτίου, ακόμα και με μικρή ή καμία αύξηση των CD4 λεμφοκυττάρων, μετά τη χορήγηση HAART, οδηγεί σε πλήρη εξάλειψη των ωοκύστεων του *Cryptosporidium* από τα κόπρανα και κλινική αποκατάσταση του διαρροϊκού συνδρόμου, χωρίς τη λήψη ειδικής αντιμικροβιακής αγωγής. (γ) Αποτυχία καταστολής ή εκρίζωσης της κρυπτοσποριδίωσης θα μπορούσε να αποδοθεί σε απόκτηση αντοχής του ιού στην αντιρετροϊκή αγωγή (HAART). (δ) Τέλος, η καλύτερη πρόληψη και θεραπεία της κρυπτοσποριδίωσης σε ασθενείς με HIV-λοίμωξη είναι η χορήγηση της ισχυρής αντιρετροϊκής θεραπείας HAART, η οποία μειώνει το ιικό φορτίο, αυξάνει βραδέως τα CD4 λεμφοκύτταρα και αποκαθιστά τη λειτουργικότητα του ανοσιακού συστήματος στην αντιμετώπιση των καιροσκοπικών λοιμώξεων.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστούμε τη φαρμακευτική εταιρεία LAPAPHARM για την έγχρωμη εκτύπωση των φωτογραφιών.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis in AIDS patients after application of highly active antiretroviral therapy

K. TZANETOU,¹ E. SABATAKOU,² M. CHINI,² E. KAFKOULA,¹

I. PERDIOS,² E. DOLAPSAKI,¹ A. STROUZA,¹ M. LELEKIS,² P. GARGALIANOS,² E. MALAMOU-LADA¹

¹Laboratory of Microbiology, ²Special Infections Unit,

“G. Gennimatas” District General Hospital of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2001, 18(1):43–49

OBJECTIVE The effect of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence and outcome of cryptosporidiosis in HIV/AIDS patients is reported. **METHOD** In 110 HIV-1 infected patients with diarrhea, fecal specimen examination included (a) parasitological examination for ova and parasites, (b) culture for enteric pathogens and fungi and (c) smear stains for *Cryptosporidium* and *Microsporidium* spp. **RESULTS** In 4 of the 110 patients (3.6%) oocysts of *Cryptosporidium* were detected. In 3 patients, the HIV-1 RNA (viral load) and the CD4 lymphocyte count before the initiation of HAART ranged from 244.488×10³–842.500×10³ copies/mL plasma and from 6–25 CD4 lymphocytes/μL respectively. After a median of 28 (range 26–29) days from initiation of antiretroviral therapy, the diarrhea resolved and the *Cryptosporidium* oocysts disappeared

from the feces, while in the 4th patient who was under HAART, this occurred on the 8th day from initiation of the diarrheal syndrome. The viral load and the CD4 lymphocyte count at the time of cryptosporidiosis eradication ranged from 70–6,435 copies/mL and from 10–51 CD4 lymphocytes/ μ L, while the respective values, in the 4th patient at the time of diagnosis of *Cryptosporidium* infection were 2.602×10^3 copies/mL and 532 CD4 lymphocytes/ μ L. During follow-up of the 4 patients for a median period of 10 months relapses of the infection were not found **CONCLUSIONS** (a) The severity and duration of diarrhea is clearly associated with the CD4 lymphocyte count (severe diarrheal syndrome was correlated with CD4 lymphocyte count $<50 \mu$ L, while mild diarrheal syndrome with CD4 lymphocyte count $>500/\mu$ L). (b) The dramatic decrease of the viral load, even with small or no increase of the CD4 lymphocyte count, after HAART, results in eradication of *Cryptosporidium* oocysts and diarrhea resolution without administration of any antimicrobial therapy. (c) The best prevention and treatment of cryptosporidiosis in HIV-1 infected patients depends on the use of HAART.

Key words: AIDS, Cryptosporidiosis, HAART, Protease inhibitors

Βιβλιογραφία

- MACKENZI W, SCHELL W, BLAIR K, ADISS D, PETERSON D, HOXIE N ET AL. Massive outbreak of waterborne *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clin Infect Dis* 1995, 21:57–62
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Foodborne outbreak of cryptosporidiosis-spokane, Washington. *Morbidity Mortality Weekly Rep* 1997, 47:565–567
- SARABIA-ARCE S, SALAZAR-LINDO E, GILMAN R, NAZARO J, MIRAND E. Case-control study of *Cryptosporidium parvum* infection in Peruvian children hospitalized for diarrhoea: possible association with malnutrition and nosocomial infection. *Pediatr Infect Dis* 1990, 9:627–631
- MANABE Y, CLARK D, MOORE R, LUMADUE J, DAHLMAN H, BELITSOS P ET AL. Cryptosporidiosis in patients with AIDS: correlates of disease and survival. *Clin Infect Dis* 1998, 27:536–542
- GRIFFITHS J, BALAKRISHNAN R, WIDMER G, TZIPORI S. Paromomycin and Geneticin inhibit intracellular *Cryptosporidium parvum* without trafficking through the host cell cytoplasm: implications for drug delivery. *Infect Immun* 1998, 66:3874–3883
- TZIPORI S. Cryptosporidiosis: laboratory investigations and chemotherapy. *Adv Parasitol* 1998, 40:187–221
- KELLER A, CARR A, ZAUNDERS J, COOPER D. Alterations in the immune response of human immunodeficiency virus (HIV)-infected subjects treated with a HIV-specific protease inhibitor, zidovudine. *J Infect Dis* 1996, 173:321–329
- CAVERT W, NOTERMANS D, STASKUS K, WIETGREFE S, ZUPANCIC M, GEBHARD K ET AL. Kinetics of response in lymphoid tissues to antiretroviral therapy of HIV-1 infection. *Science* 1997, 276:960–964
- TZANETOY K, ΣΤΕΦΑΝΟΥ Ι, ΔΟΛΑΦΑΚΗ Ε, ΠΕΡΔΙΟΣ Ι, ΚΩΝΣΤΑ Κ, ΓΑΡΓΑΛΙΑΝΟΣ Π. Κρυπτοσποριδίωση σε ασθενείς με AIDS. *Ιατρική* 1998, 74:329–333
- STASZEWSKI S, HILL AM, BARTLETT J, ERON JJ, KATLAMA C, JONSON J ET AL. Reductions in HIV-1 disease progression for zidovudine/lamivudine relative to control treatments: a meta-analysis of controlled trials. *AIDS* 1997, 11:477–483
- CAESAR. Coordinating Committee: Randomised trial of addition of lamivudine or lamivudine plus zidovudine to zidovudine-containing regimens for patients with HIV-1 infection: the CAESAR trial. *Lancet* 1997, 349:1413–1421
- CARR A, COOPER PA. HIV protease inhibitors. *AIDS* 1996, 10(Suppl A):151–157
- BHIVA GUIDELINES CO-ORDINATING. British HIV association guidelines for antiretroviral treatment of HIV seropositive individuals. *Lancet* 1997, 349:1086–1092
- GRIFFITHS JK. Human cryptosporidiosis: Epidemiology, transmission, clinical disease, treatment and diagnosis. In: Baker JR, Muller R, Rollinson D (eds) *Opportunistic protozoa in humans. Adv Parasitol*, San Diego, Academic Press, 1998, 40:37–85
- FLANIGAN T, WHALEN C, TURNER J, SOAVE R, TOERNER J, HAVLIR D ET AL. *Cryptosporidium* infection and CD4 counts. *Ann Intern Med* 1992, 116:840–842
- GRUBE H, RAMRATNAM B, LEY C, FLANIGAN T. Resolution of AIDS associated cryptosporidiosis after treatment with indinavir. *Am J Gastroenterol* 1997, 92:726
- CARR A, MARRIOTT D, FIELD A, VASAK E, COOPER DA. Treatment of HIV-1 associated microsporidiosis and cryptosporidiosis with combination antiretroviral therapy. *Lancet* 1998, 351:256–261
- MIAO Y, AWARAD-EI-KARIEEM F, GIBBONS C, GAZZARD B. Cryptosporidiosis: eradication or suppression with combination antiretroviral therapy? *AIDS* 1999, 13:734–735
- CONNORS M, KOVACS JA, KREVAL S, GEA-BANACLOCHE JC, SNELLER MC, FLANIGAN M ET AL. HIV infection induces changes in CD4+ T-cell phenotype and depletions within the CD4+ T-cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune based therapies. *Nat Med* 1997, 3:533–540
- REHG JE. Effect of interferon- γ in experimental *Cryptosporidium parvum* infection. *J Infect Dis* 1996, 174:229–232

Corresponding author:

K. Tzanetou, "G. Gennimatas" District General Hospital of Athens, GR-156 69 Papagou, Athens, Greece