

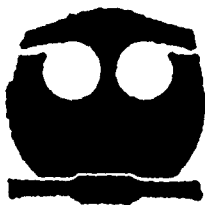


119 zej
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**MICROSPORIDIOSIS HUMANA: UNA PUERTA DE
ENTRADA A LA INVESTIGACION EN MEXICO**

T E S I S
Que para obtener el Título de
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P r e s e n t a
MARIA MARGARITA VARGAS DE LA ROSA



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

PRESIDENTE: OSCAR VELASCO CASTREJON
VOCAL: ABEL GUTIERREZ RAMOS
SECRETARIO: MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES
1er. SUPLENTE: ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ
2do. SUPLENTE: MAITE ASTIGARRAGA ZAVALETA

Sitio donde se desarrolló el tema:

BIBLIOTECAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

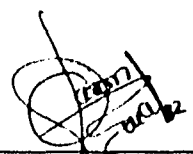
Nombre completo y firma del asesor del tema:

M. EN C. MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES



Nombre completo y firma del sustentante:

MARIA MARGARITA VARGAS DE LA ROSA



Sobre TODO y por TODO

Gracias a mi DIOS.

.

A mis padres

Sra. Juana de la Rosa R.

Sr. Héctor Vargas G.

Por haber hecho de mi un ser independiente y libre,
agradecido por su existencia.

A mi hermano Jorge.

Con mucho amor, porque siempre ha estado conmigo
brindandome su apoyo, compañía y amistad.

A mis compañeros de escuela.

Porque mis mejores recuerdos los llenan ellos.

A todos mis amigos.

A Eva... donde quiera que esté.

A Jaime, ejemplo de fortaleza, amor y dignidad;
con especial cariño, admiración y respeto.

A todas las personas que me han brindado su ayuda
desinteresada en momentos difíciles.

En especial al Sr. Carmelo Mireles y esposa
por su invaluable ayuda.

A la Universidad Nacional Autónoma de México
y Facultad de Química.

Con inmenso agradecimiento por brindarme la oportunidad
de realizar mis estudios profesionales en esta casa de
estudios.

Porque el orgullo de ser universitaria ya es mío y porque
mi deseo de ser Química lo han hecho posible.

A mis maestros.

A todos aquellos que me brindaron su tiempo compartiendo
conmigo sus conocimientos e inquietudes, participando así
en mi formación profesional... mil gracias.

Al Doctor José Súlivan López

Con enorme admiración y agradecimiento.

Agradezco de forma especial al M. en C. Marco Antonio
Becerril Flores, por el interés, paciencia y profesionalismo
mostrados en la elaboración del presente trabajo.

CONTENIDO

	Pag.
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III. ANALISIS BIBLIOGRAFICO	4
TAXONOMIA	5
BIOLOGIA DEL PARASITO	8
EPIDEMIOLOGIA	30
RELACION HOSPEDERO-PARASITO.....	38
MANIFESTACIONES CLINICAS	47
DIAGNOSTICO	52
TRATAMIENTO	60
CONTROL Y PREVENCION	64
IV. CONCLUSIONES	65
V. BIBLIOGRAFIA	67

I. INTRODUCCION

El género *Microsporidia* fue propuesto en el año de 1882 por Balbiani (1) para ubicar a microorganismos que por su particular biología y organización celular, actualmente forman un phylum dentro del reino protista, el phylum *Microspora* (Sprague 1977), que se caracteriza por incluir a un grupo de parásitos protozoarios intracelulares, en cuyo ciclo de vida se desarrollan como esporas unicelulares que presentan, dentro de una membrana continua, un esporoplasma uni o binucleado que se expulsa a través de un filamento denominado tubo polar. Las esporas miden de 1 a 20 micras, en promedio 5 micras (2).

Muy poco se conoce acerca de las causas de la enfermedad que producen en humanos. Algunos estudios indican que la inmunosupresión juega un papel clave; en estudios serológicos se ha observado que viajeros y residentes de zonas tropicales tienen mayor tasa de infección por ciertos géneros (3). Aunque aún no se han confirmado los mecanismos de infección al humano se piensa que, en general, se inician por la ingestión de esporas maduras que posteriormente se desarrollan a través de procesos de merogonia y esporogonia en el intestino y luego, en algunos casos se puede realizar una invasión a tejidos

INTRODUCCION

extraintestinales del hospedero, o bien son eliminados por las heces o la orina. Se sabe que el daño causado por dicha infección depende de la susceptibilidad del hospedero, así como de su estado de salud, tal como sucede en los pacientes con SIDA, en los que la microsporidiosis es frecuente (2).

Es bien sabido que algunas especies de microsporidios son causantes de severas diarreas en pacientes inmunodeficientes, pero también hay casos de hepatitis, encefalitis, queratitis y otras afecciones en diversos órganos (3). En México aún no hay reportes de casos de microsporidiosis, no obstante el incremento de pacientes con SIDA, y las tasas altas de enfermedades parasitarias, probablemente debido a la falta de recursos económicos, humanos y principalmente al desconocimiento de esta parasitosis. Por tal razón es necesario conocer las estrategias que se han seguido para estudiar estas parasitosis en todo el mundo, con la finalidad de aplicarlas a México.

II. OBJETIVOS

- 1.- Describir las condiciones epidemiológicas en donde más frecuentemente se encuentra esta parasitosis.
- 2.- Estudiar la relación que existe entre estado de salud y microsporidiosis.
- 3.- Mencionar las metodologías que se emplean para el diagnóstico de esta parasitosis.
- 4.- Describir los fármacos que más eficientemente controlan esta protozoosis.
- 5.- Investigar las estrategias de control que se puedan utilizar para evitar la infección por microsporidios.
- 6.- Demostrar que la microsporidiosis podría ser un problema de salud que puede concernir a México.

III. ANALISIS BIBLIOGRAFICO

TAXONOMIA

Los conocimientos que se tenían acerca de este parásito en la primera mitad del presente siglo resultaban completamente escasos, por lo que las clasificaciones taxonómicas de los microsporidios fueron simples (4).

Los reportes de infecciones en mamíferos por causa de microsporidios, la frecuente aparición de microsporidiosis en humanos que presentan deficiencias inmunológicas y el empleo de técnicas modernas aplicables para el estudio de protozoarios intracelulares han convertido a los microsporidios en parásitos de gran interés para el veterinario, el biólogo, el médico, el químico y cierto grupo de investigadores. Como consecuencia se han hecho varios intentos durante la última mitad del presente siglo para proponer una clasificación taxonómica de estos protozoarios. Los trabajos más conocidos han sido presentados por Kudo (1924), Tuzet (1971), Weiser (1977), Issi (1986), Larsson (1986), Canning (1990) y Sprague (1977), este último posteriormente realizó una segunda revisión (1992) (4) que actualmente es la más aceptada, razón por la que se considerará en este trabajo.

El número de géneros reconocidos en la clasificación de

TAXONOMIA

Sprague es hasta ahora cercano a 100 con aproximadamente 1000 especies.

Seis géneros de microsporidia se han reportado como parásitos del humano, estos son: Encephalitozoon, Enterocytozoon, Septata, Pleistophora, Nosema y un género colectivo en el cual se han agrupado a aquellos microsporidios que no han sido perfectamente identificados, el género Microsporidium (1).

LA SIGUIENTE TABLA MUESTRA UNA CLASIFICACION TAXONOMICA PARA
MICROSPORIDIOS DE IMPORTANCIA MEDICA

PHILUM	CLASE	ORDEN	SUBORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	
Microspora (Sprague 1977)	Radimicrosporea (Sprague 1977)	Metchickovellida (Delphy, 1963) (Vivier, 1975)	Pansporoblas- tina (Tuzet, Maurand, Fize, Michel y Fenwick, 1971) .	Pleistophora	P. sp.	(Ledford, Overman, Gonzalco, Cali, Mester y Lockey, 1985)	
							Microsporea (Delphy, 1963) (Corlis y Levine, 1963)
	Apansporoblas- tina. (Tuzet, Maurand, Fize Michel y Fenwick, 1971)	Septata		S. intestinalis	(Cali, Kotler y Orenstein 1993)		
						Enterocitoozon	E. bienesi
	Nosema	N. connori		(Sprague, 1974)			
					N. corneum	(Shaddock, Meccoli, Davis, y Font, 1990)	
	N. oculorum	(Cali, Meisler, Lowder, Lembach, Ayers, Takvorian, Rutherford, Longworth, Mc. Mahon y Bryan, 1991)					

BIOLOGIA DEL PARASITO

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Los microsporidios son un grupo de protozoarios parásitos intracelulares obligados que presentan una amplia distribución en hospederos abarcando a la mayoría de los invertebrados y a las cinco clases de vertebrados (5).

Probablemente los parásitos tengan cierta preferencia por algún tipo de célula en particular. Se multiplican intracelularmente por Merogonia y Esporogonia (2). Es muy probable que la invasión a células del hospedero ocurra por dos vías, por fagocitosis o bien por la ayuda de un órgano especializado que se encuentra en la espora madura, conocido como filamento o tubo polar (fp) (2), el cual se proyecta al exterior de la célula madura por la extremidad anterior donde la espora presenta un ligero adelgazamiento en una de las capas de la pared, y luego se extiende desenrollándose y dirigiéndose en busca de la célula huésped a la cual penetra (figura 1); posteriormente el esporoplasma, que es propiamente la forma infectante del parásito y se encuentra en el citoplasma de la espora, se desplaza a través y dentro del fp quedando introducido

dentro del citoplasma de la célula infectada (2).

Durante su desarrollo atraviesan por la fase de merozoíto y espora, esta última es la forma infectante, la cual presenta características morfológicas muy variadas para cada especie.

Los microsporidios que infectan invertebrados, especialmente aquellos que tienen hospederos acuáticos, producen esporas con algún tipo de adorno en su pared, pero en el caso de las esporas que parasitan vertebrados son uniformemente simples en su contorno con apariencia ovoide o piriforme.

Debido a que la espora es pequeña su estructura ha sido revelada por microscopía electrónica (ME); en esta fase se presenta una pared indivisa de dos laminas (exo y endospora) que contiene una estructura ameboidea denominada esporoplasma, el cual está formado por el citoplasma, uno o dos núcleos ocupando el centro de la célula rodeados por citoplasma difícilmente de diferenciar, y un complejo aparato externo formado por el (fp), el cual se enrolla alrededor del esporoplasma dándole un soporte a la espora (figura 1).

La pared está compuesta de dos capas; la capa más externa, que corresponde a la exospora, es de naturaleza proteica, presenta características electrodensas y es uniformemente gruesa y amorfa aunque algunas veces se encuentra dividida en estratos de diferentes densidades electrónicas; la endospora es quitinosa,

más gruesa que la exospora, y con características electroluminosas, esta capa es la que se encuentra adelgazada en su extremo anterior que es por donde el (fp) sale proyectado para infectar otra célula (figura 2). El interior de la espora es limitado por una membrana, la cual envuelve al citoplasma y componentes subcelulares.

El aparato de expulsión está compuesto por el (fp) conectado al saco polar (sp), que se encuentra dentro de una depresión en la pared de la espora, separado de ésta por una estrecha banda de citoplasma y por la membrana plasmática.

El (fp) que presentan corre oblicuamente, extendiéndose hacia atrás de la tapa polar y enrollándose dentro de la pared de la espora. El número de vueltas en el espiral varía considerablemente dependiendo de la especie. Las medidas del diámetro del (fp) oscilan desde 100 hasta 150 nm. y su longitud es muy variable pudiendo ser de más de 100 micras. Las membranas del polaroplasto que rodean el (fp) son frecuentemente muy comprimidas, tomando la forma de una región laminal tanto anterior como posterior en donde se encuentran como sacos expandidos formando la región vesicular (1).

Una vacuola posterior o posterosoma (vp) se encuentra situada en el extremo posterior de la espora; está compuesta por un material amorfo y se cree que puede representar los

vestigios de un primitivo aparato de Golgi, responsable de la expulsión del tubo polar (1).

Este tipo de parásitos carecen de mitocondrias en todos sus estadios, por lo que no se sabe con certeza la forma en que son capaces de obtener su energía, aunque por ciertos trabajos realizados se cree que satisface sus requerimientos energéticos a expensas del ATP producido por las mitocondrias de la célula hospedadora (1).

Una característica importante dentro de las propiedades celulares de este microorganismo, es que a pesar de tratarse de un parásito eucariote no presenta una estructura ribosomal característica de estos, sino características procarióticas; su carencia de mitocondrias y su naturaleza de parásito oportunista e intracelular obligado de tan amplio rango de hospederos permiten suponer que se trata de un parásito eucariótico sumamente ancestral (6).

Estructura Nuclear

La mayoría de los microsporidios tienen nucleos redondos; estos pueden estar en pares pero separados. Durante su fase de desarrollo (merogonia), el núcleo se convierte en una estructura extremadamente delgada y alargada.

Las placas centriolares, que funcionan a manera de centriolos en los microsporidios, han sido frecuentemente observados en estos núcleos, es muy posible que estos se dupliquen y que la cromatina se abra mas allá de una separación física hacia la formación de núcleos hijos (7).

FIGURA 1.

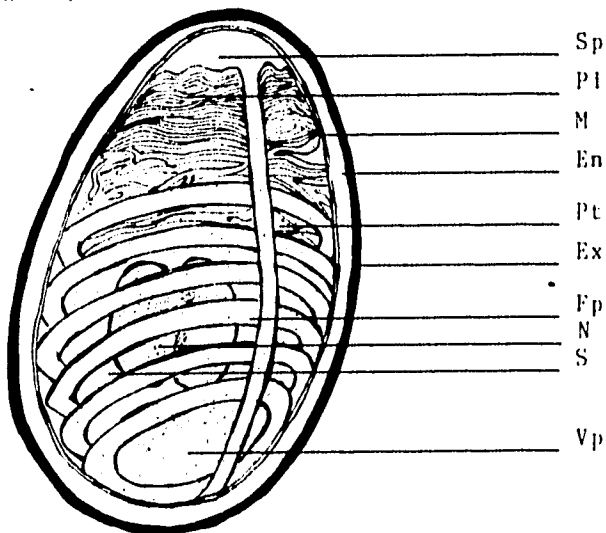


DIAGRAMA DE LA ESTRUCTURA INTERNA DE UNA ESPORA DE MICROSPORIDIO.

Ex= Exospora, Sp= Saco polar, En= Endospora, Pl= Polaroplasto laminar, Pt= Polaroplasto tubular, M= Membrana unitaria, Fp= Filamento polar, S= Esporoplasma, N= Núcleo, Vp= Vacuola posterior.

Las características de las especies de importancia médica que se han reportado hasta el momento son las siguientes:

En el género **Enterocitoozon** las esporas poseen una triple cubierta en donde la capa externa, exospora, es más delgada que la endospora; la membrana interna permanece rodeando la cubierta y el contenido de la espora.

El extremo anterior de la cubierta de la espora está en contacto con el disco de anclaje el cual es parecido a una sombrilla con extensiones laminales elongadas emitidas a partir de esta estructura y formando el polaroplasto laminal. El exterior del polaroplasto laminal es atravesado por dos hileras de ribosomas. Unido al disco de anclaje y en dirección hacia la parte inferior del polaroplasto se encuentra la porción manubroide continua del (fp) (7) rodeado por el polaroplasto vesicular. Estas estructuras constituyen aproximadamente un tercio de la espora y están conectadas a cinco o seis volutas del (fp), las cuales rodean al esporoplasma con su núcleo simple y citoplasma densamente empaquetado conteniendo varios ribosomas, una inclusión electrolucente ocasional, y una vacuola posterior.

Durante su desarrollo completo, Enterocytozoon se encuentra en contacto directo con el citoplasma de la célula huésped. No produce envoltura panesporoblástica ni vacuola parasitófora

y las esporas maduras permanecen libres en el citoplasma de la célula huésped (7). Los enterocitos pueden contener múltiples parásitos en diferentes estadios de desarrollo.

Encefalitozoon sp. Los merontes son redondos, ovales o elongados y miden 1.3-2.7 por 2.2-7 micras. Los más jóvenes tienen una membrana exterior delgada y contienen un retículo endoplásmico muy rudimentario; en ocasiones contienen vesículas citoplásmicas con restos membranosos y uno o dos núcleos discretos.

Los esporontes son de forma oval a elongada, miden de 2 a 3 micras, tienen una membrana externa gruesa, electrodensa y con organelos membranosos.

Los esporoblastos tienen una pared externa dividida en tres estratos, un (fp) rudimentario, inclusiones vesiculares membranosas y retículo endoplásmico rugoso.

En las esporas maduras las capas que rodean a la espora se organizan dentro de una gruesa cubierta con una endospora claramente electroluciente. El contenido granular es más electrodensa que el visto en el esporoblasto. El (fp) es difusamente osmiofílico y la vacuola polar es prominente. Este es el estadio más electrodensa, con una cubierta uniforme o escasamente ondulada y con varios organelos distintos.

En la espora madura, el (fp) en sus cortes transversales, tiene un centro electrolúcido limitado por una delgada capa electrodensa y por un delgado halo externo transparente. Una densidad residual central es observada en algunos de estos cortes transversales. Las esporas con el (fp) expulsado tienen una vacuola central larga y estratos periféricos residuales delgados de esporoplasma cerca de la cubierta de la espora. Las estructuras observadas en los cultivos son idénticas a las identificadas en biopsias de pacientes (1).

Nosema sp.- El esporoblasto presenta una exospora (50-100nm) limitada en su superficie algunas veces por cuerpos tubulares. La endospora (200-500nm) es finamente granular. En este estado no se ha observado membrana plasmática entre la endospora y el contenido de la espora, tampoco se ha observado el núcleo. Una masa de túbulos (polaroplasto primordio) se observa adyacente al desarrollo del filamento polar, algunos de estos túbulos rodean a este filamento. El (sp) tampoco se ha observado en esta fase.

El esporoblasto maduro tiene una cubierta compuesta por un superficie externa escabrosa, exospora, encerrando una endospora finamente granular y gruesa (70-140nm), la cual es más delgada en el extremo anterior del esporoblasto.

BIOLOGIA DEL PARASITO

Algunas partículas semejantes a ribosomas son agrupadas a lo largo de la periferia del citoplasma de la espora. El material nuclear está presente pero el núcleo no se encuentra claramente delimitado. El polaroplasto y el saco polar no son claramente observables en este estado. El (fp) parece como una estructura tubular enrollada en la mitad de la célula.

En la fase más tardía del esporoblasto, la exospora presenta una cubierta externa menos rugosa; el filamento polar está casi completo; y el material nuclear está rodeado por un borde enrejado granular denso muy discreto. La membrana nuclear no es visible. Una membrana plasmática separa el contenido de la espora de la endospora. Esta membrana y todo lo que constituye el polaroplasto se encuentran delineados de forma irregular. La endospora permanece granular.

La espora madura tiene una cubierta compuesta de una exospora (50nm) y una amplia endospora (60-200nm), con un adelgazamiento en la punta de la espora. La doble membrana que separa la endospora del contenido de la espora es más compacta que la del estado más tardío del esporoblasto. Las membranas que componen el filamento polar son además compactas y circulares. El (fp) se continúa con el (sp), quienes tienen una apariencia de ancla. La sección proximal al filamento está íntimamente asociada con el polaroplasto. La porción anterior

del polaroplasto está compuesta de un gran número de laminillas. Las delgadas membranas laminales están separadas por espacios electrodensos. Estas membranas parecen surgir de la superficie del (fp). En los cortes transversales del (fp) las membranas externas de este parecen continuarse con las membranas dobladas en ellos mismos para crear las laminillas del polaroplasto anterior.

La parte posterior del polaroplasto está formada esencialmente de sáculos. El (fp) parece pasar a través del polaroplasto posterior. Este filamento se dobla de manera tal que permanece en un ángulo de 40° en referencia con el eje de la espora. Las vueltas paralelas del filamento permanecen en el mismo ángulo. En los cortes transversales del filamento polar se puede observar una membrana externa (3nm de espesor) que limita una pared electrodensa, (14nm de espesor) que rodea un espacio interno finamente granular. La pared del filamento parece constituirse de tres capas, la capa más externa es más electrodensa que la capa interna.

En la espora madura dos núcleos situados en dirección al polo posterior son limitados por envolturas nucleares de forma separada y rodeados por bordes enrejillados vistos en el esporoblasto tardío. Este material granular (parecido a ribosomas) se encuentra rodeando parte del polaroplasto. Los

núcleos son uniformemente granulares y el nucleoplasma asemeja una sustancia arenosa, similar al citoplasma de la espora. Algunos autores no reportan vacuola posterior (8) mientras que otros aseguran la existencia de una pequeña vacuola (4).

El género **Pleistophora** es panesporoblástico, es decir, tiene una membrana que envuelve al microorganismo, y lo protege durante su desarrollo; a partir de cada célula esporante se forman desde 8 hasta cerca de 100 esporas.

Todas las otras infecciones por microsporidia descritas en humanos son causadas por géneros de tipo apanesporoblásticos, es decir, su desarrollo se lleva a cabo en contacto directo con el citoplasma de la célula hospedera (8), sin la presencia de una membrana que separe ambas células.

En **Septata intestinalis** los estadios proliferativos que se han podido observar se encuentran en contacto directo con el citoplasma de la célula (enterocito) al mismo tiempo que se encuentran muy cercanos a las mitocondrias o al núcleo de dicha célula hospedera. Durante este estadio, el microorganismo muestra una fina malla de material secretado sobre su superficie, la cual se vuelve más prominente conforme avanza su desarrollo, dando la impresión de ser continuamente secretado.

BIOLOGIA DEL PARASITO

Durante el inicio de la esporogonia se presentan cambios significativos en la morfología del parasito dando como resultado la aparición de una vacuola parasitófora (9)

El desarrollo de los organelos se inicia durante la formación del esporoblasto.

El ciclo de vida del parásito incluye desarrollo de células uninucleadas redondas y bi o tetranucleadas de forma alargada, sin la formación de estadios plasmodiales.

La esporogonia es similar al más típico desarrollo de de cualquier microsporidio.

La endospora electroluciente es la característica más representativa de la espora madura, esta permanece embebida en la malla fibrilar de la vacuola dando la apariencia de un panal de abejas (9).

Todos los estadios se encuentran dentro de una vacuola parasitófora simple.

TABLA NO. 1

PRINCIPALES DIFERENCIAS MORFOLOGICAS DE LOS DIFERENTES GENEROS QUE PARASITAN AL HUMANO

REFERENCIA	MICROSPORIDIO	MEDIDAS (micrones)	NO. DE VOLUTAS DEL TUBULO POLAR	NUCLEO	VACUOLA PARASITOFORA
(8)	<u>Pleistophora</u> sp.	2.8 por 3.2-3.4	11	Simple	Presente
(8)	<u>Nosema connori</u>	2 por 4	11	Diplocarión	No presente
(8,10)	<u>Nosema cornueum</u>	1.0 por 3.7	5-6	Diplocarión	No presente
(10)	<u>Nosema ocularum</u>	3.0 por 5.0	9-12	Diplocarión	No presente
(3)	<u>Encephalitozoon cuniculi</u>	1.5 por 2.5	6	Simple	Presente
(11,12)	<u>E. like</u>	1.2 por 2.2	5-6	Simple	Presente
(11,13, 14,15)	<u>Enterocitozoon bieneusi</u>	0.5 por 1.6	6	Simple	No presente
(9)	<u>Septata intestinalis</u>	1.2 por 2.0	4-7 usualmente 5-6	Simple	Presente
(16)	<u>Encephalitozoon hellem</u>	1.0 por 2.0	4-7 usualmente 6	Simple	Presente

CICLO BIOLÓGICO

Las infecciones por microsporidios se realizan mediante la ingestión de esporas maduras; cuando estas llegan al intestino son estimuladas por cambios en el pH y en la concentración iónica del medio luminal hasta provocar la expulsión del fp por la extremidad anterior del parásito desenrollándose y proyectándose en busca de la célula hospedera a la cual penetra e inyecta el esporoplasma directamente dentro del citoplasma (3).

Dos fases de desarrollo son reconocidas en los ciclos biológicos de los microsporidios, una fase proliferativa denominada merogonia, durante la cual las divisiones secuenciales del núcleo son por fisión múltiple y una fase de producción de esporas llamada esporogonia (2). En la primera fase de la esporogonia, el esporonte, con características externas diferentes a las de los merontes se divide dando lugar a un esporoblasto, el número de estos varía de dos o más de acuerdo al género; esta etapa es seguida de una morfogénesis de la espora en la cual se inicia el proceso de maduración del esporoblasto a la formación de espora (1). La esporogonia puede ocurrir en algunas ocasiones dentro de una vacuola

esporófora de paredes gruesas (paredes panesporoblásticas). Durante la esporogonia el esporonte se divide en esporoblasto y este madura en espora. Las vacuolas esporóforas determinan si las esporas resultantes se agrupan en un determinado número o se dispersan libremente en el citoplasma de la célula hospedera, lo cual es utilizado para la clasificación de los diversos géneros de microsporidios (1).

El núcleo es eucariótico, se encuentra rodeado por una doble membrana perforada por poros nucleares. Una característica en algunos géneros es la presencia de núcleos diplocarióticos, los cuales se encuentran estrechamente unidos pero simultáneamente divididos. Asociaciones similares en cuanto al núcleo no son conocidas en otros organismos unicelulares pero sí se encuentran en algunos grupos de hongos. Algunos géneros cuentan con un núcleo aislado a lo largo de todo su desarrollo, otros tienen dos núcleos y existen otros géneros que presentan variaciones entre estos dos arreglos nucleares durante su desarrollo.

La meiosis ocurre al inicio de la esporogonia. La separación de los dos núcleos dá lugar a 8 núcleos haploides por cada uno en el esporonte maduro. La restauración del estado diploide ocurre en un nuevo huésped después de la ingestión de esporas haploides (1).

MEROGONIA

Los merontes son células simples con escaso citoplasma, pocas cisternas de retículo endoplásmico y abundantes ribosomas. La membrana superficial usualmente es poco espesa aunque sobre la membrana unitaria se puede depositar una cubierta electrodenso; esta es más característica de los estados esporogónicos.

Los merontes se dividen por fisión múltiple dando un esquizonte multinucleado. Estos pueden dar lugar a merozoítos libres o conducir a divisiones intracelulares dando una plasmotomía u originando varios segmentos multinucleares desiguales.

ESPOROGONIA

A excepción de Enterocytozoon al inicio de la esporogonia se va depositando un material electrodenso sobre la superficie de la membrana plasmática del meronte. En el caso de Enterocytozoon esta deposición sucede retardadamente en el momento del paso de esporonte a esporoblasto.

El desarrollo posterior del esporonte puede seguir por una o dos maneras, ya sea por la formación de una membrana

adicional, desarrollo panesporoblástico, en la cual se llevará a cabo la maduración de la espora y cuyo efecto es aislar la superficie del esporoblasto del citoplasma de la célula hospedera; o bien, puede ocurrir división fuera de la formación vesicular, de este modo los esporoblastos y más tarde las esporas, permanecerán libres en el citoplasma de la célula hospedera (desarrollo apanesporoblástico).

El origen de la vesícula esporófora es variable. En géneros como Pfeistophora, una cubierta amorfa gruesa en los merontes persiste durante la esporogonia y después la modificación y separación de la superficie, formando la vesícula esporófora (8). En otro caso la envoltura es nuevamente formada en el esporonte, usualmente como una capa fina. La separación de la envoltura de la superficie del esporonte puede ser efectuada por contracción simple del esporonte, por formación de ampollas que empujan la envoltura hacia afuera, o por secreción de productos metabólicos hacia la superficie del esporonte. Estos productos metabólicos, sean en forma de masas largas, pequeños gránulos o túbulos, pueden ser abundantes en la cavidad vesicular (cavidad epiesporontal) en una etapa temprana de la esporogonia, pero gradualmente son consumidos y usualmente son escasos en vesículas que contienen esporas maduras.

Los esporontes se dividen dando lugar a esporoblastos por

fisión binaria o múltiple o por segmentación secuencial del citoplasma esporogonial para formar los esporoblastos uninucleados. La división puede ser efectuada por invaginación de la superficie o por la formación de vesículas internas quienes se integran y fusionan con la membrana plasmática. El número de esporoblastos es característico de cada género.

Usualmente la transformación de la espora ocurre solo después de que el esporoblasto es dividido, sin embargo en el caso de Enterocytozoon, en el cual la formación de los organelos de la espora comienzan antes de la división del esporonte a esporoblasto (7); ésta puede ser una importante característica para su identificación.

La mayor reorganización citoplasmática se lleva a cabo dentro del esporoblasto para producir la espora. El desarrollo es acompañado por un incremento en el retículo endoplásmico. Se cree que el saco polar y el (fp) se desarrollan, al menos en parte, a partir de un simple sistema de Golgi el cual existe en merontes y prolifera en los esporoblastos.

Las zonas de Golgi existen como agregados de pequeñas vesículas, como un gran número de cisternas aplastadas en formación y fases secretorias. Las vesículas de Golgi localizadas en el extremo posterior del esporoblasto se incorporan para formar el tubo polar el cual se desarrolla

anteriormente como un nuevo tubo que es unido al punto de síntesis. Las elongaciones del tubo forman las volutas, el extremo anterior se encuentra con el saco polar quien surge como una vesícula cercana al núcleo. El saco polar se fija a el tubo polar formando un estructura simple, con un centro denso en una matriz luminosa.

El saco polar adherido al tubo polar es finalmente empujado hacia el extremo anterior del esporoblasto maduro, diferenciándose en un complejo aparato de anclaje. Cuando se forma el filamento polar, este presenta una estructura simple, con un centro denso en una matriz brillante rodeada por dos membranas. Después de la diferenciación, este presenta ocho o más capas concéntricas de diferentes densidades electrónicas.

Cuando la parte basal del tubo polar ha tomado su posición final, las membranas del polaroplasto están formadas como una serie de sacos brotando de las membrana externa de el tubo polar.

En la espora madura el saco se encuentra frecuentemente ordenado como una región anterior de laminillas empaquetadas de manera compacta, y una región posterior de laminillas más libremente arregladas o vesículas expandidas.

Por último las vesículas de Golgi tienden a diferenciarse para formar la vacuola posterior de la espora y la cubierta de esta es completada por la interpolación de una endospora

electroluciente entre la membrana plasmática y la exospora electrodensa.

El desarrollo de la espora se inicia por la expulsión del tubo polar a través del extremo anterior de la espora.

Los mecanismos de expulsión se cree que son una consecuencia de ciertas alteraciones llevadas a cabo en el saco polar, membranas de polaroplasto y vacuola posterior de la espora. Tales alteraciones se inician por cambios químicos a nivel intestinal, una vez alterado el saco polar se produce una expansión de las membranas del polaroplasto ocasionando que el tubo polar sea expulsado a través del saco polar, pasando el esporoplasma a través del tubo polar y emergiendo hacia su extremidad final. Cuando el extremo del tubo penetra en una célula epitelial durante la expulsión, el esporoplasma es inoculado directamente dentro del citoplasma de la célula para iniciar la infección (1,3,5).

Se sabe que el esporoplasma existe dentro de la espora de manera separada de las otras estructuras intraesporales, y que la membrana plasmática que se encuentra revistiendo la pared de la espora no emerge como la cubierta del esporoplasma.

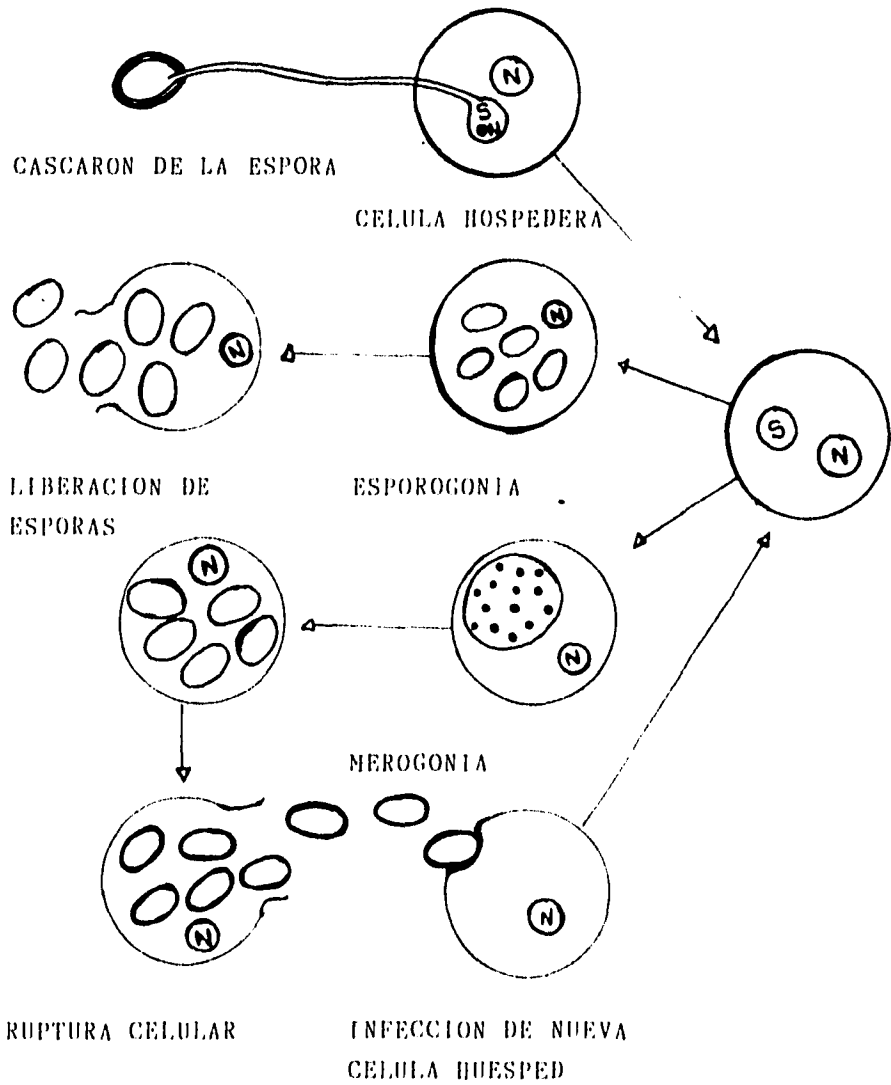
Después de esto, los procesos de merogonia y esporogonia se dan de forma secuencial, resultando en una nueva generación

de esporoblastos. Posteriormente se lleva a cabo la maduración y síntesis de organelos dando origen a nuevas esporas maduras.

La ruta de invasión del tejido del hospedero después de un sitio inicial de infección no es claramente comprendida. Se ha observado que las nuevas esporas obtenidas de cultivos, difieren morfológicamente de las esporas formadas en el estado tardío de la infección in vivo; también se ha observado que dichas esporas se desarrollan dentro de las células en las cuales fueron producidas y que sus tubos polares pueden penetrar a las células vecinas. Esto sugiere la transferencia del material infectivo de célula a célula, pero la posibilidad de que estados proliferativos e infectivos liberados de las células pasen a nuevas células por fagocitosis inducida no puede ser ignorada. Es muy posible que exista una transferencia pasiva en sangre o en células hospedadoras migratorias desde la pared intestinal hasta los distintos sitios de infección (1,2,3.).

FIGURA NO. 2

CICLO BIOLÓGICO GENERAL DE MICROSPORIDIOS.



EPIDEMIOLOGIA

La epidemiología de las microsporidiosis así como la especificidad de los parásitos por determinados hospederos y sus mecanismos de propagación y transmisión no son bien conocidos hasta el momento.

PREVALENCIA DE LAS MICROSPORIDIOSIS HUMANAS

Este grupo de parásitos fue conocido primeramente por causar infección en animales (2), pero recientemente se han demostrado infecciones en humanos por estos microorganismos.

El primer caso de microsporidiosis en humanos fue diagnosticado en 1959, desde entonces decenas de casos han sido documentados (17). Algunos autores mencionan alrededor de 100 casos distribuidos por todo el mundo debidos a E. bienewisi (12) cuya población más afectada ha sido la de pacientes con SIDA, en los que se ha encontrado a E. bienewisi como causante de cuadros diarreicos y adelgazamiento en el 25-30% de esta población (13,15).

Hasta el momento parece no existir evidencia de brotes de la infección, sin embargo existen reportes que hacen suponer

una posible relación entre la frecuencia de la infección y las zonas de clima tropical (3).

Las siguientes tablas muestran los casos reportados de microsporidiosis hasta el momento en relación a su distribución geográfica.

II. PORCENTAJE DE INFECCIONES DEBIDAS A E. cuniculi

<u>%</u>	<u>ZONA</u>	<u>EDAD</u>	<u>CARACTERISTICAS DE LA POBLACION</u>
20	ND	ND	Pacientes con HIV
13	ND	ND	Enfermedades renales
10.3	ND	ND	Enfermedades parasitarias (filaria, malaria, schistosomiasis)
6.8	Gambia	ND	Habitantes de la Villa de Jali
1.2	ND	adultos	Pacientes con desordenes psiquiátricos
6.1	ND	niños	Pacientes con desordenes psiquiátricos

Parasitology (1991) 102, 33-43

III. MICROSPORIDIOSIS DEBIDA A E. bienewisi EN PACIENTES CON SIDA

<u>NO. CASOS</u>	<u>EDAD (AÑOS)</u>	<u>SEXO</u>	<u>LOCALIDAD</u>
1	42	M	Estados Unidos
1	29	M	Estados Unidos
1	45	M	Estados Unidos
1		M	Uganda
1	40	M	Argentina
1	30	M	Tierras bajas
1	30	M	Inglaterra
1		M	Inglaterra
1	35	M	Estados Unidos
1	40	M	Estados Unidos
1	30	M	Estados Unidos

M: Masculino

Ralph T. Bryan, (1991); 2130-2133.

IV.

CASOS CONFIRMADOS DE MICROSPORIDIOSIS EN PACIENTES CON SIDA

REFERENCIA	No. DE CASOS	EDAD (años)	SEXO	ZONA	GENERO	*
(3,8)	1	35	M	Estados Unidos	<u>E. cuniculi</u>	hepatitis fulminante
(8)	1		M		<u>E. cuniculi</u>	peritonitis
(8,10)	6		M	Estados Unidos	<u>E. hellem</u>	queratoconjuntivitis
					<u>E-like</u>	queratoconjuntivitis
(17)	1	30	M		<u>E. cuniculi</u>	queratoconjuntivitis
(18)	1	41	M		<u>E. cuniculi</u>	parasito aislado de orina
(19)	1	24	M	Chile	<u>E. bieneusi</u>	
(20)	9				<u>E. bieneusi</u>	
(21)	11			Estados Unidos, Europa, Africa	<u>E. bieneusi</u>	
(22)	2		F	Dinamarca	<u>E. bieneusi</u>	
			F	Escandinavia	<u>E. bieneusi</u>	
(23)	1	35	F	España	<u>E. hellem</u>	queratoconjuntivitis
(9)	5				<u>Septata intestinalis</u>	
(11,12)	1	32	M	Americano	<u>E. like</u>	
(12)	4				<u>E. like</u>	
(24)	1				<u>E. hellem</u>	<u>aislado de epitelio nasal</u>
(25)	1		M		<u>Pleistophora sp.</u>	
(26)	1		M	Haití	<u>E. bieneusi</u>	

* Características clínicas o de diagnóstico específicas y asociadas a la parasitosis

M: masculino

F: femenino

V.

CASOS CONFIRMADOS DE MICROSPORIDIOSIS EN HUMANOS SIN SIDA

REFERENCIA	NO DE CASOS	EDAD	SEXO	LOCALIDAD	GENERO
Matsubayashi et al (1959)	1	9 años	M	Japón	<u>Encephalitozoon cuniculi</u>
Margileth (1993)	1	1 mes	M	Estados Unidos	<u>Nosema connori</u>
Asthan and Wirasinha (1973)	1	11 años	M	Sri Lanka	Género desconocido
Pinnolis et al (1981)	1	26 años	F	Botswana	Género desconocido
Bergquist et al (1984)	1	2 años	M	Colombia (Diagnosticado en Suecia)	<u>Encephalitozoon cuniculi</u>
Ledford et al (1985)	1		M	Estados Unidos	<u>Pleistophora sp.</u>
Davis et al (10)	1	45 años	M	Estados Unidos	<u>Nosema corneum</u>
Davis et al (10)	1	39 años	M	Estados Unidos	<u>Nosema ocularum</u>

Refs: 2,3,10

M: masculino

F: femenino

El origen de estas infecciones es desconocido.

Como se puede observar en las tablas de relación de casos de microsporidiosis, la distribución de la infección es cosmopolita y la información en cuanto al clima que prevalece en estas regiones es muy variado, va desde zonas frías como Escandinavia y algunas regiones de Chile, hasta zonas cálidas de Africa y de E.U., pasando por zonas de clima templado como España, Francia, y E.U. Probablemente las zonas donde habitan muchos animales domésticos como el perro contribuyan a la prevalencia de estas parasitosis.

En México aún no existen estudios que nos muestren casos de infección por microsporidios, ni las especies que existen, sin embargo, por las características epidemiológicas de otros países donde aparecen las microsporidiosis, es muy probable que existan ya que los hábitos y costumbres de comer en la calle, tener perros en la casa, practicar el fecalismo al ras del suelo, habitar en zonas de clima tropical, etc. y dado que el parásito es cosmopolita, lo hace un país con alta probabilidad de que exista.

MECANISMOS DE TRANSMISION E INFECCION

No existe información completa sobre los mecanismos de

transmisión en las microsporidiosis, sin embargo se sabe que las esporas maduras se encuentran libres en el medio ambiente, sugiriendo que la transmisión se realiza mediante la ingesta de alimentos y bebidas contaminadas con esporas.

De las especies reportadas que parasitan al hombre E. cuniculi es la única a la cual se ha dilucidado su mecanismo de transmisión. La ingestión de esporas que se encuentran en el medio ambiente contaminando alimentos es la manera normal de transmisión, no obstante que la infección puede pasar también por una cadena alimenticia a través del carnivorismo. Se piensa que otro mecanismo de transmisión podría ser por vía transplacentaria, aunque este último sólo se ha demostrado en los perros, cuyos cachorros nacen infectados con E. cuniculi (1).

Tomando en cuenta las características de la infección, así como los órganos afectados, se cree que el principal mecanismo de infección es por vía oral para microsporidios del humano, ya que se ha demostrado en algunos casos que en la etapa inicial de la infección, el intestino siempre resulta parasitado, sobre todo para el caso de E. bieneusi (7), aunque existen casos más difíciles de explicar como son las infecciones nasales u oculares en las que se sugiere un mecanismo de infección inhalatorio u oftálmico.

HABITOS Y COSTUMBRES

En base a las características de transmisión e infección que presenta el microorganismo, probablemente el fecalismo al aire libre favorezca la transmisión de estas parasitosis, ya que la liberación de las esporas resistentes al medio ambiente permite el contacto de estas y el humano.

La costumbre de no lavarse las manos después de defecar o antes de comer permite la reinfección constante del parásito, o la diseminación a otras personas si aquella se transmite por mecanismo mano-mano-boca o alimentos preparados por la persona infectada.

Alimentos que no están protegidos del polvo del medio ambiente pueden contaminarse.

Probablemente las infecciones oculares se deban al transporte de esporas al llevarse las manos contaminadas a los ojos, o bien porque el viento traslada el polvo contaminado con esporas hacia las personas.

Quizás esporas de E. cuniculi que infectan animales domésticos como el perro, puedan contribuir a infecciones del humano que está en contacto o convive con el animal.

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

Los hospederos parasitados por microsporidios son tan diversos, desde organismos unicelulares hasta pluricelulares.

Originalmente se pensó que las especies se encontraban restringidas fuertemente a un solo hospedero, de tal forma que un microsporidio era considerado como una nueva especie si se le encontraba en un nuevo hospedero, ahora se ha hecho evidente que muchos microsporidios infectan a varios hospedadores, de los cuales algunos son más susceptibles que otros (1).

La importancia del microsporidio en mamíferos no fue reconocida hasta que existió la evidencia de su presencia en animales de laboratorio, donde además interfería de manera importante con los resultados experimentales de la gente que trabaja con esos animales; posteriormente se le reconoció como la causa de daño y muerte en gran cantidad de animales domésticos, primates y el hombre.

Aún cuando se sabe que las infecciones con este parásito existen en gente saludable, recientemente se le ha visto implicado como causa de enfermedad significativa en pacientes inmunodeficientes como los enfermos de SIDA, donde la inmunodeficiencia debida al virus causante de esta enfermedad

FALLA DE ORIGEN

ha lleva

Se

pueden l

animales

muchas

la pers

de la

de micro

Enc

hospeder

lagomorf

evidenci

y caball

La

horizont

en la

transpla

principa

Au

maduras

observac

parásito

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

macrófagos infectados, donde las esporas pueden migrar dentro de aquellos vía sanguínea hacia otros órganos del hospedero (3,12), principalmente cerebro y posteriormente a otros órganos (1,3,12).

Enterocytozoon bieneusi.- los hospedadores de este parásito se reducen a primates y al hombre, en donde no se ha podido observar con claridad la transmisión de agentes infectantes de un individuo a otro (4) aunque todos los estados de desarrollo han sido encontrados en enterocitos del duodeno y yeyuno, y las esporas maduras encontradas en heces, lo que permite suponer que las esporas son liberadas al medio ambiente, propiciando una transmisión de tipo horizontal (13,27).

La infección por este microsporidio parece estar limitada a enterocitos, al menos exclusivamente al intestino delgado de pacientes con SIDA (14,28), y no se ha visto de forma terminante la participación de macrófagos o bien la diseminación fuera del tracto gastrointestinal hacia otros órganos.

La continua descamación de enterocitos, los cuales son reemplazados cada 3 o 4 días, nos indica que Enterocitozoon cuenta con un mecanismo para reinfectar células en el mismo intestino, esta infección de enterocitos se ha visto que se da a nivel de las vellosidades pero no en las criptas (4,7).

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

Recientemente un nuevo microsporidio ha sido encontrado en los enterocitos del intestino delgado, el cual es capaz de infectar la lamina propia y posteriormente macrófagos. La morfología de este parásito es similar a E. cuniculi aunque presenta diferencias significativas, su nombre es Encephalitozoon hellem, recientemente se ha aislado de la conjuntiva de varios pacientes con SIDA así como nariz y senos paranasales (11,10,16,24) existiendo evidencias de su adquisición a través de vías respiratorias (29). Otros estudios realizados sugieren que E. hellem también puede establecerse en una variedad de tejidos y no restringirse solo a epitelio ocular (1).

Los géneros Nosema y Pleistophora son considerados principalmente como parásitos de insectos y peces respectivamente (3) aunque presentan otros tipos de hospederos entre los que se encuentra el hombre. El género Nosema adquirido por os en vertebrados (4) tiene su localización primaria en el intestino delgado de los vertebrados de donde se presume es acarreado por macrofagos y diseminado hacia otros órganos (2).

Se ha encontrado como causante de daño a nivel sistémico y como causante de afecciones oculares a Nosema connori (1), en donde también se ha podido demostrar la participación de N. corneum y N. ocularum. Existen dos casos reportados de

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

microsporidiosis asociados con daño ocular en donde el agente causal aislado no presenta características suficientes para clasificarlo como miembro de este género y sin embargo se le ubicó en el género Microsporidium.

La fuente de infección para el género Pleistophora es desconocida, ignorándose un mecanismo de transmisión (1,4); el número de casos de infección se reduce a dos. A este parásito solamente se le conoce como causante de infecciones de músculo estriado, particularmente de la pared abdominal (4), aunque se cree que podría encontrarse diseminado por el organismo (1).

Del género Septata únicamente se sabe que es capaz de infectar el intestino delgado de pacientes con SIDA, infectando lamina propia, macrófagos y enterocitos. Las infecciones por S. intestinalis se producen desde el intestino delgado y grueso hasta riñones, hígado y vesícula biliar y se puede ver involucrado en una doble infección con E. bienewisi (1,11,12).

PATOGENIA

Los microsporidios son capaces de invadir una amplia variedad de células de sus hospedadores. El sitio de invasión

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

inicial para todos es la pared intestinal, después de la ingestión de esporas por el hospedero. La infección puede permanecer en este lugar o distribuirse a otros tejidos, aunque la ruta por la que son transportados es pobremente conocida.

En vertebrados los parásitos son fagocitados por macrófagos y transportados dentro de estos diseminándose por todo el organismo, provocando según sea el caso, inflamación difusa o focos granulomatosos a nivel de cerebro, riñones u otros órganos (3). La infección puede ser sistémica, estableciéndose en muchos tejidos diferentes de manera específica.

El conocimiento de la patología provocada por los microsporidios es escasa.

En los mamíferos, el microsporidio mas estudiado ha sido E. cuniculi, quien infecta muchos tipos de células. En los riñones existe una distribución masiva que abarca túbulos y médula, en el cerebro la infección aparece aislada o en pequeños grupos de células hipertrofiadas causando un severo daño neurológico manifestado por convulsiones, fiebres recurrentes, pérdida de conciencia, dolor de cabeza y vómito (1,2). Por otro lado se ha reportado daño hepático con fatiga progresiva, pérdida de peso y diarrea, y más recientemente peritonitis en pacientes con SIDA (1,11).

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

E. bieneusi se ha caracterizado por encontrarse únicamente en el intestino delgado de pacientes VIH positivos, en donde las manifestaciones clínicas se reducen a severas diarreas en las que no existe la presencia de otros patógenos causales. (7,13,14,28, varios).

E. hellem produce queratoconjuntivitis de carácter superficial y se manifiesta clínicamente por la sensación de cuerpos extraños, visión borrosa y fotofobia, existiendo reportes de ulceración de córnea (11,10,16).

N. connori produce otro tipo de infección sistémica con manifestaciones de diarrea y mala absorción. N. oculorum produce lesiones ulcerativas en el estroma corneal de pacientes sanos, lo que provoca persistentes irritaciones y visión borrosa. N. corneum es causante de queratitis e iritis (1).

El género Pleistophora fue encontrado en un paciente con SIDA quien presentó gran compromiso del estado general, pérdida de peso, fiebre, adenopatías e intensa miositis generalizada con debilidad y contractura muscular. Las biopsias musculares demostraron fibras atrofiadas con fibrosis, reacción inflamatoria por células plasmáticas, linfocitos e histiocitos, y el tejido

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

se presentaba infiltrado por esporas de microsporidios pertenecientes a este género, denominado Pleistophora sp. (1,8).

MECANISMOS DE RESISTENCIA DEL HOSPEDERO

El hecho de que en algunos individuos inmunológicamente competentes la encefalitozoonosis resulte asintomática y raramente fatal sugiere que los mecanismos de respuesta inmune del hospedero controlan la multiplicación del parásito "in vivo", a la vez que el tratamiento con agentes inmunosupresores activan las infecciones latentes. Se ha visto que la resistencia inmunológica que presentan estos individuos es un proceso dependiente de células T (30).

La encefalitozoonosis ha demostrado una disminución de la respuesta inmune del hospedero. Algunos autores (30) reportan que la cepa C57BL/6 de ratones infectados produjo títulos bajos de anticuerpos y una reducción en la respuesta de sus células de bazo a mitógenos correlacionada a una reducción en el desarrollo de tumores transplantados. Esta resistencia al desarrollo del tumor y el conocimiento de que el cultivo de células de riñón de conejo que es capaz de elaborar una molécula parecida al interferón gama después de la infección "in vitro" con E. cuniculi sugiere que la encefalitozoonosis podría

RELACION HOSPEDERO-PARASITO

estimular la activación y participación de procesos antitumorales del hospedero (30).

MANIFESTACIONES CLINICAS

Aunque el primer microsporidio del que se tiene conocimiento fué reportado desde el año de 1857 (1) las evidencias de infección en humanos surgen hasta el año de 1957 (Matsubayashi), en donde se identificó a E. cuniculi como el causante de la infección; desde este momento y hasta la aparición del SIDA, contados casos más de microsporidiosis pudieron ser establecidos y otros géneros involucrados (3). Con el incremento de los casos de SIDA también se incrementaron los reportes de microsporidiosis debida principalmente a 2 géneros aparentemente nuevos, los cuales se han ido relacionando con esta enfermedad (7,27)

Las diferentes manifestaciones clínicas a que dan lugar los diferentes géneros capaces de infectar al humano dependen de la especie de microsporidio infectante, del órgano afectado y del estado inmunológico del hospedero.

Género Encephalitozoon. Aparte de los dos casos considerados de encephalitozoonosis en niños que fueron declarados moderadamente inmunocomprometidos, dicha infección en el hombre se ha relacionado con severas inmunodepresiones (15). Existe

MANIFESTACIONES CLINICAS

el caso de un hombre homosexual con SIDA, con sarcoma de Kaposi y candidiasis oral, quien desarrolló una hepatitis con ictericia progresiva de la cual no se recuperó. Las biopsias hepáticas revelaron una granulomatosis focal, necrosis supurativa y la presencia de numerosas esporas que mediante la ME fueron diagnosticadas como E. cuniculi. El caso de Matsubayashi y col. era de un niño japonés de 9 años de edad que presentó una enfermedad neurológica grave con evolución de 3 a 4 semanas, caracterizada por vómitos, cefalea, fiebre, convulsiones y pérdida de conciencia. Tanto del líquido cefalorraquídeo (LCR) como de la orina se aislaron elementos ovoides interpretados como esporas de Encephalitozoon que también se obtuvieron al inocular ratones con esos fluidos del enfermo. El otro paciente, descrito por Bergquist y col., fue el de un niño de dos años de edad que presentó un cuadro neurológico similar al anterior, de varios meses de evolución (2).

Un segundo microsporidio perteneciente a este género ha sido encontrado infectando el ojo de pacientes homosexuales con SIDA, las manifestaciones clínicas incluyeron sensación bilateral de cuerpos extraños, conjuntivitis, visión borrosa y fotofobia, en algunos casos también se han podido observar ulceraciones de la córnea. El organismo causante de este tipo de infecciones oculares es E. hellem.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Género Nosema.- Otro tipo de infección sistémica surge en un lactante de cuatro meses de edad que falleció por diarrea, malabsorción e inmunodeficiencia por a linfopatia tímica. En la autopsia se encontró una neumonitis por Pneumocystis carinii e incontables esporas de N. connori en todos los órganos examinados (pulmónes, tracto intestinal, riñones, glándulas adrenales, hígado, corazón y diafragma). El cerebro no fue examinado (1,2). Recientemente se ha encontrado un microsporidio causante de lesiones ulcerativas profundas en ojos de pacientes sanos. La experiencia con este párasito es muy poca y lo que se puede decir del cuadro clínico es que se ha llegado a presentar queratitis e iritis lo cual se atribuye a N. corneum quien fue identificado por ME y ML. Existe un caso publicado para N. oculorum en el cual la úlcera de córnea resultante de la infección causó irritación persistente y visión borrosa del ojo izquierdo (10).

Microsporidium sp. Se han descrito dos casos de infección de la córnea por microsporidios con pérdida del órgano. En el caso de Ashton y Wirasinha (2), se aisló el parásito de la córnea de un niño de once años en Sry Lanka, el parásito fue nombrado M. ceylonensis; el otro caso, de Pinnolis y col. (2) corresponde a una mujer de Botswana, quien presentó dolor y ceguera

MANIFESTACIONES CLINICAS

debidas a una perforación por ulcera de córnea. El parásito fue referido al género colectivo Microsporidium y llamado M. africanum (1,2).

Pleistophora sp. El primer caso documentado sobre este tipo de infección fue reportado en el año de 1985. El microorganismo fue removido del deltoides izquierdo y músculo cuádriceps de un individuo inmunocompetente. Las biopsias musculares demostraron fibras atrofiadas, con fibrosis, reacción inflamatoria por células plasmáticas, linfocitos e histiocitos, y el tejido aparecía infiltrado por esporas de microsporidios (2). El paciente presentó gran compromiso del estado general con pérdida de 18 kg de peso, linfadenopatía generalizada, y progresiva debilidad muscular generalizada que progresó a contracturas musculares por aproximadamente un periodo de siete meses (2). Cinco meses después las biopsias del brazo izquierdo también dieron positivas para Pleistophora. Originalmente fue diagnosticado como un paciente con SIDA (2), pero su suero fue encontrado negativo para el HIV varias veces (8).

El genero Septata.- Unicamente se le asocia como causante de diarreas en pacientes inmunocomprometidos, aunque se sabe que la infección por este es capaz de diseminarse a otros

órganos distintos al intestino delgado (1).

E. bienewisi.- El primer caso fue reportado en Francia en una infección simultánea con Giardia lamblia en un paciente Haitiano con SIDA quien presentó diarrea prolongada y no mostró mejoría al eliminar quistes y trofozoítos de Giardia lamblia. Otro caso similar se reportó en Estados Unidos en el mismo año y desde este momento hasta ahora el número de casos reportados ha ido incrementándose constantemente en Europa, Estados Unidos, Africa y Australia (1).

Esta nueva especie fue descrita por Desportes y col. en enterocitos de pacientes con SIDA que sufren de diarreas intratables, de muy difícil manejo (2).

La mayoría de los pacientes con infección debida a E. bienewisi presentan diarrea crónica en ausencia de otros patógenos que podrían ser causantes de ésta; la diarrea puede no ser constante pero es recurrente y debilitante con severos episodios de irritación diaria debidos al consumo de alimentos. La diarrea está acompañada por pérdida de peso. Dado que hasta la fecha no se conoce tratamiento efectivo, se puede considerar que este parásito es causante de pérdida de peso que continúa hasta la muerte en pacientes con SIDA (31).

DIAGNOSTICO

Las infecciones con microsporidios no causan severos daños en personas inmunocompetentes, pero en aquellos que presentan deficiencias inmunológicas las manifestaciones clínicas son tan importantes que pueden ocasionar la muerte del paciente. Por esta razón es necesario establecer el diagnóstico de la enfermedad. En términos generales el diagnóstico se refiere a los métodos por medio de los cuales se identifica una etiología, en estos casos, el parásito causante de la enfermedad (métodos directos), o productos que indican la presencia del agente causal sin observarlo, tales como las pruebas serológicas (métodos indirectos).

Para establecer el diagnóstico de una enfermedad se requiere del estudio clínico-epidemiológico en donde por datos epidemiológicos por ejemplo costumbres y hábitos, residencia, convivencia con animales, etc., y datos referentes a las manifestaciones clínicas, signos y síntomas que presenta el paciente orientarán al médico a sospechar del agente causal de su enfermedad; en muchas ocasiones estos datos son suficientes para establecer el diagnóstico, pero en otras ocasiones se requiere del diagnóstico de laboratorio en donde por diferentes

DIAGNOSTICO

técnicas completa el diagnóstico. El diagnóstico de laboratorio consiste primeramente en la toma adecuada de productos biológicos del paciente donde se puede localizar al parásito si se va a emplear una técnica directa u otra muestra que hace posible alguna metodología indirecta.

Dentro de los métodos directos se incluyen las técnicas que permiten aislar y desarrollar al parásito en grandes cantidades a partir de una muestra biológica en donde se dificulta su identificación. Los métodos para favorecer su desarrollo, ya sea en animales de experimentación o en medios de cultivo no solo ayudan a diagnosticar la enfermedad sino a tener material suficiente para realizar investigaciones a diferentes niveles.

AISLAMIENTO Y DESARROLLO EXPERIMENTAL DEL PARASITO

De las especies de microsporidias que parasitan al humano, las únicas que han podido ser aisladas hasta el momento son: E. cuniculi, N. corneum, y E. hellem (1,15) las fuentes principales para la obtención de esporas son muestras de orina y liquido cefalorraquideo para el caso del primer parásito; tejido ocular para el caso de N. corneum y E. hellem y biopsias intestinales para el aislamiento de E. hellem.

DIAGNOSTICO

Algunos medios se han utilizado para el desarrollo de los parásitos. El único microsporidio que ha presentado cierta facilidad para desarrollar "in vitro" en una gran variedad de tipos de células ha sido E. cuniculi (1), entre estos se encuentran los cultivos de células de plexo de conejo (RCP) sano, las cuales generan un desarrollo mayor del parásito, siendo casi espontáneo; las células de embión canino también favorecen una reproducción bastante aceptable para este parásito en comparación con otro tipo de células en las cuales el desarrollo es muy pobre o definitivamente nulo; una línea celular de la lengua de feto de humano (CSL,300) y una línea celular de pulmón de feto de humano (W 138) (1,3); otro sistema muy conveniente es provisto por células caninas de riñón (MDCK) (1,15,17).

Recientemente N. corneum y E. hellem también han podido ser cultivados; el primero en células de epitelio de córnea de conejo (SIRC) y en MDCK y el segunda únicamente en MDCK (1,15).

Los géneros restantes, considerados como patógenos del humano hasta el momento no han podido ser cultivados.

Los animales de experimentación en los que se ha obtenido un mejor resultado en el desarrollo de estos microorganismos y principalmente para el desarrollo de E. cuniculi son por supuesto el conejo, quien además fue el primer animal en el

que se encontró este parásito (1), el ratón y el hámster (32).

METODOS DIRECTOS

Los microsporidios por sus características morfológicas y sus aún desconocidos ciclos de vida no pueden ser fácilmente detectables por exámenes microscópicos de rutina.

El diagnóstico de microsporidios generalmente se realiza mediante tinciones de cortes histológicos del paciente, por alguno de los métodos recomendados; tinciones de Gram, Goodpasture, Ziehl-Neelsen, Giemsa, metamina argéntica de Gomori, Hematoxilina-Eosina, y la tinción de PAS, esta última tiñe la capa polar (1,5).

Las técnicas por Microscopia de luz (ML) son satisfactorias para el diagnóstico siempre y cuando los observadores estén familiarizados con la morfología, y la cantidad de parásitos no sea baja ya que por el contrario el microorganismo puede ser pasado inadvertidamente, por lo que el método usual de diagnóstico es la (ME) que proporciona una apreciación mucho mayor de las características de las esporas que la (ML); tales como la observación de las esporas encerradas en la vacuola parasitófora dentro del citoplasma de la célula huésped, con los detalles de su estructura; la pared electrolúcida, el

esporoplasma, el número de núcleos, los cortes transversales de las volutas del filamento polar, etc., mientras que con el (NL) solo se pueden observar las esporas de microsporidios como pequeños elementos ovales de gruesa pared (2). Para microsporidios intestinales el diagnóstico se realiza generalmente mediante cortes histológicos de intestino delgado en donde se han encontrado por (ME) todos los estados de desarrollo incluyendo aparentemente las esporas maduras dentro de los enterocitos de duodeno y yeyuno (27,33,34).

El diagnóstico en heces se ha realizado considerando la hipótesis de que las esporas liberadas de los enterocitos son excretadas (13,27), aunque la baja concentración de éstas dificulta su localización, por lo que se han sugerido técnicas de concentración de muestras por lavados y centrifugados sucesivos. La técnica de tinción elegida para estos casos es de Giemsa y las esporas han sido vistas por (NL) y confirmadas por (ME) obteniéndose buenos resultados, aunque las esporas han sido más fácilmente identificadas en aspirados y fluido duodenal en donde son más abundantes y se encuentran libres de bacterias y hongos que están en gran cantidad presentes en las heces, sin embargo este tipo de exámenes da como resultado un trauma al efectuar la endoscopia la cual es molesta para el paciente (13). En el caso de muestras tomadas de fluido

duodenal, las esporas han sido más fácilmente identificadas en secciones teñidas con azul de toluidina, que en las preparaciones de heces.

Weber (1992) usó un método de tinción por modificación del método de tricromo en frotos de heces y aspirados duodenales en donde no fue necesario realizar métodos de concentración para obtener buenos resultados, en este caso las esporas son más fácilmente identificables por (ML) que aquellas que se tiñen con Giemsa, aunque la técnica requiere de un procedimiento más largo (35). Este tipo de exámenes sirven como una medida práctica para detectar en heces esporas de microsporidios intestinales como E. bienewisi cuya infección es importante causa de diarrea en pacientes con SIDA.

Existen reportes de tinción de esporas en muestras de orina por técnica de Gram o Ziehl-Neelsen y una técnica de tinción por inmunofluorescencia, pero los buenos resultados de este examen dependen de un paso activo de dichas esporas por los riñones, lo que no garantiza el éxito de la técnica (1).

MÉTODOS INDIRECTOS

Actualmente los principales métodos indirectos que se utilizan en humanos para detectar infecciones por microsporidiosis

consisten en inmunodetecciones por Western blot y por técnica de ELISA (36), los antígenos de microsporidia utilizados incluyen a Nosema corneum, Encephalitozoon hellem, y Encephalitozoon cuniculi. Los resultados obtenidos sugieren que el diagnóstico puede depender de la detección directa del organismo usando anticuerpos específicos (37). En la detección de E. cuniculi por Western blot se obtuvo una reacción cruzada de este suero con antígenos preparados para varios géneros de microsporidia, esta reacción puede usarse en el desarrollo de exámenes de diagnóstico para microsporidias no cultivables como Enterocytozoon bieneusi (38).

Los resultados de las reacciones serológicas son aún muy preliminares para su uso clínico, sobre todo por las reacciones cruzadas con parásitos como malaria y con microsporidias propios de mosquitos (5).

El desarrollo que se obtiene de E. cuniculi al ser cultivado ha llevado al desarrollo de métodos serológicos (38). Dentro de estos existe un método por inmunofluorescencia de anticuerpos (IFAT) que ha sido usado en numerosos estudios, incluyendo aquellos demostrados en humanos (36).

Por ruptura mecánica de las esporas fue preparado un antígeno que recibió el nombre de Encephalitozonina y que se utilizó para realizar pruebas de hipersensibilidad cutánea.

DIAGNOSTICO

Este exámen solo se ha realizado en conejos con alto porcentaje de resultados positivos (1).

Recientemente dos laboratorios lanzaron al mercado dos métodos de fluorescencia para detectar microsporidia, estos son Calcofluor white M2R y Uvitex 2B, brindando la posibilidad de que el diagnóstico de microsporidia pueda ser incorporado a los procedimientos de diagnóstico rutinario de un hospital ya que tanto la tinción y la examinación microscópica pueden ser realizados en pocos minutos. El reactivo se une a la quitina que se encuentra en la pared de la espora y por excitación a 360-370 nm nos brinda una fluorescencia azulosa cuya intensidad dependera de la madurez de la espora. Esta técnica puede utilizarse para cualquier microsporidio pero es particularmente usado para E. bienensi por presentar una espora muy pequeña y por ser difícil de detectar por otros métodos (1).

TRATAMIENTO

Sobre el tratamiento de la microsporidiosis existe poca experiencia. Aunque el uso de ciertos fármacos han demostrado algún efecto inhibitorio sobre el desarrollo del parásito hasta el momento no se ha podido encontrar una terapia verdaderamente efectiva (15).

La experiencia en el tratamiento debido a E. bienewisi sugiere que el Albendazol, Metronidazol, Primaquina y Fumagillin pueden ser efectivos (23,31,39,40).

Albendazol. El tratamiento con albendazol en pacientes con SIDA y microsporidiosis debida a E. bienewisi obtuvo buenos resultados, el medicamento fue bien tolerado (39, 40).

Biopsias duodenales obtenidas antes y al final del tratamiento fueron examinadas por (ME) y se realizó una valoración semicuantitativa de la cantidad de parásitos y descripción de la morfología del parásito (40). Después del tratamiento un gran porcentaje de pacientes mostraron una marcada reducción de las evacuaciones y del volumen de estas, cambios en la consistencia de heces y una gran reducción en la carga de parásitos incrementandose el hallazgo de formas anormales

aún en pacientes que no respondieron al tratamiento.

Existe la ventaja en el tratamiento con albendazol en este tipo de pacientes de que el fármaco presenta una baja absorción intestinal. Aunque en este estudio el uso del medicamento se manifestó con mínimas reacciones adversas, su uso puede causar náuseas, alopecia, rash y anomalías de la función hepática entre otras (39). TABLA No. VI.

Se cree que el modo de acción del albendazol es a través de su interacción con la tubulina del parásito, uniéndose al sitio de la colchicina en la tubulina inhibiendo su polimerización hacia la formación de microtubulos; lo que provoca interferencia con la toma de nutrientes y división celular ocasionando degeneración de estados proliferativos (39).

La dosis óptima de este medicamento y su tiempo de administración aún no es determinado, sin embargo se piensa que el albendazol u otros benzimidazoles podrían ser una terapia útil en la microsporidiosis intestinal (39).

Metronidazol y Primaquina. En un estudio realizado en pacientes seropositivos infectados por E. bienewisi se obtuvo un alto porcentaje de estos que respondieron al tratamiento con el fármaco con una pronunciada mejoría o la desaparición del cuadro diarreico que presentaban. Después del tratamiento

TABLA NO. VI

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON ALBENDAZOL

no.	edad	duración síntomas (meses)	PRE-TRATAMIENTO						POST-TRATAMIENTO					
			peso corporal (en kg)		heces		anti- diarr.	(kg) peso	heces			anti- diarr.	(días) remisión	
			peso	perdida	frec.	vol.			consis.	(ml)	frec.			vol.
1	34	12	54	21	7	900	liq.	C (240)	57	1	170	F	0	50
2	32	3	57	15	20	NA	liq.	C (240)	57	2	NA	B	C(120)	19
3	29	2	64	3	15	NA	liq.	C (60) L (8)	65	2	NA	F	0	26
4	48	48	64	2	6	NA	liq.	L (8)	64	1	NA	F	0	31
5	32	12	63	5	8	660	liq.	C (180) D (20)	64	1	110	F	0	28
6	45	2	61	2	10	NA	liq.	C (90) L (6)	61	2	NA	B	0	NA

La edad está dada en años, la pérdida de peso es a partir del inicio de la diarrea. Frecuencia: de tres días con antidiarreicos. Consistencia: liq., líquida; F, formada; B, blanda. Antidiarreico: C, fosfato de codeína; L, loperamida; D, difenoxilato (dosis diaria en mg se encuentra entre parentesis). El sexto paciente murió antes de terminar el tratamiento.

sugirieron un efecto clínico beneficioso de este fármaco, aunque las biopsias de intestino delgado a que se sometieron los pacientes mostraron que el parásito causó infección persistente y no fueron erradicados de este (31). El mismo resultado fue visto en el único paciente que fue tratado con Primaquina. El período de remisión que se obtiene es relativamente corto y los efectos secundarios son varios y severos, por lo que se teme la necesidad de suspender el tratamiento (31).

A pesar del desconocimiento del exacto efecto terapéutico y la historia de la infección no se excluye la posibilidad de mejoría en los pacientes tratados con metronidazol y posiblemente con primaquina hasta ahora (31).

Fumagillin. Existe el caso reportado de una mujer con SIDA y una queratoconjuntivitis debida a E. hellem y confirmada con microscopía de luz, electrónica y de inmunofluorescencia, el cual fue resuelto rápidamente con Tropica fumagillin, un antibiótico cristalino con eficacia probada contra especies de *Encephalitozoon*. No se reportó toxicidad sistémica ni de córnea con las dosis empleadas (23).

CONTROL Y PREVENCIÓN

Características del parásito tales como su alto potencial reproductivo y la gran variedad de hospederos que presentan parecen dificultar considerablemente el control y prevención de la infección. De cualquier manera es necesaria su correcta identificación en exámenes de diagnóstico y posteriores medidas de saneamiento en estos pacientes.

El reconocimiento reciente de la importancia que representa la infección en el hombre, sobre todo en cierto sector de la población, podría estimular la búsqueda de nuevos fármacos que tal vez brinden mejores resultados en el control de la infección, sin embargo hasta que esto no suceda la epidemia podría ser controlada evitando el fecalismo al ras del suelo, la preparación e ingesta de alimentos con manos sucias así como el consumo de bebidas contaminadas, lo que podría en buen grado disminuir la probabilidad de infección y a largo plazo disminuir también la presencia del parásito en la población.

IV. CONCLUSIONES

- 1.- Parásitos como el grupo de los microsporidios son importantes de investigar a nivel epidemiológico, clínico y biológico para conocer las condiciones que favorecen o perjudican su desarrollo, permitiendo diseñar estrategias terapéuticas y de control sobre esta parasitosis.
- 2.- El diseño de nuevas metodologías para el diagnóstico de laboratorio de esta parasitosis con facilidad de realización, bajo costo y mayor especificidad permitirán la detección oportuna de microsporidios que de lo contrario podrían llegar a afectar severamente a pacientes inmunodeficientes.
- 3.- Es indispensable realizar el diagnóstico de esta parasitosis en México, sobre todo para pacientes inmunodeficientes, puesto que anualmente se presentan casos considerables de gente que recibe terapias o presenta enfermedades que la inmunosuprimen.

4.- Dado que la microsporidiosis es una parasitosis cosmopolita por presentarse en lugares con climas, condiciones sanitarias, hábitos, así como costumbres tan variadas, no es posible que México quede exento de la presencia de microsporidios que afectan al humano.

V. BIBLIOGRAFIA

1. Kreier, J. P., (1993). Parasitic Protozoa, second edition. Academic Press. inc. 6:299-371.
2. Atías A., Tassara R., Strozzi L. Los microsporidios "nuevos" agentes oportunistas. Parasitol al Día 1988; 12:165-70.
3. Mandell, G. L., Douglas, R. G., and Bennett, J. E., (1990). Principles and practice of infectious diseases, third edition. Edit. churchill livingstone. 2130-2133.
4. Sprague, V., Becnel, J. J., and Hazard, E. I. (1992). Taxonomy of phylum Microspora. Crit. Rev. Microbiol. 18:285-395.
5. Beaver, P. Ch., Jung, R. C. (1986). Parasitologia Clinica. Salvat Editores, pag. 184.
6. Vossbrinck, C. R., Maddox, J. V., Friedman, S., Debrunner-Vossbrink, B. A., and Woese, C. R. (1987). Ribosomal RNA sequences suggests microsporidia are extremely anclent

BIBLIOGRAFIA

- eukaryotes. *Nature* 326:411-414.
7. Cali, A., and Owen, R. L. (1990) Intracellular development of *Enterocytozoon*, a unique microsporidian found in the intestine of AIDS patients. *J. Protozool.* 37:145-155.
 8. Cali, A., (1991). General Microsporidian Features and Recent Findings on AIDS isolates. *J. Protozool.* 38:625-630.
 9. Cali, A., Kotler, D. P., and Orenstein, J. M. (1993). *Septata intestinalis*, an intestinal microsporidian associated with chronic diarrhea and dissemination in AIDS patients. *J. Euk. Microbiol.* 40:101-112.
 10. Cali, A., Meisler, D. M., Lowder, C. Y., Lembach, R., Ayers, L. M. Takvorian, P. M., Rutherford, I., Longworth, D. L., Mc Mahon, J., and Bryan, R. T. (1991a). Corneal microsporidiosis: characterization and identification. *J. Protozool.* 38:215S-217S.
 11. Orenstein, J. M., Tenner, M., Cali, A., and Kotler, D. P. (1992b). A microsporidian previously undescribed in humans, infecting enterocytes and macrophages and associated

BIBLIOGRAFIA

- with diarrhea in an acquired immunodeficiency syndrome patient. *Hum. Pathol.* 33:722-728.
12. Orenstein, J. M., Dieterich, D. T., and Kotler, D.P. (1992a). Systemic dissemination by a newly recognized intestinal microsporidia species in AIDS. *AIDS* 6:1143-1150.
13. Orenstein, J. M., Zierdt, C., and Kotler, D. P. (1990b). Identification of spores of *Enterocytozoon bienewisi* in stool and duodenal fluid from AIDS patients. *Lancet* 336:1127-1128.
14. Desportes, I., Le Charpentier, Y., Galian, A., Bernard, F., Cochand-Priollet, B., Laverne, A., Ravisse, P., and Modigliani, R. (1985). Occurrence of a new microsporidian: *Enterocytozoon bienewisi* n.g., n. sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J. Protozool.* 32:250-254.
15. Canning, E. U., and Hollister, W. S. (1991). In vitro and in vivo investigation of human microsporidia. *J. Protozool.* 38:631-635.
16. Didier, P. J., Didier, E. S., Orenstein, J. M., and

BIBLIOGRAFIA

- Shadduck, J. A. (1991). Fine structure of a new human microsporidian, *Encephalitozoon hellem*, in culture. *J. Protozool.* 38:502-507.
17. Visvesvara, G. S., Leitch, G. J., Moura, H., Wallace, S., Weber, R., and Bryan, R. T. (1991). Culture, electron microscopy and immunoblot studies on a microsporidian parasite isolated from the urine of a patient with AIDS. *J. Protozool.* 38:105S-111S.
18. Weber, R., Kuster, H., Keller, R., Baechi, T., Spycher, M. A., Briner, J. (1992). Pulmonary and intestinal microsporidiosis in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 146:1603-1605.
19. Oddo, D., Chuaqui, R., Hoffmann, E., Garcia, M. (1993). Intestinal microsporidiosis in a Chilean patient with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Pathol. Res. Pract.* 189:209-213.
20. Orenstein, J. M., Tenner, M., Kitler, D. P. Localization of infection by the microsporidian *Enterocytozoon bienersi*

BIBLIOGRAFIA

- in the gastrointestinal tract of AIDS patients with diarrhea. *AIDS* 6:195-197.
21. Orenstein, J. M., Chiang, J., Steinberg, W., Smith, P. D., Rotterdam, H., and Kotler, D.P. (1990). Intestinal microsporidiosis as a cause of diarrhea in human immunodeficiency virus-infected patients: a report of 20 cases. *Hum. Pathol.* 21:476-481.
 22. Hojlyng, N., Nielsen, A., Wandall, J., Blom, J., Molbak, K., Chauhan, D., and Petersen, E. First cases of microsporidiosis in Scandinavian patients with aids. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 25:667-669.
 23. Rosberg, D. F., Serdarevic, O. N., Erlandson, R. A., Bryan, R. T., Schwartz, D. A., Visvesvara, G. S., and Keenan, P. C. (1993). Successful treatment of microsporidia keratoconjunctivitis with tropical fumagillin in a patient with AIDS. *Cornea.* 12:261-265.
 24. Hollister, W. S., Canning, E. W., Colbourn, N. J., Curry, A., and Lacey, C. J. N. (1993). Characterization of *Encephalitozoon hellem* (Microspora) isolated from the nasal

BIBLIOGRAFIA

- mucosa of a patient with AIDS. *Parasitology* (in Press).
25. Chupp, G. L., Alory, J., Adelman, L. S., Breen, J. C., and Skolnik, P. R. (1993). Myositis due to *Pleistophora* (Microsporidia) in a patient with AIDS. *Clin. Infect. Dis.* 16:15-21.
 26. Cali, A., Orenstein, J. M., Kotler, D. P., and Owen, R. (1991). A comparison of two microsporidian parasites in enterocytes of AIDS patients with chronic diarrhea. *J. Protozool.* 38:96S-97S.
 27. Van Gool, T., Hollister, W. S., Eeftink Schattenkerk, J., Weerman, M. A., Van Ketel, R. J., Reiss, P., and Canning, E. U. (1990). Diagnosis of *Enterocytozoon bieneusi* microsporidiosis in AIDS patients by recovery of spores from faeces. *Lancet* 336:697-698.
 28. Desportes, I., Hilmarisdottir, I., Romana, Ch., Tanguy, S., Detry, A., and Gentilini, N. (1991). Characteristics of the Microsporidian *Enterocytozoon bieneusi*: a consequence of its development within short-living enterocytes. *J. Protozool.* 38:11S-113S.

BIBLIOGRAFIA

29. Schwartz, D. A., Bryan, R. T., Hewan-Lowe, K.D., Visvesvara, G. S., Weber, R., Cali, A., and Angritt, P. (1992). Disseminated microsporidiosis (*Encephalitozoon hellem*) and acquired immunodeficiency syndrome: autopsy evidence for respiratory acquisition. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 116:660-668.
30. Niederkorn, J. Y., Brieland, J. K., and Mayhew, E. (1983). Enhanced natural killer cell activity in experimental murine encephalitozoonosis. *Infect. Immun.* 41:302-307.
31. Eeftink Schattenkerk, J. K. M., Van Gool, T., Van Ketel, R. J., Bartelmsman, J. F. M., Kuiken, C. L., Terpstra, W. J., and Reiss, P. (1991). Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-infected individuals. *Lancet* 337:895-898.
32. Shadduck, J. A., Watson, W. T., Pakes, S. P., and Cali, A. (1979). Animal infectivity of *encephalitozoon cuniculi*. *J. Parasitol.* 65:123-129.
33. Gorbach, S. L., Bartlett, J. G., Blacklow, N. R. (1992). *Infectious Diseases*. Saunders, W. B. Company. 946-948 (t).

BIBLIOGRAFIA

34. Van Den Bergh-Weerman, M. A., Van Gool, T., Eeftink Schattenkerk, J. K., and Dingemans, K. P. (1993). Electron microscopy as an essential technique for the identification of parasites in AIDS patients. *Eur. J. Morphol.* 31:107-110.
35. Weber, R., Bryan, R. T., Owen, R. L., Wilcox, C. M., Gorelkin, L., and Visvesvara, G. S. (1992). Improved light microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. *N. Engl. J. Med.* 326:161-166.
36. Hollister, W. S., Canning, E. U., and Willcox, A. (1991). Evidence for widespread occurrence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* (Microspora) in man indicated by ELISA and other serological tests. *Parasitology* 102:33-43.
37. Didier, E., Shadduck, J. A., Didier, P. J., Millichamp, N., and Vossbrinck, Ch. R. (1991). Studies on ocular microsporidia. *J. Protozool.* 38:635-638.
38. Weiss, L. M., Cali, A., Levee, E., Laplace, D., Tanowitz, H., Simon, D., and Wither, M. (1992). Diagnosis of

BIBLIOGRAFIA

- Encephalitozoon cuniculi infection by Western blot and the use of cross-reactive antigens for the possible detection of microsporidiosis in humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 47:456-462.
39. Blanshard, C., Ellis, D. S., Tovey, D. G., Dowell, S., and Gazzard, B. G. (1992a). Treatment of intestinal microsporidiosis with albendazole in patients with AIDS. *AIDS* 6:311-313.
40. Blanshard, C., Ellis, D. S., Tovey, D. G., Dowell, S., and Gazzard, B. G. Electron microscopic changes in *Enterocytozoon bieneusi* following treatment with albendazole. *Journal of Clinical Pathology (London)* 46:898-920.