



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS

IDENTIFICACIÓN DE *MICROSPORIDIUM SP.* EN PACIENTES  
SOMETIDOS A TRASPLANTE DE RIÑÓN EN EL HOSPITAL  
INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN  
INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DRA. VIANNEY GLIGLIOLY MONTES GAONA



DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JOSÉ LUIS ROMERO ZAMORA

FEBRERO 2016 MÉXICO D.F.





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GÓMEZ  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



Identificación de *Microsporidium* sp. en pacientes sometidos a trasplante de riñón en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

TESIS DE POSGRADO PROFESIONAL

Para para obtener el título

ESPECIALISTA EN

INFECTOLOGÍA PEDIATRICA

Presenta

DRA. VIANNEY GLIGLIOLY MONTES GAONA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ LUIS ROMERO ZAMORA  
Médico adscrito al Departamento de Infectología  
Hospital Infantil de México Federico Gómez

DRA. REBECA GOMEZ CHICO VELASCO

Jefa de la Dirección de Enseñanza  
Hospital Infantil de México Federico Gómez

MEXICO, D.F.

FEBRERO 2016

## DEDICATORIAS

A ti Dios mío por darme la oportunidad de existir así, aquí y ahora; por mi vida, que la he vivido junto a ti. Por haberme dado sabiduría, fortaleza, salud, coraje, y no dejarme sola en los momentos difíciles y haberme permitido llegar a la meta en este gran proyecto.

A ti mami, que tienes algo de Dios por la inmensidad de tu amor, y mucho de ángel por ser mi guarda y por tus incansables cuidados. Porque si hay alguien que esta atrás de todo este trabajo, eres tú, que has sido, eres y serás el pilar de mi vida.

A ti papi, por tu incondicional apoyo, tanto al inicio como al final de mi carrera; por estar pendiente de mí en cada momento. Por ayudarme a la construcción de mí proyecto de vida y hacer que verdaderamente crea en mí.

A mi hermano, porque juntos aprendimos a vivir, compartiendo triunfos y fracasos, por incorporar a nuestras vidas a esas hermosas personitas quienes me regalan su amor y cariño de manera incondicional.

A Israel, que has sido fiel amigo y compañero, que me has ayudado a continuar, haciéndome vivir los mejores momentos de mi vida, gracias amor por tu cariño y comprensión.

Al Hospital Infantil de México Federico Gómez y sus pacientes porque aquí recibí el conocimiento intelectual y humano de cada una de las personas que aquí laboran.

A mis supervisor de tesis al Dr. José Luis Romero Zamora, por su amabilidad, buena disposición, paciencia, por el tiempo que me dedico para que este trabajo culminara exitosamente, mi agradecimiento sincero.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios que me dio fortaleza y fe para creer y hacer lo que parecía imposible terminar.

A mi familia por su amor y apoyo incondicional, por estar siempre para mí y apoyarme en mis proyectos.

A Israel por su amor y paciencia, por impulsarme en los momentos de debilidad, te amo corazón.

Al Dr. José Luis Romero Zamora por su apoyo y coordinación para la realización de este trabajo.

A las QFB Emma Guadalupe Gascón Morales, Laura Griselda Martínez Méndez, Ana María Hernández Sánchez y al físico Josué Esaú Romero Ibarra por su gran labor con el procesamiento de los insumos para la realización de este proyecto.

A todas esas personas que directa e indirectamente son parte fundamental para la culminación de mis metas.

## INDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
MARCO TEORICO.....	2
ANTECEDENTES .....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	16
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	16
JUSTIFICACIÓN .....	17
OBJETIVOS .....	18
MATERIAL Y METODOS.....	19
PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO .....	20
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN .....	29
CONCLUSIÓN .....	30
LIMITANTES .....	31
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXOS .....	34

## INTRODUCCIÓN

Los microsporidios fueron identificados inicialmente como protozoos. Actualmente se encuentran clasificados como hongos, con alrededor de 1,200 especies conocidas, aunque solo 15 de ellas se reconocen como patógenos para el humano. Las infecciones en humanos eran prácticamente desconocidas antes de la epidemia del VIH/SIDA.

La microsporidiosis es una infección emergente y oportunista producida por microorganismos intracelulares obligados formadores de esporas que han sido taxonómicamente reclasificados como hongos. Los integrantes de ese grupo afectan con mayor frecuencia a personas inmunocomprometidas con o sin VIH.

El diagnóstico debe sospecharse en pacientes inmunosuprimidos con diarrea crónica, sinusitis, falla renal, etc, pero la confirmación se basa en el hallazgo microscópico de las esporas (0.5 x 3 micras), en heces, orina o biopsia. Se dispone de metodologías clásicas para la detección directa, mediante microscopia óptica, microscopia electrónica, o a través de pruebas moleculares.

La eficacia y seguridad de diferentes productos farmacéuticos ha sido evaluada a lo largo de los años, sin embargo, es limitado el arsenal terapéutico del que se dispone a la hora de tratar individuos infectados por estos microorganismos.

La escasa información clínico epidemiológica sobre la microsporidiosis en el mundo, demanda la búsqueda y reconocimiento de estos hongos ya que al dar un manejo adecuado se eleva la esperanza y calidad de vida de las personas. En México no existe información sobre la prevalencia y las características anatómico-clínicas de este patógeno, lo cual justifica la importancia de este trabajo, que tiene la finalidad de ser un precedente sobre este tema.

## MARCO TEÓRICO

### ANTECEDENTES

A mediados del siglo XIX, en Francia, durante el auge de la industria del gusano de seda (*Bombyxmori*) apareció una epidemia que fue denominada “pebrina”, identificada por puntos negros como granos de pimienta (pepper) en el cuerpo del gusano. Luis Pasteur intervino para su identificación, observó que el parásito invadía el intestino del gusano y producía gran cantidad de esporas y relacionó por primera vez la presencia de un agente microscópico con la producción de enfermedad<sup>(1)</sup>.

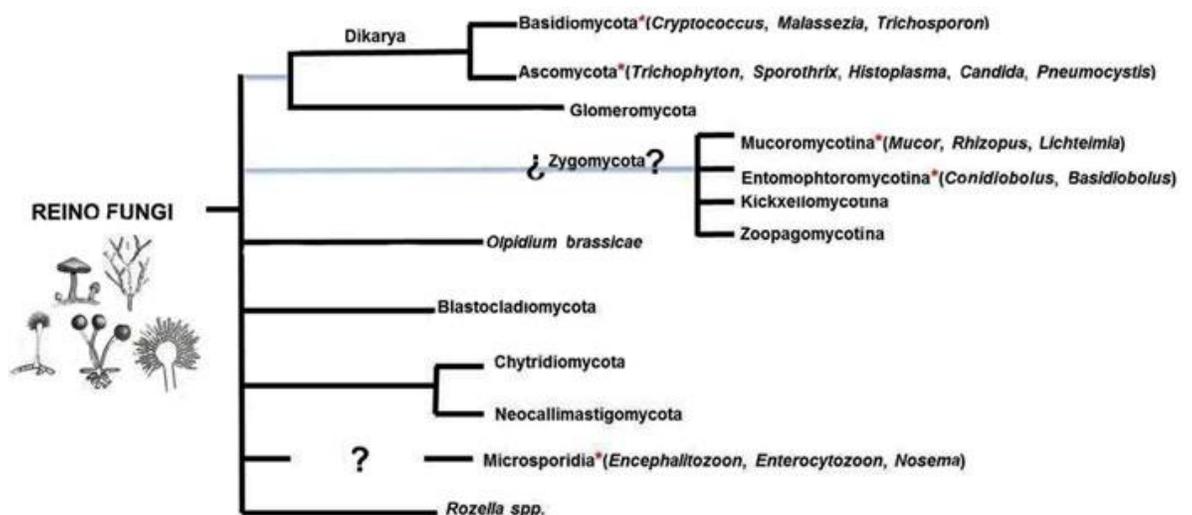
Nageli, en 1857, identificó en el gusano de seda *Nosemabombysis* como el agente causal del proceso y lo clasificó como *Schizomycetes*, fue incluida con levaduras y bacterias<sup>(1,2,3)</sup>. En 1922, Wright y Craighead clasificaron por primera vez en mamíferos un protozooario asociado a encefalomiелitis en conejos, observación que fue confirmada por Levaditi et al. en 1923 también en encefalomiелitis granulomatosa, el protozooario fue descrito como *Encephalitozooncuniculi*<sup>(4)</sup>.

El primer caso humano fue notificado por Matsubayashi en 1959 en un niño de 9 años portador de encefalitis, donde aislaron *Nosemacuniculi* (*Encephalitozooncuniculi*) de la sangre, líquido cefalorraquídeo y orina. Sin embargo, un amplio grupo de síndromes clínicos han sido relacionados con microsporidiosis<sup>(1,4)</sup>. En 1973 informaron la presencia de microsporidiosis en la biopsia de un adenocarcinoma pancreático en un hombre adulto, pero infortunadamente no se llegó a la identificación de la especie<sup>(1)</sup>. En 1984, en la muestra de orina de un niño colombiano de 2 años de edad, radicado en Suecia, con síndrome convulsivo y una relación baja de células CD4/CD8, se le aislaron organismos grampositivos compatibles con *Encephalitozooncuniculi*, con el advenimiento de la epidemia de SIDA, a partir de 1985, Descartes publicó el

primer caso humano por *Enterocytozoonbieneusi* como un oportunista en individuos con VIH-SIDA, y se relacionó con diarrea persistente<sup>(4)</sup>.

Se han descrito varias patologías en las que se encuentran los microsporidios, al igual que en pacientes con padecimientos oncológicos y sometidos a trasplantes que reciben manejo inmunosupresor. Existe la suposición de que las microsporidias forman parte de la flora normal del hombre, la infección permanece asintomática en individuos inmunocompetentes, sólo presenta un comportamiento oportunista en individuos inmunocomprometidos<sup>(2)</sup>.

La filogenia molecular ha modificado en forma importante la taxonomía de un gran número de organismos eucariotes. Spague, en 1977, con base en el peculiar mecanismo de infección de un parasito intracelular estricto y no presentar ultraestructura parecida a otros *phyla*, conformo un nuevo *phylum* dentro del reino Protista y Subreino Protozoa, al que denomino Microspora, que en 1998 cambio el nombre a Microsporidia. Estos organismos fueron identificados como los más pequeños y primitivos con núcleo verdadero, endomembrana y citoesqueleto. En 1998 Cavalier-Smith en su artículo de reinos, los coloca en el cuarto *phylum* del reino *Fungi* y subreino *Eumicota*<sup>(3)</sup>.



## EPIDEMIOLOGÍA

La microsporidiosis humana es cosmopolita con estimados de prevalencia que oscilan entre el 1 y 50% dependiendo de la región geográfica, el método diagnóstico, y las características demográficas de la población estudiada<sup>(4)</sup>.

Antes de la introducción de la terapia antiretroviral, la prevalencia de microsporidiosis solía ser más frecuente entre los individuos VIH positivos con diarreas y un conteo de linfocitos T CD4 positivos por debajo de 100 por mm<sup>3</sup> de sangre. En regiones de África, Asia, y Sudamérica, donde la terapia antirretroviral no es accesible, la microsporidiosis es frecuente en individuos infectados por VIH con SIDA<sup>(5,6)</sup>.

La microsporidiosis es una infección emergente en pacientes inmunodeficientes que no es exclusiva de aquellos infectados por el virus del VIH, también afecta a receptores de trasplantes de órganos o pacientes sometidos a quimioterapia inmunosupresora. La notificación de este germen se incrementa también de manera perceptible entre individuos inmunocompetentes tales como: viajeros, niños y ancianos<sup>(7)</sup>.

Las fuentes de infección humana por microsporidiosis son aún inciertas. Las esporas de esos microorganismos son liberadas al medio ambiente con las heces, la orina, y las secreciones respiratorias. Los animales o personas infectadas, así como agua y alimentos contaminados con esporas parecen ser las fuentes de infección más frecuentes. La transmisión persona- persona ocurre, y la infección ocular puede ser el resultado de auto inoculación, causada por dedos contaminados. Los genotipos de los microsporidiosis que infectan humanos han sido identificados en animales domésticos o salvajes, lo que aporta elementos para considerar la microsporidiosis dentro de las zoonosis<sup>(3,4)</sup>.

## CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Los microsporidios son parásitos intracelulares obligados que pertenecen al filo Microsporidia. Por su simplicidad morfológica y fisiológica, así como su dependencia parasitaria, se les considera como células ancestrales, organismos con características muy básicas pero que han evolucionado hasta nuestros días<sup>(1,3,4)</sup>. Los microsporidios presentan un genoma reducido y compacto, lo que ha hecho difícil el estudio filogenético del grupo<sup>(3)</sup>.

El *phylum* Microsporidia comprende 150 géneros que agrupan aproximadamente 1200 especies, 14 de ellas descritas como productoras de enfermedad en humanos. Las especies que afectan humanos se distribuyen en 7 géneros (*Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Anncaliia*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora* y *Vittaforma*) y microsporidios no clasificados (denominados colectivamente *Microsporidium*)<sup>(1,3,4)</sup>.

## BIOLOGÍA Y CICLO DE VIDA

Los microsporidios se consideran eucariotas primitivos pues tiene núcleos pero carecen de mitocondrias, peroxisomas, aparato de Golgi y otros organelos comunes. Los ribosomas de los microsporidias tienen un tamaño muy similar al de los ribosomas procariontes, pero carecen de una subunidad 5.8S. El genoma de estos microorganismos es pequeño, por ejemplo el *Encephalitozoon* es de tan solo 2.9 megabases, se identifican de 10 a 11 cromosomas<sup>(1,2,3,4)</sup>.

Los microsporidios sobreviven fuera del hospedero por largos periodos de tiempo. La pared de la espora es gruesa, resistente y compuesta por una doble capa: una interna rica en quitina denominada **endospora** y una externa rica en proteína denominada **exospora**. Dentro de esa cubierta rígida y resistente vive el **esporoplasma** que aloja el núcleo y el citoplasma celular, todo lo cual es transferido a la célula hospedera en el proceso de infección<sup>(3)</sup>.

La espora también contiene varios orgánulos específicos de *microsporidium*, dentro de ellos, la vacuola posterior (una gran estructura que ocupa entre la tercera parte y la mitad del volumen celular), el polaroplasto (estructura membranosa en la porción anterior de la célula) y el disco de anclaje, el cual une el tubo polar a la célula durante el proceso de germinación (el tubo polar define el carácter de *phylum*). En la mayoría de los microsporidios esa estructura está finamente enrollada alrededor de la periferia del esporoplasma. El número de espirales que forma el orgánulo es típico de la especie. En el caso de *E. bieneusi* y *E. intestinalis* presenta entre 5 y 7 espirales<sup>(3,4)</sup>.

El tubo polar de *microsporidium* se forma en la espora inactiva. A diferencia de otros hongos, ese tubo es una estructura larga compuesta por bloques de proteínas de las cuales tres han sido identificadas PTP1 (polar tubeprotein 1), PTP2, y PTP3. Existen evidencias que sugieren que el tubo polar se forma fuera del esporoplasma lo que explicaría por qué durante la eversión brusca durante el proceso de germinación no afecta la estructura del esporoplasma<sup>(3,4,5)</sup>.

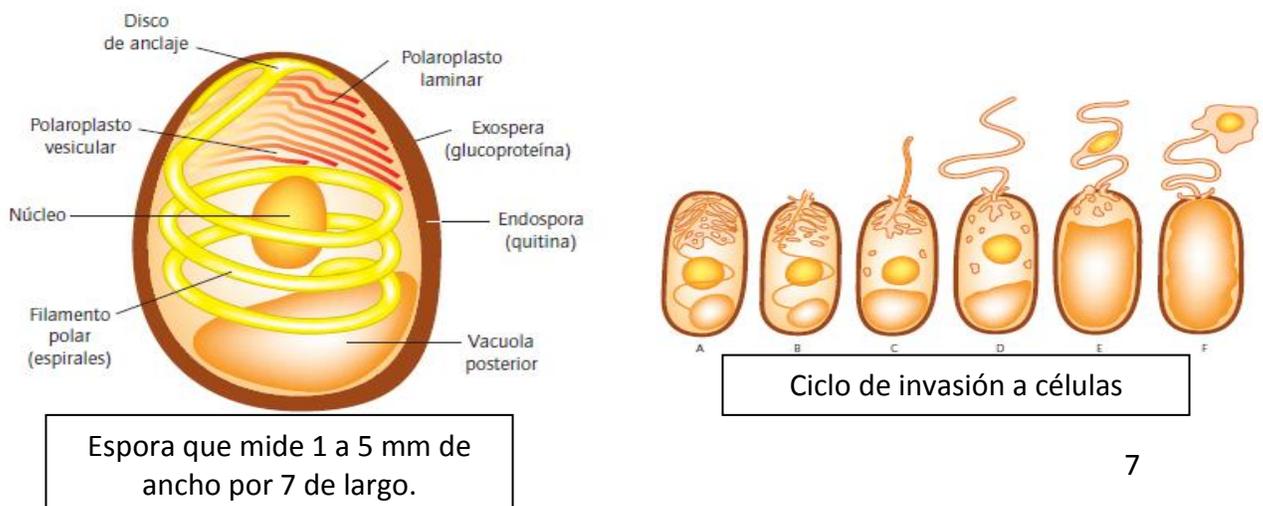
La espora es activada para iniciar el proceso de infección por modificaciones de pH y en la relación de concentración catión/anión al entrar en el sistema digestivo o al entrar en las proximidades de un potencial hospedero. El proceso de activación es seguido por edema del polaroplasto y de la vacuola posterior, lo que causa un incremento importante de la presión dentro de las paredes rígidas de la espora. Ese edema es mediado por la rápida entrada de agua a través de los canales de acuaporinas en la membrana plasmática. La presión osmótica aumentada dentro de la espora se debe a la ruptura del disacárido trealosa en monosacáridos de glucosa<sup>(3,4)</sup>.

Otro mecanismo propuesto, que estaría involucrado en el incremento de la presión dentro de la espora, es la producción de agua a partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogeno) en la vacuola posterior lo que empuja el esporoplasma dentro del tubo polar como si fuera un pistón a presión<sup>(1)</sup>. La presión en la espora se

incrementa y la porción anterior se rompe y el disco de anclaje se vierte formando un cuello por donde es expelido el tubo polar<sup>(4)</sup>.

Las hipótesis convencionales sostenían que la rápida expulsión del tubo polar bastaba para que penetrara la membrana de la célula hospedera. Actualmente, existen evidencias que sustentan que para que ocurra la penetración del tubo polar en la célula hospedera se necesitan complejas interacciones moleculares entre la membrana de esta y el extremo distal del tubo polar, seguido por la endocitosis de la punta del tubo polar y la emergencia del esporoplasma. En diferentes especies del genero *Encephalitozoonse* ha comprobado la existencia de interacciones moleculares entre la pared de la espora y moléculas de glucosaminoglucoanos en la superficie celular, lo que facilita la orientación de la espora en el momento de “disparar” el tubo polar<sup>(1,2,3,4)</sup>.

Una vez dentro de la célula hospedera el *Microsporidium* sufre dos fases clave en su proceso de desarrollo. La primera, un estado proliferativo de fisión binaria o múltiple y un segundo estado o esporogonia, en el cual se desarrolla la espora y madura. Durante la fase proliferativa la cariocinesis ocurre de forma repetida antes de que se presente la división celular, resultando formas redondeadas de plasmodio multinucleado como en el *E. bienensio* células multinucleadas semejantes a cintas como en *E. intestinalis*. Esas fases pueden ocurrir libremente en el citoplasma como en *E. bienensio*, o en el interior de una vesícula parasitófora en el caso de *E.intestinalis*<sup>(3,4)</sup>.



## PATOGÉNESIS

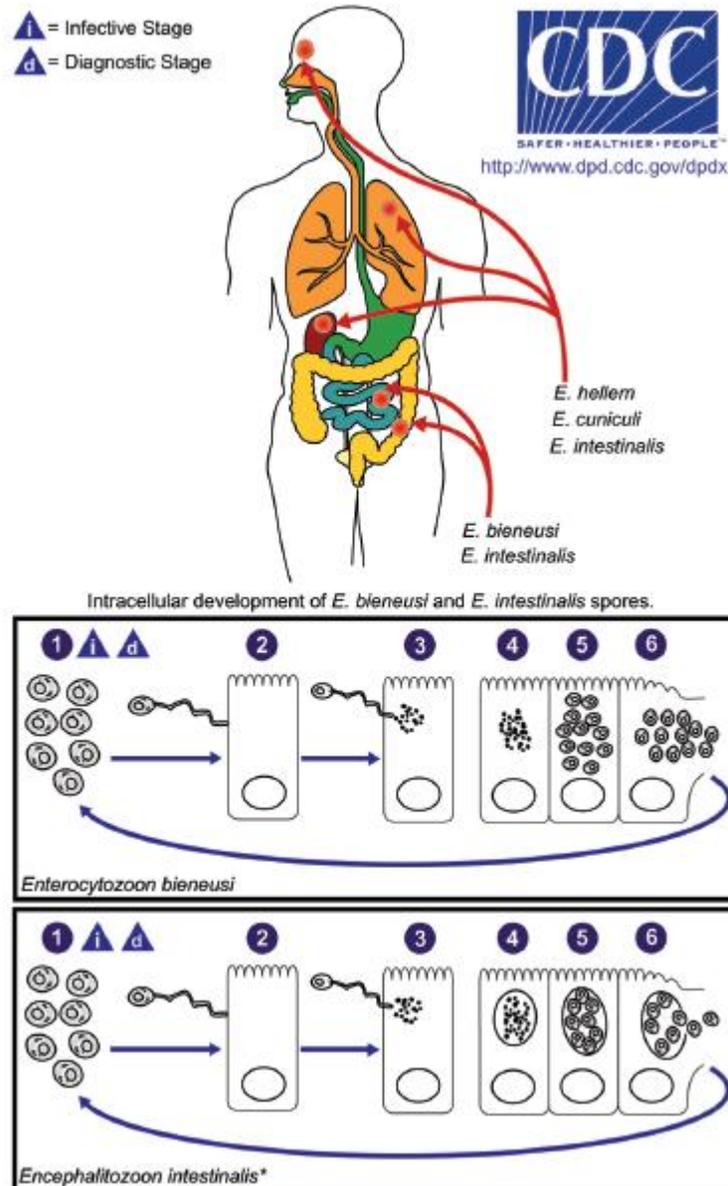
La infección por microsporidios aparentemente se inicia mediante la ingestión de las esporas cuyas fuentes de contagio son directamente otros humanos o animales infectados (fecalismo), o secundariamente por consumo de agua y comida igualmente contaminadas. La infección puede ser adquirida por trauma ocular directo, por soluciones de continuidad de la piel y por transmisión sexual con menor frecuencia. La transmisión vertical o transplacentaria no ha sido identificada en humanos<sup>(1,3,4,6)</sup>.

En el caso específico de los microsporidios intestinales, se reconoce que después de la ingestión, las esporas pasan al duodeno, en donde el esporoplasma es inyectado a las células adyacentes en el intestino delgado. Una vez en el interior de la célula huésped, los microsporidios se multiplican numerosamente dentro de una vacuola parasitófora (ej: *Encephalytozoon*spp) o de forma libre dentro del citoplasma (ej: *Enterocytozoon*spp). La multiplicación intracelular incluye una fase de divisiones repetidas mediante fisión binaria (merogonia) o fisión múltiple (esquizogonia) y una fase que culmina en la formación de esporas (esporogonia). Los parásitos se diseminan de célula en célula, provocando la muerte celular, la inflamación local (aumento de radicales libres) y el daño al DNA celular con aumento del riesgo de mutagénesis en la célula huésped<sup>(4,6)</sup>.

La replicación de organismos en el epitelio de las vellosidades del intestino delgado, parecen contribuir a la mala absorción que conduce a la diarrea. Posterior a la esporulación (esporogonia), las esporas maduras que contienen el esporoplasma infeccioso pueden ser arrojadas al exterior del organismo, junto con la materia fecal, contaminando a otros individuos y continuando de este modo el ciclo<sup>(4)</sup>.

A partir del foco primario, puede existir diseminación hacia la vía hepato-biliar o al aparato respiratorio. Aunque ciertas especies son muy selectivas en el tipo de célula que invaden, prácticamente cualquier microsporidio es capaz de infectar cualquier órgano del humano (infecciones diseminadas)<sup>(3,4)</sup>.

En el caso de especies que no invaden el tejido gástrico, el modo de infección y la patogénesis a otros órganos son prácticamente iguales<sup>(4)</sup>.



## RESPUESTA INMUNE CONTRA *Microsporidium*

Existen evidencias claras acerca de la ocurrencia de respuesta inmune humoral contra *Microsporidium*. Los anticuerpos son capaces de reconocer la pared de la espota y el tubo polar aunque es probable que jueguen un papel limitando en la prevención de la mortalidad o erradicación de la infección<sup>(1,3,6)</sup>.

La importancia de la inmunidad mediada por células en la resistencia contra la infección por microsporidios se demuestra por la susceptibilidad a presentar formas graves de la enfermedad en los estados en que se compromete esa respuesta (ej SIDA, pacientes sometidos a trasplante de órganos)<sup>(1,6)</sup>.

## **MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Los signos y síntomas clínicos de la microsporidiosis son bastante variables (oculares, renales, gastrointestinales, pulmonares, senos paranasales) tanto en personas inmunocompetentes como inmunocomprometidas. En pacientes inmunocompetentes puede causar manifestaciones de corta duración y autolimitantes, la mayoría son subdiagnosticados<sup>(1-6)</sup>.

Las infecciones oculares pueden ser de tipo querato-conjuntivitis en casos de inmunocompromiso o de queratitis estromal en inmunocompetentes y pueden presentarse asiladas o como parte de una infección generalizada. La infección ocular puede ser por inoculación directa o asociada a trauma ocular. El cuadro consiste en hiperemia ocular, dolor, fotofobia, visión borrosa, edema palpebral y úlceras corneales<sup>(3,6)</sup>.

La infección intestinal provocada por *E. bienersi* se encuentra marcada por una persistente, crónica y debilitante diarrea en el paciente inmunocomprometido y por una diarrea aguda y auto-limitada en inmunocompetentes. En el inmunocomprometido la diarrea se acompaña de malestar general, fiebre y pérdida de peso que se sobreponen al cuadro propio del virus de inmunodeficiencia humana<sup>(3,4)</sup>.

Las manifestaciones clínicas de la infección con otras especies de microsporidios dependen del sistema u órgano afectado y varían desde un dolor ocular localizado y pérdida de visión (*MicrosporidiumspyNosemasp*) hasta alteraciones neurológicas y hepatitis (*Encephalitozooncuniculi*) y un cuadro más generalizado de diseminación, con fiebre, vómitos, diarrea y mala absorción (*Nosemasp*). En un caso de infección diseminada por *Nosemaconnori*, se observó

que el microorganismo afectó los músculos del estómago, intestino, arterias, diafragma, corazón y las células parenquimatosas del hígado, pulmón y glándulas suprarrenales del paciente<sup>(1-6)</sup>.

Lista de microsporidias que causan infecciones extraintestinales en humanos	
Órgano o sistema involucrado (alteración)	Especie de Microsporidia
Sistema cardiovascular (endocarditis, miocarditis).	<i>Encephalitozooncuniculi</i> , <i>Anncaliaconnori</i> <i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Sistema nervioso central	<i>Encephalitozooncuniculi</i> <i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Diseminada	<i>Encephalitozoon</i> spp <i>Tubulinosemaacidophagus</i> <i>Ancaliiaconnori</i> <i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Ojo (queratitis, queratoconjuntivitis, ceguera)	<i>Encephalitozoonhellen</i> <i>Encephalitozoonintestinalis</i> <i>Vitaformacorneae</i> <i>Trachipleistophorahominis</i> <i>Nosemaocularum</i> <i>Microsporidium</i> spp <i>Anncaliaalgerae</i>
Sistema endocrino	<i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Tiroides, paratiroides y corteza adrenal	<i>Anncaliaconnori</i>
Tracto genital: endometritis, trompas de Falopio y uretritis.	<i>Encephalitozoon</i> spp.
Hígado, páncreas, peritoneo	<i>Encephalitozoon</i> spp. <i>Enterocytozoonbieneusi</i> <i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Sistema hematológico: bazo, médula ósea y ganglios linfáticos.	<i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Sistema musculoesquelético: miositis	<i>Anncaliaalgerae</i> <i>Braciolavesicularum</i> <i>Microsporidium</i> spp <i>Tubulinosema</i>
Tracto respiratorio superior: tráquea, bronquios, bronquiolos y pulmones.	<i>Encephalitozoon</i> spp. <i>Enterocytozoonbieneusi</i>
Sistema renal	<i>Anncaliaconnori</i> <i>Encephalitozoon</i> spp (injerto renal) <i>Trachipleistophoraanthropoptera</i>
Piel	<i>Anncaliaalgerae</i> <i>Encephalitozoonintestinalis</i> .

## DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de las microsporidiosis, las técnicas como examen directo y cultivo rutinarias y convencionales, quedan descartadas debido a que por el tamaño de las esporas; los microsporidios no pueden ser identificados en un simple y sencillo examen directo y por su carácter de parasitismo obligado, los medios de cultivo *in vitro* quedan eliminados como herramientas diagnósticas. Las muestras utilizadas para el diagnóstico microbiológico son heces, orina, líquido intestinal, secreción conjuntival, raspado corneal, fluido vítreo, secreciones en general, fragmentos de tejido. Las esporas muestran afinidad tintorial a la hematoxilina y eosina, Ziehl-Neelsen, tinción de PAS, tinción de Goodpasture, Giemsa, metaminaargéntica de Gomori y coloraciones quimioluminiscentes como calcoflúor, todos estos colorantes son muy sensibles, pero poco específicos<sup>(1,4,6)</sup>.

El examen bajo microscopio de luz es el método estándar para el diagnóstico de la microsporidiosis, la demostración a través del microscopio de luz se logra con métodos de tinción que generan contraste diferencial entre las esporas del microorganismo y las células y detritus presentes en las muestras clínicas. Se debe utilizar magnificación de 60X a 100X, ya que el tamaño de las esporas es de 1 a 3 micras, los colorantes utilizados selectivamente para microsporidios es el blanco de calcoflúor que se une a la pared quitinosa de la espora, la tinción blanco de calcoflúor es muy específica. Estos métodos juntos con la microscopia electrónica (no disponible con facilidad) se consideran el “estándar de oro” para el diagnóstico confirmatorio de las microsporidiosis<sup>(1,3)</sup>.

En individuos inmunocompetentes pueden eliminarse de  $5.0$  a  $5.7 \times 10^5$  esporas/gramo de heces y en los pacientes con VIH SIDA la eliminación llega a ser de  $4$  a  $4.4 \times 10^8$  esporas por gramo de heces. Están estandarizadas las técnicas inmunodiagnósticas mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA y Western-blot, con empleo de anticuerpos poli y monoclonales. También se utiliza la hibridación *in vitro* con anticuerpos fluorescentes con gran sensibilidad y especificidad, con la desventaja de ser una técnica muy laboriosa<sup>(3)</sup>.

La biología molecular también contribuye a la identificación de esporas, el empleo de la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) con iniciadores específicos de especie es ampliamente difundida. Los iniciadores que más se utilizan son de la pequeña subunidad del RNA, tienen la capacidad de detectar tan pocas como 10 esporas en 100 microlitros de materia fecal<sup>(1-6)</sup>.

## **TRATAMIENTO**

La infección por microsporidio, ocurre en pacientes comprometidos inmunológicamente, por lo que de manera fundamental se debe intentar restaurar la respuesta inmune para inducir la eliminación del microorganismo<sup>(1,3)</sup>.

Se recomienda manejo con albendazol, inhibidor de la tubulina, es efectivo contra la mayoría de los microsporidios, la duración de la terapia depende del estatus inmune del hospedero y de la condición de la infección en particular si esta diseminada o localizada<sup>(3,6)</sup>.

## **PREVENCIÓN**

La prevención primaria evita la transmisión y diseminación de esporas por vía fecal oral, fecal nasal, persona a persona y fecal-ocular, a través de mejorar los servicios sanitarios y los hábitos higiénicos. Las esporas sobreviven en el medio ambiente y el agua, son resistentes a agentes químicos, pero pueden ser destruidas por la cocción de los alimentos, ebullición, congelación del agua y la higiene personal<sup>(3,4)</sup>.

## ANTECEDENTES

Antes de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), los parásitos protozoarios *Microsporidium* eran conocidos como patógenos en casi todos los grupos de animales. Los principales de microsporidiosis en pacientes con SIDA aparecieron hasta 1985. Desde entonces se han documentado numerosos casos aislados, y en la actualidad existen reportes de casos en pacientes inmunocompetentes. El primer estudio realizado en México que buscó determinar la frecuencia, características clínicas y morfológicas de microsporidiosis intestinal en pacientes con SIDA se realizó de 1987 a 1994 en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán donde se incluyeron 98 biopsias de intestino delgado donde se encontró que en 30 especímenes (31%) eran positivas para microsporidias. Estos datos se compararon con las principales causas de diarrea crónica reportados tanto en su institución como en la literatura, concluyendo que la microsporidiosis es la causa más frecuente de diarrea crónica en pacientes con SIDA y que este diagnóstico está en aumento debido a las nuevas metodologías diagnósticas<sup>(7)</sup>.

Es escasa la literatura que reporte la presencia de estos microorganismos en la edad pediátrica, en México solo existe un estudio que se realizó en pacientes pediátricos con leucemia o linfoma en el cual el propósito fue identificar las especies de microsporidios en pacientes pediátricos, se analizaron 13 muestras de materia fecal, resultando positivas 7 para *Microsporidium* identificando en 3 de ellas *E. bienewisi* y en 2 *E. intestinalis*<sup>(8)</sup>.

El primer caso de Microsporidiosis en pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido se realizó en 1999 en un paciente de 48 años sometido a trasplante cardiaco en enero de 1989, presentando desde 1993 diarrea posprandial, fatiga crónica y dispepsia, en febrero de 1994 se hospitalizó por deshidratación, se realizaron estudios de materia fecal reportándose negativos para *G. lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*,

*Campylobacter* y *Yersinia*. Confirmándose por parte de CDC positivo para *E. bieneusi*, se trató con metronidazol presentando resolución de los síntomas<sup>(9)</sup>.

En España se publicaron los primeros casos de microsporidiosis en pacientes receptores de trasplante renal en 2011, en el que reportan que a diferencia de microsporidiosis intestinal donde el agente causal más frecuentes es *E. bieneusi* en pacientes con trasplante renal es más frecuente aislar *Encephalitozoon* que puede causar infecciones diseminadas siendo más frecuente aislar al parasito en muestras de orina<sup>(10)</sup>.

Son pocos los reportes de caso que existen en la literatura, sin embargo han aumentado los reportes de casos diseminados en pacientes inmunosuprimidos, sobre todo en pacientes oncológicos<sup>(11)</sup>. En pacientes sometidos a trasplante renal la cohorte más amplia incluye a 5 pacientes con microsporidiosis diseminada en los cuales se identificó *Encephalitozoon*sp, este estudio se llevó a cabo en Australia<sup>(12)</sup>. La infección por *Microsporidium* se reporta de manera escasa en pacientes sometidos a trasplante renal, sin embargo la mayoría de los estudios concluye que estos microorganismos son una causa frecuente de diarrea e infecciones diseminadas que pueden ser la causa de pérdida del injerto renal<sup>(15)</sup>.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En los últimos años se ha presentado un incremento substancial en los pacientes receptores de trasplante renal y con ello los pacientes que reciben manejo inmunosupresor, que los predispone a múltiples procesos infecciosos entre ellos los causados por microsporidios, que pueden ser una causa de pérdida del injerto, en el hospital infantil de México se desconoce la prevalencia de estos gérmenes en pacientes sometidos a trasplante renal. Siendo esta una patología no diagnosticada en esta institución. Por lo que el estudio para identificar la presencia de *Microsporidium* en pacientes sometidos a trasplante renal es indispensable para determinar la presencia de estos microorganismos y poder plantear medidas preventivas y de control de diseminación del agente implicado y disminuir la posibilidad de pérdida del injerto.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la incidencia de infección por *Microsporidium* en pacientes trasplantados renales en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?

## JUSTIFICACIÓN

La identificación de gérmenes oportunistas en pacientes que se han sometido a trasplante renal por medio de técnicas de laboratorio con tinciones especiales, microscopía electrónica y pruebas de biología molecular, permitirá al personal clínico una detección oportuna de posibles procesos infecciosos que pongan en riesgo el éxito del trasplante renal, disminuyendo así la morbilidad y los costos asociados a cuidados de la salud en este grupo de pacientes. La escasa información clínico – epidemiológica sobre la microsporidiosis en el mundo, demanda la intervención para establecer su prevalencia e incidencia real.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Estandarizar una metodología diagnóstica para la identificación de *Microsporidium*sp en muestras de orina de pacientes receptores de trasplante renal en el Hospital Infantil de México.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Identificar el número de pacientes trasplantados renales que cursan con infección y enfermedad por *Microsporidium*sp. en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Identificar los microorganismos del *PhylumMicrospora* en pacientes receptores de trasplante renal.

## MATERIAL Y METODOS

### **Tipo de estudio**

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y comparativo.

### **Población de estudio.**

Pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de enfermedad renal crónica terminal sometidos a trasplante renal en el HIMFG a partir de octubre 2014 a mayo 2015.

**Tamaño de muestra:** Todos los casos de pacientes trasplantados de octubre 2014 a mayo 2015.

### **Criterios de Selección:**

- Inclusión:
  - Menores de 18 años
  - Diagnóstico confirmado de ERCT sometido a trasplante renal en el periodo Octubre 2014 a mayo 2015.
- Exclusión:
  - Expedientes incompletos.

## **PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO**

### **DESCRIPCIÓN DE VARIABLES**

#### **Variable resultado**

- a) Presencia de *Microsporidium* en una muestra de orina, determinado por tinción blanco de Calcofluor y microscopia electrónica.

#### **Variables confusoras**

- a. Edad: tiempo que ha vivido el paciente en años.
- b. Sexo: condición organica femenino o masculino.
- c. Enfermedad de base: entidad nosológica que es la principal patología del paciente.
- d. Lugar de origen de procedencia: área geográfica donde vive el paciente.
- e. Tipo de donador: riñón donado por algún familiar vivo del paciente o donador cadavérico.
- f. Inmunosupresor: sustancia química que reduce la eficacia del sistema inmunológico.

## DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

De cada paciente se describirán las características epidemiológicas, las cuales recuperaremos del expediente clínico por medio de una hoja de recolección de datos que incluya los siguientes parámetros: edad, sexo, lugar de procedencia, diagnóstico, tipo de donador, fecha de trasplante, riñón trasplantado derecho o izquierdo, manejo inmunosupresor.

## REACTIVOS Y SOLUCIONES

### **-Solución de Buffer fosfatos (PBS):**

Preparación	
NaCL	4.235 g.
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.565 g.
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.68 g.
H <sub>2</sub> O destilada	C.B.P 500 mL.

Ajustar a pH 7.2, esterilizar por filtración membrana 0.22

### **-Calcoflúor White M2R (SIGMA-ALDRICH No CATALOGO F3543):**

a) Solución MADRE 0.1% p/v en PBS a pH 7.2 estéril, conservar a 4 grados centígrados, protegido de la luz (FRASCO AMBAR).

b) Solución de TRABAJO:

- 1.0 mL Fluorostain (0.1% p/v en PBS pH 7.2).

- 1.0 mL NaOH al 5%

- 8.0 ml Azul de Evans (0.5% en PBS pH 7.2).

Se incuba 5 minutos en la obscuridad, se lava con PBS pH 7.2 hasta eliminar el exceso de colorante, se deja secar a temperatura ambiente. Se monta

en resina sintética, se deja secar. Se observa al microscopio de epifluorescencia (pico de emisión 360nm y de fluorescencia a 420 nm) objetivo 100X.

## ESTUDIO PILOTO

Con la finalidad de estandarizar la metodología se procedió a llevar a cabo un estudio piloto.

Los controles positivos y negativos se seleccionaron de la siguiente manera:

Se tomó como control positivo No.1 **(C+1)** a células levaduriformes de una cepa de *Candidaalbicans* con 48 horas de incubación.

Se tomó como control positivo No. 2 **(C+2)** a células filamentosas de una cepa de *Aspergillus fumigatus* con 48 horas de incubación.

Se tomó control positivo No. 3 **(C+3)** a cepa de *Microsporidiumsp.* proveniente de materia fecal, aislada y concentrada por gradiente de sacarosa y mantenida de PBS pH 7.2.

Como control negativo **(C Neg)** se tomó a la preparación que se realizó sólo con colorantes, sin ninguna célula.

### Procedimiento

Se realizaron por separado, frotis de cada uno de C+1, de C+2, de c+3 y de C Neg en portaobjetos de 25 x 75 mm nuevos, esterilizados. Se llevó a cabo el procedimiento con una nx3. Las preparaciones se dejaron secar a temperatura ambiente.

Fueron fijados con metanol

Se realizó tinción con Fluorostain-azul de Evans en PBS pH 7.2, de acuerdo a los reactivos ya preparados, cubriendo las preparaciones durante 5 minutos en oscuridad.

Se lavan con PBS pH 7.2 hasta eliminar el exceso de colorante.

Se dejan secar a temperatura ambiente.

Se montan en resina sintética.

Se observan al microscopio de fluorescencia a 100X.

## **REALIZACIÓN DEL ESTUDIO**

Se obtiene muestra de orina por micción espontánea en recipiente estéril.

### **PROCEDIMIENTO**

-50 ml de orina, se depositan en tubo cónico el cual se centrifuga a 2500 r.p.m. durante 30 minutos.

Se decanta el sobrenadante.

El botón se suspende en 200 mcl de PBS pH 7.2 (el cual se divide en tres partes: una parte para realizar el frotis – **Fase A** para tinción con Blanco de Calcoflúor, otra parte para conservar en alícuota a 4 grados centígrados para la realización de microscopía electrónica de transmisión -**Fase B**; y otra para realización de Reacción de la polimerasa en cadena (PCR) – **fase C**.

#### **Fase A. Tinción con blanco de Calcoflúor**

Se realiza frotis en portaobjetos de 22 x 75 mm nuevos y esterilizados.

Se deja secar a temperatura ambiente.

Se fija en metanol

Se tiñe con Fluorostain-Azul de Evans en PBS pH 7.2, durante 5 minutos en oscuridad.

Se lava con PBS pH 7.2 hasta eliminar el colorante.

Se secan a temperatura ambiente.

Se montan en resina sintética.

Se observan al microscopio de fluorescencia a 100X.

### **Fase B. Microscopía electrónica de transmisión.**

De las muestras positivas, se toman 50 mcl del botón suspendido en PBS pH 7.2 y se agrega 50 mcl de glutaraldehído al 2% en buffer cacodilato 0.1 Molar pH 7.4 luego, serán posfijados en OsO<sub>4</sub> para la realización de microscopía electrónica.

### **Fase C. Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR)**

**Extracción del ADN.** De las muestras de orina positivas, se realiza una suspensión homogénea de 100 mcl y se someten a lisis celular mediante procedimientos físicos: cinco ciclos de congelación-descongelación en nitrógeno líquido por 1 minuto y en agua en ebullición por 2 minutos, luego se obtiene el ADN con el mini kit QIA-amp (Qiagen, Alemania). Se emplearán oligonucleótidos específicos para cada especie, se espera amplificar productos de entre 250 y 650 pb aproximadamente, de acuerdo a la literatura.

Se planea una mezcla de la reacción en un volumen final de 25 mcl que contiene:

- ADN 1.5 mcl.
- dNTPs 2.0mcl (200uM)

- oligonucleótidos 2.0 mcl de cada uno en concentración de  $2 \times 10^5$  M
- Taq ADN polimerasa (AppliedBiosystems) 1.0 mcl (5U)
- $MgCl_2$  3.0 mM, amortiguador 1X para PCR y agua.

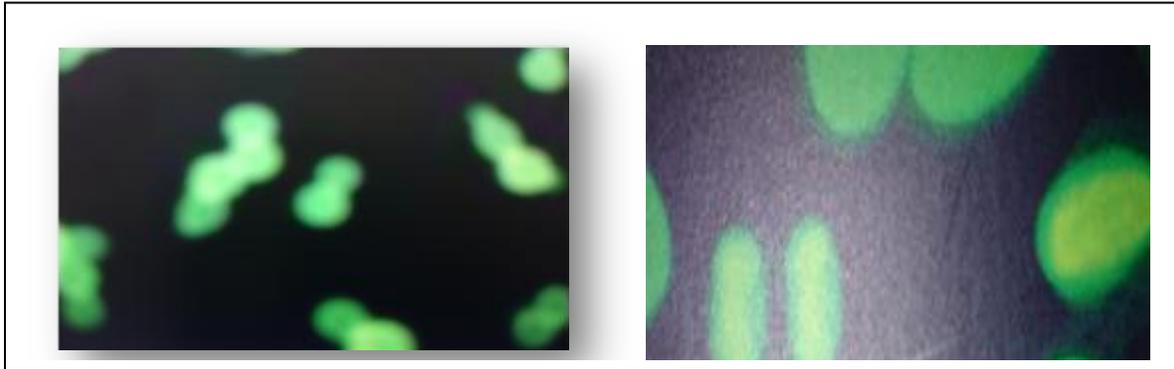
**Corrimiento en termociclador.** Las condiciones de corrimiento serán:

- Desnaturalización a 95 grados centígrados en 10 minutos.
- 35 ciclos de 95 grados en 30 segundos.
- 56 grados centígrados en 30 segundos.
- 72 grados centígrados en 90 segundos.
- Y una síntesis final a 72 grados centígrados en 7 minutos.
- Se empleara un termociclador Perkin Elmer.

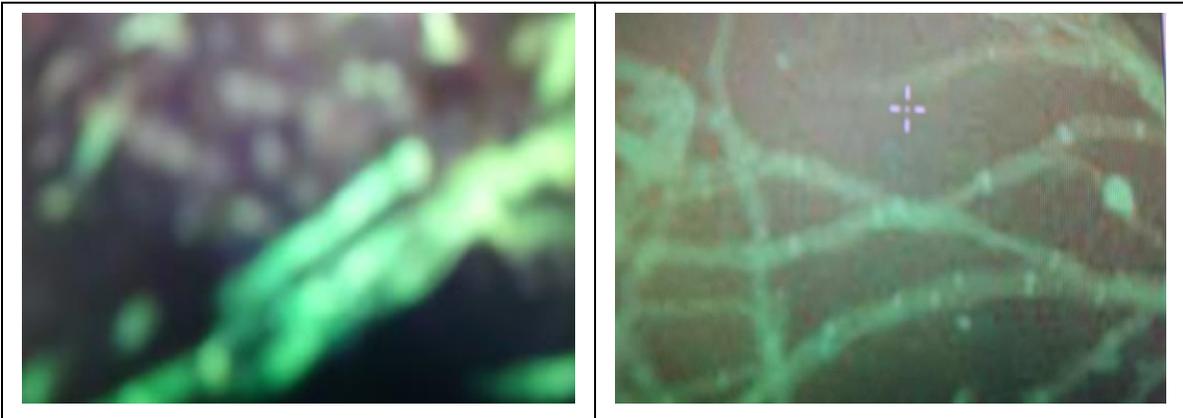
**Amplificación.** Los productos amplificados se analizaran en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio (0.5mcg/ml) en amortiguador de tris-boratos-EDTA (TBE 1X) a 60 V, 30 mA, 10 W, durante 120 minutos, el patrón se registrará en un digitador de imágenes EpiChem.

## RESULTADOS

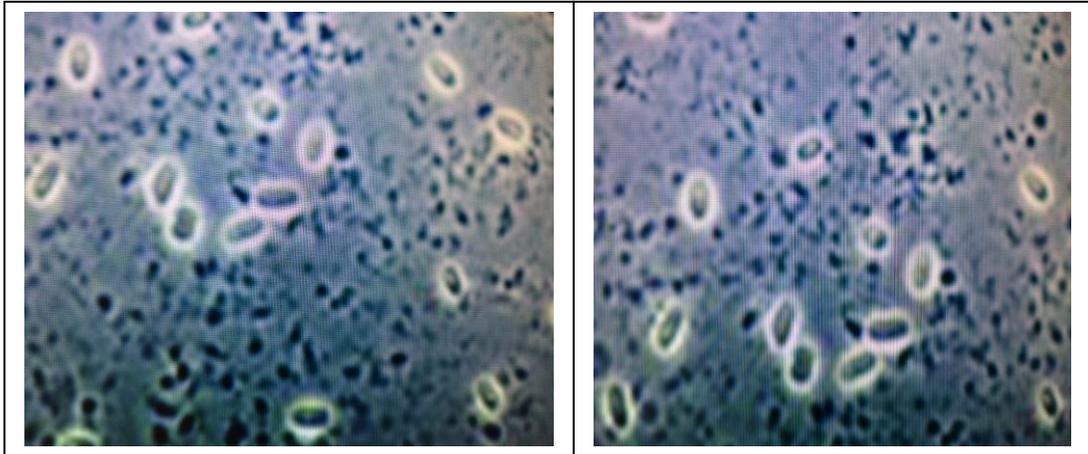
La estandarización de una metodología para el diagnóstico de microsporidiosis en nuestra institución, se llevó a cabo mediante la realización de un estudio piloto siguiendo los pasos de la metodología científica y las indicaciones de la literatura, realizó con la implementación de 3 controles positivos y 1 control negativo, con la finalidad de disminuir los sesgos para la interpretación de los resultados.



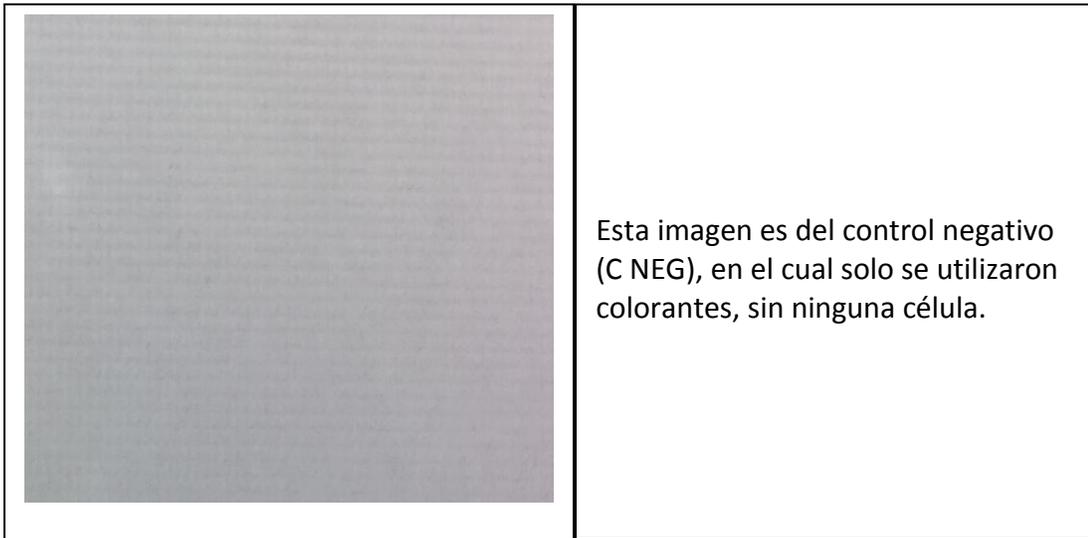
Control positivo (C+1) con hongo levaduriforme *Candida albicans*, observado en microscopio de epifluorescencia.



Control positivo (C+2) con hongo filamentoso *Aspergillus flavus*, observado en microscopio de epifluorescencia.



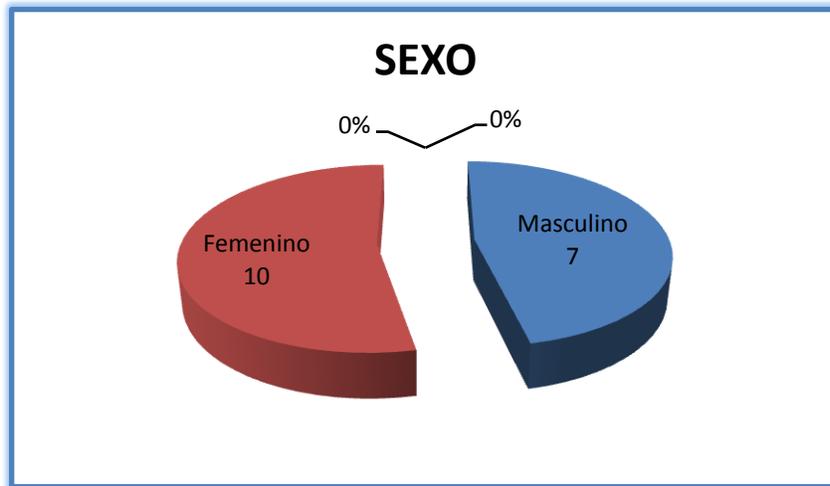
Control positivo (C+3) con *Microsporidium* sp. Observado en microscopio de epifluorescencia.



Esta imagen es del control negativo (C NEG), en el cual solo se utilizaron colorantes, sin ninguna célula.

Una vez implementada la metodología diagnóstica se procedió a realizar el ensayo con las muestras clínicas de los pacientes postrasplantados renales.

Se analizaron muestras de orina de todos los pacientes que fueron trasplantados del periodo de octubre del 2014 a mayo del 2015, obteniendo muestras de 17 pacientes que fueron sometidos a trasplante renal 10 mujeres y 7 hombres.



El rango de edad de los pacientes fue de 3 a 17 años, en 14 de 15 pacientes el riñón trasplantado fue el derecho y todos recibieron manejo inmunosupresor con tacrolimus, micofenolato y prednisona.

De los resultados paraclínicos solo 3 presentaron urocultivos positivos para *E. coli*, BLEE negativos, en su totalidad se manifestaron asintomáticos, a todos se les realizaron coprocultivos que se reportaron negativos previos al trasplante, las serologías para Citomegalovirus, Epstein Barr, Varicela solo con IgG positivas e IgM negativas que solo habla de memoria.

## DISCUSIÓN

Microsporidia es un agente oportunista que causa una variedad de enfermedades sistémicas y no sistémicas, siendo la diarrea crónica la manifestación más común, pero el espectro de enfermedades puede involucrar, ojos, aparato respiratorio, renal y sistema nervioso central. Los reportes de casos de microsporidiosis en pacientes sin VIH son escasos, y la mayoría se han reportado en pacientes con estado de inmunosupresión como lo son los pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido y trasplante de médula ósea, donde el *Microsporidium* que se aisló con más frecuencia en pacientes con trasplante renal fue *Encephalitozoon*, sin embargo las tasas de mortalidad son altas y habitualmente el diagnóstico se establece pos mortem <sup>(12)</sup>.

La escases de reportes refleja probablemente el bajo índice de sospecha de microsporidiosis en la población inmunocomprometida <sup>(13)</sup>. Es por esto la necesidad de implementar en nuestra institución nuevas pruebas diagnósticas que nos permitan realizar diagnósticos oportunos para prevenir la morbilidad y mortalidad asociada en este grupo de pacientes <sup>(6)</sup> donde la mortalidad puede ser disminuida de manera importante, al ofrecerle el tratamiento adecuado en el tiempo adecuado <sup>(9)</sup>.

El diagnóstico etiológico de esta patología es difícil, por lo que se han descrito numerosas técnicas de laboratorio para la identificación de microsporidias, en las cuales se incluyen microscopía de luz, microscopía de transmisión de electrones, inmunofluorescencia, anticuerpos monoclonales y policlonales. El diagnóstico se realiza identificando esporas por medio de microscopía de luz, usando tinciones especiales como blanco de calcoflúor, finalmente la amplificación molecular con PCR ha sido empleada para identificar las especies de microsporidias <sup>(6)</sup>.

En este trabajo se realizó un estudio piloto donde se logró estandarizar la metodología diagnóstica, validando las pruebas realizando 3 controles positivos y 1 control negativo, con la finalidad de disminuir los sesgos en la interpretación de los resultados. La motivación para realizar este estudio piloto fue que en la

revisión de la literatura realizada son pocos casos de microsporidiosis que se han reportado y menos en pacientes sometidos a trasplante renal, realizamos búsqueda intencionada en población pediátrica trasplantada no encontrando ningún reporte de caso a nivel mundial en este grupo etario, considerando que en nuestra institución es un procedimiento que se realiza de manera frecuente, es importante implementar métodos diagnósticos que favorezcan un diagnóstico oportuno.

## CONCLUSIÓN

Microsporidiosis es una infección oportunista emergente, que se asocia con un amplio rango de síndromes clínicos en humanos, sobre todo en personas con infección por VIH, niños, y receptores de trasplantes de órganos, en nuestra institución se realiza de manera rutinaria el trasplante renal logrando realizar un promedio de 20 trasplantes al año, sin contar a un amplio grupo de pacientes inmunosuprimidos entre los que se encuentran pacientes con padecimientos oncológicos, de los cuales muchos se someten a trasplante de médula ósea, y otro grupo de la población que son sometidos a trasplante cardiaco o hepático sin contar a la población con padecimientos crónicos que son manejados con altas dosis de esteroides, lo que los hace vulnerables a infecciones por gérmenes oportunistas.

Es por esto la importancia de tener en mente estos agentes que pueden desencadenar desde infecciones locales, hasta infecciones diseminadas que ponen en riesgo la vida del paciente, es necesario contar con una metodología diagnóstica estandarizada que nos permita un diagnóstico oportuno.

En este trabajo se analizaron las muestras de orina de 15 pacientes que se sometieron a trasplante renal en el periodo posquirúrgico inmediato, en los cuales se había iniciado manejo inmunosupresor de manera temprana con prednisona, micofenolato y tacrolimus, es por este antecedente que se justifica que en las muestras analizadas no se haya encontrado la presencia de *Microsporidium*, sin embargo consideramos que de manera proporcional de acuerdo al aumento del

tiempo con manejo inmunosupresor, se incrementara la posibilidad de aislamiento de estos microorganismos, por lo que nos proponemos continuar con este estudio siguiendo a estos pacientes a través del tiempo con muestras de orina cada 3 meses para determinar el tiempo de colonización y/o enfermedad causada por estos gérmenes. Con la realización de este trabajo hemos estandarizado la metodología de la prueba diagnóstica con la cual esperamos en tiempo breve poder realizar diagnósticos de este padecimiento.

### **LIMITANTES**

El principal limitante para la realización de este estudio es la falta de sospecha clínica de este padecimiento, y esto es secundario a la escases de información científica, por lo que fue necesario estandarizar nuestras pruebas diagnósticas para poder realizar un diagnóstico oportuno.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	Jun	Jul	Agos	Sep	Oct	Nov	dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
Diseño del protocolo	X	X	X	X									
Base de datos				X									
Estudio piloto			X										
Ejecución del estudio					X	X	X	X	X	X	X	x	
Analisis de resultados					x	x	x	x	x	x	x	x	
Información final													x
Presentación de resultados													x

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Didier E Z, Weiss L M. Microsporidiosis: current status. *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19(5):485-492.doi:10.1097/01.qco.0000244055.46382.23.
- 2.-Moncada L, Romero G. Microsporidios en humanos. *Biomedica.*1998;18(3):199-215.
- 3.- Bernal RM. Microsporidiosis. En: Becerril MA. *Parasitología médica.* 3ra ed. México: McGraw-Hill;2013.p.143-150.
- 4.-Noda A, Cañete R, Brito K. Gastrointestinal microsporidiosis: an update. *Rev Med electron.* 2013;35(2):167.181.
- 5.-Didier E S, Weiss L. Microsporidiosis: not just in AIDS patients. *Curr Opin Infect Dis.* 2011;24(5):490-495.
- 6.-Poormina R, Pritt B. ExtraintestinalMicrosporidiosis. *Journal of Clinical Microbiology.*2014; Vol 52(11):3839-3844.
- 7.- Gamboa A, Bencosme C, Kato M. Microsporidiasis en pacientes con SIDA y diarrea crónica. Experiencia en el Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán”.*RevGastroenterolMex* 1999; Vol 064(02):70-74.
- 8.- Jiménez G, Martínez M N, Caballero S, Peralta G, Cárdenas R. Microsporidiosis en pacientes pediátricos con leucemia o linfoma. *Revista de investigación clínica* 2012;Vol 64(1):25-31.
- 9.- Gumbo T, Hobbs R, Carlin C, Isada C. Microsporidiainfection in transplantpatients. *Transplantation.* 1999;Vol 67 (3):482-484.
- 10.- Galvan A L, Martín A M, Pérez m A, Henriques-Gil N, Izquierdo F, Fenoy S, del Águila C. First cases of Microsporidiosis in Trasplan Recipients in Spain and review of the Literature. *J. Clin. Microbiol.*2011,49(4):1301.DOI:10.1128/jcm.01833-13.
- 11.- Meissner E, Bennett J, Qvarnstrom Y, da Silva A, Chu E, Tsokos M, Gea J. Disseminated Microsporidiosis in an Immunosuppressed Patient. *Emerging Infectious Diseases.* 2012;Vol 18 (7):1155-1158.
- 12.-George B, Coates T, McDonald S, Russ G, Cherian S, Nolan J, Brealey J. Diseeminatedmicrosporidiosis with Encephalitozoon species in a renal transplant recipient. *Nephrology* **17** (2012) 5–8.
- 13.- Ghosal U, Khanduja S, Pant P, Prasad K N, Dhole T N, Sharma R K. Intestinal microsporidiosis in renal transplant recipients: Prevalence, predictors of occurrence and genetic characterization. *Indian J Med Microbiol* 2015;33:357-63.

# ANEXOS

## FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS TESIS MICROSPORIDIASIS

DATOS GENERALES											
#	Nombre	Edad	Registro	Sexo	Lugar de procedencia	Diagnóstico	Fecha de DX	Fecha Trasplante	Tipo de Donador V/C	Riñon D/I	Inmunosupresor
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											

RESULTADOS DE PARACLINICOS										
#	UROCULTIVO		SENSIBILIDAD	BLANCO DE CALCOFLUOR		MICROSCOPIA ELECTRONICA		PCR		
	POSITIVO	NEGATIVO		POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVA	NEGATIVA	
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

LABORATORIOS											
BIOMETRIA HEMATICA											
EGO											
OS											

MANIFESTACIONES CLINICAS										
#	FIEBRE	DIARREA	ORINA TURBIA	DISURIA	HEMATURIA	DOLOR ABDOMINAL	HERIDA QX	COMORBILIDADES		
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

SEROLOGIAS HIV	Ag superficie vs ig de s score total	ac core M	ac hep C	igS varicela	igM Varicela	igG CMV	igM CMV	igM VEB VCAM	igG VCAG	igG EAD	igG EBNA	igM herpes	igG herpes	VDRL	Coccidias	coprocultivo BAAR	PPD
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	