

11201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

3
29

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN

MICROSPORIDIASIS EN BIOPSIAS ENDOSCOPICAS
DE INTESTINO DELGADO EN PACIENTES CON
SIDA Y DIARREA CRONICA. ESTUDIO
CLINICO-PATOLOGICO Y ULTRAESTRUCTURAL

[Handwritten signature]

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMIA PATOLOGICA

P R E S E N T A :

DRA. CLEMENCIA M. BENCOSME VIÑAS

265315

ASESOR DE TESIS: DR. ARMANDO GAMBOA DOMINGUEZ
PROFESOR DEL CURSO: DR. ARTURO ANGELES ANGELES

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1998

[Handwritten signature]
DEPARTAMENTO DE
...



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INDICE

Dedicatoria y Agradecimientos	1
Introducción	2-9
Objetivos	9
Material y Métodos	10
Resultados	11-19
Discusión	20-22
Conclusiones	23

DEDICATORIA

A Dios por su bendición y plantar en mi la semilla que hoy empieza a dar frutos.

A mis papás *Freire* y *Margarita*, por su amor, confianza y dedicación.

A mi esposo *Franklin*, por su entrega, amor y ser la piedra angular de mi vida.

A mis hermanas *Irma*, *Carolina* y *Patricia* por su comprensión, apoyo y estímulo.

A mi abuelo *Octavio*, porque sigue vivo en mi.

AGRADECIMIENTOS

AL Dr. *Armando Gamboa* por ser asesor, estímulo, ejemplo y amigo.

A los miembros del departamento de patología del INNSZ en especial a los doctores *Arturo Angeles*, *Julián Arista* y *Norma Uribe* por el apoyo, enseñanza y cariño.

A los miembros del departamento de patología, hospital de Oncología, CMN SXXI, en particular los doctores *Héctor Santiago Payán*, *Isabel Alvarado*, *Jorge Fernández Diez*, *Alejandra Mantilla*, *María Elena Rojas* y *Fernando Candanedo* por la hospitalidad, fino trato y academia brindados.

A los doctores *Estelio Arvelo*, *Lilia Sosa*, *Cristina Castellanos*, *Félix Contreras* y *Ma. Concepción Robledo* por la docencia de mis inicios y su amistad

A toda mi familia, de manera muy especial a *Margarita*, *Ramona*, *Amelia* y *doña Valentina*, por estar pendientes de mí a través de la distancia.

A mis amigos, *Naomi*, *María José*, *Raquel*, *Natacha*, *Annie*, *Leonor*, *Andris*, *Jeannette*, *Haronid*, *Erick*, *Pía*, *Samuel*, *Luis*, *Jeannine*, *Eliana*, *Ascanio*, *Ana*, *Gloria*, *Patricia*, *Guillermina*, *Julieta*, *Leticia*, *Fernando*, *Raúl* y demás, su compañerismo, amistad, compañía y gran cariño, algunos a pesar de la distancia, son de inmenso valor para mí.

Al Señor *Rodolfo García* por la gran amabilidad de hacer los esquemas que aquí aparecen.

INTRODUCCION

Antes de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), los parásitos protozoarios microsporidium eran ampliamente conocidos en casi todos los grupos de animales.¹ En 1857 fue identificado en huéspedes no humanos y en 1959, *Encephalitozoon sp.* se reconoció como potencial patógeno en humanos². Sin embargo, los primeros informes de microsporidiasis en pacientes con SIDA aparecieron en 1985³. Desde entonces se han documentado numerosos casos aislados y pequeñas series en las que su frecuencia en pacientes con SIDA y diarrea crónica varía entre 1.7 y 44 %.⁴⁻⁹ También se han informado casos en pacientes inmunocompetentes.¹⁰

El modo de transmisión del microsporidium en el tubo digestivo es fecal-oral, a través de agua contaminada por las esporas.^{11,12} La mayoría de los pacientes se presentan con diarrea de evolución insidiosa y pérdida de peso. Otras manifestaciones incluyen dolor abdominal de tipo cólico y síntomas de malabsorción intestinal, todo en proporción a la gravedad de la diarrea.^{4,13}

El orden microsporidium comprende un grupo de más de ochenta géneros y casi mil especies, todos ellos parásitos intracelulares obligados. En humanos sólo se han descrito cinco géneros: *Enterocitoozon*, *Encefalitozoon*, *Pleistofora*, *Nosema* y *Septata*.^{1,3,5-8,14-16} De estos sólo *Enterocitoozon bienensi* y *Septata intestinalis* se han asociado a diarrea^{3, 7, 16} ambos tipos se localizan en el citoplasma de células epiteliales de la mucosa de intestino delgado aunque *S. intestinalis* además invade la lámina propia y se encuentra en macrófagos, fibroblastos, neutrófilos y células endoteliales.^{16,17} *E. Cuniculi* y *E. Hellem* no afectan el tubo digestivo, el primero se ha encontrado en casos de hepatitis¹⁸ y peritonitis¹⁹ y el segundo en queratoconjuntivitis superficial²⁰ y en forma diseminada afectando tracto respiratorio y urinario.^{17,17a} Otros sitios afectados por *S. intestinalis* son: tracto respiratorio,²¹ hígado,²² riñón²³ y colon.¹³ Por otro lado, *E. Bieneusi* se ha informado además en tracto respiratorio,²⁴ vías biliares,²⁵ orina y senos maxilares.²⁶

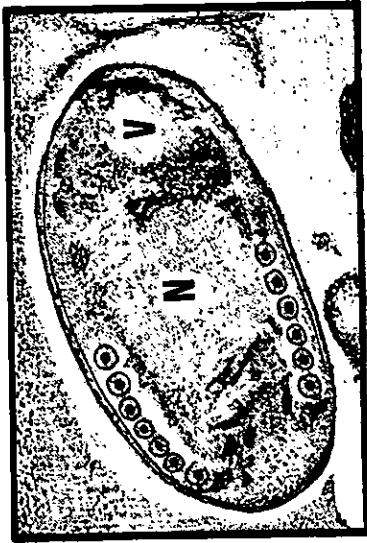
En general, se conoce que el ciclo de vida del microsporidium tiene una fase proliferativa (merogónica) y otra productora de esporas (esporogónica).^{6,12,27} En la primera fase el material infeccioso, conocido como esporoplasma, es liberado de una espora a través de un aparato de extrusión que consiste en un filamento polar enrollado y un disco de anclaje que contiene el esporoplasma (Esquemas 1 y 2).¹⁷ Divisiones celulares subsecuentes del esporoplasma resultan en la formación de merontes que se reproducen y se multiplican en la célula infectada ó infecta otros enterocitos del huésped.^{12,27} Este estadio asexual permite que la infección se disemine a muchos enterocitos aún si el huésped no está expuesto en repetidas ocasiones al microorganismo.

En la segunda fase, por división celular, se produce la formación de esporas lo cual ocurre dentro de una vacuola denominada parasitófora que puede permanecer o no en contacto directo con el citoplasma de la célula del huésped.²⁰ Como los enterocitos infectados mueren, las esporas son liberadas a la luz del intestino delgado y eliminadas en heces.¹²

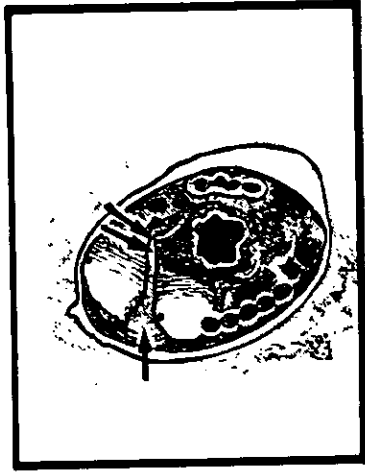
Con el microscopio electrónico se observa que *S. intestinalis* tiene cuatro estadios en su ciclo de vida: meronte, esporonte, esporoblasto y espora.²⁷ Los merontes son ovoides, uninucleados y miden 2.7x1.5 cm aproximadamente. El citoplasma es pálido y finamente granular con escaso retículo endoplásmico rugoso (Esquema 3). Este estadio se encuentra en contacto estrecho con el citoplasma del huésped, en una vacuola que muchas veces es difícil de visualizar y usualmente está en contacto con mitocondrias del huésped de las que depende para obtener energía (ya que microsporidium no tiene mitocondrias).²⁷

Los merontes se dividen por fisión binaria, aparentemente muchas veces, y la división nuclear puede condicionar la división citoplasmática ocasionando formas binucleadas ó tetranucleadas. El resultado es la formación de organismos agrupados dentro de una vacuola en el citoplasma del huésped (Esquema 4).²⁷

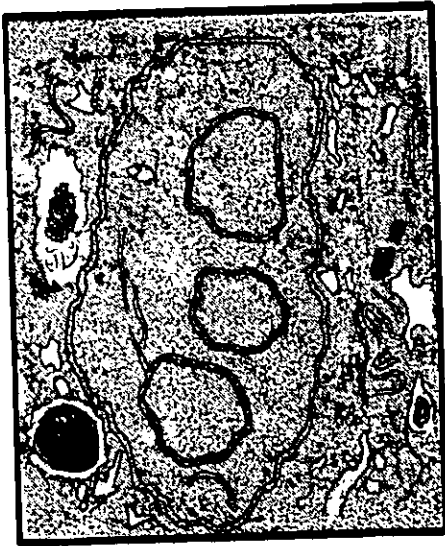
En el segundo estadio, el esporonte se caracteriza por citoplasma electrón-denso y retículo endoplásmico rugoso más prominente. La matriz fibrilar que rodea al parásito forma una serie de septos que aislan a los esporontes en forma individual, dándole una apariencia septada; al mismo tiempo la membrana que rodea la



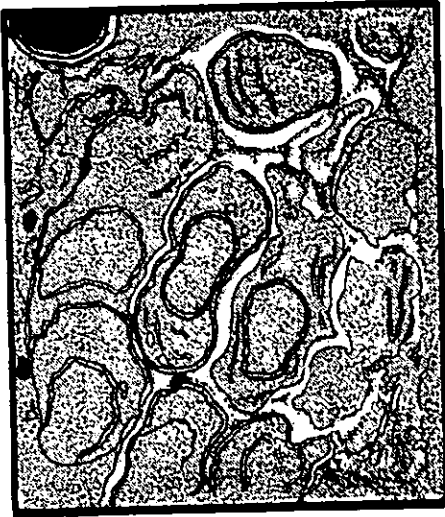
Esquema 1: Esporonte con un aparato de extrusión que contiene seis filamentos polares, un núcleo (N) y una pequeña vacuola (V).



Esquema 2: Espora que muestra las dos partes características del aparato de extrusión de la familia microsporidium: disco de anclaje, que contiene el esporoplasma (una flecha) y filamento polar enrollado (dos flechas).



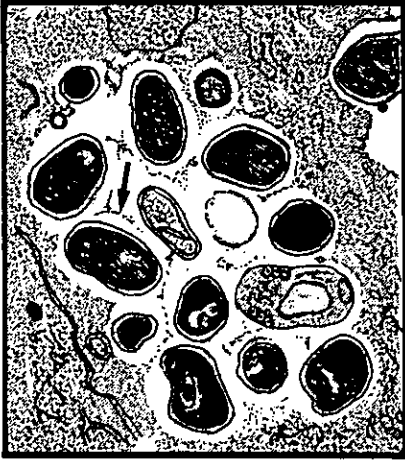
Esquema 3: Meronte electrón-lúcido con tres núcleos y citoplasma simple que contiene retículo endoplásmico rugoso y ribosomas libres.



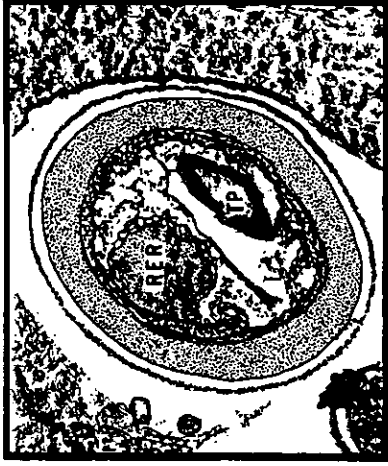
Esquema 4: Dos merontes (arriba) y varios esporontes, dentro de una vacuola parasitófora. Se puede observar el ensanchamiento del citoplasma que separa los esporontes.

vacuola parasitófora se hace más evidente (Esquema 5). Los esporontes se dividen por fisión binaria, cada uno origina dos ó cuatro esporoblastos que se separan en cámaras individuales por septos de la matriz fibrilar.²⁷ Los esporoblastos son organismos uninucleados que desarrollan organelos característicos del estadio último (túbulo polar y aparato de Golgi prominente). La transformación a espora ocurre con el desarrollo de una cubierta externa electrón-densa (exospora) y otra interna electrón-lúcida (endospora) (Esquema 6). Las esporas miden 2x1.2 μm aproximadamente y contienen un solo núcleo, un túbulo polar con 4 a 7 filamentos enrollados y retículo endoplásmico rugoso. Estas características descritas en *S. intestinalis* son únicas a esta especie.^{23,27} En cambio, la microscopía electrónica de *E. bienewisi* se caracteriza por su desarrollo hasta esporogonia tardía como un plasmodium grande, multinucleado, que está en contacto con el citoplasma de la célula huésped y nunca asociado a una vacuola. Además, tiene filamentos polares derivados de estructuras claras que semejan hendiduras. Las esporas son más pequeñas (1x1.5 μm), con 6 a 8 filamentos polares enrollados.^{23, 27} Otras diferencias entre *S. intestinalis* y *E. Bieneusi* es que la primera se encuentra con mayor frecuencia en yeyuno, con gran afección de la mucosa intestinal y mayor número de microorganismos.^{23, 27}

El diagnóstico de microsporidiasis es posible mediante la identificación de esporas en biopsias de intestino delgado o yeyuno, improntas, aspirados y extendido de heces.^{29,29} Se han utilizado numerosas técnicas para la identificación del microorganismo en los distintos procedimientos realizados. En biopsias, las esporas se tiñen poco con hematoxilina y eosina, no obstante el empleo de tinciones especiales utilizadas en el diagnóstico de rutina (Brown Brenn, Gram, Warthin Starry y Giemsa) han hecho posible la detección de la birefringencia de la quitina en endosporas que es útil para identificar esporas.^{6, 11, 29-34} El tricromo cromótopo modificado por Weber también ha sido empleado en tejido incluido en parafina.^{35,36} La epifluorescencia de la quitina teñida con los agentes conocidos como ópticos brillantes (calcofluoruro blanco, fungifluor, fungiquál A, uvitex 2B y rylux BA) también se han usado para detectar esporas en líquidos y tejidos.^{29,37-42} Además, se ha empleado la hibridación por Southern Blott^{29,41} y mediante la



Esquema 5: Una vacuola parasitófora que contiene esporoblastos (electrón-lúcidos) y esporas (electrón-densas). Los septos (flecha) y márgenes ondulantes de la vacuola son característicos.



Esquema 6: Corte oblicuo de una espora madura que muestra las capas de la pared de la espora: externa ó exospora (electrón densa) e interna ó endospora (electrón-lúcida). Se observa además el retículo endoplásmico rugoso (RER) y el túbulo polar (TP).

reacción en cadena de la polimerasa de la región SSU-rRNA (subunidad pequeña rRNA) de *E. bienewsi* y *S. intestinalis*.⁴²⁻⁴⁴ Es importante el reconocimiento de estas dos especies con fines terapéuticos ya que mientras *S. intestinalis* tiene una respuesta adecuada al albendazol, no se ha encontrado ningún medicamento específico para el tratamiento de *E. bienewsi*.^{21,45} Se ha identificado mejoría clínica y morfológica sin erradicación de la infección en pacientes tratados con antiproteasas de VIH-1, atribuido probablemente a mejoría de la cuenta de células CD4+.⁴⁶

Se ha considerado la microscopía electrónica como el estándar de oro para el diagnóstico. Sin embargo, en la actualidad el estudio de inmunofluorescencia ha resultado superior al separar *E. cuniculi* de *E. hellem* ya que estos son indistinguibles por microscopía electrónica.²⁰ Por otro lado también existen anticuerpos que reconocen *E. bienewsi* y *S. intestinalis* cuyo menor costo y mayor eficacia permiten diagnosticar el microorganismo con rapidez.

La frecuencia de este microorganismo como causa de diarrea crónica se ha considerado bajo.²⁷ En la actualidad *Enterocytozoon*, es el responsable de más de 30% de los casos de diarrea en personas con SIDA que previamente se había pensado fueran idiopáticas.²⁷ En América Latina, existe un caso informado en Chile⁴⁷ y no hay informes de microsporidiasis en series de patología quirúrgica o de autopsia en personas con SIDA en poblaciones pediátrica y adulta.⁴⁸⁻⁵²

En cuanto al mecanismo patogénico se ha visto que en animales, la infección por *E. cuniculi* activa la producción de anticuerpos sin embargo, los anticuerpos por sí solos no parecen ofrecer protección.¹⁰

En animales con encefalitozoonosis, la respuesta tisular que se produce es inflamación intensa o granulomatosa a menudo con centro necrótico. Estas lesiones pueden persistir después de la erradicación.¹⁰ No existen modelos animales para la infección por *E. bienewsi*. Los datos encontrados en humanos sugieren que pacientes con inmunodeficiencia celular grave tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad por microsporidium. No se conoce sin embargo, si la infección por microsporidium en estos pacientes es una reactivación primaria de una infección latente adquirida antes de la inmunosupresión o si la enfermedad por

microsporidium está siendo causada por infección reciente. La fisiopatología de la infección por microsporidium en humanos aún no es bien comprendida.^{10,52} Sin embargo, es reconocida su capacidad patogénica complicando la evolución de personas con SIDA en series de patología quirúrgica y postmórtem.¹⁷

OBJETIVOS

1. Determinar la prevalencia de microsporidiasis intestinal en pacientes con SIDA y diarrea crónica sometidos a biopsia endoscópica de intestino delgado en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.
2. Describir las características clinicopatológicas de la microsporidiasis.
3. Evaluar la utilidad de la tinción de Giemsa en el diagnóstico rutinario de microsporidiasis.
4. Describir las características ultraestructurales de la infección por microsporidia.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal y descriptivo en el que se analizaron las biopsias endoscópicas de intestino delgado de 98 pacientes con diagnóstico de SIDA y diarrea crónica de enero de 1987 a diciembre de 1994 y se identificó sexo, edad, estadio clínico. Se revisaron los expedientes clínicos, factores de riesgo, nivel socio-económico, manifestaciones clínicas iniciales de SIDA, cuenta de linfocitos CD4 y linfocitos totales, cultivos de heces, resultados de coproparasitoscópicos, motivo y sitio de toma de la biopsia.

Todas las biopsias fueron fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina, los cortes fueron de 5µm, teñidos con H.E y Giemsa. En los primeros se evaluó las siguientes características histológicas: atrofia de vellosidades intestinales y grado (leve, moderado, grave), tipo de infiltrado inflamatorio (agudo ó crónico), densidad (leve, moderado, grave) y presencia de agentes oportunistas. Los segundos, fueron puestos en alcohol ácido (90 seg.), lavados y sumergidos en colorante de Giemsa por 24 horas. Al día siguiente fueron diferenciados en resina disuelta en alcohol y puestos en pasos consecutivos de alcohol de 96°, alcohol absoluto, xilol y montados con resina para su observación. En las laminillas se evaluó la presencia de microorganismos en fase merogónica y esporogónica. La identificación de casos se llevó a cabo utilizando un microscopio Olympus CH-2 con dos cabezales para dos observadores y usando el objetivo de inmersión.

La microscopía electrónica en tejido desparafinado se hizo como sigue: Selección del área del bloque de parafina a estudiar (1mm³), desparafinado (45 min. en xilol en rotación y en alcoholes de 100°, 90°, y 80°), osmificación con tetraóxido de osmio al 1% (45 min), deshidratación (15 min en alcoholes de 70°, 80°, 90° y 100° c/u), deshidratación con óxido de propileno (45 min), filtración en resina-óxido (1:1), una noche; resina pura, Epon 812, (2 horas). Inclusión (polimerización a 70°, una noche), corte semifino de 1µm teñido con azul de toluidina, corte fino de 100 µm contrastado con acetato de hidranilo (solución saturada) y citrato de plomo (reynol). Las observaciones se realizaron en un microscopio electrónico Zeiss EM10.

RESULTADOS

En el periodo de estudio se identificaron 98 biopsias de intestino delgado en pacientes con diarrea crónica y SIDA. Se identificó infección por oportunistas en 50 pacientes (51%) (Tabla). En 30 de estos se encontró microsporidiasis (31%). Sólo se revisaron los expedientes clínicos en 24/30 pacientes. Diecisiete hombres (87%) y siete mujeres (23%) con factores de riesgo para infección por VIH de homo sexualidad en 11/17 y transfusión sanguínea en 4/7 respectivamente. La edad promedio era de 33 años y todos estaban en estadio C3 de la enfermedad. El 75% de los pacientes tenían nivel socioeconómico bajo. La manifestación inicial de SIDA fue diarrea en 16/24 (67%) y la cuenta de CD4 al momento de la biopsia de intestino delgado (± 30 días) era menor de 200/mm³ en 13/15 (87%) pacientes. Dos casos tenían más de 200 células CD4+/mm³ (13%). Los tiempos promedio de evolución y número de evacuaciones de la diarrea por día fueron de 260 (28-960) y 6 días respectivamente. En todos los casos la diarrea era acuosa, intermitente en 61%, sanguinolenta con dolor abdominal en 31 % y en 15% con malabsorción y fiebre.

Se observó atrofia de vellosidades en 29/30 casos (97%). Más de 50% con atrofia de moderada a grave (Figura 1A,1B). Un solo caso no mostró atrofia de vellosidades pero tenía infiltrado inflamatorio crónico en la lámina propia y escasas células infectadas en las vellosidades. La mucosa intestinal estaba ensanchada debido a infiltrado inflamatorio agudo y crónico en todos los casos y con presencia de eosinófilos en 18/30 pacientes (60%) (Figura 2). Las esporas de *Microsporidium* sp. se tiñeron de color rojo pálido con la tinción de Giemsa (Figura 3) y los estadios más tempranos del ciclo de vida (merontes, esporontes) eran de color café gris (Figura 4). Con la tinción de H.E. la localización supranuclear y la vacuolización citoplasmática eran también características (Figura 5).

Por microscopía electrónica se identificaron esporas dentro de una vacuola parasitófora septada, en células epiteliales absortivas y en tres casos, en células estromales de la lámina propia (Figuras 6 A y B).

TABLA

Oportunistas observados en biopsias de intestino delgado teñidas con HE y Giemsa (50 de 98 pacientes).

Micro-organismo	n (%)
<i>Microsporidium sp.</i>	30 (31)
<i>Criptosporidium sp.</i>	9 (9)
Isospora	6 (6)
Micobacteriosis	2 (2)
Microsporidium/isospora	2 (2)
Microsporidium/Criptosporidium	1 (1)
Criptosporidium/micobacteriosis	1 (1)

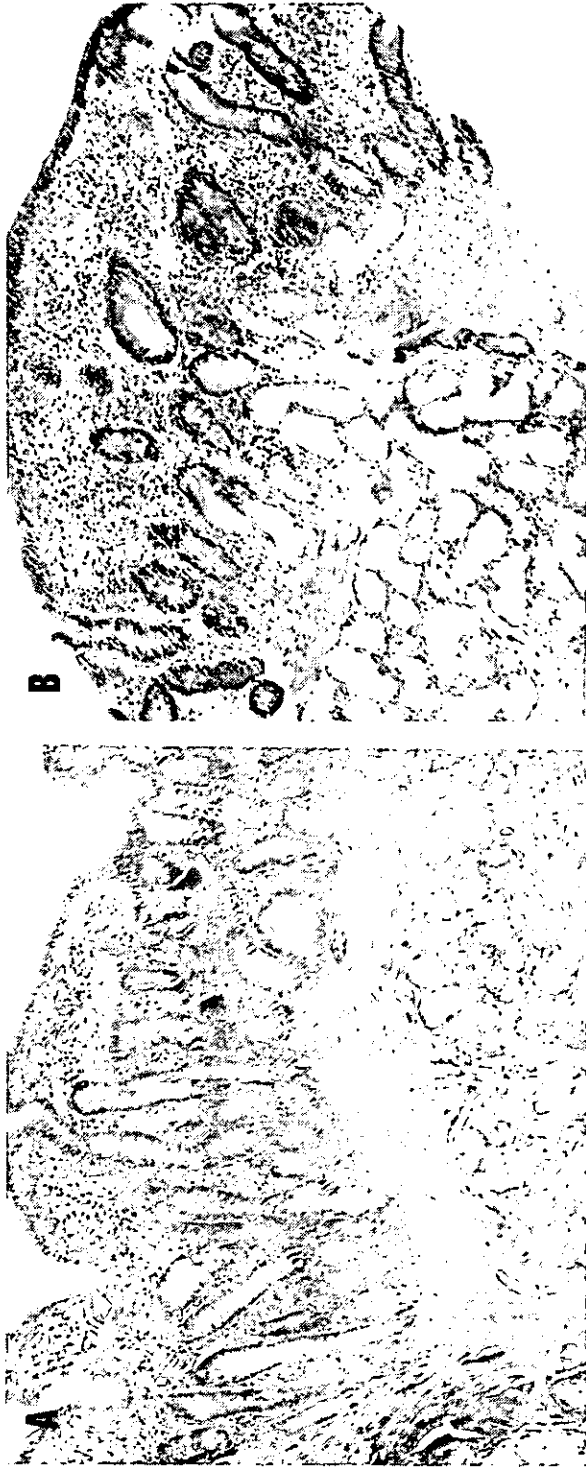


Figura 1. A) Atrofia moderada. Se identifica ensanchamiento de vellosidades intestinales e inflamación en lámina propia. B) Atrofia grave: Existe fusión global de vellosidades sin estructuras digitiformes y con infiltrado inflamatorio moderado (40X, HE).

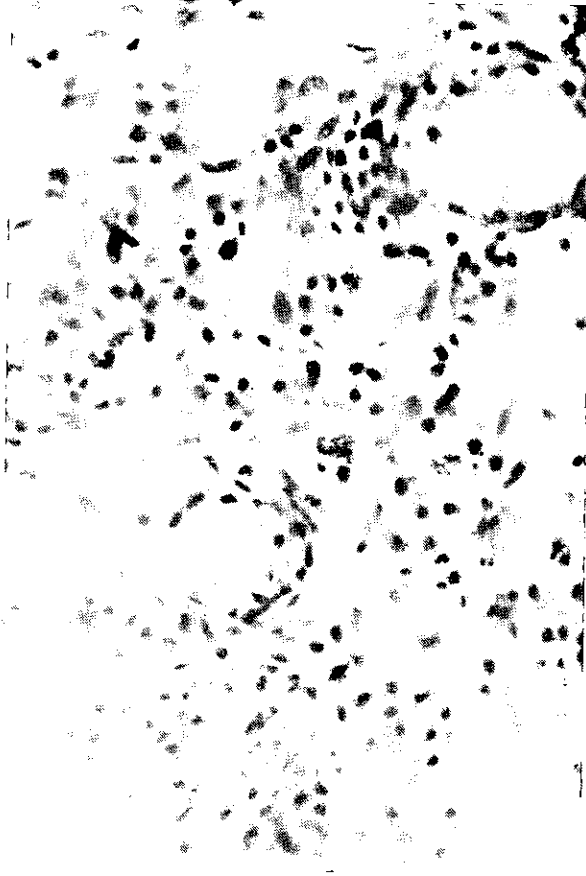


Figura 2. Numerosos eosinófilos alternan con infiltrado inflamatorio agudo y crónico con edema en la vecindad de las células epiteliales de las glándulas (400X, HE).

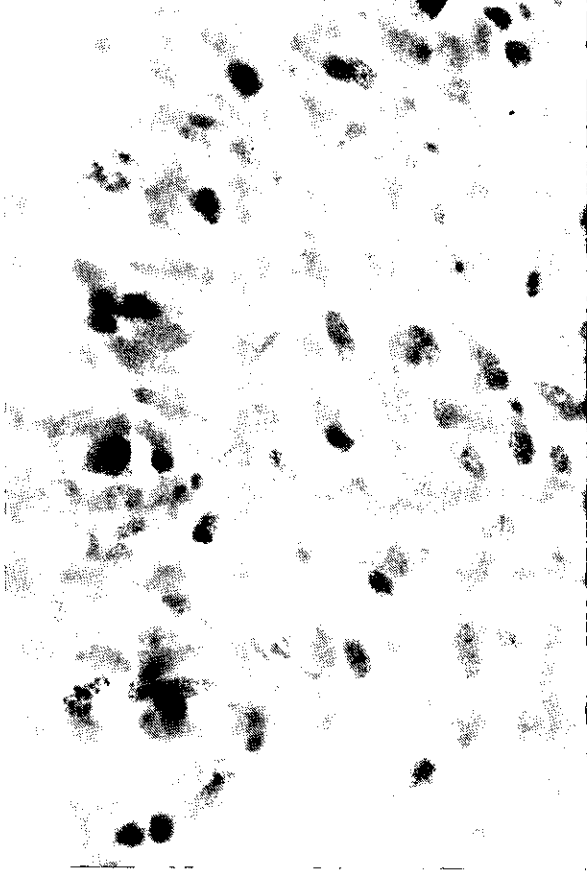


Figura 3. Se identifican esporas de *Microsporidium* sp. En el citoplasma supranuclear de dos enterocitos. Las esporas son de color magenta, redondas y dispuestas en grupos (1000X, Giemsa).

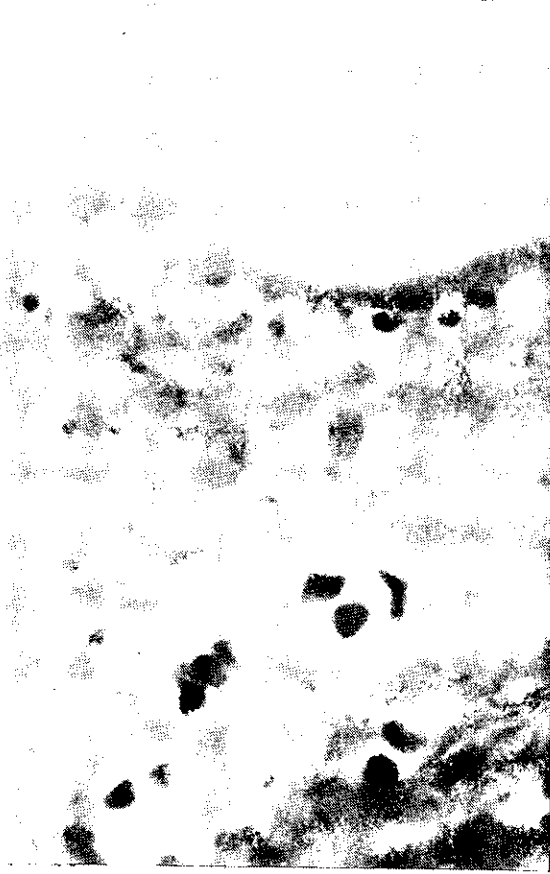


Figura 4. Células epiteliales con microorganismos redondos rodeados por halos claros en el citoplasma supranuclear. Estas estructuras corresponden a la fase merogónica de infección por *Microsporidium* sp. (1000X + Zoom 3.3, Giemsa).



Figura 5. La fase merogónica de la infección por *Microsporidium* sp. muestra cambios poco específicos. Se identifican estructuras redondas gris rodeadas por halos claros en el citoplasma supranuclear de enterocitos. La lámina propia presenta inflamación crónica (1000X, HE).

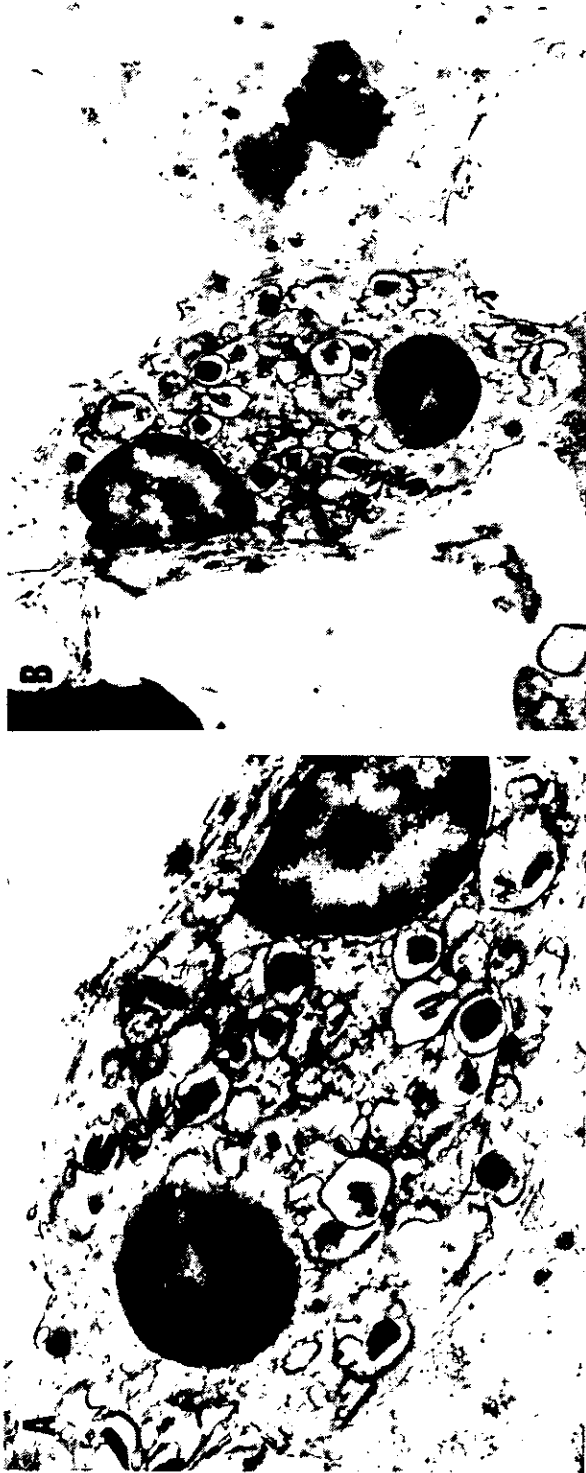


Figura 6. Células infectadas por *Septata intestinalis* en las que se observa vacuola parasitófora, de aspecto en panal de abeja, en el citoplasma (A). Se identifican numerosas estructuras electrónicas (esporas) separadas por delgados septos de matriz fibrilar (B). El aspecto irregular de las células vecinas se debe a que el material fue obtenido de desparafinado (2,500X y 5,000X).

En los cuarenta y ocho pacientes restantes (49%), no se identificó infección oportunista en la biopsia de intestino delgado que explicara el cuadro clínico de diarrea crónica.

DISCUSION

El impacto de microsporidiasis es importante por su elevada prevalencia en series recientes. Es la causa de diarrea crónica en 30-40% de los pacientes con SIDA en países en vías de industrialización,^{4,53} en otras partes del mundo puede alcanzar hasta el 50%.⁵⁴ No obstante en algunas series existe un 2-3% de casos de microsporidiasis sin diarrea⁹ o en los que las diferencias de pacientes infectados con y sin diarrea crónica no son estadísticamente significativas.¹³

Por otro lado, sólo en un caso se ha asociado a diarrea aguda, en un paciente inmunocompetente.¹⁴ En América Latina sólo se ha informado un caso de un hombre chileno de 24 años con SIDA y diarrea crónica.⁴⁷

Aunque la microscopía electrónica es un importante instrumento para la identificación de *Microsporidium sp.*, la detección en material procesado rutinariamente es también posible por microscopía de luz.^{35,55} Kotler y Orenstein han informado que en manos experimentadas, la hematoxilina y eosina ha probado tener similar sensibilidad y casi igual especificidad que algunas tinciones especiales como la de tricromo cromótopo de Weber y Giemsa.⁵⁵ En otras series, la interpretación con Giemsa se hizo más fácil que con otras tinciones (Unna blue, tricromo de Weber y hematoxilina y eosina).³⁰ La dificultad que en ocasiones existe en la detección probablemente sea debido a que en las fases proliferativas, *Microsporidium sp.* es más difícil de identificar por su poca reactividad, su color gris claro y porque en ocasiones se puede confundir con bacterias, principalmente en extendido de heces.⁵⁵ Sin embargo, la deformidad del polo apical del núcleo de la célula huésped con vacuolización citoplasmática son características útiles para el diagnóstico. Las esporas adquieren un color rojo claro con la tinción de Giemsa y son fáciles de identificar aún a menor aumento. Por esta razón la tinción de Giemsa se considera un método útil y barato para la identificación del *Microsporidium sp.* en las fases merogónicas y esporogónicas. Algunos autores consideran que *S. intestinalis* es más fácil de reconocer por H.E. que *E. bienewisi*

esto debido principalmente al mayor número de microorganismos por célula y a su localización en vacuolas parasitóforas septadas.

Microsporidium afecta principalmente los enterocitos produciendo atrofia de vellosidades con infiltrado linfoplasmacítico en la lámina propia. En contraste con algunas series de personas con SIDA y diarrea crónica en países en vías de industrialización,⁴ 60% de los casos mostraban infiltrado inflamatorio de neutrófilos con un número variable de eosinófilos entremezclados con el infiltrado linfoplasmacítico. En esta serie, tres casos mostraban infección con otros patógenos intestinales lo que ocurre en aproximadamente un tercio de los pacientes con SIDA. Las coinfecciones pueden verse en forma simultánea ó secuencial y en estos casos el papel del agente etiológico puede ser difícil de asegurar. Debido a la ausencia de otros patógenos en la luz y mucosa del intestino delgado que expliquen el infiltrado inflamatorio, *Microsporidium sp.* parece ser la causa.

Mediante el análisis ultraestructural es posible separar *S. intestinalis* de *E. bienewisi*.^{23,27} En esta serie, los hallazgos encontrados son consistentes con *Septata* en 100% de los 16 casos a los que se le realizó microscopía electrónica. Estos resultados contrastan con lo informado en la literatura donde predomina *E. bienewisi* en frecuencia.^{26,56} Debido a la potencial capacidad de diseminación de *S. intestinalis*, probablemente por vía linfática⁵⁷ y la consecuente afección sistémica, (en especial en vías respiratorias y urinarias) es importante la determinación específica de la especie lo cual también es útil con fines terapéuticos por la adecuada respuesta al tratamiento con albendazol.⁴⁴ Similar a otras series, la prevalencia de microsporidiasis ha sobrepasado la de criptosporidiasis intestinal como la causa más frecuente de diarrea crónica en pacientes con SIDA. Estas cifras probablemente se expliquen porque en todas las series, incluyendo esta, existe un sesgo de identificación de casos. *Cryptosporidium* es con mayor frecuencia identificado en estudios de heces, sin requerir endoscopia con toma de biopsia para su diagnóstico.

La prevalencia de 31 % de microsporidiasis en esta serie contrasta con 9 % de criptosporidiasis. Un estudio previo realizado en el INNSZ en pacientes con SIDA y

diarrea crónica mostraba a *Cryptosporidium sp.* como la infección por oportunistas más frecuente en biopsias de intestino delgado.⁵⁸

La diarrea crónica, asociada a malabsorción en 15% de nuestros casos difiere a lo documentado en algunas series donde la frecuencia de la misma es casi de 100%.^{4,54}

Se ha publicado que algunos agentes oportunistas en pacientes con SIDA son más prevalentes en poblaciones pobres, específicamente toxoplasmosis. En un estudio comparativo de dos instituciones mexicanas, toxoplasmosis mostró una prevalencia de 30%, en pacientes de escasos recursos, en contraste con 8% en pacientes económicamente favorecidos.⁵¹ En esta serie, el nivel socioeconómico bajo se encontró en 75% de los casos. Esto está probablemente relacionado al tipo de paciente atendido en la institución donde se realizó el trabajo, al estigma social de tener SIDA en países latinoamericanos donde los seropositivos son despedidos de sus trabajos, al estado terminal de los pacientes y a las carencias generadas por la enfermedad.

Microsporidiasis está asociada con diarrea crónica en estadios clínicos avanzados ($CD4 < 86/dL$). En esta serie 87% de los individuos infectados tenían cuenta de células $CD4+$ menor de $200/mm^3$ y el resto cifras mayores de $200/mm^3$. Se han informado casos con un número relativo de células $CD4+$ preservadas.⁵⁹ Por esta razón creemos que microsporidiasis debe ser considerada en todos los pacientes con diarrea crónica inexplicable y SIDA, independientemente de las cifras de células $CD4+$ o de linfocitos totales circulantes.

En resumen, microsporidiasis es la causa más frecuente de diarrea crónica en pacientes con SIDA que requieren biopsia de intestino delgado en México. Su diagnóstico está en aumento debido a la descripción de las características de microscopía de luz y al uso de tinciones como la de Giemsa en la evaluación de biopsias de pacientes con diarrea crónica y SIDA. La confirmación ultraestructural es necesaria para identificar la especie, en la serie actual únicamente se identificaron esporas de *S. intestinalis*.

CONCLUSIONES

1. La infección por *microsporidium* tiene una prevalencia de 31% en las biopsias de intestino delgado de pacientes con SIDA y diarrea crónica.
2. En todos los casos analizados con microscopía electrónica se identificó *Septata intestinalis* en el citoplasma de los enterocitos.
3. La lámina propia presenta inflamación linfoplasmocitaria en todos los casos y en 60% se acompaña de infiltrado por eosinófilos.
4. Casi en todos los casos se identificó atrofia moderada-grave de las vellosidades intestinales.
5. La tinción de Giemsa en las biopsias de intestino delgado es útil para identificar infección por *microsporidium*, principalmente en la fase esporogónica.

BIBLIOGRAFIA

1. Bryan R T, Cali A, Owen RL, et al: Microsporidia: oportunic pathogens in patients with AIDS. In Sun T. (Edit.): Progress in clinical parasitology, Vol 2, New York, NY Field and Wood 1990: 1-26.
2. Matsubayashi H, Koike T, Mikata T: A case of Encephalitozoon-like body in a man. Arch Pathol 1959; 67: 181-9.
3. Desportes I, Le-Charpentier Y, Galian A et al. Ocurrence of a new microsporidian: *Enterocytozoon Bieneusi* n.sp , in the enterocytes of a human patient with AIDS. J Protozool 1985; 32: 250-4.
4. Kotler DP, Orenstein JM. Prevalence of intestinal microsporidiosis in HIV – infected individuals referred for gastroenterological evaluation. Am J Gastroenterol 1994; 89: 1998-2002.
5. Grohmann GS, Glass RI, Peveira HG et al. Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. N Engl J Med 1993; 329:14-20.
6. Rijpstra AC, Canning EU, Van Ketal RJ et al. Use of light microscopy to diagnose small-intestinal microsporidiosis in patients with AIDS. J Infect Dis 1988; 157: 827-31.
7. Orenstein JM, Chiang J, Steinberg W, et al: Intestinal microsporidiosis as a cause of diarrhea in human immunodeficiency virus infected patients: A report of 20 cases. Human Pathol 1990; 24:475-81.
8. Peacock CS, Blanshard C, Tovey DG et al: Microsporidiosis in patients with AIDS. J Clin Pathol 1991; 44:558-63.
9. Coyle CM, Wittner M, Kotler DP. Prevalence of microsporidiosis due to *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* Among patients with AIDS-related diarrhea: Determination by polymerase chain reaction to the microsporidian small-subunit rRNA gene. Clin Infect Dis 1996; 23: 1002-6.
10. Weber, R, Bryan RT. Microsporidial infections in immunodeficient and immunocompetent patients. Clin Infect Dis 1994:517-21.

11. Eeftink Schattenkerk, JKM, van Gool, T, van Ketel, RJ, et al. Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-1-infected individuals. *Lancet* 1991; 337:895-8.
12. Goodgame, RW. Understanding intestinal spore forming protozoa, microsporidia, isospora and cyclospora. *Ann Intern Med* 1996; 124: 429-41.
13. Rabeneck L, Gyorkey F, Genta RM et al. The role of microsporidia in the pathogenesis of HIV-related chronic diarrhea. *Ann Intern Med* 1993;119:895-9.
14. Sandfort J, Hannemann A, Gelderblom H, et al. Enterocytozoon bienersi infection in an immunocompetent patient who had acute diarrhea and who was not infected with the immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994; 19:514-6.
15. Rotterdam H. The acquired immunodeficiency syndrome and the evolution of new micro-organisms: A pathologist's view. *Hum. Pathol* 1993; 24:935-6.
16. Cali A, Kottler DP, Orenstein JM: *Septata intestinalis* N.G.N. Sp, an intestinal microsporidian associated with chronic diarrhea and dissemination in AIDS patients. *J Euk Microbiol* 1993; 40:101-12.
17. Schwartz DA, Bryan RT, Hewan-Lowe KO et al. Disseminated microsporidiosis (*Encephalitozoon hellem*) and acquired immunodeficiency syndrome. Autopsy evidence for respiratory acquisition. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116:660-8.
- 17^a Schwartz DA, Visvesvara GS, Leitch GJ, et al. Pathology of symptomatic microsporidial (*Encephalitozoon hellem*) bronchiolitis in the acquired immunodeficiency syndrome: A new respiratory pathogen diagnosed from lung biopsy, bronchoalveolar lavage, sputum, and tissue culture. *Hum Pathol* 1993; 24:937-43.
18. Terada S, Reddy R, Jeffers LJ et al. Microsporidian hepatitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 107: 61-2
19. Zender HO, Arrigoni E, Eckert J et al. A case of "*Encephalitozoon cuniculi*" peritonitis in a patient with AIDS. *Am J Clin Pathol* 1989; 92:352-6.
20. Didier ES, Didier PJ, Friedberg DN et al. Isolation and characterization of a new human microsporidian, *Encephalitozoon hellem* (n.sp.) from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J Infect Dis* 1991; 163: 617-21.

21. Molina JM, Oksenhendler E, Beauvais et al. Disseminated microsporidiosis due to *Septata intestinalis* in patients with AIDS : Clinical features and response to albendazole therapy. J Infect Dis 1995; 171: 245-9.
22. Willson R, Harrington R, Stewart B et al. Human immunodeficiency virus 1 associated necrotizing cholangitis caused by infection with septata intestinalis. Gastroenterology 1995; 108: 247-51.
23. Orenstein, JM, Tenner, M, Cali, A, et al. A microsporidian previously undescribed in humans, infected enterocytes and macrophages, and associated with diarrhea in an acquired immunodeficiency syndrome patient. Hum Pathol 1992; 23: 722-8.
24. Weber R, Kuster H, Keller R et al. Pulmonary and intestinal microsporidiosis in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. Am Rev Resp Dis 1992; 146: 1803-5.
25. Pol S, Romana CA, Richard S. Microsporidia in patients with the human immunodeficiency virus and unexplained cholangitis. New Engl J Med 1993; 328: 95-9.
26. Van den Bergh Weerman MA, van Gool T, Eeftinck-Schattenkerk JK et al. Electron microscopy as an essential technique for the identification of parasites in AIDS patients. Eur J Morphol 1993; 31: 107-10.
27. Peiguo-Chu, West B. *Encephalitozoon (Septata intestinalis)*. Cytologic, histologic and electron microscopic features of a systemic intestinal pathogen. Am J Clin Pathol 1996; 106: 606-14.
28. Schwartz DA, Sobottka I, Leitch GJ, et al. Pathology of microsporidiasis. Emerging parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Arch Pathol Lab Med 1996; 120: 173-7.
29. Contreas CN, Sowerby T, Berlin G et al. Fluorescence technique for diagnosing intestinal microsporidiosis in stool, enteric fluid and biopsy specimens from acquired immunodeficiency syndrome patients with chronic diarrhea. Arch Pathol Lab Med 1996; 120: 847-53

30. Beauvais B, Sarfati C, Molina JM. Comparative evaluation of five diagnostic methods for demonstrating microsporidia in stool and intestinal biopsy specimens. *Ann Trop Med Parasitol.* 1993; 87:99-102.
31. Weber R, Bryan RT, Owen RL et al. Improved light microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. *N Engl J Med* 1992; 326:161-6.
32. Didier ES, Orenstein JM, Aldras A et al. Comparison of three methods for detecting microsporidia in fluids. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 3138-45
33. Degirolami PC, Ezratty CR, Desai G et al. Diagnosis of intestinal microsporidiosis by examination of stool and duodenal aspirates with Weber's modified trichrome and Uvitex 2B stain. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 805-10.
34. Field AS, Hing MC, Milliken ST et al. Microsporidia in the small intestine of HIV infected patients. A new technique and a new species. *Med J Aust* 1993; 158: 390-4.
35. Kotler DP, Francisco A, Clayton F et al. Small intestinal injury and parasitic diseases in AIDS. *Ann Intern Med* 1993; 113: 444-9.
36. Shadduck JA, Orenstein JM. Comparative pathology of microsporidiosis. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 1215-9.
37. van Gool T, Dankert J. Human microsporidiosis: Clinical, diagnostic and therapeutics aspects of an increasing infection. *J Clin Microbiol and Infection* 1995; 2:75-85.
38. Luna VA, Stewart BK, Bergeron DL, et al. Use of the fluorochrome calcofluor white in the screening of stool specimens for spores of microsporidia. *Am J Clin Pathol* 1995; 103:656-9.
39. van Gool T, Snijders F, Reiss et al. Diagnosis of intestinal and disseminated microsporidial infections in patients with HIV by a new rapid fluorescence technique. *J Clin Pathol* 1993; 46: 694-9.
40. Fedorko DP, Nelson NA, Cartwright CP. Identification of microsporidia in stool specimens by using PCR and restriction endonucleases. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1739-41.

41. Franzen C, Muller A, Hegener P, et al. Polymerase chain reaction for microsporidium DNA in gastrointestinal biopsy specimens of HIV infected patients. *AIDS* 1996; 10:F23-7
42. Franzen C, Küppers R, Müller A, et al. Genetic evidence for latent *Septata intestinalis* infection in human immunodeficiency virus-infected patients with intestinal microsporidiosis. *J Infect Dis* 1996; 173:1038-40.
43. David F, Schuitema ARJ, Sarfati C, et al. Detection and species identification of intestinal microsporidia by polymerase chain reaction in duodenal biopsies from human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996; 174: 874-7.
44. Liguory O, David F, Sarfati C, et al. Diagnosis of infections caused by *Enterocytozoon bienewisi* and *Encephalitozoon intestinalis* using polymerase chain reaction in stool specimens. *AIDS* 1997; 11: 723-6.
45. Dore GJ, Marriott DJ, Hing MC. Disseminated microsporidiosis due to *Septata intestinalis* in nine patients infected with the human immunodeficiency virus: Response to therapy with albendazole. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 70-6.
46. Carr A, Marriott D, Field A et al. Treatment of HIV-1 associated microsporidiosis and cryptosporidiosis with combination antiretroviral therapy. *Lancet* 1998; 351: 256-61.
47. Oddo D, Chuaqui R, Hofmann E, et al. Intestinal microspora infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Rev Med Chil* 1991; 119: 559-63.
48. González –Saldaña N, Gutiérrez-Ortiz B, Coria-Lorenzo JJ. AIDS in developing countries. The experience at the National Institute of Pediatrics in Mexico City. *Immunol Allergy Clin North Am* 1995; 15:429-39.
49. Chavarría P, Valdovinos MA, Robles Díaz et al. Alteraciones gastrointestinales en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. *Rev Inv Clin* 1987; S39:25-33.
50. Angeles-Angeles A, Reyes-Gutiérrez E, Baquera-Heredia J, et al. Patología post mortem en SIDA. Experiencia con 21 autopsias realizadas en México. *Rev Inv Clin* 1987; S39:123-33.

51. Jesserun J, Angeles-Angeles A, Gasman N. Comparative demographic and autopsy findings in acquired immunodeficiency syndrome in two Mexican populations. *J AIDS* 1990; 3:579-83.
52. Gamboa-Domínguez A, Reyes-Gutiérrez EF. Biopsias de tubo digestivo en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. *Patología (Mex)* 1995; 33:S4
53. Weber R, Bryan RT, Schwartz DA, et al. Human microsporidian infections. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7:426-61.
54. Molina JM, Sarfati C, Beauvais B et al.. Intestinal microsporidiosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic unexplained diarrhea: prevalence and clinical and biologic features. *J Infect Dis* 1993; 167: 217-21.
55. Kotler DP, Giang TT, Garro ML et al. Light microscopic diagnosis of microsporidiosis in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 540-44.
56. Michiels JF, Hofman P, Saint Paul MC et al. Pathological features of intestinal microsporidiasis in HIV positive patients. A report of 13 new cases. *Pathol Res Pract* 1993; 189: 377-83.
57. Gunnarsson G, Hurlbut D, Degirolami PC, et al. Multiorgan microsporidiosis: Report of five cases and review. *Clin Infect Dis* 1995; 21:37-44.
58. Sánchez-Mejorada G, Ponce de León, S. Clinical patterns of diarrhea in AIDS: Etiology and prognosis. *Rev Invest Clin* 1994; 46:187-96.
59. Sowerby TM, Contreas CN, Berlin OGW, et al. Microsporidiosis in patients with relatively preserved CD4 counts. *AIDS* 1995; 9:975.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**