

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa

v. 8, n. 14, jan./jun. 2011

ISSN 1807-8850

UNILUS

Centro Universitário Lusíada

Rua Armando Salles de Oliveira, 150

Boqueirão – Santos/SP – Brasil

11050-071

(13) 3202-4500

Leandro de Souza Manfré Gotti

Acadêmico do Curso de Biomedicina

do Centro Universitário Lusíada

gottileandro@hotmail.com

Luiz Henrique Gagliani

Professor Doutor responsável pelo

Núcleo Acadêmico de Estudos e

Pesquisas em Saúde Pública do Centro

Universitário Lusíada

biogagliani@globo.com

MICROSPORIDIOSE HUMANA: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E DIAGNÓSTICOS NOS PACIENTES COM AIDS

RESUMO

O avanço no entendimento do papel do *Microsporidium sp* na infecção de pessoas com AIDS encontra um obstáculo, sobretudo em seu diagnóstico. É possível que um número maior de casos seja identificado à medida que se conheça melhor a distribuição, característica clínica e métodos de diagnósticos da infecção por esse parasita. As dificuldades diagnósticas na dependência da demonstração morfológica do organismo limitam a realização de inquéritos epidemiológicos. O estudo tem o objetivo de esclarecer os aspectos epidemiológicos e diagnósticos da Microsporidiose em pacientes com AIDS, visando estabelecer maior conhecimento da infecção por esse parasita para que possamos estabelecer sua predominância e definir melhor sua participação na história dos pacientes co-infectados.

Palavras- chave: Microsporidiose, Diagnóstico, Epidemiologia, AIDS.

HUMAN MICROSPORIDIOSIS: EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS AND DIAGNOSES IN PATIENTS WITH AIDS

ABSTRACT

Progress in understanding the role of the infection *Microsporidium sp* for people with AIDS is an obstacle, especially in their diagnosis. It is possible that a larger number of cases is identified as one knows better the distribution, clinical characteristics and diagnostic methods of this infection. The diagnostic difficulties depending on the morphological demonstration of the organism merely carrying out epidemiological surveys. The study aims to clarify the epidemiological aspects and diagnosis of Microsporidiosis in AIDS patients, to establish greater awareness of this infection so that we can establish his dominance and further define its involvement in the history of co-infected patients.

Keywords: Microsporidiosis, Diagnosis, Epidemiology, AIDS.

INTRODUÇÃO

Atualmente a microsporidiose é uma doença que vem causando maior preocupação no ponto de vista clínico devido às infecções causadas nos portadores da síndrome de imunodeficiência humana. A imunodepressão fez com que patógenos oportunistas aproveitassem dessa situação e os mais predominantes são as protozooses.¹

Começaram a dar maior relevância a esses casos quando em 1985 descobriram uma nova espécie de parasita do homem (*Enterocytozoon bieneusi*) e em pacientes com síndrome de imunodeficiência humana apareceu logo em seguida a ceratoconjuntivite e quem possuía o papel patogênico era o *microsporidium*.^{1, 2}

Os microsporídios infectam a maioria dos invertebrados e todos os vertebrados. Através da terapia de anti-retroviral potente, as taxas de microsporidiose associadas a AIDS diminuíram em toda Europa e Estados Unidos. Entretanto países em desenvolvimento ainda indicam índices preocupantes. No Brasil as taxas situam-se entre 12% e 60% porém poucos estudos permitem avaliar a prevalência de microsporidiose associada a infecção pelo vírus HIV, mas a sua prevalência são infecções intestinais.¹

Devido ao pouco conhecimento em relação a biologia celular e molecular, patogenicidade e epidemiologia dos microsporídios em comparação com outros parasitas o presente estudo tem o propósito de que com o maior conhecimento da infecção seja possível estabelecer sua prevalência e sua participação em pacientes portadores da síndrome de imunodeficiência humana no Brasil.^{1, 13}

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

Os microsporídios são classificados no grupo de parasitas, como protozoários, porém estudos recentes apontam que possivelmente esteja relacionado ao *Reino Fungi*, ou seja, que os microsporídios seja um tipo de parasita descendente de fungos.¹⁴

Microsporidium sp. é um eucarionte primitivo, protozoários, oportunistas e o mais preocupante, é que são considerados emergentes. Inicialmente foi descrito em infecções em peixes, insetos, e mamíferos, e infectam vários tecidos como músculos, rins, olhos e pulmões, mas o local com maiores infecções é o aparelho digestivo. São responsáveis pela morte de grande parte de indivíduos com distúrbios imunes, como indivíduos portadores do vírus HIV – 1.^{11, 13}

São protozoários intracelulares obrigatórios¹³ e pertencem ao filo *Microspora* e existem 144 gêneros e mais de cerca de 1200 espécies, no mínimo 6 gêneros são patogênicos para o homem, os *Microsporidium sp.* são capazes de infectar todos os vertebrados e a maioria dos invertebrados sendo que o agente principal é o *Enterocytozoon bieneusi*.¹³

O *Microsporidium sp.* em sua forma de esporo pode ser ovóide ou piriforme, e dependendo da espécie variam entre 1 e 20µm de diâmetro. Os que infectam os mamíferos seu tamanho tende a ser menor entre 1 e 2µm. O *Microsporidium sp.* estruturalmente possui um filamento central (túbulo) polar espiralado, e termina em um disco de fixação, que serve pra penetrar na célula do hospedeiro.¹² (Figura 1 e 2)

Fig. 1 —
Células do
intestino
delgado -
jejuno -
coradas pelo
Chromotrope
2R. MÓ x
1.000. Presença
de agrupamentos
de esporos (0,70
x 1,08µm)
de
microsporidia
situado entre o
núcleo e a
superfície
celular do
enterócito

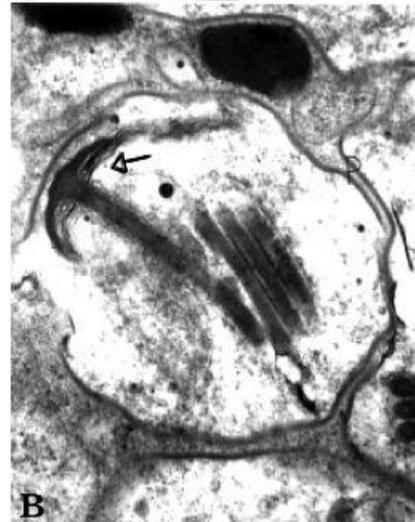
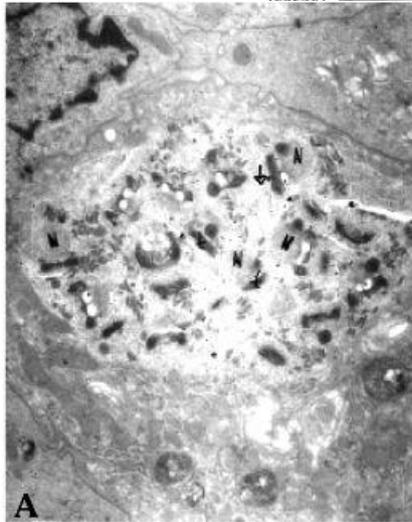
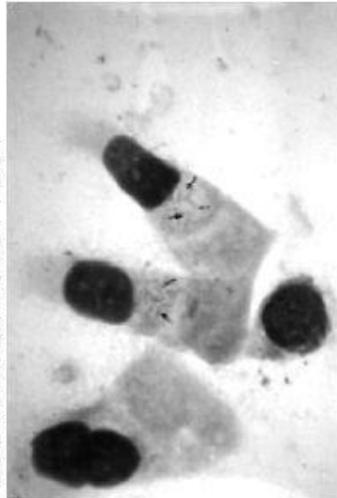


Fig. 2 — Estágios de maturação do
microsporidium no interior do
enterócito (TEM):
A) esporogonia: reconhecida pela
presença de estruturas
eletronicamente densas, precursores
dos túbulos polares (t). Núcleos (N).
Vacúolos elétron-luscentes (e). x15.000;
B) à medida que o esporante
amadurece, individualiza-se através
da invaginação do plasmalema (P).
Cada núcleo se torna isolado
acompanhado de um túbulo polar
denso, em forma de âncora (seta)
x140.000;
C) Esporo, com seu túbulo polar (T) e
membrana espessa (M). x100.000.

Fonte: Rev. Assoc. Med. Bras. vol.43 n.3 São Paulo July/Sept. 1997.

Os *Microsporidium sp* são denominados em espécies devido as suas características ultra-estruturais que envolvem tamanhos e morfologia dos diferentes estágios de

desenvolvimento, analisando como é configurado seu núcleo e quantos espirais existe em seu túbulo polar.¹

Outra forma de classificação bem interessante é o local aonde o protozoário se desenvolve, já que algumas espécies são restritas a uma célula específica de um único órgão ou sistema. Já outras causam infecção sistêmica, envolvendo diferentes órgãos e sistemas, porém isso tudo tem sido objeto de revisão uma vez que com que a análise molecular tem sido introduzida no estudo desses parasitas.¹

Atualmente o *Septata intestinalis* já é chamado como *Encephalitozoon intestinalis*. Depois do *Enterocytozoon bieneusi* os mais comuns em infectar os seres humanos são do gênero *Encephalitozoon* e particularmente três espécies: *E. cuniculi*, *E. hellem* e *E. intestinalis*.¹³ (Tabela 1)

Phylum	Microspora	
Classe	Microsporea	
Ordem	Microsporidia	
Subordem	Pansporoblastina	Apansporoblastina
Gêneros	<i>Pleistophora</i> <i>Septata</i>	<i>Nosema</i> <i>Enterocytozoon</i> <i>Encephalitozoon</i>
Espécies	<i>S. intestinalis</i> * <i>E. cuniculi</i> <i>E. hellem</i>	<i>N. connori</i> <i>N. corneum</i> <i>E. bieneusi</i> <i>E. cuniculi</i> <i>E. hellem</i>

* Classificada por alguns autores em *Encephalitozoon intestinalis*¹.

Fonte: Rev. Assoc. Med. Bras. vol.43 n.3 São Paulo July/Sept. 1997

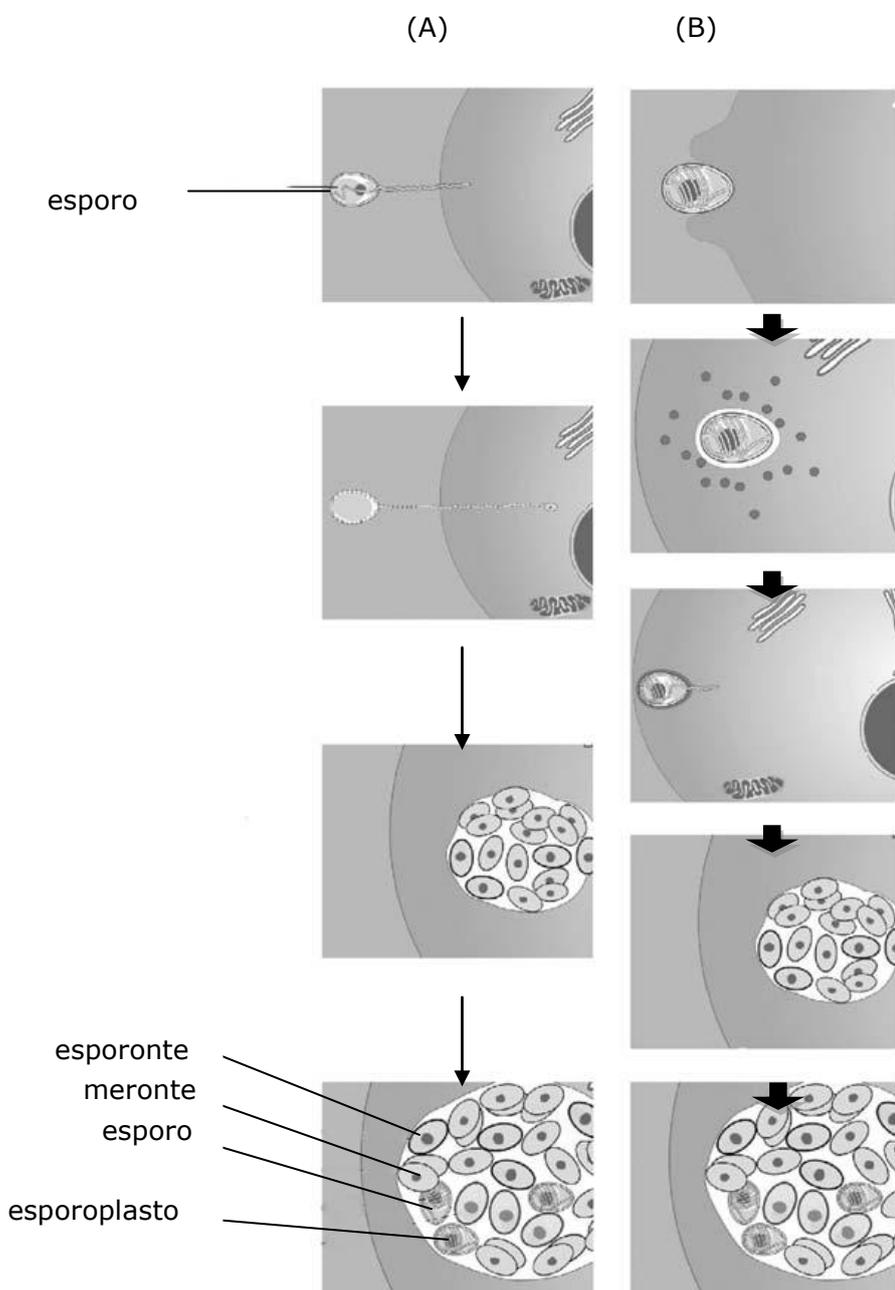
ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DOS PRINCIPAIS AGENTES DE MICROSPORIDIOSE HUMANA

Agente aspecto	<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	<i>E. cuniculi</i>	<i>Encephalitozoon hellem</i>	<i>E. intestinalis</i>
Dimensão do esporo (µm)	0,5 x 1,5	1,5 x 2,5	1,0 x 2,5	1,2 x 2,0
Número e arranjo das espirais do tubo polar	4-5, 1 fileira	5-7, 1 fileira	4-9, 1 fileira	4-7, 2 fileira
Localização intracelular	Agrupado ou disperso no citoplasma	Vacúolo parasitóforo	Vacúolo parasitóforo	Vacúolo parasitóforo, multisseptado
Tecidos alvos	Intestinos	Cérebro, rim, bexiga urinária, intestino, pulmão, traquéia, córnea, conjuntiva.		
Formas clínicas	Enterite, colangite, colecistite, sinusite, rinite	Hepatite, perionite, pneumonite, cistite, nefrite, encefalite	Ceratoconjutivite sinusite, rinite, pneumonia	Enterite, colte, sinusite, rinite, ceratoconjutivite, nefrite
Células-alvo	Enterócitos, biliares, pancreáticas, epiteliais respiratórias, macrófagos	Epiteliais, macrófagos endoteliais	Epiteliais	Enterócitos, macrófagos, fibroblastos, endoteliais

CICLO DE VIDA

Pertencentes ao *Phylum Microspora*, os microsporídia que são protozoários obrigatoriamente intracelulares, não possuem mitocôndrias e são caracterizados eucariotas primitivo exatamente por não possuírem mitocôndria e nem complexo de golgi. Seu desenvolvimento é feito através de divisão múltipla ou merogonia, logo em seguida ocorre a esporogonia que é feita dentro da célula do hospedeiro.¹

Fora do hospedeiro os microsporídios vivem em forma resistente de esporos. O ciclo de vida inicia-se logo após a ingestão ou inalação do espora, transmissão placentária e mais raramente pós-exposição traumática cutânea, tanto no homem como em outros mamíferos. Como os esporos são muito resistentes ao tratamento convencional de água, são potenciais patógenos de veiculação hídrica.¹³



Fonte: The Open Parasitology Journal, 2008, 2, 1-34.

Existem 2 formas do microsporídeo invadir a célula do hospedeiro. Na figura A mostra em condições adequadas o esporo invade a célula através de inoculação. E na figura B essa invasão ocorre por endocitose.⁷

Após o contato com o microsporídeo, o esporo possui um ancoradouro que é expulso pra fora do esporo, e pelo filamento o conteúdo do esporo ou esporoblasto é injetado dentro da célula do hospedeiro, assim dando início a infecção.¹³

Dentro da célula já no citoplasma do hospedeiro, esporoplasto dividi-se formando os merontes que possuem membrana plasmática simples. Os merontes se multiplicam através de divisão binária e fissão múltipla dando formato arredondado multinucleares plasmodiais dando origem ao *E. bienewisi*, que fazem sua multiplicação dispersos no citoplasma da célula ou células multinucleares em forma de fita dando origem ao *Encephalitozoon* sp. e que também possui vacúolo parasitóforo, e assim as características estruturais variam nesta fase de acordo com o gênero do microsporídeo. Então se diferenciam em esporoblastos e depois em esporontes que enfim viram esporos, enfim a célula se rompe e libera os esporos no espaço extracelular, infectando células adjacentes ou invadem o sistema vascular.¹³

EPIDEMIOLOGIA

Desde sua descoberta ele tem sido agente infeccioso principalmente em seres invertebrados, como os insetos. Em 1838 Gluge descobriu pela primeira vez uma infecção por microsporídeo em um ser vertebrado, e o *Encephalitozoon cuniculi* foi o primeiro a ser reconhecido como um parasita de mamífero. Menos de 10 microsporídeos em humanos haviam sido notificados até 1985, quando a nova espécie *Enterocytozoon bienewisi* foi descrito em um paciente de 29 anos que morava no Haiti portador de AIDS. Na França organismos similares (Provavelmente *E. bienewisi*) já havia sido observado em biópsia intestinal de vários doentes infectados pelo VIH desde agosto de 1982, mas para os patologistas sua identificação como parasitas protozoários do filo microsporídeos não veio facilmente. William Gourley, patologista da Universidade do Texas em Galveston, provavelmente foi o primeiro para detectar *E. bienewisi* em uma biópsia duodenal de um paciente homossexual com diarreia crônica. Utilizando microscopia eletrônica, ele observou esporos de uma levedura "ou protozoário", e que "Não é reconhecido por microscopia de luz". Sete meses mais tarde ele mostrou a microscopia eletrônica aos participantes da conferência anual Sociedade Binford Dammin de Patologia de Doenças Infecciosas e eles reconheceram esporos. Em maio de 1984, um resumo escrito por Dobbins e Weinstein descrever um organismo desconhecido no uma biópsia gastrointestinal de um paciente com AIDS chamou a atenção do Gourley. Comparação de ambos os organismos mostrou que eles eram microsporídeos idênticos.¹²

A ocorrência de microsporidiose como doenças oportunistas comuns em pacientes imunodeprimidos estimulou a investigação neste domínio durante o última década do século 20.⁸

Dois espécies patogênicas do *Encephalitozoon* que infectam seres humanos, *Encephalitozoon cuniculi* e *Encephalitozoon hellem*, são morfológicamente semelhantes, em microscopia de luz e eletrônica e só podem ser distinguidos pela bioquímica, antigênica, ou a análise de ácidos nucléicos. Vários casos de infecção por *Encephalitozoon* foram relatados que ocorreram em pacientes com e sem AIDS antes de 1991. Supunha-se que essas infecções foram por *E. cuniculi*. No entanto, em 1991 através de métodos bioquímicos e antigênica descreveram a espécie de *Encephalitozoon* denominado *Encephalitozoon hellem*, encontrada em três pacientes com AIDS. Estas espécies morfológicamente indistinguíveis exigem métodos especiais para diferenciá-las. As infecções em humanos parecem ser causadas por *E. hellem*. Havia algumas dúvidas quanto ao fato de *E. cuniculi*, de fato, causar infecção humana até 1995, quando De Groote e Franzen descreveram dois homens homossexuais com AIDS e infecção

disseminada e confirmou por um teste de imunofluorescência e de identificação por DNA o *E. cuniculi*. Até à data, *E. cuniculi* tem sido detectada em pelo menos 20 infectados pelo HIV e *E. hellem* em cerca de 50 infectados pelo HIV ou pacientes imunocomprometidos. Uma terceira espécie de *Encephalitozoon*, *Encephalitozoon intestinalis*, foi descrita pela primeira vez em 1992 por Orenstein como um *Microsporidium* com a ultra estrutura similar ao gênero *Encephalitozoon*. *E. intestinalis* é um dos espécies mais comuns microsporídios em seres humanos (ao lado *E. bienewisi*).⁸

Os dados sobre as características epidemiológicas de microsporidiose, estão aumentando rapidamente, mas muitas questões ainda não foram respondidas. Estão faltando prevalência de estimativas confiáveis porque quase todos os estudos publicados não são baseados no fato de amostras aleatórias, mas se referem a populações de pacientes altamente selecionados, tais como pacientes infectado pelo HIV – 1 com diarreia crônica. Diferentes abordagens diagnósticas e várias espécies com diversas manifestações clínicas tornam muito difícil compreender o verdadeiro ônus da microsporidiose. Estudos sobre *Enterocytozoon bienewisi* em pacientes com AIDS e diarreia crônica relataram prevalências entre 4% e 50%, dependendo do estudo grupo e método de diagnóstico. Combinados, esses estudos avaliaram mais de 2.500 pacientes e confirmadas cerca de 500 casos de infecção por *E. bienewisi* (20%) e o número total de casos ultrapassa 1.000. Estimativas epidemiológicas da infecções *Encephalitozoon* não ter sido feito até agora.¹⁰

PREVALENCIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Até a década de 90 a prevalência da infecção por microsporidia nos pacientes com SIDA e diarreia crônica variava de 7% a 50% no mundo, sua distribuição geográfica era: Alemanha, Austrália, Brasil, Canadá, Estados Unidos, França, Inglaterra, Itália, Países Baixos, Porto Rico, Suíça, Zâmbia. Isso tudo podem ter ocorrido por causa da diversidade de exposição, emprego de diferentes técnicas diagnósticas ou variação geográfica.³



Fonte: The Open Parasitology Journal, 2008, 2, 1-34

A distribuição geográfica de microsporidiose humana. As regiões escuras indicam áreas com casos humanos publicados, cinza indicam regiões áreas com casos que não tenham sido publicados (comunicações pessoais). Baseado em uma revisão da literatura a partir de setembro 2005.

Em países em desenvolvimento ocorreu uma ascensão com relação a microsporidiose devido ao aumento de pacientes com AIDS, a diarreia é comum e ocorre em 60 % -90 % dos indivíduos infectados, sendo que em países já desenvolvidos como Estados Unidos e Europa as taxas de microsporidioses associadas à AIDS decresceram, de modo significativo devido ao uso de anti-retroviral. É necessário aprimorar o diagnóstico clínico e laboratorial, para definir a distribuição geográfica destes agentes no Brasil.¹³

FONTES DE INFECÇÃO E TRANSMISSÃO

Logo após a ingestão ou inalação, ocorre alterações do pH do hospedeiro estimulam o *Microsporidium* a se desenvolver. Microsporídios são ubíquas na natureza e se amplamente distribuídos no ambiente. As espécies e genótipos que infectam os seres humanos têm sido detectadas na água, alimentos e animais silvestres, domésticos e agrícolas. Isto sugere que há várias fontes de infecção e modos de transmissão das infecções humanas. Os reservatórios potenciais para microsporídios que pode ser transmitida aos seres humanos inclui outros seres humanos e animais infectados, alimentos e água contaminados. A presença dos organismos no trato gastrointestinal e respiratório de indivíduos infectados e excreção de esporos na urina e nas fezes sugere que a transmissão horizontal é possível através de rotas, incluindo fecal-oral, oral-oral, a inalação de aerossóis e ingestão de alimentos e água contaminados. transmissão zoonótica é possível através de contato direto ou indireto com animais e a ingestão de carne crua. Outra sugestão é transmitida por vetores. Vertical ou transmissão transplacentária que não foi demonstrado em seres humanos.⁵

PATOGENIA E SINTOMAS

Em pacientes com AIDS, a infecção é reconhecida como uma das principais causas de morbidade e responsáveis por doenças intestinais e sistêmicas, causando quadros clínicos que incluem sinusite, ceratoconjuntivite, tosse, hepatite, peritonite, nefrite, encefalite e miosite. As manifestações clínicas variam de acordo com as espécies envolvidas, o local da infecção e o sistema imunológico do paciente. Fatores que predisõem à infecção crônica parecem ser imunes. Na verdade, diarreia persistente, má absorção e perda de peso, que são as manifestações clínicas mais comuns associadas com a infecção em pacientes com AIDS em pessoas que possuem habitualmente linfócitos CD4 inferiores a 100 células por mm³.⁹

Em indivíduos imunocompetentes, é limitado a diarreia que dura cerca de 2-3 semanas. Provas imunológicas recentes sugerem que as infecções assintomáticas são comuns na população geral. As drogas mais usadas para tratar infecções são albendazol e fumagillin.⁵

A enterocolite é a mais comum e é causada normalmente pelo *Enterocytozoon bieneusi* e o *Encephalitozoon intestinalis*, assim os pacientes apresentam uma diarreia aquosa com ou sem muco, sem sangue ou pus, continua ou intermitente, que piora com a ingestão de alimentos. Cólica, anorexia, náuseas e vômito são frequentes porém a febre não costuma acompanhar o quadro diarreico. Com essa infecção ocorre má absorção que é evidenciada por alteração da D-xilose e diminuição da vitamina B - 12.¹²

Pacientes com AIDS geralmente sofre de ceratoconjuntivite que é causada pelo *Encephalitozoon*. O paciente queixa-se de olhos secos, sensação do corpo estranho, dor ocular, lacrimejamento, borramento da visão e fotofobia. Embora nesses casos a manifestação clínica seja ocular, há sempre envolvimento sistêmico associado.¹²

O *E. bienewisi* é o principal causador da doença intestinal enquanto o *E. intestinalis* caracteriza-se também por além de estar relacionado a doença intestinal, também esta relacionado a forma disseminada da doença. Devido a infecção celular ocorre morte acentuada das células epiteliais do intestino.¹¹

No homem, os microsporídios causam desde infecções intestinais a infecções sistêmicas, sendo que os aspectos patogênicos da doença variam em função da espécie envolvida e da competência da resposta imune do hospedeiro. O *E. intestinalis* relacionado como o principal agente da microsporidiose intestinal associada a AIDS, tem capacidade de infectar fibroblastos, macrófagos e células endoteliais, e além do intestino delgado e grosso essa espécie ainda pode acometer fígado, tecido ocular e trato respiratório e urinário. Em caso de AIDS o *E. hellem* é agente de ceratoconjuntivite e microsporidiose do trato respiratório ou urogenital, levando a quadros graves de traqueobronquite necrotizante, prostatite necrossupurativa, nefrite intersticial linfocitoplasmática e cistite ulcerativa. Com estudos de anticorpos monoclonais permitiu a diferenciação entre *E. cuniculi* e *E. hellem* em casos de AIDS e desde essa diferenciação foi demonstrada a disseminação de *E. cuniculi* em miócitos, células endoteliais e epiteliais renais.¹³

DIAGNÓSTICO

ELISA e Western Blot são os métodos sorológicos e têm sido úteis para o diagnóstico de Microsporidiose em Animais de laboratório e humanos imunologicamente competentes. No entanto, teste de sorologia complicou-se pela emergência de novas espécies de microsporídios encontrados para infectar os seres humanos e animais e em indivíduos imunodeficientes que não podem expressar respostas de anticorpos significativos ou específicas. Microsporídios são difíceis de detectar e, geralmente, técnicas especiais são necessárias para diagnosticar infecções por microsporídios. A identificação de microsporídios foi baseada principalmente em estudos ultraestruturais usando microscopia eletrônica de transmissão. A ultraestrutura dos microsporídios através da microscopia eletrônica é patognomônico para o filo e permite distinguir entre todos os gêneros microsporidiais. No entanto, durante a última década, os procedimentos de diagnósticos para a detecção de microsporídios foram alterados notavelmente e foram revistos várias vezes. Novos métodos de coloração, adequado para microscopia de luz, foram desenvolvidos e modificados, coloração de tricrômico (chromotrope 2R concentrado) e técnicas de coloração fluorescente com branqueadores ópticos (por exemplo, Uvitex 2B, o CFW, ou Fungifluor) foram descobertas importantes.⁷

A microscopia eletrônica de transmissão é o padrão ouro, porém esse procedimento tem custo alto com processo de diagnose demorado, complicando para assim um diagnóstico de rotina, entretanto não deixa de ser um dos mecanismos para a verdadeira identificação das espécies dos microsporídios.⁴

Os esporos ou estágios prematuros de desenvolvimento são diagnosticados através dessas colorações especiais, como o Cromotrope 2R que é o método mais utilizado e que com o uso de sua coloração é observado em esfregaços fecais através do microscópio.¹¹

Os microsporídios podem ser diagnosticados em urina, escarro, lavado broncoalveolar, líquido biliar, aspirado duodenal e fezes, sendo que também podem ser identificados em colheitas e raspagens de tecido de mucosa sinovial, córnea, conjuntiva, e secreção nasal, além de biopsias traqueobronquial, do intestino delgado, seio paranasal, fígado, músculos em colecistectomia e líquidos cefalorraquidiano. Espécimes frescos devem ser colhidos para cultura de células e para estudos moleculares, em casos de infecção disseminada é recomendável que a urina seja enviada para análise. Os microsporídios, apesar de estarem nos tecidos não provocam uma resposta inflamatória importante, podendo passar despercebidos nos exames histológicos das amostras.⁴

A coloração de tricrômico serve para produzir o contraste de coloração entre artefatos do fundo presentes e assim permitir o reconhecimento das características dos organismos através da objetiva de imersão, e os microsporídios apresentam-se normalmente com a parede celular dos esporos com coloração rosa ao vermelho, com uma zona central clara ou, eventualmente, mostrando uma faixa horizontal em diagonal que é o túbulo polar. A alta concentração de chromotrope 2R que é a coloração de tricrômico modificada e junto com outros reagentes como soluções desidratantes como alcoóis e xilol, resinas sintéticas ou balsamo-do-canadá após utilizadas pode se examinar no mínimo 200 a 300 campos com objetiva de imersão, porém como o tamanho dos esporos de microsporídios serem muito pequenos fica difícil sua identificação e fica por muitas vezes dependendo da aparência dos esfregaços do controle de qualidade e da comparação com os espécimes do paciente.

A penetração do corante na parede celular dos esporos é grande e com isso as modificações do método do tricrômico apresentam excelentes resultados, já que uma das modificações esta na formula original do tricromico que quando modificada apresenta 10 vezes mais chromotrope 2R.⁴

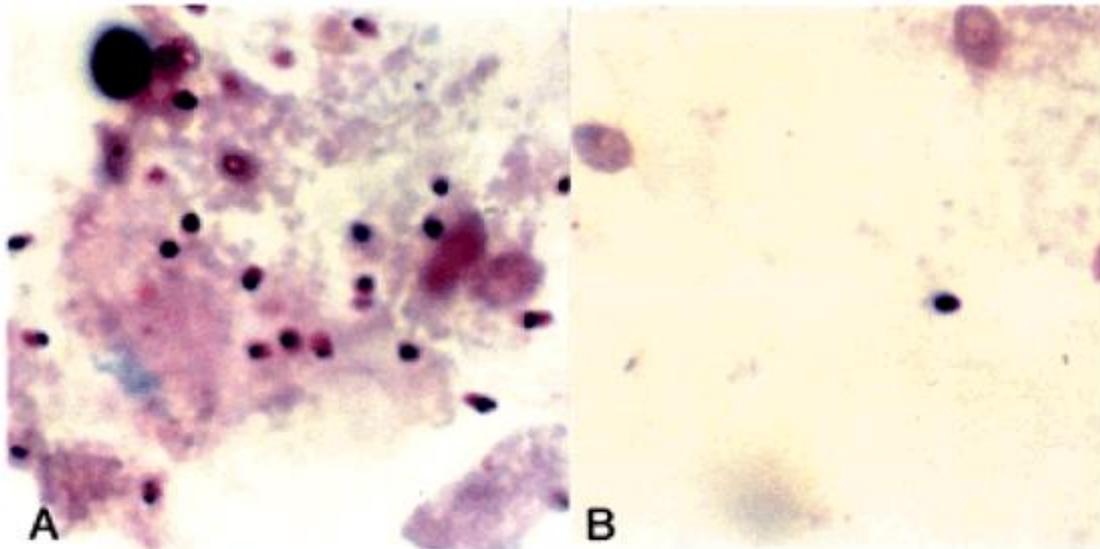


Fig. 1 - Microsporidia spores in stool smears stained by the Gram-chromotrope method. 1,250X. At the moment of diagnosis, many spores could be seen (A). During treatment with albendazole a few spores were seen (B).

Fonte: Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, v. 42, n. 6, Dec. 2000

Originalmente utilizados para fezes e outros fluidos corporais, estas colorações foram mais tarde adotados para a coloração de cortes histológicos. O interesse no cultivo *in vitro* de alguns microsporídios que causam a doença humana intensificado nos últimos anos depois vários gêneros foram identificados como patógenos oportunistas de humanos, especialmente em pacientes com AIDS. No entanto, as espécies mais comuns de microsporídios que infectam os humanos é o *E. bienewisi*, que ainda não foi cultivado a longo prazo em culturas, é o que tem impedido o progresso em encontrar um agente antimicrosporidial contra esta infecção importante.¹⁵

No caso do paciente ter comprometimento do sistema imune a melhor forma de diagnosticar microsporidiose é a utilização do PCR com a combinação desses métodos já citados. Esses métodos moleculares são utilizados em amostras fecais, biopsia intestinal, aspirado duodenal ou bile para indicar a presença de microsporídios. Para assim fazer uma identificação definitiva é usado microscopia eletrônica e Western blot e reação em cadeia da polimerase (PCR).⁶

Existe uma perfeita concordância quando se usa imunofluorescência direta e PCR já que a sensibilidade e especificidade ficam em 100%, sendo que a técnica de PCR apresenta vantagem devida conseguir diferenciar *E. bienersi*, *E. intestinalis* e *E. hellem*, por ampliar especificamente o DNA, porém devido a variação na sensibilidade conforme a qualidade e modo de preservação da amostra, inibição da amplificação completa do DNA por polissacarídeos, lipídeos, proteínas, enzimas proteinases ou DNAses presentes nas fezes, ocorrem dificuldades assim para uma padronização. Portanto a técnica normalmente só é utilizada para estudos epidemiológicos já que ainda o DNA de outros microrganismos presentes nas fezes pode ser amplificado gerando cerca de 5% de resultados falsos positivos.¹³

CONCLUSÃO

A distinção entre as espécies é fundamental na escolha do manejo terapêutico a ser adotado e na definição prognóstico da infecção. Devido aos avanços tecnológicos e com o passar dos anos, acredita-se que será mais fácil para efetuar as técnicas que necessitam de grande conhecimento e capacidade para diagnosticar essa doença que prejudica principalmente os pacientes com AIDS.

Por fim, deve ser considerada a implantação de programas educativos e preventivos, junto aos médicos, a outros profissionais da área de saúde e à comunidade em geral, visando ao controle desse parasita emergente, especialmente nos portadores do vírus HIV – 1, seguindo as recomendações da Organização Mundial de Saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIAS

- 1 - BRASIL, P.; LIMA, D. Bonfim de; MOURA, H.. *Microsporidiose humana na síndrome de imunodeficiência adquirida*. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, v. 43, n. 3, Sept. 1997 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42301997000300014&lng=en&nrm=iso>. access on 20 Mar. 2010. doi: 10.1590/S0104-42301997000300014.
- 2 - BRASIL, Patrícia et al . *Clinical and diagnostic aspects of intestinal microsporidiosis in HIV-infected patients with chronic diarrhea in Rio de Janeiro, Brazil*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo, v. 42, n. 6, Dec. 2000 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652000000600001&lng=en&nrm=iso>. access on 05 July. 2010. doi: 10.1590/S0036-46652000000600001.
- 3 - Bryan RT. *Microsporidiosis as an AIDS-related opportunistic infection*. Clin Infect Dis 1995; 21 (suppl 1): S62-65.
- 4 - DE CARLI, Geraldo. *Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas*. 2. Ed. São Paulo: Atheneu 2007. 265-295 p
- 5 - Didier ES, Stovall ME , LC Green, Brindley PJ , K Sestak PJ, Didier. *Epidemiologia da microsporidiose : fontes e modos de transmissão* . Vet Parasitol 2004, 126:145-166 .
- 6 - FERNANDEZ, Nora et al . *Primer diagnóstico de microsporidiosis humana en Uruguay*. Rev. Méd. Urug., Montevideo, v. 18, n. 3, dic. 2002 . Disponible Em <http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0303-32952002000300009&lng=es&nrm=iso>. accedido en 05 July. 2010.
- 7 - FRANZEN C. *THE OPEN PARASITOLOGY JOURNAL: Microsporidia: A Review of 150 Years of Research*. Department For Internal Medicine I, University Of Regensburg, Regensburg, Germany, 01 fev. 2008.
- 8 - Franzen C, Schwartz DA, Visvesvara GS, Müller A, Schwenk A, Salzberger B, Fätkenheuer G, Hartmann P, Mahrle G, Diehl V, Schrappe M. *Immunologically confirmed disseminated, asymptomatic Encephalitozoon cuniculi infection of the gastrointestinal tract in a patient with AIDS*. Clin Infect Dis 1995; 21: 1480-4

- 9 - Kotler DP, JM Orenstein. *Síndromes clínicas associadas com microsporidiose. Adv Parasitol* 1998, 40:321-349 .
- 10 - Mathis A, Weber R, Deplazes P. *Zoonotic potential of the microsporidia. Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 423-45.
- 11 - NEVES, David Pereira. *Parasitologia Humana*. 11. Ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 449-450 p.
- 12- Orenstein JM. *Microsporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. J Parasitol* 1991; 77: 843-64
- 13 - VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. *Tratado de infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1997. 1170-1174 p.
- 14 - VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. *Tratado de infectologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. 1477-1484 p
- 15 - Visvesvara GS. *In vitro cultivation of microsporidia of clinical importance. Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 401-13.