

# Microsporidiose humana na síndrome de imunodeficiência adquirida

P. BRASIL, D. BONFIM DE LIMA, H. MOURA

Disciplinas de Doenças Infecciosas e Parasitárias e de Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, R.J.

UNITERMOS: Microsporidia. HIV. Características clínicas. Abordagem diagnóstica e terapêutica.

KEY WORDS: Microsporidia. HIV. Clinical features. Approach diagnostic and therapeutic.

## INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) em 1981, passamos a observar nesses pacientes infecções causadas por patógenos oportunistas, antes descritas apenas em pacientes com outras causas de imunodeficiência, como neoplasias, uso de drogas imunossupressoras e transplantes de órgãos. Entre as parasitoses oportunistas observadas nos indivíduos com SIDA, as protozooses são as predominantes, em particular a toxoplasmose, as coccidioses intestinais e a pneumocistose. Até há alguns anos, as microsporidioses eram consideradas como infecções muito raras em humanos, ocorrendo apenas em pessoas imunodeprimidas. A identificação em 1985 de uma nova espécie parasita do homem (*Enterocytozoon bieneusi*) e, a seguir, a observação de casos de ceratoconjuntivite devido ao *Encephalitozoon* em pacientes com SIDA relevaram o papel patogênico do *microsporidium*.

O espectro clínico das doenças causadas por microsporidia encontra-se em expansão. O gênero *Enterocytozoon* é o mais isolado em pacientes com diarreia crônica e SIDA. Recentemente, a espécie *Septata intestinalis*, também conhecida como "*Encephalitozoon intestinalis*"<sup>1</sup>, foi descrita em células do epitélio intestinal, células tubulares renais e respiratórias de pacientes HIV-positivos, indicando disseminação sistêmica.

No Brasil, de forma semelhante a outros locais no mundo, as infecções intestinais são as mais comuns, com 40 casos descritos<sup>2-4</sup>. No Rio de Janeiro e em São Paulo, dois casos de microsporidiose ocular já foram diagnosticados<sup>5,6</sup>. É possível que um número maior de casos seja identificado à medida que se conheça melhor a distribuição, ca-

Tabela 1 — Classificação dos microsporidia

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>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*'.

racterísticas clínicas e métodos diagnósticos da infecção por esse parasita. Neste artigo, procuramos abordar os aspectos gerais da microsporidiose humana, para que com maior conhecimento da infecção possamos estabelecer sua prevalência, e definir melhor sua participação na história natural do paciente co-infectado pelo HIV no Brasil.

## Microsporidia

O *Nosema bombycis* foi o primeiro dos *microsporidia* descrito<sup>7</sup>, sendo agente parasita do bicho-da-seda. A partir de então esses agentes têm sido reconhecidos como causa de doença em vários grupos de animais: insetos, peixes, coelhos, ursos e primatas<sup>8,9</sup>. De fato, os *microsporidia* estão amplamente distribuídos no reino animal, parasitando todas as classes de vertebrados e invertebrados<sup>10,11</sup>.

### Características biológicas e ciclo de vida

Os *microsporidia* são protozoários pertencentes ao phylum *Microspora* (tabela 1), termo criado em 1882 por Balbini para a classificação de um novo grupo de parasitas<sup>12,13</sup>; eucariotas primitivos, desprovidos de mitocôndrias, cujo desenvolvimento se faz por divisão múltipla ou merogonia, seguida de esporogonia, no interior da célula do hospedeiro. Essa divisão parasitária efetua-se, na maioria dos gêneros, em contato direto com o citoplasma da célula do hospedeiro (subordem Apansporoblas-

tina: gêneros *Nosema*, *Enterocytozoon* e *Encephalitozoon*). Alguns se multiplicam dentro de um vacúolo parasitóforo, cuja membrana é de origem celular parasitária (subordem Pansporoblastina: gêneros *Pleistophora* e *Septata*). A esporogonia leva à formação de esporos unicelulares maduros, de tamanho de 1 a 1,5µm, com um túbulo polar espiralado e cercado de uma membrana espessa. A contaminação de novas células se faz pela adesão desses esporos na membrana, seguida da expulsão, por mecanismo de ejeção, do túbulo polar, através do qual passa o esporoplasma, elemento infeccioso. Esse tipo de esporogonia é característico dos *microsporidia*, assim como o modo de contaminação. Mais de 100 gêneros e quase 1.000 espécies foram até agora identificados<sup>14</sup>.

A classificação das espécies é ainda baseada em características ultra-estruturais, isto é, no tamanho e morfologia dos diferentes estágios de desenvolvimento, na configuração do núcleo e no número de espirais do túbulo polar. Outro critério também usado para a classificação é a especificidade do local de desenvolvimento: algumas espécies são restritas a uma célula específica de um único órgão ou sistema; outras causam infecção sistêmica, envolvendo diferentes órgãos e sistemas. Esses critérios de classificação, entretanto, têm sido objeto de revisão, sobretudo após a introdução da análise molecular, cujos estudos, ainda incompletos, por vezes não coincidem com os estudos morfológicos<sup>1</sup>.

## EPIDEMIOLOGIA

A epidemiologia da microsporidiose humana varia de acordo com o estado imune do hospedeiro e com a espécie do parasita. As dificuldades diagnósticas, na dependência da demonstração morfológica do organismo, limitam a realização de inquéritos epidemiológicos. A interpretação e utilidade da soroprevalência são controversas. A alta prevalência de soropositividade ao *Encephalitozoon cuniculi*, sem correlação clínica ou epidemiológica, assim como a possibilidade de reações cruzadas entre diferentes antígenos de microsporidia, dificulta a sua interpretação<sup>15</sup>.

### Prevalência e distribuição geográfica

Somente a partir de 1959 o *microsporidium* foi reconhecido como agente de patologia humana, com o relato de um caso<sup>16</sup>. A seguir, apenas dez casos, não associados ao HIV, foram descritos<sup>1,17-19</sup>. Com a progressão da epidemia da SIDA, mais de 600 casos foram relatados somente nos Estados Unidos<sup>17</sup>. Até agora cinco gêneros foram identificados como causas de doença no homem: *Nosema*, *Pleistophora*,

*Encephalitozoon*, *Enterocytozoon* e, mais recentemente, *Septata*<sup>20-26</sup>. O *Enterocytozoon bieneusi*, previamente exclusivo de indivíduos infectados pelo HIV, foi recentemente detectado como causa de diarreia autolimitada em viajante imunocompetente<sup>19</sup>, e em paciente com imunossupressão secundária à quimioterapia pré-transplante<sup>1</sup>. Relatos de infecção por microsporidia desse gênero em indivíduos assintomáticos sugerem a possibilidade de existência de portadores sãos do parasita<sup>27,28</sup>.

No indivíduo infectado pelo HIV, 4 dos 5 gêneros foram identificados como causa de microsporidiose: *Pleistophora*, *Encephalitozoon* (*E. cuniculi*, *E. hellem*), *Enterocytozoon* (*E. bieneusi*) e *Septata* (*S. intestinalis*), sendo a maioria causada pelo *Enterocytozoon bieneusi*, associada a sintomas digestivos. A prevalência da infecção por microsporidia nos pacientes com SIDA e diarreia crônica varia de 7% a 50% no mundo, com ampla distribuição geográfica: Alemanha, Austrália, Brasil, Canadá, Estados Unidos, França, Inglaterra, Itália, Países Baixos, Porto Rico, Suíça, Zâmbia<sup>2,17,19,21,29-38</sup>. Essas diferenças de prevalência podem refletir diversidade de exposição, emprego de diferentes técnicas diagnósticas ou variação geográfica. A propósito da alta incidência dessa infecção, alguns autores acreditam que o *E. bieneusi* seja um parasita natural do homem, infectando transitoriamente o indivíduo com o sistema imune competente, causando doença somente em imunodeprimidos<sup>18</sup>.

### Fontes de infecção e transmissão

As fontes de infecção e os modos de transmissão da microsporidiose são incertos. Não há confirmação da presença de um reservatório animal na infecção humana, nem de hospedeiros intermediários ou vetores invertebrados<sup>8,10,18</sup>. A presença de *microsporidia* na superfície de águas poderia sugerir a possibilidade do meio ambiente como fonte de infecção, não fosse a ausência de identificação de espécies que infectam o homem nesses locais<sup>39</sup>.

A identificação de esporos do parasita na urina, fezes, aspirados duodenais e secreções respiratórias sugere a possibilidade de transmissão interhumana. A ingestão de esporos seria uma explicação plausível para a aquisição de espécies como *E. bieneusi* e *S. intestinalis*, já que esses esporos se desenvolvem principalmente no intestino delgado e são excretados nas fezes. Além disso, a identificação desses dois gêneros somente em humanos confirmaria a hipótese de transmissão de pessoa para pessoa. A disseminação de *S. intestinalis*, *E. hellem* e *E. cuniculi* para o sistema urinário, além de infecção prostática, levantaria a possibilidade adicional da transmissão sexual<sup>37</sup>. Especula-se a possi-

bilidade de transmissão aérea pela presença de esporos de *E. bieneusi*, *E. hellem* e *E. cuniculi* nas vias respiratórias<sup>37,40,41</sup>. A infecção da conjuntiva ocular por *Encephalitozoon* faz da auto-inoculação sua hipótese de transmissão mais provável<sup>17</sup>. Apesar da infecção por via transplacentária ser demonstrada em animais de experimentação, a transmissão vertical nunca foi demonstrada em humanos<sup>1,42</sup>.

### PATOGENICIDADE

A fisiopatologia da microsporidiose humana não é completamente entendida. Categorias diversas de interação parasita-hospedeiro foram descritas entre humanos e o *Encephalitozoon*, variando de infecção latente assintomática ou infecção crônica moderada à doença aguda potencialmente fatal, em função do estado imune do hospedeiro<sup>25</sup>. O papel de uma resposta celular efetiva em reduzir a multiplicação dos *microsporidia* já foi estabelecido experimentalmente. Análises epidemiológicas sugerem que pacientes com imunodeficiência celular grave apresentam um risco maior de desenvolver doença por microsporidia, principalmente quando associada à redução de células do tipo CD4<sup>1</sup>.

Enquanto o *Encephalitozoon* se prestaria a estudos comparativos de infecção entre animais e humanos, não fossem dificuldades básicas como espécies do parasita e qualidade de resposta imune do hospedeiro diferentes, a ausência de modelo animal para o estudo do *E. bieneusi* faz com que a compreensão da sua patogênese dependa exclusivamente de estudos clínicos descritivos e análises epidemiológicas da infecção. O progresso no entendimento do papel do *microsporidium* na infecção humana esbarra sobretudo no problema diagnóstico, na dependência da existência de um método simples, não invasivo, sensível, específico e quantitativo, a fim de que se possa comparar a prevalência e intensidade da infecção entre grupos sintomáticos e assintomáticos. Estudos iniciais envolvendo pacientes com SIDA mostraram uma correlação entre diarreia crônica sem etiologia definida e microsporidiose<sup>43-45</sup>, enquanto poucos estudos posteriores não encontraram essa associação<sup>27</sup>. A presença de co-infecção intestinal encontrada em até um terço das microsporidioses intestinais, além da existência de portadores assintomáticos de microsporidia, coloca em questão o papel patogênico desse parasita<sup>1</sup>. A prevalência de microsporidiose em pacientes infectados pelo HIV ainda deve ser adequadamente estudada em função de todo espectro clínico e imunológico, naturais da evolução da síndrome.

**Tabela 2 — Gênero e espécie de microsporidia e manifestações clínicas na infecção humana**

Gênero e espécie de microsporidia	Manifestações clínicas
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	intestinal; biliar
<i>Septata intestinalis</i> *	intestinal; biliar; urinária (formas disseminadas)
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	meningoencefálica; hepática; peritonite
<i>Encephalitozoon hellem</i>	ocular; respiratória; urinária (formas disseminadas)
<i>Pleitosphora</i> sp.	miosite
<i>Nosema connori</i>	formas disseminadas
<i>Nosema corneum</i>	oculares
<i>Microsporidium ceylonensis</i>	oculares
<i>Microsporidium africanum</i>	oculares

\* Classificada por alguns autores em *Encephalitozoon intestinalis*<sup>1</sup>.

### MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas da microsporidiose humana variam desde o acometimento ocular, muscular ou intestinal isolados, até o comprometimento sistêmico (tabela 2). No indivíduo infectado pelo HIV, a manifestação mais prevalente é a intestinal, com síndrome diarreica. No entanto, a disseminação dos parasitas dos gêneros *Encephalitozoon* e *Septata* vem sendo cada vez mais identificada<sup>37,41,46</sup>.

#### Microsporidiose não relacionada à SIDA

Foram até hoje relatados três padrões de infecção por microsporidia, de acordo com o estado imune do hospedeiro:

#### MICROSPORIDIOSE SISTÊMICA OU MUSCULAR, NA IMUNODEFICIÊNCIA CELULAR

Esse padrão de infecção foi apresentado por duas crianças, de 9 e 2 anos de idade, em 1959, no Japão, e em 1984, na Suécia, respectivamente, com acometimento do SNC e apresentação clínica predominante de crises convulsivas. Foi identificada a presença de *Encephalitozoon* spp. no LCR e na urina da primeira criança e apenas na urina da segunda criança. Apesar da presença constante do parasita na urina, elas não apresentavam sintomas urinários ou alterações das provas de função renal<sup>16, 47</sup>. Outro caso de possível disseminação do parasita foi relatado, em 1973, em autópsia de um lactente de 4 meses de idade com aplasia tímica que apresentava, além de diarreia crônica, febre, perda de peso e dispnéia. *Nosema connori* foi identificado nos pulmões do lactente, que apresentava

também *Pneumocystis carinii*<sup>24</sup>.

Miosite por *Pleistophora* sp., descrita em 1985 em paciente com imunodeficiência celular grave, embora soronegativo para HIV: jovem de 20 anos de idade com perda muscular progressiva, febre, adenopatia generalizada e perda de peso; não apresentava dor. Quatro anos mais tarde foi confirmada a ausência de reatividade ao HIV, mas o paciente mantinha deficiência de imunidade celular de causa desconhecida. Miopatia difusa foi confirmada por estudos de condução nervosa e eletromiografia<sup>48</sup>.

#### INFECÇÃO DA CÓRNEA EM IMUNOCOMPETENTES

A presença de *Nosema corneum* e *Nosema oculorum* ou microsporidias do tipo *Nosema* (*M. africanum* e *M. ceylonensis*) no estroma da córnea de quatro indivíduos com queixas de redução da acuidade visual, borramento e dor caracteriza as ceratites ou ceratoconjuntivites por microsporidias nesses pacientes. Somente um deles tinha história de trauma prévio e presença de corpo estranho, retirado no momento da biópsia. Não houve resposta à terapia tópica, mas somente à ceratoplastia e ao transplante de córnea realizado em dois pacientes<sup>49,50</sup>.

#### Microsporidiose como infecção oportunista na SIDA

As manifestações clínicas variam de assintomáticas ou moderadas às doenças debilitantes, envolvendo os olhos e o trato intestinal, respiratório e urogenital deste grupo de indivíduos. As infecções intestinais e biliares devido ao *E. bienewisi* são as mais freqüentes, seguidas pelas manifestações sistêmicas por *E. hellem*, *E. cuniculi* e *Septata intestinalis*.

O espectro de doenças causadas pelo *Encephalitozoon* spp. tem-se expandido, incluindo: ceratoconjuntivite, sinusite, bronquiolite, nefrite, uretrite, cistite, hepatite e peritonite<sup>1,15,36,37,41,51-53</sup>. Um único caso de miosite por *Pleistophora* sp. em paciente HIV positivo foi descrito em 1993<sup>53</sup>.

#### MICROSPORIDIOSE DO TRATO BILIAR E INTESTINAL

A infecção por *E. bienewisi* ainda não pode ser definida como causa de diarreia entre os pacientes HIV positivos, embora existam relatos da associação microsporidiose e diarreia crônica, também chamada de persistente (três ou mais evacuações/dia, de consistência alterada, por um período mínimo de um mês<sup>55</sup>), sem sangue, muco ou pus; sem febre; acompanhada de anorexia, perda de peso de cerca de 2kg/mês. Alguns pacientes apresentam diarreia de caráter intermitente e poucos eliminam os esporos na ausência de diarreia<sup>27,56-59</sup>. Po-

dem ocorrer náuseas, vômitos e dor abdominal. A duração média dos sintomas vai de 1 a 31 meses<sup>56</sup>. Os achados de exame físico parecem inespecíficos. O acompanhamento a longo prazo, de até três anos, de alguns pacientes infectados pelo *E. bienewisi* mostra que a infecção pode ter um curso benigno<sup>28,60</sup>, ou ainda ser um co-fator de consumo na caquexia da fase terminal de alguns pacientes<sup>58,61</sup>. Até 1/3 dos pacientes com infecção por microsporidias apresenta co-infecção intestinal<sup>1</sup>.

A disseminação extra-intestinal do *E. bienewisi* clinicamente sintomática é incomum, mas o parasita já foi detectado na árvore biliar de indivíduos com colangite e colecistite acalculosa<sup>62-64</sup>. Como o citomegalovírus e o *Cryptosporidium*, as microsporidias podem ser responsáveis pela colangiopatia associada à SIDA. Na maioria desses casos, a diarreia também está presente e não há sinais clínicos de acometimento hepático<sup>1</sup>. Ultra-sonografia ou tomografia computadorizada de abdome revela dilatação das vias biliares, espessamento de parede da vesícula e até lama biliar. Os níveis séricos de fosfatase alcalina podem estar elevados com transaminases e bilirrubinas normais<sup>64</sup>. Os níveis séricos de albumina não estão constantemente reduzidos, apesar da longa duração da diarreia<sup>56</sup>.

A infecção por *E. bienewisi*, geralmente, acontece quando os níveis de CD4 circulantes caem abaixo de 50 a 100 células/mm<sup>3</sup>. Quando a microsporidiose é identificada, a maioria dos pacientes já apresentou outra infecção oportunista<sup>1</sup>. A infecção por microsporidias parece responsável pela definição da síndrome em cerca de 25% dos casos<sup>56</sup>.

*S. intestinalis* também causa diarreia crônica com perda de peso e disseminação para vias biliares de maneira semelhante ao *E. bienewisi*. No entanto, ainda que leve à disseminação sistêmica para rins e outros locais, sem conexão com o intestino<sup>1</sup>, a queixa primária na infecção por essa espécie de *microsporidium* também é a diarreia<sup>33</sup>.

#### HEPATITE E PERITONITE

Em 1987, Terada descreveu o primeiro caso de hepatite por *E. cuniculi* em um paciente de 35 anos infectado pelo HIV, com sarcoma de Kaposi e contagem de CD4 = 48 células/mm<sup>3</sup>. O indivíduo apresentava, inicialmente, síndrome diarreica intermitente, seguida, quatro meses mais tarde, de hepatite fulminante e diarreia grave, levando ao óbito<sup>52</sup>.

A peritonite por *E. cuniculi* foi descrita em 1989 por Zender em um paciente de 45 anos, com contagem de CD4 igual a 57 células/mm<sup>3</sup>. Internado com pneumocistose, evoluiu com febre persistente e aparecimento de massa palpável no abdome. Desenvolveu quadro de íleo paralítico, com óbito 40

dias após a admissão. A autópsia mostrou uma massa não granulomatosa em peritônio, contendo microsporidia cuja ultra-estrutura foi compatível com a do *E. cuniculi*<sup>53</sup>.

#### MICROSPORIDIOSE RESPIRATÓRIA

A maioria das microsporidioses do trato respiratório faz parte de uma síndrome intestinal ou sistêmica. Sinusites, com ou sem pólipos nasais, são referidas como manifestações predominantes de casos de disseminação por *E. bienewisi*, *Encephalitozoon* spp. ou *S. intestinalis*<sup>65,67</sup> e apresentaram-se como obstrução e descarga nasal mucopurulenta. Esses *microsporidia* foram também identificados no trato respiratório inferior, raramente causando bronquiolite, pneumonia ou insuficiência respiratória aguda. Existe o relato de um caso de pneumonia por *E. bienewisi* em paciente com diarreia crônica que desenvolveu tosse persistente, com expectoração clara, dispnéia e sibilos. Sua radiografia de tórax mostrava um infiltrado intersticial discreto, associado a pequeno derrame pleural. Foram detectados esporos de *E. bienewisi* no lavado bronco-alveolar (LBA), em biópsia transbrônquica do segmento posterior do lobo pulmonar inferior esquerdo, em fragmento de biópsia realizada em íleo e nas fezes<sup>40</sup>. Outros dois casos de pneumonia intersticial, sintomática, por *Encephalitozoon* foram documentados como parte de comprometimento sistêmico<sup>46,51</sup>. A colonização do trato respiratório foi demonstrada pela observação de um paciente assintomático com esporos de *E. hellem* no escarro<sup>37</sup>. Não é conhecida a prevalência de colonização pulmonar por microsporidia, mas não é freqüente a manifestação pulmonar<sup>1</sup>. Ilustração disso é a importância da infecção por *S. intestinalis* na doença respiratória, já detectada em material de autópsia de células brônquicas epiteliais<sup>34,68</sup>.

#### MICROSPORIDIOSE URINÁRIA

Os efeitos da presença de *E. hellem* ou *S. intestinalis* nos sistemas renal e urinário levam a manifestações clínicas pouco conhecidas e se restringem a observações preliminares de que podem ser infecções latentes, com ou sem micro-hematúria assintomática<sup>37</sup>. Cistite, nefrite intersticial com disúria e hematúria maciça também já foram descritas<sup>41</sup>. *Microsporidia* já foram observados na próstata de um paciente com encefalitozoonose sistêmica<sup>69</sup>. Também a microsporidiose urinária parece fazer parte de uma disseminação sistêmica do parasita.

#### MICROSPORIDIOSE SISTÊMICA

A fonte de infecção e o modo de transmissão da

microsporidiose humana não são conhecidos. Em modelos experimentais com o *E. cuniculi*, foi demonstrado que o sítio primário da infecção é o enterócito do intestino delgado, a partir do qual os parasitas atingem células endoteliais e macrófagos e disseminam-se para todos os órgãos, atingindo até mesmo os pulmões, com uma predileção para rins e cérebro<sup>8</sup>. Tais modelos explicariam o comprometimento multissistêmico dos relatos da infecção por *E. hellem*, *E. cuniculi* e *S. intestinalis* nos indivíduos HIV+, com contagem de CD4 inferior a 50 células/mm<sup>3</sup> <sup>34,37,41,46,56,69</sup>.

#### *Encephalitozoon* spp.

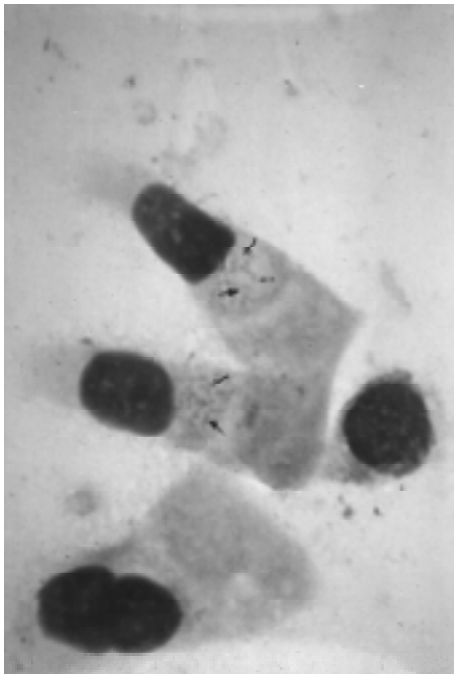
As manifestações clínicas da infecção por *Encephalitozoon* variam de assintomáticas a sistêmicas.

As duas espécies de *Encephalitozoon* — *E. hellem* e *E. cuniculi* — só recentemente foram diferenciadas com base em estudos antigênicos e análises bioquímicas, uma vez que são morfologicamente semelhantes. O modelo característico de infecção sistêmica por *E. hellem* consiste de ceratoconjuntivite e manifestações do trato respiratório e urinário. Acometimento orgânico múltiplo foi achado de autópsia em indivíduo hispânico com SIDA, de 30 anos de idade, em 1992. O paciente apresentou quadro de dor abdominal, disúria e hematúria maciça, evoluindo com insuficiência renal e respiratória progressivas<sup>41</sup>. Esporos de *E. hellem* foram encontrados na córnea, trato urinário, e trato respiratório na autópsia do paciente. Grande quantidade de parasita foi vista no epitélio de quase toda a extensão da árvore respiratória. A espécie foi identificada por meio da reação com anti-soro específico na cultura dos esporos obtidos a partir da urina do paciente, antes do óbito. A confirmação da espécie se deu mediante ensaio de imunofluorescência indireta em corte de tecido parafinado dos rins e pulmões<sup>41</sup>. Se a presença de *microsporidia* disseminados contribui para o agravamento ou progressão fatal da doença não é sabido, já que em culturas de tecido pós-morte cresceram também bactérias patogênicas, como *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*, além de terem sido identificados corpos de inclusão citomegálica e micobacteriose disseminados<sup>41</sup>.

#### CERATOCONJUNTIVITE NA SIDA

A infecção ocular por microsporidia nos indivíduos infectados pelo HIV é limitada ao epitélio superficial da córnea e conjuntiva<sup>36</sup>. *E. hellem* é a espécie mais freqüentemente identificada<sup>36</sup>. A apresentação clínica caracteriza-se por ceratite epitelial bilateral, punctiforme, além de hipermia conjuntival associada à sensação de corpo

**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  
(setas).



estranho, fotofobia e redução da acuidade visual. Pode ter caráter intermitente, com sintomatologia discreta, e raramente leva à ulceração da córnea<sup>1</sup>. Dos sete casos até hoje relatados, todos apresentavam microsporidia também na urina ou trato respiratório, sugerindo quadro de disseminação sistêmica<sup>37,41,51,66,70,71</sup>.

#### *S. intestinalis* (*E. intestinalis*)

Inicialmente confinada ao intestino delgado e trato biliar, pode, também, atingir rins e trato respiratório. Não parece, porém, ter muita representação clínica na infecção sistêmica, exceto por um relato de nefrite intersticial<sup>34</sup>, outro de urgência urinária associada a piúria estéril e elevação da creatinina sérica<sup>72</sup>, além de casos crescentes de sinusite e conjuntivite<sup>33</sup>.

Nos relatos de microsporidiose humana na SIDA, observa-se que a infecção pode ter um comportamento ambíguo em relação às manifestações clínicas, que variam de benignas, com curso arrastado, às apresentações fulminantes, quando não fica claro o papel patogênico do *microsporidium*. A presença de portadores assintomáticos sugere que o parasitismo seja do tipo oportunista, com quadro clínico só completamente caracterizado na presença de imunodepressão celular acentuada.

### DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção por microsporidia depende da demonstração morfológica do parasita

por microscopia óptica (MO) ou eletrônica (ME).

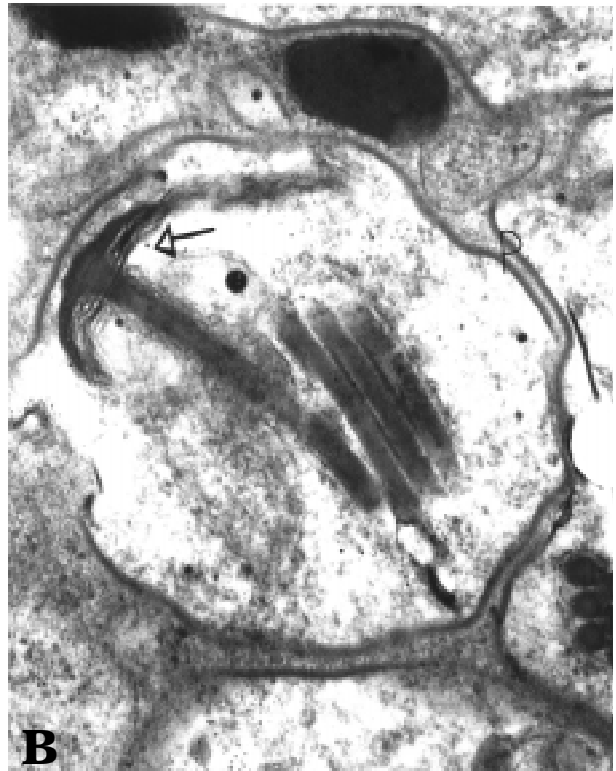
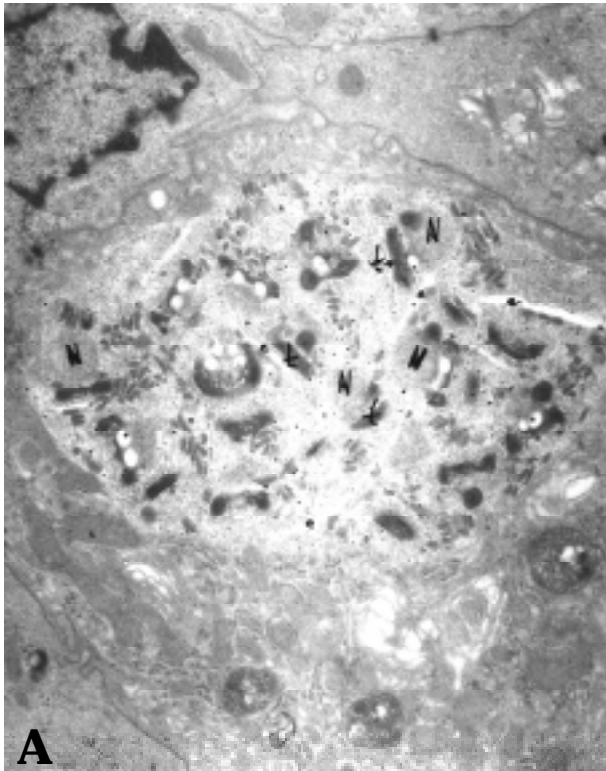
*Exame direto* — A microscopia óptica pode ser suficiente na maioria dos casos<sup>73</sup>. O achado de esporos do parasita em amostras colhidas no local da infecção ou em líquidos corporais: *swab* conjuntival, secreção respiratória e de seios da face, LBA, urina, aspirado duodenal ou fezes, embora sensíveis com a utilização de colorações especiais, dependem de examinador especializado. Os esporos de tamanho muito pequeno (0,2-1,2 x 1,5µm) são identificados no exame direto através de leitura em microscopia óptica, aumento = 1.000x, corados com chromotrope<sup>74</sup>; gram-chromotrope (Moura *et al.* 1996 — em publicação) ou substâncias quimioluminescentes<sup>71</sup>, que permitem a distinção entre os esporos e as bactérias ou leveduras. A coloração pelo Giemsa<sup>77</sup> pode ser utilizada na visualização do organismo em urina, *swab* conjuntival e LBA, graças ao tamanho maior do esporo (2,5-3,0 x 1,3-2,0µm) das espécies que acometem os respectivos órgãos, diferente dos encontrados nas fezes, muito menores.

*Biópsias* — Tecidos adquiridos por biópsias são, normalmente, processados em parafina com cortes finos ou semifinos e corados com Giemsa, Hematoxilina-eosina, Warthin-Starry, Brenner ou PAS. No intestino, o parasita é encontrado na região supranuclear da célula epitelial (fig. 1) ou dentro dos macrófagos da lâmina própria.

A identificação da espécie é feita mediante exame de cortes ultrafinos do tecido em microscopia eletrônica, exame bastante oneroso e menos sensível que o método direto, mas que permite a classificação ultra-estrutural do parasita, com identificação das características dos seus estágios de desenvolvimento (fig. 2). A menor sensibilidade da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) deve-se ao fato de que é geralmente feita com fragmento de biópsia selecionado pelo endoscopista, mas que pode não representar, enfim, o sítio infectado. A TEM pode, também, ser utilizada em amostras provenientes de líquidos corporais, assim como fezes e urina, para a diferenciação dos esporos de *E. bienersi* e *S. intestinalis*, mas não dos esporos de *Encephalitozoon* e *S. intestinalis* ultra-estruturalmente muito semelhantes.

*Sorologia*: só pode ser feita com as formas cultiváveis de *Encephalitozoon* ou *Septata*, mas está prejudicada nesses pacientes, devido à imunodeficiência, que torna irregular a produção de anticorpos.

*Imunofluorescência* — Anticorpos policlonais marcados com fluoresceína têm sido usados por alguns pesquisadores para detecção histológica e citológica de microsporidia das espécies humanas e para a visualização de diferentes estágios em



**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 esporonte 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.*

cultura de células. A reatividade cruzada entre os antígenos do *Encephalitozoon* e do *E. bienersi* permite a visualização de anticorpos para a demonstração de esporos de *E. bienersi* nas fezes e em tecidos<sup>76</sup>.

*Biologia molecular* — O diagnóstico molecular só é possível em laboratórios de pesquisa que dispõem de *primers* de alguns *microsporidia* humanos estudados.

#### *Na suspeita de microsporidiose intestinal*

A introdução de métodos de fácil realização, menor custo e maior conforto para o paciente muda a perspectiva de abordagem diagnóstica do indivíduo HIV+ com diarreia crônica. Outrora, a limitação da investigação parasitológica fazia da biópsia intestinal indicação para os casos com rotina repetidamente negativa. A pesquisa de microsporidia nas fezes contribuiu para a ampliação do espectro de agentes etiológicos da diarreia em SIDA. Dados epidemiológicos sugerem que as técnicas disponíveis para o exame direto são mais sensíveis que o exame de fragmentos de biópsias<sup>28,74,77</sup>. No entanto, não se sabe se a excreção de esporos de microsporidia é intermitente; um número maior de amostras analisadas poderia resultar no aumento da sensibilidade do método. Além disso, a quantidade mínima de esporos que pode ser detectada no exame direto ainda não foi determinada. Por isso, o momento e a necessidade de realização de biópsias ou obtenção de aspirados ainda são discutidos. Apesar de sempre referidos no jejuno ou duodeno, esporos do parasita são encontrados também no íleo<sup>60,78</sup> e, raramente, no cólon<sup>27</sup>. A colonoscopia, porém, permanece como um importante método de diagnóstico da diarreia crônica, pois detecta infecções tratáveis e não diagnosticadas pelo exame de fezes, como a citomegalovirose intestinal<sup>79</sup>, podendo ser estendida ao íleo, o que permite o diagnóstico, também, da microsporidiose intestinal, poupando o paciente de futura endoscopia alta<sup>74</sup>.

#### *Na suspeita de microsporidiose ocular*

Na maioria dos casos de conjuntivite por *Encephalitozoon*, um exame direto de *swab* da conjuntiva ocular com coloração pelo chromotrope, Gram ou Giemsa é suficiente para o diagnóstico<sup>36,37</sup>. Microsporidia já foi isolada de amostras de conjuntiva humana também com a utilização de cultura de células<sup>26</sup>. Na confirmação de microsporidiose ocular, deve ser feita pesquisa de *microsporidium* na urina e LBA, já que pode fazer parte de quadro de disseminação do parasita.

## TRATAMENTO

A avaliação de drogas *in vitro* e o estudo do tratamento da microsporidiose em animais são limitados<sup>8,14,50</sup>. A fumagilina reduz a infecção por *microsporidium* da abelha<sup>80</sup> e inibe a replicação do *Encephalitozoon* spp. em cultura de células *in vitro*<sup>18</sup> e na infecção experimental de coelhos<sup>81</sup>, apesar de nunca erradicar o parasita. A fumagilina tem sido estudada como droga humana antiprotozoário, mas ainda não foi licenciada para uso humano<sup>1</sup>.

A experiência clínica no tratamento da microsporidiose humana é reduzida e faltam ensaios duplo-cegos com a utilização de placebos para avaliação de uma droga antiparasitária eficaz. No entanto, existem diversas observações sobre o sucesso terapêutico do albendazol na infecção por *Septata*<sup>1,30,33,56,82</sup>.

Os benzimidazólicos, ou albendazol, ligam-se com a tubulina, inibindo sua polimerização em microtúbulos, interferindo com a aquisição de nutrientes e a divisão celular. A divisão do *microsporidium* acontece na fase de merogonia e esporogonia, e parece que o albendazol levaria à degeneração desses estágios proliferativos. Esporoblastos e alguns esporos maduros são vistos após o tratamento com essa droga, que parece ter efeito mais parasitostático do que parasiticida. A inibição da reprodução do *microsporidium* seria incompleta com as doses geralmente utilizadas, em função da reduzida penetração celular dos medicamentos<sup>29</sup>.

A experiência no tratamento da infecção por *Septata intestinalis* é ainda pequena, com um relato de pouco mais de 30 casos. Um curso de 2 a 4 semanas de albendazol, 400mg/dose, duas vezes ao dia, leva à melhora clínica, em paralelo com o desaparecimento dos esporos de *Septata intestinalis* na urina e nas fezes dos pacientes infectados. Foi documentado, também, o desaparecimento do parasita do tecido intestinal<sup>30</sup>. É desconhecida a necessidade de esquema terapêutico de manutenção.

Ao contrário da *S. intestinalis*, a experiência adquirida com o tratamento da infecção pelo *E. bienersi* mostra que ele tem efeito parcial. Estudos preliminares mostraram uma boa resposta clínica com o uso de metronidazol<sup>61</sup>, mas que não foram confirmados<sup>1</sup>.

Azitromicina<sup>30</sup>, atovaquona<sup>82</sup> e outros antibióticos ou antiprotozoários têm sido usados, sem sucesso<sup>82</sup>. Relatos recentes têm mostrado que o tratamento da microsporidiose por *E. bienersi* com albendazol, 400mg, duas vezes ao dia, por período igual ou superior a quatro semanas, pode levar a significativa melhora clínica em alguns pacientes, ainda



que não leve à eliminação do parasita no tecido intestinal, com continuação da eliminação de esporos nas fezes após o tratamento<sup>29,56,68,82</sup>.

Octreotídeo, droga usada no tratamento paliativo de diarreia crônica associada ao HIV<sup>83</sup>, também se mostrou útil no tratamento de diarreia por microsporidiosa refratária ao tratamento com outras drogas<sup>84</sup>. Excreção esporádica de esporos de *E. bienersi*, com melhora intermitente da diarreia, também foi observada sem nenhuma intervenção terapêutica<sup>1</sup>. No entanto, o desaparecimento espontâneo ou erradicação do parasita por longos períodos de tempo após o tratamento nunca foi demonstrado<sup>1</sup>.

Os raros casos até hoje descritos de infecção disseminada por *Encephalitozoon*<sup>75</sup> responderam bem ao tratamento com albendazol<sup>38,46</sup>.

A aplicação tópica de fumagilina (Fumidil B) na ceratoconjuntivite pelo *E. hellem* está associada à melhora clínica, com redução dos achados clínicos<sup>70</sup>. Porém, há recorrência dos sintomas após a interrupção do tratamento<sup>70</sup>. Já foi observada, também, melhora clínica com o uso de itraconazol<sup>3</sup>, que não foi confirmada em estudo posterior<sup>70</sup>. Estudos controlados devem ser realizados, pois existe a possibilidade de a encefalitozoonose ocular ter curso benigno na ausência de qualquer tratamento<sup>1</sup>.

Parece que a taxa de recaída da infecção está relacionada ao estado imune do indivíduo. É mais comum ocorrer em relação à presença de esporos no sítio infectado do que haver recorrência clínica dos sintomas. A terapia de manutenção<sup>33</sup>, até hoje, não mostrou resultados significantes<sup>33</sup>.

### COMENTÁRIOS FINAIS

No Brasil foram relatados, até hoje, 48 casos de microsporidiose, sendo a grande maioria de microsporidiose intestinal: 19 no Rio de Janeiro, 5 em São Paulo e 16 no Ceará; todos em pacientes infectados pelo HIV<sup>2,4,85</sup>. Os dois únicos casos (São Paulo) em indivíduos com sorologia negativa para HIV eram ambos transplantados de medula óssea<sup>5</sup>. Dois casos de microsporidiose ocular (Rio de Janeiro e São Paulo)<sup>6,86</sup> e três de microsporidiose urinária (Rio de Janeiro) foram também descritos<sup>2</sup>. Um caso de possível disseminação sistêmica foi achado de autópsia com presença do parasita em vias urinárias e sistema nervoso central (comunicação pessoal).

O registro crescente de relatos de microsporidiose se deve ao maior conhecimento acerca do diagnóstico da infecção. À medida em que se for aperfeiçoando e for reconhecida a eficácia do exame direto, poderá ser, finalmente, dispensada a

demonstração do parasita em tecido de biópsia, metodologia invasiva e sofisticada. A partir de então, poderemos montar inquéritos epidemiológicos, com estudos controlados, para maior compreensão do papel patogênico do *microsporidium* junto à enteropatia associada ao HIV e participar dos ensaios terapêuticos, contribuindo para melhor qualidade de vida do paciente com SIDA em fase avançada de imunodepressão.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Claudine Sarfati, que gentilmente nos ofereceu as fotografias aqui utilizadas (Professora da cadeira de Parasitologia da Universidade de Paris VII e Médica do Serviço de Parasitologia e Micologia do *Hôpital Saint-Louis*, 1, Av. Claude Vellefaux 7510, Paris).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Weber R, Bryan RT, Schwartz DA et al. Human microsporidial infections. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 426-61.
- Moura H, Hirschfeld MPM, Brasil P et al. *Microsporidiosis among AIDS patients in Brazil: preliminary results. Workshop on Microsporidiosis and Cryptosporidiosis in Immuno-deficient Patients*, 1993; 40: 251.
- Yee RW, Tio FO, Martinez JA et al. Resolution of microsporidial epithelial keratopathy in a patient with AIDS. *Ophthalmol* 1991; 98: 196-201.
- Hirschfeld MPM, Cury AE, Moura H et al. Identificação de microsporidiosa em 5 pacientes com AIDS no Município de São Paulo. *Anais do XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia (Resumos)*, 1993; 2: 95.
- Hirschfeld MPM, Moura H, Pinto PLS et al. Investigação de microsporidiosa em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. *XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1994; 27(supl.1): 343.
- Hirschfeld MPM, Miyaki C, Takata CS et al. Ceratite associada a *Microsporidium* e adenovírus em paciente com AIDS. *XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1995; 37(supl.1): 245.
- Naegeli KW. Über die neue Krankheit der Seidenraupe und verwandte Organismen. *Bot Z* 1857; 15: 760-1.
- Canning EU, Lom J, Dykova I. *The microsporidia of vertebrates*. New York, Academic Press, 1986.
- Shadduck JA, Pakes SP. Encephalitozoonosis (nosemantis) and toxoplasmosis. *Am J Pathol* 1971; 64: 657-71.
- Canning EU, Hollister WS. Microsporidia of mammals — widespread pathogens or opportunistic curiosities? *Parasitol Today* 1987; 3: 262-73.
- Shadduck JA. Human microsporidiosis and AIDS. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 203-7.
- Balbani M. Sur les microsporidies ou sporospermies des artichues. *CR Acad Sci* 1882; 95: 1.168-71.
- Kudo R. A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. *Ill Biol Monogr* 1924; 9: 1-268.
- Canning EU. Microsporidia. In Kreier JP, Baker JR (eds): *Parasitic protozoa*, 2<sup>nd</sup> ed. New York, Academic Press, 1993; 299-385.
- Bryan RT. Microsporidia. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and practice of infectious diseases*, 4<sup>th</sup> ed.

- New York, Churchill Livingstone, 1995; 1-26.
16. Matsubayashi H, Koike T, Mikata I *et al.* A case of *Encephalitozoon*-like body in man. *Arch Pathol* 1959; 67: 181-7.
  17. Bryan RT. Microsporidiosis as an AIDS-related opportunistic infection. *Clin Infect Dis* 1995; 21(suppl 1): S62-65.
  18. Canning EU, Hollister WS. Human infections with Microsporidia. *Rev Med Microbiol* 1992; 3: 35-42.
  19. Sandfort J, Hannemann A, Gelderblom H *et al.* *Enterocytozoon bieneusi* in an immunocompetent patient who had acute diarrhea and who was not infected with the human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 514-6.
  20. Cali A, Orenstein JM, Kotler DP *et al.* A comparison of two microsporidian parasites in enterocytes of AIDS patients with chronic diarrhea. *J Protozool* 1991; 38: 965-85.
  21. Cali A, Kotler 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.
  22. Canning EU, Hollister WS. *Enterocytozoon bieneusi* (Microspora): prevalence and pathogenicity in AIDS patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; 84: 181-6.
  23. Ledford DK, Overman MD, Gonzalvo A *et al.* Microsporidiosis myositis in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1985; 102: 628-30.
  24. Margileth AM, Strano AJ, Chandra R *et al.* Disseminated nosematosis in an immunologically compromised infant. *Arch Pathol* 1973; 95: 145-50.
  25. Shadduck JA, Greeley E. Microsporidia and human infections. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 158-69.
  26. Shadduck JA, Meccoli RA, Davis R *et al.* First isolation of a microsporidian from a human patient. *J Infect Dis* 1990; 162: 773-6.
  27. 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.
  28. Svenson J, MacLean E, Kokoskin-Nelson J *et al.* Microsporidiosis in AIDS patients. *Can Comm Dis Rep* 1993; 19: 13-5.
  29. Blanshard C, Ellis DS, Tovey DG *et al.* Treatment of intestinal microsporidiosis with albendazole in patients with AIDS. *AIDS* 1992; 6: 311-3.
  30. Dore GJ, Marriott DJ, Hing MC *et al.* Disseminated microsporidiosis due to *Septata intestinalis* in nine patients infected with the human immunodeficiency virus: response to therapy with albendazol. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 70-6.
  31. Kelly P, McPhail G, Ngwenya B. *Septata intestinalis*: a new microsporidian in Africa (letter). *Lancet* 1994; 344: 271-2.
  32. Lecuit M, Oksenhendler E, Sarfati C. Use of albendazol for disseminated microsporidian infection in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 332-3.
  33. Molina JM, Oksenhendler E, Beauvais B *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.
  34. Orenstein JM, Dieterich DT, Kotler DP. Systemic dissemination by a newly recognized intestinal Microsporidia species in AIDS. *AIDS* 1992; 6: 1.143-50.
  35. Orenstein JM, Tenner M, Cali A *et al.* A microsporidian previously undescribed in humans, infecting enterocytes and macrophages, and associated with diarrhea in an acquired immunodeficiency syndrome patient. *Hum Pathol* 1992; 23: 722-8.
  36. Schwartz DA, Visvesvara GS, Diesenhouse MC *et al.* Pathologic features and immunofluorescent antibody demonstration of ocular microsporidiosis (*Encephalitozoon hellem*) in seven patients with acquired immunodeficiency syndrome [see comments]. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 285-92.
  37. Weber R, Kuster H, Visvesvara GS *et al.* Disseminated microsporidiosis due to *Encephalitozoon hellem*: pulmonary colonization, microhematuria, and mild conjunctivitis in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 415-9.
  38. Weber R, Bryan RT. Microsporidial infections in immunodeficient and immunocompetent patients. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 517-21.
  39. Avery SW, A.H.U. The isolation of microsporidia and other pathogens from concentrated ditch water. *J Am Mosq Control Assoc* 1987; 3: 54-8.
  40. Weber R, Kuster H, Keller R *et al.* Pulmonary and intestinal microsporidiosis in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 1.603-5.
  41. 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.
  42. Hunt RD, King KW, Foster HL. Encephalitozoonosis: evidence for vertical transmission. *J Infect Dis* 1972; 126: 212-4.
  43. Orenstein J, Chiang J, Steinberg W *et al.* Intestinal microsporidiosis as a cause of diarrhea in human immunodeficiency virus-infected patients: a report of 20 cases. *Hum Pathol* 1990; 21: 475-81.
  44. Kotler DP, Francisco AF, Clayton F *et al.* Small intestinal injury and parasitic diseases in AIDS. *Ann Intern Med* 1990; 113: 444-9.
  45. Schattenkerk JKME, van Gool T, van Ketel RJ *et al.* Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-1 infected individuals. *Lancet* 1991; 337: 895-8.
  46. De Groote MA, Visvesvara G, Wilson ML. Polymerase chain reaction and culture confirmation of disseminated *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with AIDS: successful therapy with albendazol. *J Infect Dis* 1995; 171: 1.375-8.
  47. Bergquist NR, Stintzing G, Smedman L *et al.* Diagnosis of encephalitozoonosis in man by serological tests. *Br Med J* 1984; 288: 902.
  48. Macher AM, Neafie R, Angritt P *et al.* Microsporidial myositis and the AIDS: a four year follow-up. 1988; *Ann Intern Med* 109: 343 [letter].
  49. Ashton N, Wirasinha PA. Encephalitozoonosis (nosematosis) of the cornea. *Br J Ophthalmol* 1973; 57: 669-74.
  50. Cali A, Meisler DM, Lowder CL. Corneal microsporidiosis: characterization and identification. *J Protozool* 1991; 38: 215S-217S.
  51. Schwartz DA, Visvesvara GS, Leitch GJ *et al.* Pathology of symptomatic microsporidian (*Encephalitozoon hellem*) bronchiolitis in the acquired immunodeficiency syndrome: a new respiratory pathogen diagnosed from lung biopsy, bronchoalveolar lavage, sputum, and tissue culture [see comments]. *Hum Pathol* 1993; 24: 937-43.
  52. Terada S, Reddy R, Jeffers LJ *et al.* Microsporidian hepatitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 107: 61-2.
  53. 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.
  54. Chupp GL, Alroy J, Adelman LS *et al.* Myositis due to pleistophora (microsporidia) in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 15-21.
  55. Kotler DP, Gaetz HP, Lange M *et al.* Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1984; 101: 421-7.
  56. Asmuth DM, Degirolami PC, Federmann M *et al.* Clinical features of microsporidiosis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993; 18: 819-25.
  57. Bouchaud O, Houzé S, Saada M *et al.* Intestinal microsporidiosis in AIDS patients: high percentage of asymptomatic

- carriers. *9<sup>th</sup> International Conference of AIDS*, 1993; 1: 387.
58. 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.
  59. Orenstein JM. Microsporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *J Parasitol* 1991; 77: 843-64.
  60. Weber R, Muller A, Spycher MA *et al.* Intestinal *Enterocytozoon bieneusi* microsporidiosis in an HIV-infected patient: diagnosis by ileo-colonoscopy biopsies and long-term follow up. *Clin Invest* 1992; 70: 1.019-23.
  61. Eeftinck Schattenkerk JKM, Van Gool T, Van Ketel RJ. Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-1-infected individuals. *Lancet* 1991; 337: 895-8.
  62. Beaugerie L, Teilhac MF, Deluol AM *et al.* Cholangiopathy associated with microsporidia infection of the common bile duct mucosa in a patient with HIV infection. *Ann Intern Med* 1992; 117: 401-2.
  63. McWhinney PH, Nathwani D, Green ST *et al.* Microsporidiosis detected in association with AIDS-related sclerosing cholangitis [letter]. *AIDS* 1991; 5: 1.394-5.
  64. Pol S, Romana CA, Richard S *et al.* Microsporidia infection in patients with the human immunodeficiency virus and unexplained cholangitis. *N Engl J Med* 1993; 328: 95-9.
  65. Canning EU, Curry A, Lacey CJ *et al.* Ultrastructure of *Encephalitozoon* sp. infecting the conjunctiva, corneal and nasal epithelia of a patient with AIDS. *Eur J Protistol* 1992; 28: 226-37.
  66. Lacey CJN, Clark A, Frazer P *et al.* Chronic microsporidian infection in the nasal mucosae, sinuses and conjunctivae in HIV disease. *Gen Urinary Med* 1992; 68: 179-81.
  67. Schwartz DA, Cali A, Visvesvara GS *et al.* A nasal microsporidian with unusual features from a patient with AIDS. *9<sup>th</sup> International Conference of AIDS*, 1993; 1: 384.
  68. Wanke CA, Mattia AR. A 36-year-old man with AIDS, increase in chronic diarrhea, and intermittent fever and chills. *N Engl J Med* 1993; 329: 1.946-54.
  69. Schwartz DA, Visvesvara GS, Weber R *et al.* Male genital tract microsporidiosis and AIDS: prostatic abscess due to *Encephalitozoon hellem*. *J Eukaryot Microbiol* 1995; 61S.
  70. Diesenhouse MC, Wilson LA, Corrent GF *et al.* Treatment of microsporidian keratoconjunctivitis with topical fumagillin [see comments]. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 293-8.
  71. CDC. Microsporidian keratoconjunctivitis in patients with AIDS. *MMWR* 1990; 39: 188-9.
  72. Gunarsson G, Hurlbut D, DeGirolami PC *et al.* Multiorgan microsporidiosis: report of five cases and review. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 37-44.
  73. Kotler DP, Giang TT, Garro ML *et al.* Light microscopic diagnosis of microsporidiosis in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 540-4.
  74. 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.
  75. Van Gool T, Snijders F, Reiss P *et al.* Diagnosis of intestinal and disseminated microsporidian infections in patients with HIV by a new rapid fluorescence technique. *J Clin Pathol* 1993; 46: 694-9.
  76. Zierdt CH, Gill VJ, Zierdt WS. Detection of microsporidian spores in clinical samples by indirect fluorescent antibody assay using whole-cell antisera to *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon hellem*. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 3.071-4.
  77. Van Gool T, Hollister WS, Eeftinck Schattenkerk JKM *et al.* Diagnosis of *Enterocytozoon bieneusi* microsporidiosis in AIDS patients by recovery of spores from feces. *Lancet* 1990; 336: 697-8.
  78. Orenstein JM, Tenner M, Kotler DP. Localization of infection by the microsporidian *Enterocytozoon bieneusi* in the gastrointestinal tract of AIDS patients with diarrhea. *AIDS* 1992; 6: 195-7.
  79. Dieterich DT, Rahmin M. Cytomegalovirus colitis in AIDS: presentation in 44 patients and a review of the literature. *J Acquired Immune Defic Syndr* 1991; 4(suppl. 1): S29-S35.
  80. Katznelson H, Jamieson CA. Control of *Nosema* disease of honey bees with fumagillin. *Science* 1952; 115: 70-1.
  81. Shadduck JA. Effect of fumagillin on *in vitro* multiplication of *Encephalitozoon cuniculi*. *J Protozool* 1980; 27: 202.
  82. Dieterich DT, Lew EA, Kotler DP *et al.* Treatment with albendazol for intestinal disease due to *Enterocytozoon bieneusi* in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1994; 169: 178-83.
  83. Cello JP, Grendell JH, Basuk P *et al.* Effect of octreotide on refractory AIDS-associated diarrhea. *Ann Intern Med* 1991; 115: 705-10.
  84. Simon D, Weiss LM, Tanowitz HB *et al.* Light microscopic diagnosis of human microsporidiosis and variable response to octreotide. *Gastroenterology* 1991; 100: 271-3.
  85. Wuhib T, Silva TMJ, Newman RD. Cryptosporidial and microsporidian infections in human immunodeficiency virus-infected patients in northeastern Brazil. *J Infect Dis* 1994; 170: 494-7.
  86. Muccioli C, Belfort Jr. R, Guidugli T *et al.* Ceratoconjunctivite por microsporídeo em AIDS: descrição do primeiro caso brasileiro e revisão da literatura. *Arq Bras Oftalm* 1993; 56: 289-90.