

## INFECÇÃO SISTÊMICA POR *Encephalitozoon cuniculi* EM COELHO

Virgínia Beatriz D'Assunção Castro<sup>1\*</sup>, Lucas dos Reis de Souza<sup>2</sup>, Clarissa Helena Santana<sup>2</sup>, Rafael Otávio Cançado Motta<sup>3</sup>, Paula Cristina Senra Lima<sup>3</sup>, Herlandes Penha Tinoco<sup>3</sup>, Ayisa Rodrigues de Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: [ybdacastro@gmail.com](mailto:ybdacastro@gmail.com)

<sup>2</sup>Pós-graduando em Ciência Animal - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG-Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Médico Veterinário da Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte - Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>4</sup>Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG - Belo Horizonte/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

*Encephalitozoon cuniculi* é um microorganismo intracelular obrigatório, pertencente ao filo Microsporídiá<sup>1,2,3,4</sup>. Anteriormente, era classificado como um eucarioto primitivo, porém estudos recentes o reclassificaram como um fungo<sup>4,5,6,7</sup>. Esse microsporídeo infecta diversos animais, como gatos, coelhos, cães, macacos e seres humanos<sup>4,8</sup>.

A ingestão de comida ou água infectada é considerada uma importante fonte de transmissão<sup>2,3,6</sup>. O agente pode ser fagocitado e eliminado ou reproduzir-se assexuadamente nos fagócitos e enterócitos, formando grande quantidade de esporos, lisando as células e disseminando-se pelo organismo<sup>1,2,4</sup>. Nesse processo, o agente bloqueia ou retarda a morte das células hospedeiras, prejudicando a sinalização do sistema imune e o controle da infecção<sup>3</sup>. Ainda não é bem esclarecido como os esporos se disseminam, mas, ao ganhar a circulação, a maioria alcança o encéfalo e os rins e são eliminados através das fezes e, sobretudo, da urina<sup>3</sup>. Existem algumas pesquisas sugerindo infecção por inalação e via intrauterina<sup>2,4,9</sup>.

Muitos quadros de encefalitozoonose em coelhos são assintomáticos por um longo tempo, mas podem manifestar sinais graves e morte súbita<sup>1,2,4</sup>, como no caso de indivíduos imunocomprometidos por quimioterapia, uso de imunossuppressores e humanos com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDs)<sup>2,3,4</sup>. Os sinais clínicos, quando presentes, estão relacionados, principalmente, com o sistema nervoso central e com os rins<sup>1</sup>.

Lesões macroscópicas são pouco visualizadas e, quando presentes, são caracterizadas por áreas multifocais branco-amareladas ou vermelhas que podem ser elevadas ou retraídas, sugestivas de um processo necrótico, inflamatório e fibroso, sendo mais comumente visualizado nos rins<sup>2,4</sup>. Já na histologia, observa-se, especialmente, meningoencefalite e nefrite intersticial, ambas de caráter granulomatoso e necrotizante, associadas à fibrose nos casos mais crônicos<sup>2,4,5</sup>. Eventualmente podem ser observadas lesões equivalentes no fígado, pulmão e coração<sup>2,10</sup>.

Alguns métodos de diagnóstico complementar podem ser utilizados, como ensaio imunoenzimático (ELISA), reação em cadeia de polimerase (PCR) e imuno-histoquímica (IHQ)<sup>8,4,10</sup>. Todavia, na maioria das vezes, o diagnóstico definitivo é feito histologicamente *post mortem*, com visualização de esporos, especialmente, em encéfalo e rins<sup>4,10,11</sup>.

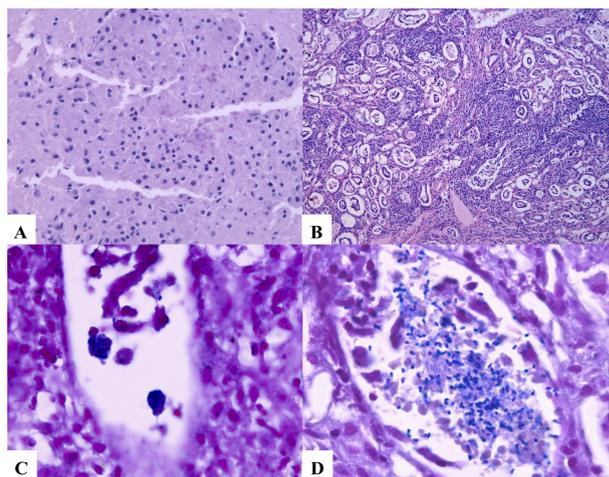
Este trabalho tem como objetivo principal relatar um caso de infecção sistêmica por *Encephalitozoon cuniculi* em um coelho da Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte (FPMZ-BH).

### RELATO DE CASO E DISCUSSÃO

Um coelho (*Oryctolagus cuniculus*) filhote macho do biotério da FPMZ-BH foi encontrado morto sem apresentar sinais clínicos prévios, sendo congelado e posteriormente encaminhado ao Laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Na necropsia, o animal apresentava boa condição corporal; fígado difusa e intensamente hiperêmico; rins com superfície irregular e estriações esbranquiçadas multifocais acentuadas na cortical e medular; pulmões não colapsados, com superfície lisa e brilhante, difusa e moderadamente hiperêmicos e leptomeninges intensamente hiperêmicas e com hemorragia multifocal discreta.

Fragmentos de tecidos foram colhidos durante a necropsia e fixados em formol tamponado a 10%, clivados, embebidos em parafina e corados pela hematoxilina e eosina (HE). Somado a isso, realizou-se a coloração de Gram histológico para melhor visualização dos esporos e pseudocistos. Na avaliação histopatológica, foi observado: meningoencefalite necrotizante multifocal moderada com gliose e esporos de microsporídeo (de 2 a 4µm) e pseudocistos (de 20 a 30µm) repletos de esporos, gram-positivos com morfologia compatível com *E. cuniculi* intralésionais; nefrite intersticial necrotizante heterofílica e linfo-histioplasmocitária multifocal a coalescente acentuada com ectasia multifocal acentuada dos túbulos renais com grande quantidade de esporos no lúmen tubular, vasculite necrotizante histiocitária e heterofílica multifocal acentuada com trombose e esporos intralésionais e intraluminais (Fig. 1). O parênquima esplênico possuía pseudocistos, mas a autólise decorrente do congelamento atrapalhou na avaliação de áreas de necrose ou inflamação. Ademais, havia pneumonia intersticial heterofílica e linfo-histioplasmocitária difusa moderada e hemorragia multifocal acentuada; hepatite necrotizante histiocitária multifocal aleatória discreta e miocardite necrotizante histiocitária focal discreta.



**Figura 1:** A: Encéfalo, área focal de gliose com necrose central e alguns esporos de microsporídeo de 2-4 µm intralésionais, HE, 400x. B: Rim, nefrite intersticial linfo-histioplasmocitária e heterofílica multifocal a coalescente acentuada com ectasia multifocal acentuada dos túbulos renais, HE, 100x. C: Rim, lúmen tubular com inúmeros esporos gram-positivos de 2-4 µm e com morfologia compatível com *E. cuniculi*, Gram, 1000X. D: Rim, lúmen tubular com esporos gram-positivos de 2-4 µm e pseudocistos gram positivos com aproximadamente 15-20 µm e com morfologia compatível com *E. cuniculi*, Gram, 1000X.

Por se tratar de um agente transmitido, sobretudo, por ingestão de alimentos contaminados por esporos liberados via fezes ou urina, é necessária a atenção ao manejo e à limpeza dos alimentos e recintos<sup>3,4,6</sup>. O caso apresentado tratava-se de encefalitozoonose em um filhote, o que traz preocupações quanto à forma de propagação do agente, visto que tem sido defendido a possibilidade de transmissão vertical<sup>2,4,9</sup>. Ainda é um meio em debate, apontado como pouco recorrente e que, normalmente, está relacionado a lesões oculares<sup>2,12,5</sup>, mas demonstra a importância de monitorar a saúde das fêmeas para prevenir que essa via ocorra.

O *E. cuniculi* evade o sistema imune de diversas formas: falta de marcadores na superfície de uma das etapas de reprodução quando dentro da célula hospedeira (impedindo a sinalização de agente estranho), consegue se reproduzir nos fagócitos que tentam combatê-lo, perturba a produção de citocinas inflamatórias e outros<sup>5</sup>. Ademais, alguns estudos



## XIII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

demonstram que humanos e animais imunocomprometidos apresentam quadros mais graves, com mais lesões nos tecidos e sinais mais severos, sendo comum, nesses casos, morte súbita<sup>1,2,3,4</sup>.

Como citado anteriormente, o diagnóstico da encefalitozoonose normalmente é feito pelo exame *post mortem*<sup>4,10,11</sup>. Na coloração de rotina, HE, requisita-se uma análise mais experiente para identificação dos esporos (que podem variar de eosinofílicos a basofílicos) em meio ao tecido saudável e/ou intralésional e sua diferenciação de bactérias, protozoários, artefatos e outras estruturas<sup>4</sup>. Desse modo, os esporos podem não ser bem definidos, porém é possível diagnosticar relacionando a morfologia visualizada, órgãos acometidos, distribuição e características da lesão, histórico e epidemiologia<sup>4,8,10,11</sup>.

Para melhor embasamento do diagnóstico, pode-se usar colorações especiais, como foi feito no caso em debate. A coloração do Gram é normalmente usada para identificação de bactérias e caracterização em Gram positiva e negativa. Essa coloração interage com peptidoglicanos que possivelmente estão presentes nos esporos de *E. cuniculi*, deixando-os gram-positivos em fundo amarelo claro ou róseo. Portanto, é indicada por permitir uma fácil visualização, ainda que sem observação das estruturas internas<sup>1,4,5</sup>. Outras colorações especiais podem ser utilizadas para melhor visualização do agente, por exemplo o Ácido Periódico de Schiff (PAS), que é utilizado para corar substâncias mucinosas e glicogênio, marcando de vermelho uma estrutura dos microsporídios rica em polissacarídeos. Não obstante, não é indicado por alguns autores, pois não é uma marcação homogênea e é de difícil identificação, além de não ser possível visualizar as estruturas internas<sup>1,4</sup>.

Outras colorações citadas na literatura são Ziehl Neelsen (pela afinidade do esporo a corantes com base em fucsina e azul de toluidina)<sup>1,13</sup>, Calcofluor White (rápida detecção e afinidade por quitina, marcando esporos maduros, completamente manchados, e imaturos, semelhante a anéis. Também pode marcar outros fungos, mas é possível diferenciar pela morfologia)<sup>1,4,5</sup> e Tricômico Modificado (permite identificação da morfologia interna)<sup>1,4</sup>. Outrossim, existem divergências entre algumas pesquisas sobre indicações e contra-indicações das colorações, mas elas, em conjuntos com testes moleculares e sorológicos, contribuem para o diagnóstico diferencial<sup>10</sup>, como para *Toxoplasma gondii* (acomete, preferencialmente, cérebro, coração, pulmão, fígado e baço, com infiltrados inflamatório mononuclear, granuloma, degeneração e necrose)<sup>13</sup>, *Sarcocystis* sp. (encontra-se cistos em musculatura) e *Pasteurella multocida* (assim como na encefalitozoonose, pode causar otite, mas está marcadamente relacionada com problemas respiratórios)<sup>14</sup>.

Destarte, o diagnóstico do caso apresentado se baseou na visualização dos esporos e esporocisto com morfologia compatível com *E. cuniculi* sobretudo em rins e cérebro e em menor quantidade em baço, juntamente com as lesões nesses órgãos de recorrência e características da encefalitozoonose: meningoencefalite necrotizante multifocal moderada e nefrite intersticial necrotizante, linfo-histioplasmocitária e heterofílica multifocal a coalescente acentuada. Em adição às inflamações de predominância histiocitária e necrotizantes em outros tecidos. Sendo que a coloração especial realizada contribuiu para o diagnóstico definitivo, além da ocorrência na espécie acometida e dados epidemiológicos.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim como descrito na literatura, a infecção por *E. cuniculi* neste coelho provocou lesões predominantemente em rins e encéfalo. Por ser um filhote, a possibilidade de infecção intra-uterina deve ser considerada, mas necessita-se de mais pesquisas para melhor compreensão desse mecanismo de contágio e do caminho e patogênese desse agente para disseminação no organismo e evasão do sistema imune.

Deve-se investir na realização de necropsias de animais que vieram a óbito, visto que é a forma mais usual de diagnóstico da encefalitozoonose, contribuindo para mudanças de manejo que possam prevenir essa enfermidade. Sendo importante o conhecimento e prática para identificação do agente e das lesões características, para o uso de colorações especiais e para o diagnóstico diferencial.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LACERDA, M. dos S. C. et al. **Encephalitozoonosis in Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)**. Acta Scientiae Veterinariae, v. 49, Out, 2021.
2. RODRÍGUEZ-TOVAR, L. E. et al. **Encephalitozoon cuniculi: Grading the Histological Lesions in Brain, Kidney, and Liver during Primoinfection Outbreak in Rabbits**. Journal of Pathogens, v. 2016, jan, 2016.
3. DALBONI, L. C. et al. **Encephalitozoon cuniculi takes advantage of efferocytosis to evade the immune response**. PloS One, v. 16, mar, 2021.
4. RODRÍGUEZ-TOVAR, L. E. et al. **Histochemical study of Encephalitozoon cuniculi spores in the kidneys of naturally infected New Zealand rabbits**. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 29, n.3, p. 269–277, fev, 2017.
5. MAGALHÃES, T. R.; PINTO, F. F.; QUEIROGA, F. L. **A multidisciplinary review about Encephalitozoon cuniculi in a One Health perspective**. Parasitology Research, v. 121, n. 9, p. 2463–2479, jul. 2022.
6. BOHNE, W.; BÖTTCHER, K.; GROSS, U. **The parasitophorous vacuole of Encephalitozoon cuniculi: Biogenesis and characteristics of the host cell–pathogen interface**. International Journal of Medical Microbiology, v. 301, n. 5, p. 395–399, jun. 2011.
7. DIDIER, E. S.; WEISS, L. M. **Microsporidiosis: current status**. Current Opinion in Infectious Diseases, v. 19, n. 5, p. 485–492, 1 out. 2006.
8. SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.
9. AL-MAHMOOD, S.; AL-SADI, H. I. **Pathological study of intrauterine infection to embryos by Encephalitozoon cuniculi spores in pregnant mice**. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, v. 30, n. 2, p. 49–54, dez. 2016.
10. LEIPIG, M. et al. **Value of histopathology, immunohistochemistry, and real-time polymerase chain reaction in the confirmatory diagnosis of Encephalitozoon cuniculi infection in rabbits**. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 25, n. 1, p. 16–26, 19 nov. 2012.
11. PELLETT, S. **Encephalitozoon cuniculi in rabbits: an overview**. Companion Animal, v. 21, n. 5, p. 300–305, 2 maio 2016.
12. OZKAN, O.; KARAGOZ, A.; KOCAK, N. **First molecular evidence of ocular transmission of Encephalitozoonosis during the intrauterine period in rabbits**. Parasitology International, v. 71, p. 1–4, ago. 2019.
13. ALMERIA, S. et al. **Epidemiological and Public Health Significance of Toxoplasma gondii Infection in Wild Rabbits and Hares: 2010–2020**. Microorganisms, v. 9, n. 3, p. 597, 14 mar. 2021.
14. KÜNZEL, F. et al. **Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits**. Veterinary Parasitology, v. 151, n. 2–4, p. 115–124, fev. 2008.

APOIO:

