

Epidemiologické aspekty výskytu vybraných oportúnnych nákaz u imunodeficientných pacientov

Halánová M., Pohorencová A., Kalinová Z., Čechová L., Čisláková L., Jarčuška Pa.
Ústav verejného zdravotníctva, UPJŠ, Lekárska fakulta, Košice

Abstrakt

Význam oportúnnych patogénov, ktoré sú schopné byť pôvodcami ochorení len v prípade, ak sú poškodené prirodzené obranné mechanizmy a je znížená funkcia imunitného systému, sa zvyšuje v dôsledku stúpajúceho počtu pacientov s HIV infekciou/AIDS, ako aj ďalších osôb s narušeným imunitným systémom, či už v dôsledku primárnej alebo sekundárnej imunodeficiencie. V rámci našej štúdie sme na zistenie výskytu vybraných oportúnnych patogénov – mikrosporídií druhu *Encephalitozoon intestinalis* a *Enterocytozoon bieneusi*, ako aj *Cryptosporidium* spp. vyšetrili spolu 244 osôb. Vzorky stolice boli získané od pacientov s HIV infekciou/AIDS, pravidelne hemodialyzovaných pacientov, zdravých osôb a zdravých rómskych detí. Na diagnostiku mikrosporídií *E. intestinalis* a *E. bieneusi* metódou nepriamej imunofluorescencie sme použili monoklonálne anti-*E. intestinalis* a anti-*E. bieneusi* protilátky. Na detekciu kryptosporídií sme použili priamu ELISA metódu. Zo 17 vyšetrených pacientov s HIV infekciou/AIDS bolo 17.6 % pozitívnych na *E. intestinalis*, 23.5 % na *E. bieneusi* a 23.5 % na *Cryptosporidium* spp.. V skupine hemodialyzovaných pacientov bola detegovaná 36.5 % pozitivita na *E. intestinalis*, 12.2 % pozitivita na *E. bieneusi* a 1.4 % pozitivita na *Cryptosporidium* spp. Pri porovnaní relatívneho rizika výskytu sledovaných patogénov medzi skupinou imunodeficientných pacientov ako celkom a kontrolnou skupinou zdravých osôb sme zistili, že riziko výskytu *E. intestinalis* je skoro 8-násobné v porovnaní s kontrolnou skupinou, v prípade *E. bieneusi* je riziko 2.5x vyššie a pri *Cryptosporidium* spp. skoro 4x vyššie. Odlišná situácia nastala pri porovnaní skupiny imunodeficientných pacientov so skupinou zdravých rómskych detí zo segregovaných osád, kde relatívne riziko výskytu *E. intestinalis* bolo pre obe skupiny rovnaké, v prípade *E. bieneusi* bolo skoro o 50 % nižšie v prospech pacientov a v prípade *Cryptosporidium* spp. dokonca o 87 % nižšie v neprospech rómskych detí.

Kľúčové slová: mikrosporídie, kryptosporídie, imunodeficientní pacienti, rizikové faktory, prevalencia, incidencia, prevencia.

Úvod

V ostatnom období sa v humánnej populácii čoraz častejšie vyskytujú poruchy imunitného systému, ktoré so sebou ako dôsledok prinášajú infekcie vyvolané oportúnymi mikroorganizmami. Termínom oportúnny sa označuje schopnosť mikroorganizmov, často aj s pomerne nízkou virulenciou, vyvolať závažné ochorenie

pri narušení imunity hostiteľa. Oportúnne nákazy môžu vznikáť nielen pri vrodených imunodeficienciách, ale najmä pri zníženej imunite či už v dôsledku ochorenia alebo v dôsledku dlhotrvajúcej liečby imunosupresívnymi preparátmi. Do takejto skupiny oportúnnych nákaz sa svojím charakterom radí aj mikrosporidióza a kryptosporidióza.

Prvý zdokumentovaný prípad infekcie spojenej s mikrosporídiami sa v humánnej populácii datuje až v roku 1959. Do roku 1985 bolo popísaných len 10 takýchto prípadov. Medzníkom sa stal rok 1985, kedy sa prvýkrát detegoval *Enterocytozoon bieneusi* u HIV pozitívneho pacienta. Odvtedy boli infekcie spôsobené rôznymi druhmi mikrosporídií popisované na celom svete. V súčasnosti je známych viac ako 1300 druhov radených do približne 150 rodov, ktoré parazitujú u bezstavovcov ako aj u všetkých tried stavovcov (Wittner, 1999). Väčšina mikrosporídií infikuje článkonožce a ryby, u cicavcov bolo doteraz popísaných 15 druhov. Medzi najčastejších vyvolávateľov mikrosporídiových infekcií u ľudí patria *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Encephalitozoon hellem* a *Encephalitozoon cuniculi*.

Ešte donedávna boli mikrosporídie systematicky radené medzi *Protozoa*. Na základe identifikácie mitochondriálneho HSP70 génu, ako i zistenia, že ich bunková stena obsahuje chitín, boli v roku 1998 reklasifikované do ríše húb – *Fungi* (Cavalier-Smith, 1998).

Mikrosporídie spôsobujú u ľudí ochorenia viacerých orgánových systémov zahŕňujúcich črevné, očné, ochorenia prínosových dutín, svalov a obličiek ako u imunokompetentných, tak aj u imunodeficientných pacientov (Weber, 1994).

Pramene mikrosporídiových nákaz nie sú doposiaľ dostatočne preskúmané. Predpokladá sa, že najčastejšie sú to infikovaní ľudia a zvieratá, resp. ich telové exkréty, ktorými kontaminujú okolité prostredie. Na základe zistení z doteraz diagnostikovaných prípadov ako i z výsledkov experimentálnych prác, sa predpokladá niekoľko prameňov nákazy, faktorov prenosu ako i spôsobov šírenia ochorenia v humánnej i zvieracej populácii.

Kryptosporídie boli ako pôvodcovia ochorení po prvýkrát popísané v roku 1976, kedy Nime a kol. prvýkrát popísal kryptosporidiózu u 3-ročného dievčatka trpiaceho vodnatou hnačkou a vomitom, ktoré sa pravdepodobne nakazilo zo studne zásobujúcej ich komunitu a zároveň dobytok, ale skutočný spôsob nákazy zostal nerozpoznaný (Nime a kol., 1976).

Ojedinelé prípady kryptosporidióz boli spočiatku hlásené najmä u imunokompromitovaných pacientov. Medicínsky záujem z hľadiska epidemiologického, diagnostického a liečebného dramaticky vzrástol až po detekcii kryptosporidiózy, ako život ohrozujúcej infekcie u pacientov s AIDS.

Posledné dve dekády na rozhraní tisícročí zaznamenali explóziu popisov nových druhov rodu *Cryptosporidium*, doteraz je ich popísaných 18. Z tohoto počtu sa

v humánnej populácii v súčasnosti popisuje 8 druhov, ktoré sú schopné infikovať človeka.

U ľudí kryptosporídie spôsobujú ochorenia gastrointestinálneho a respiračného traktu ako u imunokompetentných, tak aj u imunodeficientných pacientov. Patogenéza kryptosporídií varíruje v závislosti na druhu parazita, veku a stave imunitného systému hostiteľa. Sporulujúce oocysty sú vylučované infekčným hostiteľom stolicou a pravdepodobne aj respiračnými sekrétmi. K prenosu dochádza hlavne kontaminovanou vodou a expozíciou infekčnými zvieratami.

Do kategórie rizikových osôb patria pacienti s dysfunkciou imunity, nádorovými ochoreniami, pacienti po transplantáciách kostnej drene a solidných orgánov, deti s malnutríciou a cukrovkou (Hunter a kol., 2002). Za významný epidemiologický faktor sa považuje aj sexuálne chovanie, ochorenie je častokrát popisované v skupine homosexuálov.

Cieľom našej štúdie bolo preto stanoviť prevalenciu mikrosporidiózy a kryptosporidiózy v skupine ľudí s narušeným imunitným systémom a kontrolnej skupine imunokompetentných osôb a na základe získaných výsledkov stanoviť relatívne riziko v jednotlivých skupinách imunodeficientných pacientov v porovnaní s imunokompetentnými osobami.

Materiál a metodika

Študovaná populácia

V rámci našej štúdie sme na detekciu mikrosporídií a kryptosporídií vyšetrili spolu 244 osôb, z toho bolo 136 mužov a 108 žien (Tab. 1).

Vzorok na vyšetrenie boli získané od pacientov s HIV infekciou/AIDS (skupina I.), pravidelne hemodialyzovaných pacientov (skupina II.), zdravých osôb, ktoré sa zúčastnili pravidelnej preventívnej prehliadky a neudávali žiadny z príznakov, ktorý by poukazoval na možné infekcie (kontrolná skupina I.) a zdravých rómskych detí žijúcich v sociálne slabších podmienkach, v ktorých sa dlhodobo zaznamenáva zvýšený výskyt sledovaných oportúnnych patogénov (kontrolná skupina II.).

Tab. 1 Počet vyšetrených osôb v jednotlivých skupinách podľa pohlavia

Skupina	Muži	Ženy	Spolu
HIV/AIDS pacienti	12	5	17
Hemodialyzovaní pacienti	37	37	74
Zdravé osoby	36	34	70
Rómske deti	51	32	83
SPOLU	136	108	244

Prvé dve skupiny reprezentovali imunodeficientných pacientov, ďalšie dve reprezentovali kontrolné skupiny. Celkovo bolo v skupinách imunodeficientných pacientov (I. + II.) vyšetrených spolu 91 osôb, z ktorých bolo 49 mužov a 42 žien.

Laboratórna diagnostika

V rámci vyšetrenia boli od sledovaných osôb odobraté vzorky stolice na priamu aj nepriamu diagnostiku na zistenie prítomnosti mikrosporídií a kryptosporídií.

Každému pacientovi bola vyšetrená stolica za účelom detekcie mikrosporídií *Enterocytozoon bieneusi* a *Encephalitozoon intestinalis* metódou nepriamej imunofluorescencie za použitia špecifických monoklonálnych protilátok anti-*Enterocytozoon bieneusi* a anti-*Encephalitozoon intestinalis*. Vzorky stolice boli použité zároveň aj na detegovanie *Cryptosporidium* spp. priamou ELISA metódou.

Stanovenie Enterocytozoon bieneusi a Encephalitozoon intestinalis

Na diagnostiku sme použili komerčný test (f. Bordier, Switzerland). Jednalo sa o nepriamy imunofluorescenčný test určený na stanovenie *Entecytozoon bieneusi*, resp. *Encephalitozoon intestinalis* za použitia špecifických monoklonálnych protilátok. V prípade pozitívneho výsledku sa spóry *Enterocytozoon bieneusi* javili ako mierne okrúhle fluoreskujúce útvary veľkosti približne 1.3 x 0.7 µm, spóry *Encephalitozoon intestinalis* ako oválne fluoreskujúce útvary veľkosti cca 1.7 x 1.0 – 1.1 µm.

Stanovenie Cryptosporidium spp.

Na detekciu prítomnosti *Cryptosporidium* spp. priamou ELISA metódou sme použili komerčný test CRYPTOSPORIDIUM (FECAL), (f. Diagnostic Automation, INC, Calabasas, USA), pomocou ktorého sa kvalitatívne deteguje kryptosporídiový antigén v stolici vyšetrovanej osoby. Za pozitívne sme považovali vzorky, ktorých absorbancia bola rovná, alebo vyššia ako hodnota 0,15 OD.

Štatistické spracovanie

Na analýzu získaných údajov sme v prvom kroku použili základnú deskriptívnu štatistiku a následne sme prepočítali relatívne riziko výskytu kryptosporídiového antigénu, resp. mikrosporídie *Enterocytozoon bieneusi*, resp. mikrosporídie *Encephalitozoon intestinalis* medzi jednotlivými sledovanými skupinami.

Výsledky

Z celkového počtu 17 vyšetrených vzoriek v skupine pacientov s HIV infekciou/AIDS boli na prítomnosť *E. intestinalis* pozitívne 3 (17.6%), *E. bieneusi* 4 (23.5%) a *Cryptosporidium* spp. 4 (23.5%), (Tab. 2).

Zo 74 vyšetrených vzoriek pravidelne hemodialyzovaných pacientov bolo na *E. intestinalis* pozitívnych 27 (36.5%), *E. bieneusi* 9 (12.2%) a *Cryptosporidium* spp. 1 (1.35%), (Tab. 3).

Zo 70 vyšetrených zdravých osôb boli na prítomnosť *E. intestinalis* pozitívni 3 (4.3%), *E. bieneusi* 4 (5.7%) a *Cryptosporidium* spp. 1 (2.8%), (Tab. 2).

Z 83 vyšetrených rómskych detí bolo na prítomnosť *E. intestinalis* pozitívnych 27 (32.5%), *E. bieneusi* 26 (31.3%) a *Cryptosporidium* spp. 36 (43.4%), (Tab. 2).

Tab. 2 Počet pozitívnych osôb v jednotlivých vyšetrovaných skupinách

	<i>E. intestinalis</i>		<i>E. bienewisi</i>		<i>Cryptosporidium spp.</i>	
	N	%	N	%	N	%
HIV/AIDS pacienti (N=17)	3	17.6	4	23.5	4	23.5
Dialyzovaní pacienti (N=74)	27	36.5	9	12.2	1	1.35
Zdravé osoby (N=70)	3	4.3	4	5.7	1	2.8
Rómske deti (N=83)	27	32.5	26	31.3	36	43.4

Pri porovnaní relatívneho rizika výskytu mikrosporídie *Encephalitozoon intestinalis* medzi skupinou imunodeficientných pacientov ako celkom a kontrolnými skupinami I a II sme zistili, že toto riziko bolo 7.7, čo znamená, že v skupine imunodeficientných pacientov je riziko výskytu skoro 8-násobné v porovnaní so skupinou zdravých osôb. Pri porovnaní skupiny imunodeficientných pacientov so skupinou zdravých rómskych detí však bolo relatívne riziko 1.01, čo znamená rovnaké riziko výskytu v oboch porovnávaných skupinách.

Pri porovnaní relatívneho rizika výskytu mikrosporídie *Enterocytozoon bienewisi* medzi skupinou imunodeficientných pacientov ako celkom a kontrolnými skupinami I a II sme zistili relatívne riziko 2.5, čo znamená, že v skupine imunodeficientných pacientov je riziko výskytu 2.5-násobné v porovnaní so skupinou zdravých osôb. Pri porovnaní skupiny imunodeficientných pacientov so skupinou rómskej detskej populácie však bolo relatívne riziko 0.46, čo znamená o polovicu nižšie riziko výskytu v skupine imunodeficientných pacientov ako celkom v porovnaní so skupinou rómskej detskej populácie.

Vypočítané relatívne riziko výskytu kryptosporídiového antigénu medzi skupinou imunodeficientných pacientov ako celkom a kontrolnou skupinou I. bolo 3.8, čo znamená, že v skupine imunodeficientných pacientov je riziko výskytu skoro 4-násobné v porovnaní so skupinou zdravých osôb. Pri porovnaní skupiny imunodeficientných pacientov so skupinou rómskej detskej populácie však bolo relatívne riziko 0.13, čo znamená o 87% nižšie riziko výskytu v skupine imunodeficientných pacientov.

Diskusia

Pod pojmom imunodeficiencia rozumieme nedostatočnosť v počte alebo funkčnosti niektorej zložky imunitného systému, ktorá sa klinicky prejaví zvýšenou vnímavosťou na infekcie, zvýšením autoimunitných prejavov alebo lymfoproliferatívnym ochorením. Vzhľadom na svoj pôvod sa delia na primárne a sekundárne.

Primárne imunodeficiencie (dedičné, vrodené), ktorých príčinou je chýbajúci alebo defektný gén, prípadne skupina génov, vznikajú v dôsledku poruchy embryonálneho vývoja, enzýmového defektu alebo majú neznámu príčinu.

Naopak sekundárne imunodeficiencie, ktorých výskyt je oveľa častejší ako výskyt primárnych, vznikajú u osôb, u ktorých bol imunitný systém spočiatku plne funkčný, ale v dôsledku pôsobenia rozličných nepriaznivých fyzikálnych, chemických, biologických a psychosociálnych faktorov, prípadne v dôsledku nedostatočnej alebo nesprávnej výživy dôjde k jeho oslabeniu. Ak pôsobenie takéhoto nepriaznivého faktoru pomíne, sekundárne imunodeficiencie sa na rozdiel od primárnych zvyčajne normalizujú.

V celosvetovom meradle sú príčinou sekundárne navodených imunodeficiencií najmä podvýživa a HIV infekcia. Vo vyspelých krajinách vznikajú najmä v dôsledku iatrogénnych zásahov (operácia, rádioterapia, imunosupresívna liečba, stavy po transplantácii orgánov a kostnej drene), ale aj ako následok alkoholizmu, chronického stresu alebo po expozícii chemikáliami. Veľmi často sú spojené tiež s vekom (novorodenci, starší ľudia), porúrazovými stavmi, nádorovými a metabolickými ochoreniami, chronickými ochoreniami, opakovanými infekciami alebo s výskytom neobvyklých alebo oportúnnych infekčných patogénov (Čižnár, 2006).

Spoločným znakom mikrosporidiózy a kryptosporidiózy, ktorých výskyt sme sledovali v našej štúdií je skutočnosť, že obe sú radené do skupiny oportúnnych infekcií, ku ktorým dochádza v dôsledku nezvratného poškodenia imunitného systému, pri ktorom zaniká schopnosť organizmu reagovať aj na mikroorganizmy, ktoré u zdravého človeka ochorenia nevyvolávajú.

Mikrosporídie sú považované za organizmy bežne sa vyskytujúce v prostredí, čo im umožňuje vyvolať infekciu potenciálnych hostiteľov kdekoľvek na svete. Mikrosporidióza je v humánnej populácii rozšírená celosvetovo, tak v rozvojových, ako aj vo vyspelých krajinách všetkých kontinentov s výnimkou Antarktídy (Bryan a kol., 1999). Z jednotlivých druhov mikrosporídií vyskytujúcich sa v humánnej populácii medzi najčastejšie diagnostikované druhy patrí *Enterocytozoon bieneusi* a *Encephalitozoon intestinalis*.

Enterocytozoon bieneusi bol ako nový druh mikrosporídie popísaný v roku 1985 a doposiaľ patrí medzi najčastejšie diagnostikovanú ľudskú mikrosporídiu. Vyskytuje sa tak v skupine imunodeficientných, ako aj imunokompetentných osôb. V skupine HIV pozitívnych pacientov sa jeho prevalencia v závislosti od použitej diagnostickej metódy a od typu vyšetrovanej vzorky pohybuje v rozmedzí od 0.4% do 50%, v priemere je okolo 15% (Bryan a kol., 1999). Aj keď sa väčšina publikovaných údajov týka HIV pozitívnych osôb, infekcia spôsobená *Enterocytozoon bieneusi* bola popísaná aj u HIV negatívnych jedincov, ktorí boli imunokompromitovaní v dôsledku iného ochorenia alebo po podávaní imunosupresívnej terapie po orgánových transplantáciách (Sing a kol., 2001; Rabodonirina a kol., 2003). Výskyt tohto patogéna bol tiež zaznamenaný

v skupine imunokompetentných osôb, kde sa dáva do súvisu s tzv. cestovateľskou hnačkou, najmä v Európe (Müller a kol., 2001).

Encephalitozoon intestinalis bol prvýkrát popísaný v roku 1991 Orensteinom a kol. ako jeden z najbežnejších druhov mikrosporídií infikujúcich ľudí. V súčasnosti je druhou najčastejšie diagnostikovanou ľudskou mikrosporídiou. Výskyt tohto patogéna je celosvetový, hlásené prípady sa týkali tak pacientov s HIV infekciou/AIDS, ako aj imunokompetentných osôb. Prevalencia sa u HIV pozitívnych ľudí pohybuje v rozmedzí od 0.9% po 42.8% v závislosti od použitej diagnostickej metódy a početnosti vyšetrovanej skupiny (Weber a kol., 1999; Rabodonirina a kol., 2003; Kelly a kol., 1994). Pomerne vysoká séroprevencia bola hlásená aj v skupine 300 darcov krvi z Holandska – 8% a tiež v skupine 276 gravidných žien vo Francúzku – 5% (Van Gool a kol., 1997).

Oportúnny charakter má aj kryptosporidióza – endemická zoonóza s celosvetovým rozšírením. Nákaza postihuje osoby všetkých vekových skupín. Symptómy kryptosporidiovej infekcie sú v zdravej populácii potlačené imunitným systémom v priebehu 1 až 2 týždňov. U imunodeficientných pacientov sa však môže infekcia stať chronickou alebo život ohrozujúcou. Prevalencia *Cryptosporidium* spp. v ľudskej populácii kolíše od 2.6% do 21.3% v afrických krajinách, od 3.2% do 31.5% v centrálnej a južnej Amerike, od 1.3-13.1% v Ázii a od 0.1-14.1% v Európe (Ungar, 1990; Fayer, 2004). V skupine detí je však epidemiologická situácia odlišná, prevalencia je vyššia a to najmä u podvýživných detí žijúcich v chudobných rozvojových oblastiach s nízkym hygienickým štandardom (Newman a kol., 1999).

V rámci našej štúdie sme sa zamerali na detekciu mikrosporidiózy a kryptosporidiózy práve v skupine ľudí s rôznym stupňom imunodefície. Vyšetřili sme 244 osôb, ktoré sme rozdelili do 4 skupín, pričom prvé dve reprezentovali imunodeficientných pacientov (pacienti s HIV infekciou/AIDS a pravidelne hemodialyzovaní pacienti) a ďalšie dve reprezentovali kontrolné skupiny.

Aj na základe nami dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že riziko vzniku sledovaných oportúnnych infekcií, konkrétne mikrosporidiózy vyvolanej druhmi *Encephalitozoon intestinalis* a *Enterocytozoon bieneusi* a kryptosporidiózy je vyššie v skupine imunodeficientných pacientov v porovnaní so zdravou populáciou, ale nižšie, prípadne rovnaké v porovnaní so skupinou rómskych detí žijúcich v nevyhovujúcich podmienkach.

Riziko vzniku spomínaných infekcií je u rómskych detí oveľa vyššie jednak v dôsledku samotného charakteru sledovaných ochorení a cestami prenosu (aj mikrosporidióza aj kryptosporidióza sú radené medzi ochorenia prenosné fekálno-orálnou cestou prejavujúce sa hnačkami), ale i charakterom a kvalitou bývania. Špecifickosť bývania rómskych komunít na Slovensku spočíva v tom, že v porovnaní s ostatnými krajinami strednej a východnej Európy žijú v segregovaných osadách s nelegálnymi chatrčami (zväčša postavené z dreva, železného odpadu, plechu a ďalších

materiálov získaných zo skládok odpadu alebo z okolitej prírody), zdevastovaným prostredím a bez prístupu k základným verejným sieťam – k elektrine, tečúcej vode (využívajú najmä studne alebo potoky), kanalizácii a odvozu komunálneho odpadu, čo má v mnohých prípadoch vplyv na ich zlý zdravotný stav.

Naopak, imunodeficientní pacienti sú v našich podmienkach pod stálym lekárske dohľadom a majú neobmedzený prístup k adekvátnej terapii nielen základného ochorenia, ale i pridružených infekcií a komplikácií. V prípade vzniku akejkoľvek oportúnnej infekcie táto býva u nich vo väčšine prípadov zachytená a eliminovaná už v iniciálnom štádiu ochorenia, preto sa s klinicky manifestnou mikrosporidiózou a kryptosporidiózou u nich v súčasnosti stretávame zriedkavo. Aj napriek týmto skutočnostiam, ale na výskyt oportúnnych infekcií v tejto skupine pacientov nesmieme zabúdať a v prípade akýchkoľvek i nešpecifických príznakov sa snažiť o vylúčenie alebo potvrdenie diagnózy s cieľom okamžitej terapie v prípade pozitívneho výsledku.

PodĎakovanie

Práca riešená v rámci grantu VEGA MŠ SR č. 1/0390/12(50 %) a pri riešení projektu CEMIO - ITMS kód: 26220120058 (50 %).

Literatúra

1. Bryan, R.T., Schwartz, D.A.: Epidemiology of microsporidiosis. In: Wittner, M., Weiss, L.M. (Eds.): The Microsporidia and Microsporidiosis. Am. Soc. Microbiol., Washington DC, 1999, 502-516.
2. Cavalier-Smith, T.: A revised six-kingdom system of life. Biol. Rev. Camb. Phil. Soc., 1998, 73, 203-266.
3. Čižnár, P.: Primárne poruchy imunitného systému – ich diagnostika a liečba. Via practica, 2006, 3, 120-124.
4. Fayer, R.: Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. Vet. Parasitol., 2004, 126, 37-56.
5. Hunter, P.R., Nichols, G.: Epidemiology and clinical features of Cryptosporidium infection in immunocompromised patients. Clin. Microbiol. Rev., 2002, 15, 145-154.
6. Kelly, P., McPhail, G., Ngwenya, B., Luo, N., Karew, A.H., Pankhurst, C., Drobniowski, F., Farthing, M.: Septata intestinalis: a new microsporidian in Africa. Lancet, 1994, 344, 271-272.
7. Müller, A., Bialek, R., Kamper, A., Fatkenheuer, G., Salzberger, B., Franzen, C.: Detection of microsporidia in travelers with diarrhea. J. Clin. Microbiol., 2001, 39, 1630-1632.

8. Nime, F.A., Burek, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A., Yardley, J.H.: Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterol.*, 1976, 70, 592-598.
9. Newman, R.D., Sears, C.L., Moore, S.R., Nataro, J.P., Wuhib, T., Agnew, D.A., Guerrant, R.L., Lima, A.A.: Longitudinal study of *Cryptosporidium* infection in children in northeastern Brasil. *J. Infect. Dis.*, 1999, 180, 167-175.
10. Orenstein, J.M., Dieterich, D.T., Kotler, D.P.: Systemic dissemination by a newly recognized intestinal microsporidia species in AIDS. *AIDS*, 1991, 6, 1143-1150.
11. Rabodonirina, M., Cotte, L., Radenne, S., Besada, E., Trepo, C.: Microsporidiosis and transplantation: a retrospective study of 23 cases. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2003, 50, 583.
12. Sing, A., Tybus, K., Heesemann, J., Mathis, A.: Molecular diagnosis of an *Enterocytozoon bieneusi* human genotype C infection in a moderately immunosuppressed human immunodeficiency virus seronegative liver-transplant recipient with severe chronic diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, 39, 2371-2372.
13. Ungar, B.L.P.: *Cryptosporidiosis in humans (Homo sapiens)*. In: Dubey, J.P., Speer, C.A., Fayer, R. (Eds.): *Cryptosporidiosis in Man and Animals*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1990, 59-84.
14. Van Gool, T., Vetter, J.C., Weinmayr, B., Van Damm A., Derouin, F, Dankert, J.: High seroprevalence of *Encephalitozoon* species in immunocompetent subjects. *J. Infect. Dis.*, 1997, 175, 1020-1024.
15. Weber, R., Bryan, R.T., Schwartz, D.A., Owen, R.L.: Human microsporidial infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1994, 7, 426-461.
16. Wittner, M.: Historic perspective on the microsporidia: expanding horizons. In: Wittner, M., Weiss, L.M. (Eds.): *The Microsporidia and Microsporidiosis*, Am. Soc. Microbiol., Washington DC, 1999, 1-6.