



JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství

Studijní obor: Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině

Katedra: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Význam volně žijících a chovaných ptáků v přenosu zoonotických druhů kryptosporidií a  
mikrosporidií

Student: Ondřej Grym

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.

České Budějovice 2012

Grym O. (2012). Význam volně žijících a chovaných ptáků v přenosu zoonotických druhů kryptosporidií a mikrosporidií. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. 86s.

### **Anotace**

Práce se zabývá významem volně žijících a chovaných ptáků v přenosu zoonotických druhů kryptosporidií a mikrosporidií. Na základě podrobné literární rešerše navrhuje další možné směry výzkumu.

**Klíčová slova:** mikrosporidie; kryptosporidie; ptáci; člověk; epidemie; mikrosporidióza; kryptosporidióza

Grym O. (2012). The Role of Free Living Birds and Poultry in the Environmental Dissemination of Human Pathogenic *Cryptosporidium* spp. and Microsporidia. University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture. 86p.

### **Annotation**

The work deals with the role of free living birds and poultry in the environmental dissemination of human pathogenic *Cryptosporidium* spp and microsporidia. Based on a detailed literature review propose other possible areas of research.

**Keywords:** microsporidia; cryptosporidia; birds; man; epidemic; microsporidiosis; cryptosporidiosis

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 13. 4. 2012

.....

Děkuji doc. Ing. Martinu Kváčovi, Ph.D., vedoucímu bakalářské práce, za cenné připomínky, věnovaný čas a odborné rady při tvorbě této práce.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>3</b>
1.1	Kryptosporidióza a mikrosporidióza.....	4
<b>2</b>	<b>Kryptosporidie</b> .....	<b>6</b>
2.1	Obecná charakteristika .....	6
2.2	Historie.....	8
2.3	Taxonomie.....	10
2.4	Životní cyklus.....	12
2.5	Člověku nebezpečné kryptosporidie .....	18
2.6	Zoonotické kryptosporidie v ptačích hostitelích .....	20
2.6.1	<i>Cryptosporidium parvum</i> .....	21
2.6.2	<i>Cryptosporidium meleagridis</i> .....	22
2.6.3	<i>Cryptosporidium baileyi</i> .....	25
2.6.4	<i>Cryptosporidium galli</i> .....	28
2.6.5	Méně obvyklé zoonotické druhy kryptosporidií.....	29
<b>3</b>	<b>Mikrosporidie</b> .....	<b>33</b>
3.1	Obecná charakteristika .....	33
3.2	Historie.....	33
3.3	Taxonomie.....	34
3.4	Životní cyklus.....	37
3.5	Člověku nebezpečné mikrosporidie .....	40
3.6	Zoonotické mikrosporidie v ptačích hostitelích.....	41
3.6.1	<i>Enterocytozoon</i> spp. ....	42
3.6.2	<i>Encephalitozoon</i> spp.....	46
<b>4</b>	<b>Návrhy dalšího výzkumu a prevence</b> .....	<b>57</b>
<b>5</b>	<b>Přehled použité literatury</b> .....	<b>59</b>

# 1 Úvod

Cílem bakalářské práce je zpracovat podrobnou literární rešerši o zoonotických chorobách, jejímiž původci jsou kryptosporidie a mikrosporidie a zároveň zhodnotit vliv a význam volně žijících a chovaných ptáků v přenosu zoonotických druhů kryptosporidií a mikrosporidií. Na základě takto nastudovaných údajů rovněž navrhnout další možnosti výzkumu a prevence.

Úvodní kapitola pojednává v obecné rovině o kryptosporidióze a mikrosporidióze jako o infekcích vyvolaných parazitickými mikroorganismy.

Druhá kapitola se věnuje fenoménu kryptosporidiózy podrobněji. V jejich jednotlivých částech jsou charakterizováni hlavní původci lidské kryptosporidiózy, jejímiž přenašeči mohou být ptáci.

Třetí kapitola postupuje v podobném stylu, věnuje se však podrobnému popisu parazitů a faktorů, které mohou vyvolat epidemii lidské mikrosporidiózy.

Čtvrtá kapitola bakalářské práce shrnuje všechny získané poznatky a nastiňuje další možnosti výzkumu zoonotických chorob přenášených organismy rodu *Cryptosporidium* a kmene *Microsporidia*.

## 1.1 Kryptosporidióza a mikrosporidióza

Kryptosporidióze a mikrosporidióze je v humánní i veterinární medicíně věnována stále větší pozornost. Obě choroby patří mezi celosvětově rozšířená onemocnění, které se v řadě případů projevují těžkými průjmy. Vykazují i další podobné symptomy, například nechutenství, úbytek na hmotnosti a malátnost (Meinhardt et al. 1996; Slodkowicz-Kowalska et al. 2006). Společné mají také to, že je vyvolávají jednobuněčné organizmy, které mohou napadat stejnou oblast lidského těla, například buňky tenkého střeva. Oba typy parazitů, byť ze zcela odlišných živočišných říší (prvoci, resp. houby), mohou být zároveň příčinou smrtelného onemocnění.

Zoonotický charakter mikrosporidií byl poprvé prokázán ve druhé polovině minulého století (Matsubayashi et al. 1959). Zdokumentovat kryptosporidiózu u člověka se podařilo až o dvě desetiletí později (Meisel et al. 1976; Nime et al. 1976). Z medicínského hlediska však vnímání obou parazitárních chorob zcela změnila až osmdesátá léta minulého století, ve kterých propukla pandemie viru lidské imunitní nedostatečnosti, vyvolávajícího onemocnění AIDS. Kryptosporidióza a mikrosporidióza, která se rozvinula u imunodeficitních jedinců, měla často fatální průběh.

Mikroskopičtí paraziti se u osob s rozvinutým selháním imunitního systému nemusejí vyskytovat pouze v trávicím traktu, ale často se rozšiřují i do dalších míst v těle nemocného (Hunter et Nichols 2002). V současnosti patří kryptosporidióza spolu s mikrosporidiózou mezi celosvětově rozšířená onemocnění. Podle seroepidemiologických studií si proti kryptosporidiím vytváří protilátky až 90 procent celosvětové populace (Dillingham et al. 2002). Podobně také v případě spór mikrosporidií platí, že byly nalezeny ve většině zemí celého světa. Mikrosporidie i kryptosporidie infikují bezpočet živočišných druhů (Jiang et al. 2005; Mathis et al. 2005).

U člověka byly kryptosporidie a mikrosporidie popsány ve všech věkových skupinách. Vlivem špatných výrobních postupů, například v úpravách pitné vody, se mohou paraziti vyskytovat téměř kdekoliv (Van den Akker et al. 2011; Charles et al. 2003; Reynolds et al. 2008).



Dokládají to devadesátá léta minulého století, kdy v Milwaukee ve státě Wisconsin vypukla masivní epidemie kryptosporidiózy, která postihla 403 tisíc osob (MacKenzie et al. 1993). Jedná se o dosud největší zdokumentovaný případ parazitární nákazy, která má jasnou souvislost se závadnou vodou.

Epidemii vyvolanou *Cryptosporidium hominis* (Zhou et al. 2003) pravděpodobně zapříčinila kontaminace pitné vody splašky z lidských sídel. Podle zjištění amerického Centra pro kontrolu chorob a prevenci mohly nákazu zavinit oocysty uniklé z čističky odpadních vod na jezeře Michigan (MacKenzie et al. 1993). Na následky parazitárního onemocnění tehdy zemřelo nejméně 104 osob. Většinou se jednalo o starší a imunodeficientní pacienty (Corso et al. 2003).

Rovněž z Ameriky, tentokrát z Chicaga, pochází dobře zdokumentovaný případ z roku 1994 (Hunter et al. 2003). Lékaři spolu s personálem nemocnice Cook County Hospital, kteří prokazatelně používali pitnou vodu ze zdejších rozvodů, hlásili těžké průjemové onemocnění, které odpovídalo symptomům způsobeným parazitickými mikrosporidii. Pozdější vyšetřování prokázalo kontaminaci vodojemů ptačím trusem a peřím.

Patogeny rozptýlené ve vodním prostředí představují vážné ohrožení, které s postupujícím časem dále vzrůstá. Vodovodní soustava stárne a kvůli nedostatku finančních zdrojů nejsou mnohé rozvody, zásobníky a nádrže pravidelně opravovány, či sledovány hygienickou správou. Z okolí pak do nich pronikají nebezpečné látky a mikroorganismy (Hunter et al. 2003).

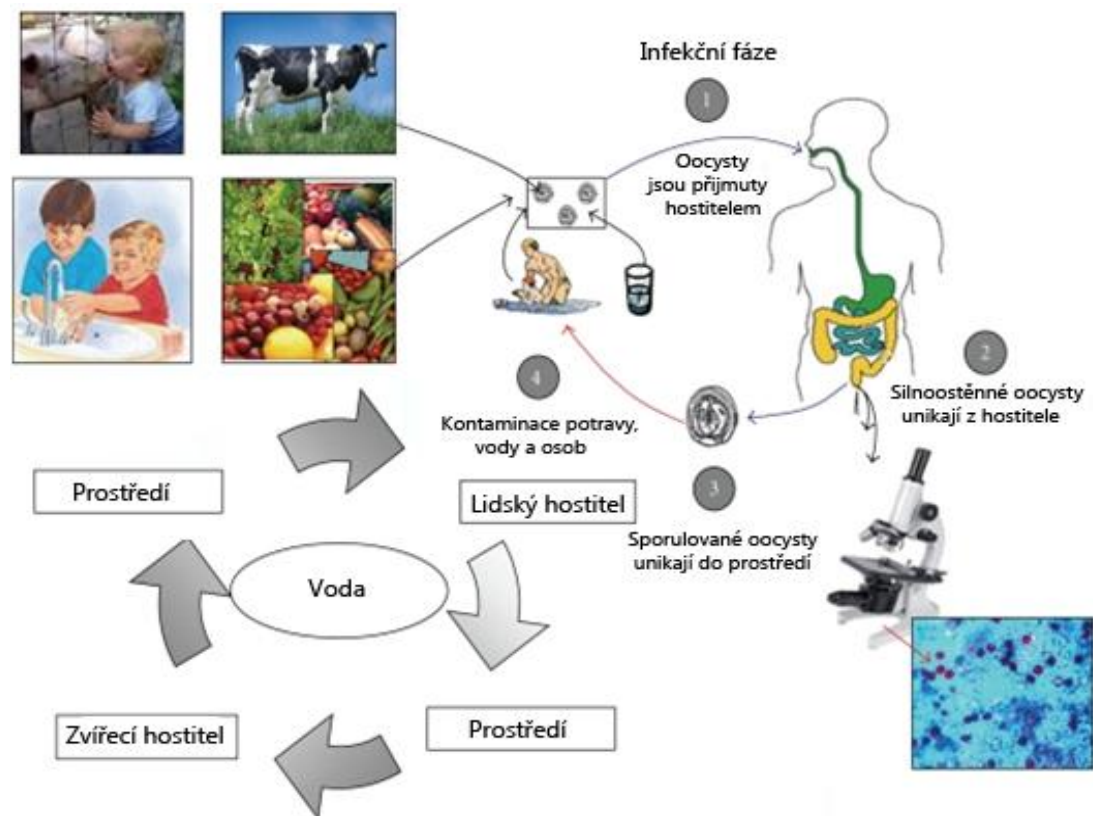
Parazitární onemocnění se tudíž netýkají jen zemí třetího světa - propukají také v oblastech s vysokou životní úrovní. Zaručit všem lidem nezávadnou pitnou vodu a potraviny je proto jednou z velkých výzev 21. století.

## 2 Kryptosporidie

### 2.1 Obecná charakteristika

Rod *Cryptosporidium* tvoří prvoci, kteří napadají epitelové buňky mikroklků v trávicím traktu obratlovců. Výskyt parazita je celosvětový. Škodlivost kryptosporidií závisí na jejich druhu. Zatímco některé jsou vysoce specializované a napadají jen úzký okruh zvířat, například hlodavce, výskyt jiných není různorodostí hostitelů příliš omezen (Xiao et Fayer 2008). Kryptosporidie se vyznačují komplexními nálezovými vzorci, jak znázorňuje obrázek č. 1.

Obrázek č. 1: Přenos kryptosporidií



(1) Infekční fáze zahájená spolknutím oocyst hostitelem, případně inhalací. Sporozoiti napadají epitelální buňky zažívacího traktu, případně dalších tkání a orgánů, dokončují cyklus produkce oocyst, které opouštějí hostitele, tzv. diagnostická fáze (2). Oocysty jsou vyloučeny do prostředí (3). Kryptosporidie se přenáší kontaminovanou vodou, potravinami, nebo osobním kontaktem (4). Vyloučena není ani zoonotická nákaza z důvodu expozice infikovaným zvířatům, nebo parazity zamořenému prostředí (4).

Zdroj: Putignani et Menichella 2010; vlastní úprava

V současnosti je popsáno 24 druhů kryptosporidií. Jejich přehled je uveden v tabulce č. 1. Je však pravděpodobné, že jejich počet časem vzroste (Šlapeta 2008). Na základě genotypů moderní biologie rozeznává nejméně třikrát tolik kryptosporidií. I tak se většina studií zaměřuje velmi úzce na jeden jediný druh, a to na *C. parvum* (Kulkarni et al. 2009).

**Tabulka č. 1: Seznam platných jmen druhů rodu *Cryptosporidium***

<b>Druh</b>	<b>Hostitel</b>	<b>Velikost oocysty (µm)</b>
<i>C. andersoni</i>	dobytek	7,4 × 5,5
<i>C. baileyi</i>	kuřata	6,2 × 4,4
<i>C. bovis</i>	dobytek	4,9 × 4,6
<i>C. canis</i>	pes	5,0 × 4,7
<i>C. cuniculi</i>	myš	6,0 × 5,4
<i>C. fayeri</i>	klokan rudý	4,5 × 5,1
<i>C. felis</i>	kočka	5,0 × 4,5
<i>C. fragile</i>	ropucha jihoasijská	6,2 × 5,5
<i>C. galli</i>	kuřata	8,3 × 6,3
<i>C. hominis</i>	člověk	5,2 × 4,9
<i>C. macropodum</i>	klokan obrovský	4,9 × 5,4
<i>C. meleagridis</i>	krocan	5,2 × 4,6
<i>C. molnari</i>	pražma královská	4,7 × 4,5
<i>C. muris</i>	myš	7,0 × 5,0
<i>C. parvum</i>	myš	průměr asi 4,5
<i>C. ryanae</i>	tur domácí	3,7 × 3,3
<i>C. scophthalmi</i>	kambala	4,4 × 3,9
<i>C. saurophilum</i>	plazi	5,0 × 4,7
<i>C. serpentis</i>	užovka, hroznýš	2,8 × 3,6
<i>C. suis</i>	domácí prase	4,6 × 4,2
<i>C. ubiquitum</i>	tur domácí	5,0 × 5,0
<i>C. varanii</i>	varan	4,8 × 4,7
<i>C. wrairi</i>	morče	5,4 × 4,6
<i>C. xiaoi</i>	ovce domácí	4,0 × 3,4

Zdroj: Koudela et Modrý 1998; Fayer et al. 2008; Jirků et al. 2008; Power et Ryan 2008; Ryan et al. 2008; Fayer et Santín 2009; Fayer et al. 2010; Robinson et al. 2010

Mnoho dat získaných studiem *C. parvum* je možné vztáhnout i na další druhy kryptosporidií. Takový postup ale nelze mechanicky uplatnit u všech. To je nutné mít na zřeteli při srovnávání chování *C. parvum* s jinými kryptosporidiiemi.

Jednotlivé kryptosporidie se liší místem vývoje/lokalizace v hostiteli. Existují druhy, které primárně napadají žaludeční buňky. Jiné naopak za vhodných podmínek osidlují střevní epitel. Onemocnění způsobovaná tímto parazitem mohou být akutní, nebo dokonce ohrožují hostitele na životě, zatímco jiná odeznívají po mírných příznacích, případně přecházejí do chronického stadia (Putignani et Menichella 2010). Hostitelé s imunokompetentním systémem většinou nákazu kryptosporidiiemi přežijí bez dalších následků. U osob s poruchami imunity však mohou kryptosporidie vyvolat chronické onemocnění s těžkým, dokonce fatálním průběhem (O'Donoghue 1995). Onemocnění doprovázejí kromě průjmů rovněž potíže spojené s podvýživou a s omezeným růstem (Checkley et al. 1997, 1998; Molbak et al. 1997).

## 2.2 Historie

Jako první upozornil na zvláštní organismus podobný hromadinkám Edward Ernest Tyzzer. Parazit se s pomocí speciálních organel přichycoval na epitelové buňky hostitele. Tyzzerova studie z roku 1907 o sexuálních a asexuálních vývojových stadiích tohoto zvláštního organismu, který přežíval v trávicím traktu myší, ale nebyla po mnoho let doceněna. Tyzzer organismus nazval jako *Cryptosporidium muris*. O tři roky později jej popsal ještě detailněji a navrhl označení *Cryptosporidium* jako jméno nového rodu (Tyzzer 1907, 1912).

V roce 1912 popsal Tyzzer nový druh – *Cryptosporidium parvum*. Zjistil, že parazit, který byl identifikován u laboratorních myší, obývá pouze tenké střevo, a že ve srovnání s *C. muris* jsou jeho oocysty mnohem menší. Upozornil také na vývoj *C. parvum* v tenkém střevě králíků. V roce 1929 Tyzzer našel shodnou kryptosporidiální infekci u domácí drůbeže. Z vývojových fází parazita nabyt přesvědčení, že jde o *C. parvum*, který však infikoval počátek tlustého střeva kuřat. Organismus byl později na jeho počest nazván *C. tyzzeri*.

Uplynulo téměř půl století od Tyzzerovy první publikace o kryptosporidiích, ale na toto téma se neobjevila žádná nová relevantní pojednání. Parazit byl ve studiích opomíjen, protože mu nebyla přikládána velká důležitost jak z medicínského, tak z ekonomického a veterinárního hlediska. I když byl v polovině minulého století identifikován *Cryptosporidium meleagridis* jako původce smrtelného onemocnění krůt (Slavin 1955), zájem o kryptosporidie jako takové zůstával velmi nízký.

Na počátku sedmdesátých let byly kryptosporidie označeny za původce průjmových onemocnění skotu (Pancier et al. 1971). Ve druhé polovině sedmdesátých let byly zaznamenány dva případy lidské kryptosporidiózy (Meisel et al. 1976; Nime et al. 1976). Jak tříleté dítě, tak devětatřicetiletý muž s nedostatečnou imunitou, žili na farmě, kde byl chován dobytek. Obě osoby trpěly silným průjmovým onemocněním. Kryptosporidie byly u nich diagnostikovány díky biopsii. Onemocnění se vyskytlo také ve formě zánětu střev u devítiletého chlapce, který prokazatelně nebyl ve styku se zvířaty (Lasser et al. 1979). Veřejnost zaujal i případ 52leté osoby, která kryptosporidiózou onemocněla po imunosupresi spojenou s transplantací ledvin (Weisburger et al. 1979). V osmdesátých letech byla kryptosporidióza popsána v přibližně 40 publikacích, které se věnovaly onemocněním skotu, ovcí, prasat, koňů, krocanů, králíků, opic a plazů (Fayer et al. 2008). Onemocnění začala být v souvislosti s postupně dokumentovanými infekcemi přikládána vyšší důležitost.

V roce 1982 zveřejnilo americké Centrum pro kontrolu chorob a prevence studii popisující vleklé vážné průjmové onemocnění u 21 mužů trpících AIDS, kteří pocházeli ze šesti velkých měst ve Spojených státech. Od osmdesátých let byly v souvislosti s pandemií AIDS odhaleny další případy kryptosporidiálních infekcí (Blagburn et Current 1983). Nemoc ve všech případech postihla osoby trpící AIDS. O jedenáct let později, po epidemii kryptosporidiózy v Milwaukee ve státě Wisconsin, vyjádřila veřejnost, zdravotní ústavy, dodavatelé pitné vody, zemědělci a další uskupení hluboké znepokojení nad tehdejším stavem znalostí a přispěla tak k zahájení studia obecné biologie kryptosporidií s důrazem na vyvinutí metod a postupů, které pomohou odhalit oocysty v pitné vodě a potravinách, a které zároveň nabídnou možnost prevence a léčby.

## 2.3 Taxonomie

Kryptosporidie jsou intracelulární jednobuněční parazitičtí prvoci, jejichž taxonomické zařazení podrobněji mapuje tabulka č. 2. Tyto eukaryotické organismy s DNA uloženou v jádře obklopeném dvojitou membránou napadají více než 150 druhů savců včetně člověka (Morgan et al. 1999b). Rod *Cryptosporidium* patří spolu s více než 300 dalších rodů do kmene Apicomplexa, který zahrnuje přibližně 4800 pojmenovaných druhů. Jejich počet dosud není považován za konečný (Fayer 2007).

Tabulka č. 2: Taxonomické zařazení rodu *Cryptosporidium*

Klasifikace	Jméno	Biologický popis
Doména	Eukaryota	Buňky obsahují jádro s DNA obklopenou dvojitou membránou, téměř všechny mají mitochondrie.
Říše	Prvoci	Převážně jednobuněčné s mitochondriemi, Golgiho aparátem a peroxizomy.
Kmen	Apicomplexa	Jednobuněční endosymbionti, nebo predátoři se souborem organel k přichycení a pronikání do hostitele.
Třída	Kokcidie	Oocysty typicky obsahují infekční sporozoity vyvinuté díky sporogonii. Reprodukce probíhá jak asexuální, tak sexuální formou.
Řád	Eucoccidiorida	Merogonie, infikují obratlovce a bezobratlé
Rodina	Cryptosporidiidae	Oocysty s obsahem čtyř sporozoitů, které se po pozření uvolňují přes stěnu oocysty, dvě až tři generace merontů, první generace je pravděpodobně schopna recyklovat v těle hostitele, poslední z nich tvoří mikrogametocyty a makrogametocyty. Po oplodnění vzniká ze zygoty oocysta. Sporogonie je endogenní.
Rod	<i>Cryptosporidium</i>	Organismem je spóra se čtyřmi sporozoity.
Druh	<i>C. parvum</i>	Osídluje zažívací trakt myší, ze schizontu po jaderném dělení vzniká 8 merozoitů, časně mikrogametocyty dávají vzniknout 16 mikrogametám 1,5 - 2 mikrometrů dlouhým. Po oplodnění se z makrogamet vytváří tenká membrána cysty, protoplazma se rozděluje a vytvářejí se 4 sporozoity. Dospělá oocysta měří 5 × 4,5 μm, dospělý sporozoit je dlouhý 12 - 14 μm, vývoj extracelulární, sporozoity v žaludku pravděpodobně autoinfekční.

Zdroj: Fayer et al. 2008

Odhady hovoří o možná až desetinásobném množství dalších druhů, které na své objevení ještě čekají. Molekulární analýzy ukazují na blízkou příbuznost kryptosporidií s hromadinkami (Carreno et al. 1999). Zatím se ale nepodařilo určit, zda patří do stejné větve, nebo jsou vývojově pokročilejším druhem (Leander et al. 2003). Tabulka č. 3 obsahuje přehled kryptosporidií, jejichž názvy byly označeny za neplatné z důvodu záměny s podobnými organismy. U jiných chybí dostatečně podložená morfologická a biochemická charakterizace (Fayer et al. 2008).

**Tabulka č. 3: Vybrané neplatné názvy zástupců rodu *Cryptosporidium***

<b>Druh</b>	<b>Důvod zneplatnění názvu</b>
<i>C. agni</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. ameivae</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. anserinum</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. baikalika</i>	záměna za oocysty grenadinek
<i>C. crotalis</i>	záměna za sporocystu sarkocysty
<i>C. ctenosauris</i>	záměna za sporocystu sarkocysty
<i>C. enteriditis</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. garnhami</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. lampropeltis</i>	záměna za sporocystu sarkocysty
<i>C. nasorum</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. pestis</i>	nerespektování pravidel ICZN
<i>C. rhesi</i>	nezměřená oocysta, neexistence taxonomicky použitelných dat
<i>C. vellithecum</i>	nedostatečná data
<i>C. vulpis</i>	záměna za sporocystu sarkocysty

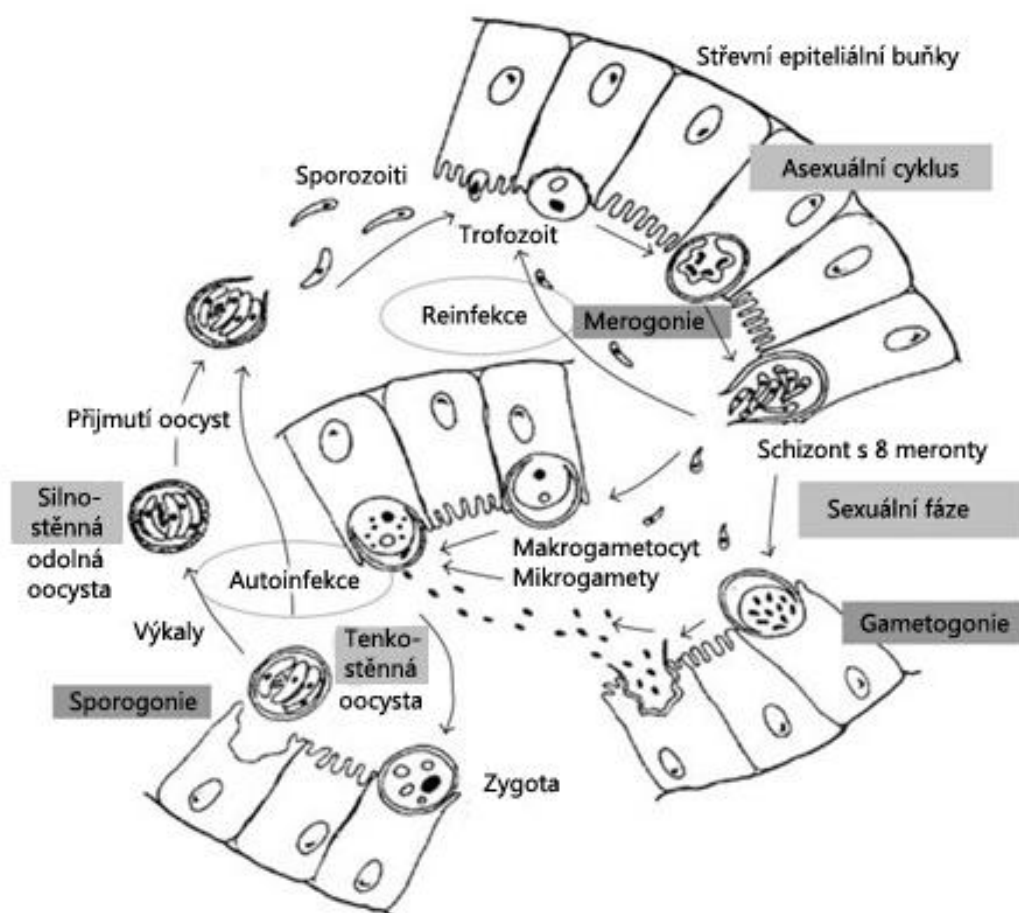
Zdroj: Fayer et al. 2008

Kromě kryptosporidií, jejichž popis vyhovuje měřítkům ICZN (International Code of Zoological Nomenclature), a které mapuje tabulka č. 1, bylo na základě především molekulárních odlišností identifikováno více než 80 dalších genotypů (Xiao et Fayer 2008; Iqbal et al. 2012).

## 2.4 Životní cyklus

Životní cyklus kryptosporidií je velmi složitý a dosud ne zcela objasněný. Jednotlivé známé fáze dokumentuje obrázek č. 2.

Obrázek č. 2: Životní cyklus kryptosporidie v enterocytu



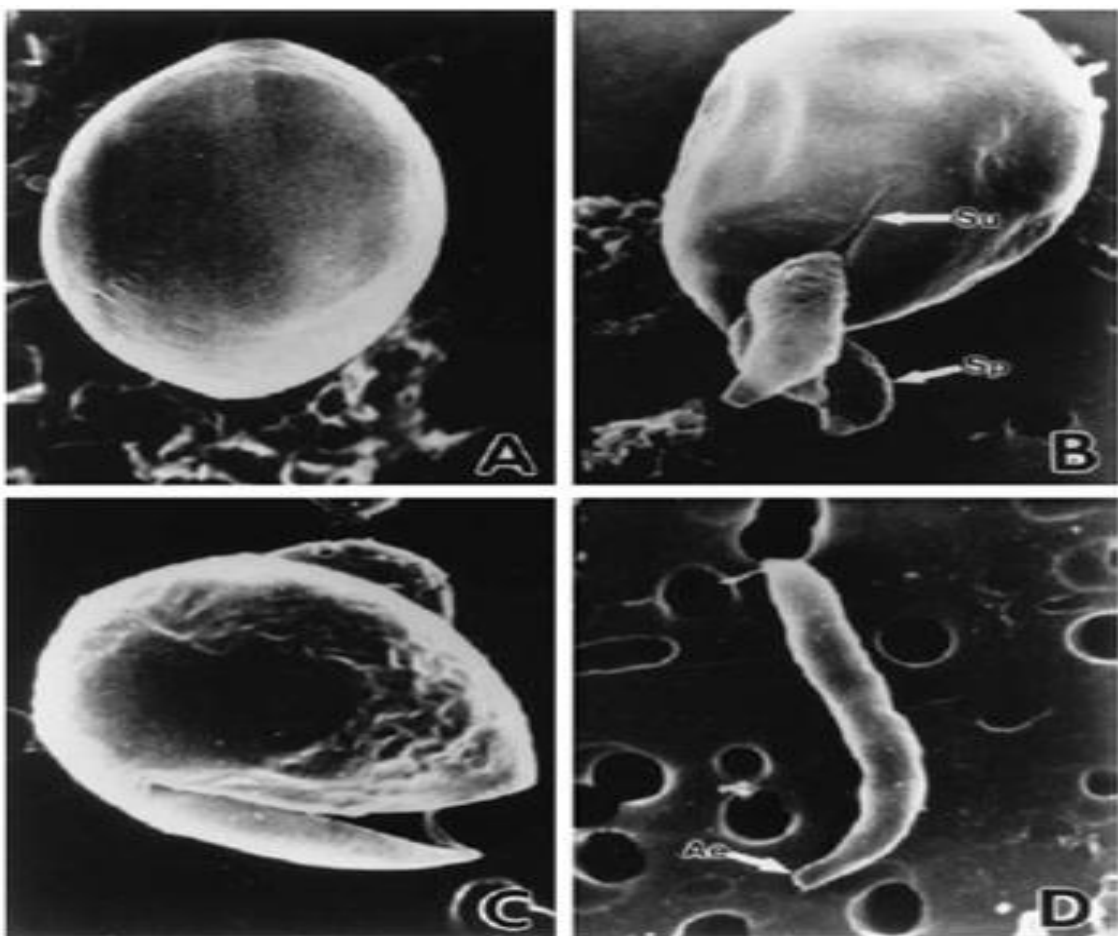
Zdroj: Putignani et Menichella 2010; vlastní úprava

Po přijmutí oocysty hostitelem následuje excystace a uvolnění sporozoitů, které napadají epiteliální buňky zažívacího traktu. V těchto buňkách parazit prochází asexuálním množením (merogonií) a poté sexuálním rozmnožováním (gametogonií). Vznikají mikrogamonti a makrogamonti. Po oplodnění makrogamontů mikrogametami se vyvíjí oocysta, která sporuluje a infikuje hostitele. Vytvářejí se dva navzájem odlišné typy oocyst: silnostěnné, které jsou vylučovány hostitelem a tenkostěnné, které se uplatňují při autoinfekci.



Jediným ověřeným stádiem, kdy se kryptosporidie přirozeně dostává ven z těla hostitele, je sporulovaná oocysta. Životaschopnost oocysty vyloučené v exkrementech zajišťuje pevný třívrstvý obal, který chrání čtyři vnitřní sporozoity před nepříznivými podmínkami vnějšího prostředí. Tito sporozoiti jsou zároveň zdrojem nové infekce. Jakmile vhodný hostitel pozře infekční oocystu, začíná takzvaná endogenní fáze. Ve stěně oocysty se otevírá šev, kterým se do těla uvolňují čtyři infekční sporozoiti, jak dokumentuje obrázek č. 3.

**Obrázek č. 3: Snímek oocysty a excystovaných sporozoitů z elektronového mikroskopu**



(A) Neporušená oocysta před excystací (zvětšení 16 000×)

(B) Trojice sporozoitů opouštějících oocystu (zvětšení 16 000×)

(C) Prázdňá oocysta (zvětšení 16 000×)

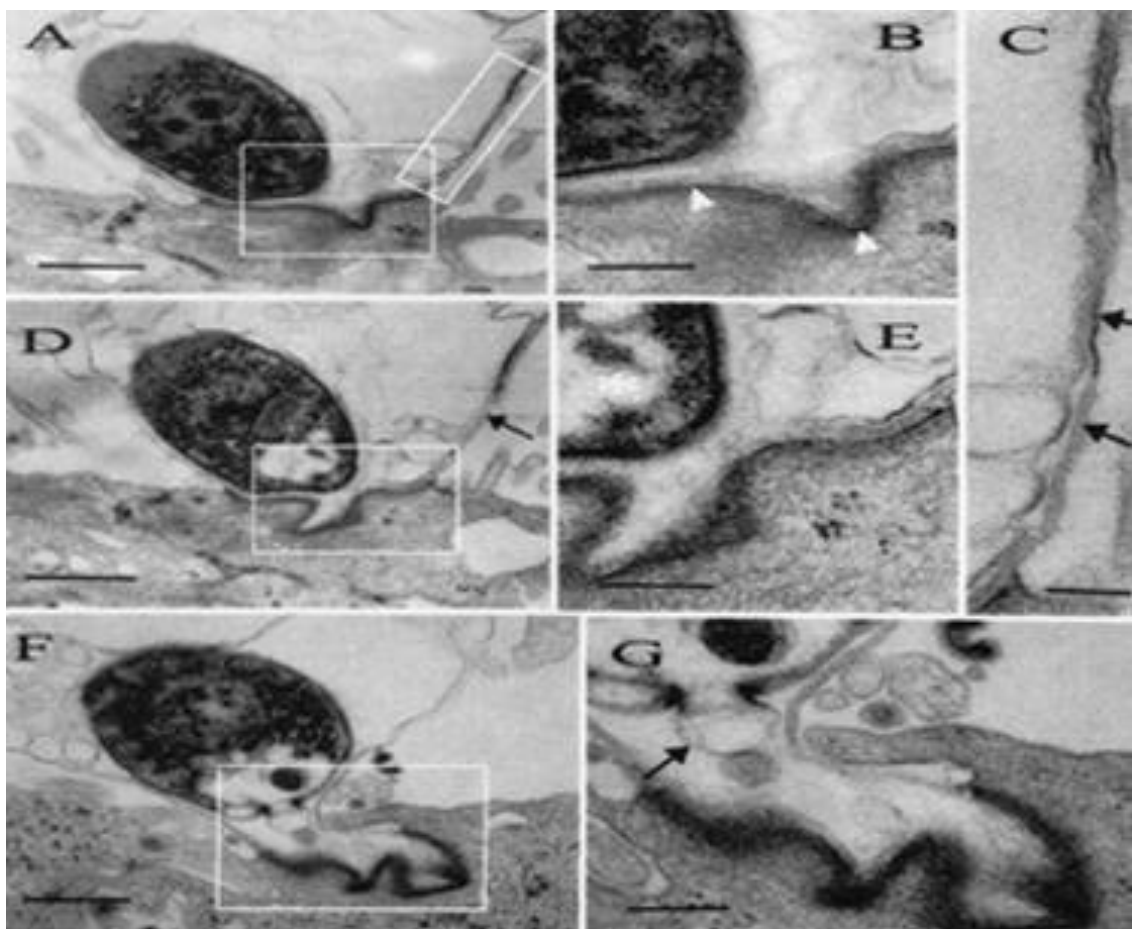
(D) Uvolněný sporozoit (zvětšení 14 000×)

Zdroj: Reduker et al. 1985

Následně je oocysta vystavena účinkům žluči, případně pankreatických enzymů. V experimentálních podmínkách se však prokázala schopnost oocyst uvolnit do okolí sporozoity, i když byly vystaveny teplejšímu vodnému roztoku.

To potvrzuje možnost autoinfekce i na místech jako je oční spojivka, dýchací trakt, žlučník, lymfatické uzliny, varlata, vaječníky, děloha a vagína (Fleta et al. 1995). Sporozoiti jsou pohybliví a aktivně napadají buňky mikroklyků střevních buněk, viz obrázek č. 4. Zůstávají však striktně extracytoplazmatictí.

#### Obrázek č. 4: Transmisní elektronová mikroskopie - úvodní fáze buněčné infekce

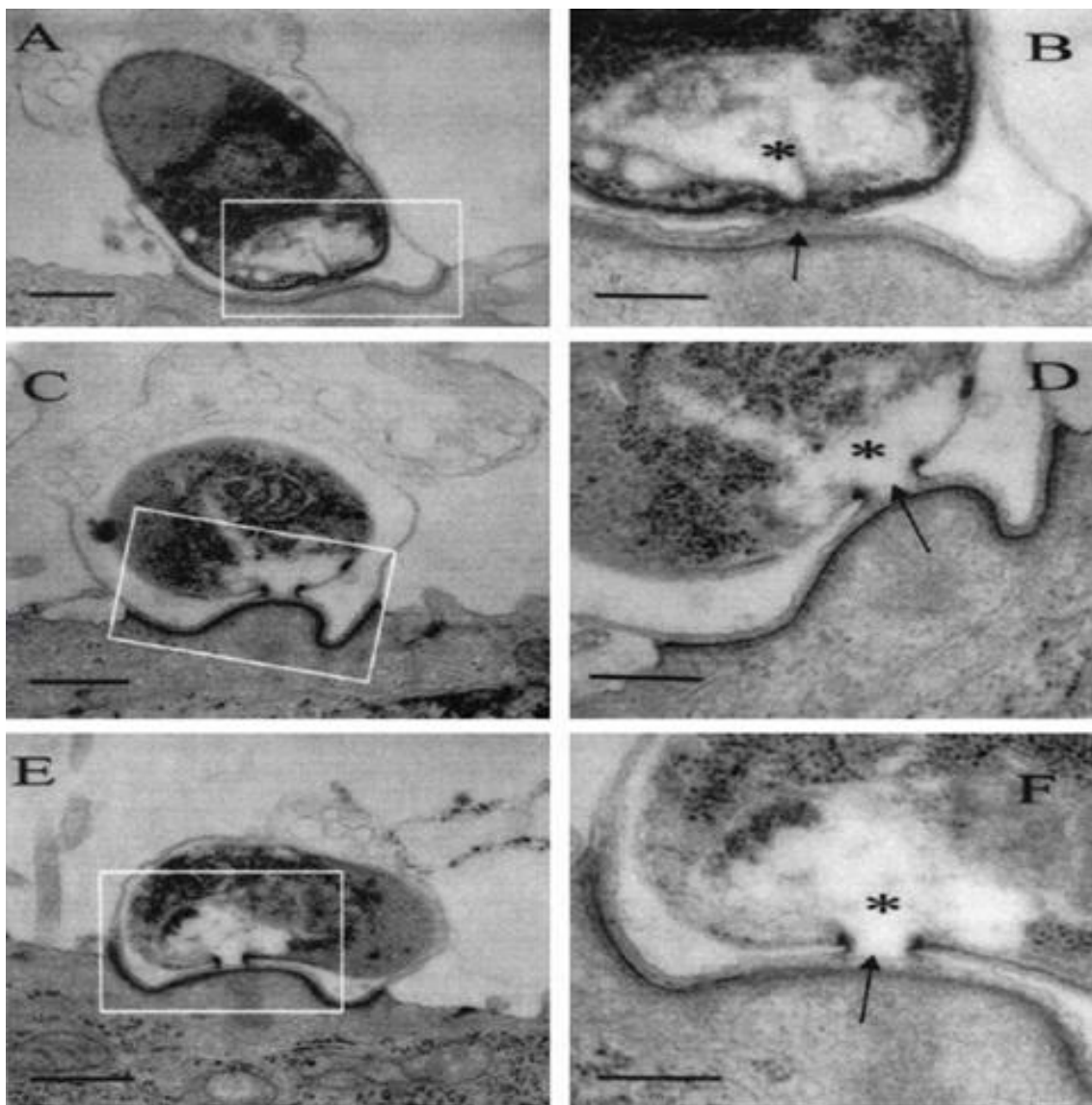


(A) a (D) - snímky sporozoita *C. parvum* přichyceného k lidské epiteliální buňce žlučovodu. (B), (C) a (E) - vysoce zvětšené snímky rámovaných oblastí (A) a (D). Směrové ukazatele v (C) a (D) mapují oblast, ve které se formuje parazitoforní vakuola na rozhraní mezi hostitelskou a parazitickou buňkou. (E) a (F) - komplex k přichycení a pronikání do hostitelské buňky. (G) zvětšený snímek (F).

Zdroj: Huang et al. 2004

Po přichycení se sporozoiti postupně mění v trofozoity. S tím souvisí i změna jejich tvaru z původně banánovitého na sférický. Kolem parazita a infikované hostitelské buňky je v této době už vytvořena parazitoformní vakuola, viz obrázek č. 5. V laboratorních podmínkách byl proces přichycení a vývoje trofozoitu dokončen za 15 minut (Lumb et al. 1988).

**Obrázek č. 5: Transmisní elektronová mikroskopie pronikání parazita do hostitelské buňky**

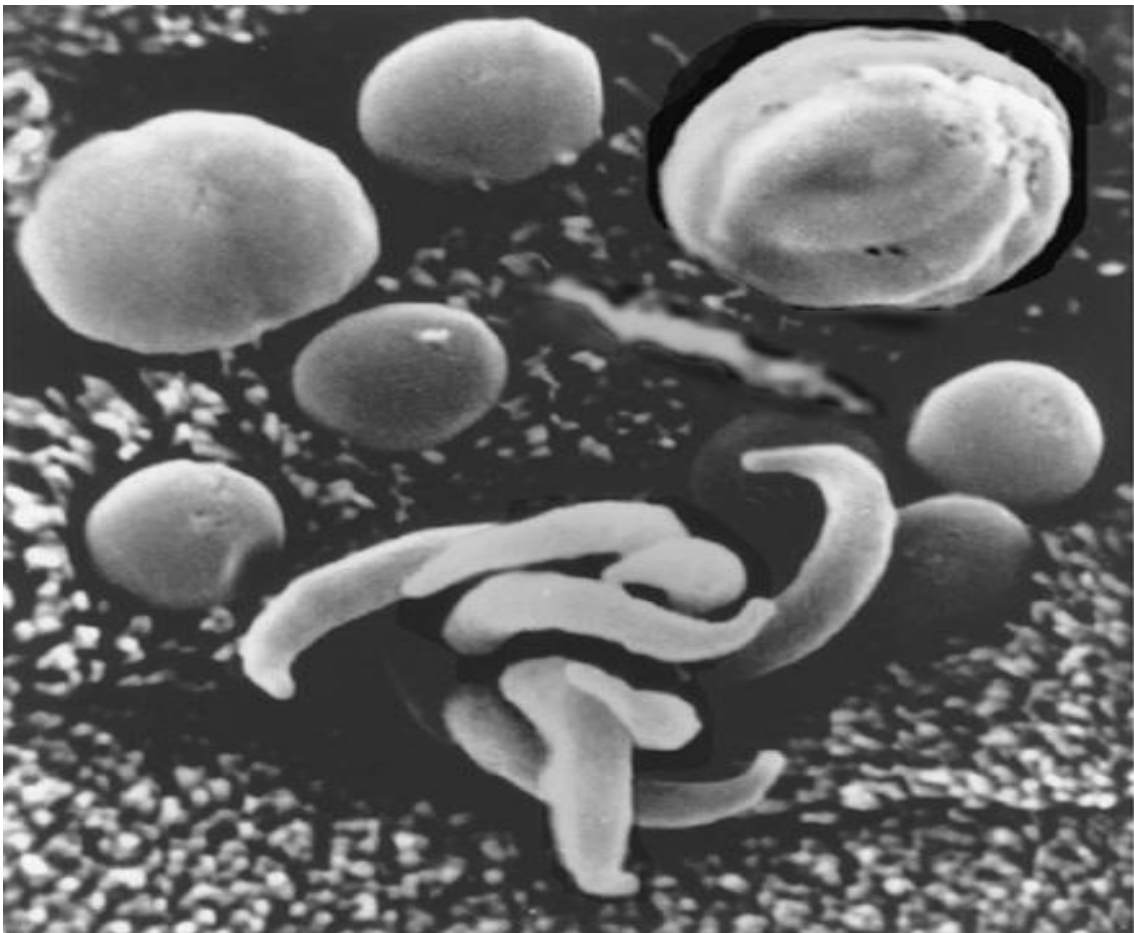


Série snímků (A), (C) a (E) sporozoitu *C. parvum*, který splývá s lidskou epiteliální buňkou žlučodu. Preparasitoforní vakuola proniká do hostitelské buňky. Snímky (B), (D) a (F) jsou zvětšenými rámovanými oblastmi.

Zdroj: Huang et al. 2004

Jádro trofozoita prodělává asexuální proces dělení - merogonii. Zatímco *C. baileyi* má tři typy merontů, *C. parvum* dva. V případě *C. parvum* dávají meronty typu I vzniknout šesti až osmi jádrům, každé z nich dává vzniknout merozoitu, tedy vývojové fázi podobné sporozoitu. Plně vyvinutý merozoit opouští meront a snaží se infikovat další buňku. Proces dokumentuje obrázek č. 6. Během tohoto procesu se z něj vyvíjejí meronty typu I a II.

**Obrázek č. 6: Snímek z elektronového mikroskopu - kryptosporidie infikující ovčí střešní epitelální buňky**



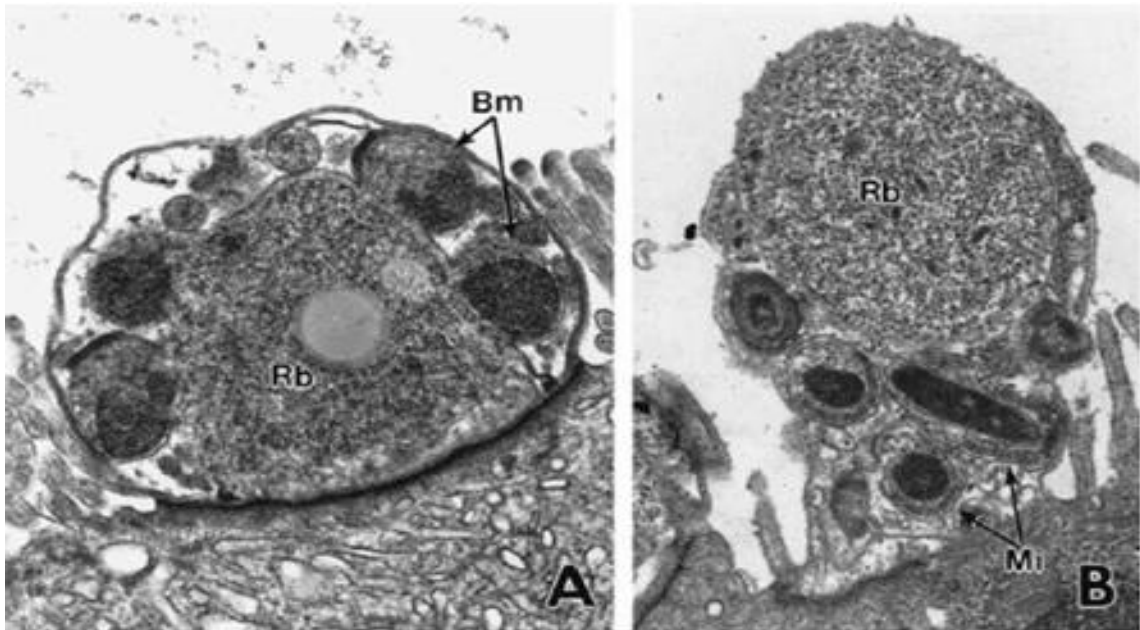
Osm merozoitů opouští hostitelskou buňku. Na snímku vpravo nahoře je možné vidět další merozoity ještě zapouzdřené v hostitelské buňce (zvětšení 15 750×).

Zdroj: Fayer 1997

Pravděpodobně pouze meronti typu II jsou schopni zahájit sexuální reprodukci po napadení hostitelské buňky. Diferencují se buď v samčí mikrogamont, nebo samičí makrogamont.

Každý z mikrogamontů se stává vícejaderným a z jednotlivých jader vznikají mikrogamety, obdoby spermatické buňky, jak je patrné na obrázku č. 7. Makrogamonti zůstávají jednojaderné a jsou obdobou vajíčka.

**Obrázek č. 7: Transmisní elektronová mikroskopie mikrogamontů a mikrogamet**



(A) mikrogamont s mikrogametami pučící (Bm) ze zbytku buňky (Rb) (zvětšení 16 000×). Dospělí mikrogamonti s šesti mikrogametami (Mi) (zvětšení 19 000×).

Zdroj: Fayer 1997

Mechanismus, na jehož základě mikrogamety naleznou makrogamonty, je dosud nejasný. Mikrogamety se však musí přichytit a proniknout membránou hostitelské buňky a také membránou makrogamontů k tomu, aby nastartovaly proces fertilizace. Oplodněné makrogamonty se mění v oocysty s třívrstevným ochranným obalem. Jádro prochází meiotickým dělením, během kterého jsou vytvářeny čtyři sporozoiti se zredukovaným počtem chromozómů.

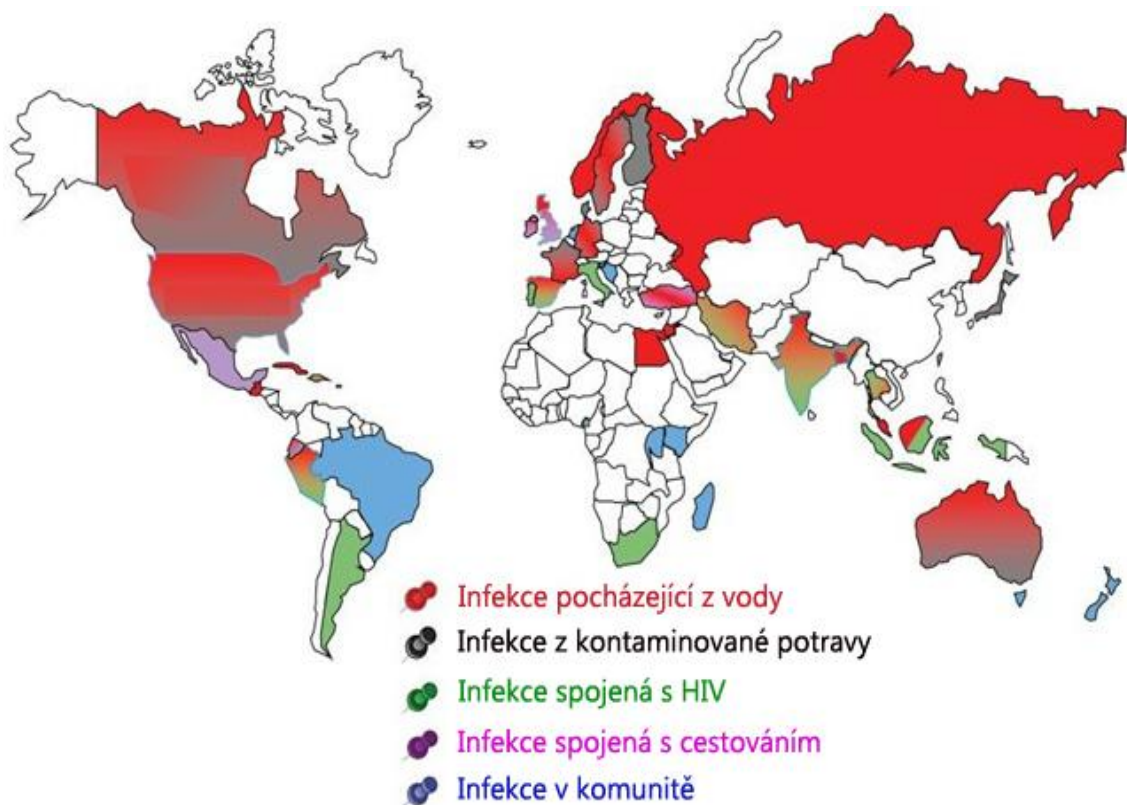
Oocysty jsou z gastrointestinálního traktu vyloučeny v exkrementech. Ty, které jsou v respiračním traktu, opouští tělo hostitele v sekretech dýchacích cest. Během sporulace vznikají dva typy oocyst - tenkostěnné a silnostěnné, kterých je většina, asi 80 procent. První typ je schopen excystovat ještě v těle hostitele, je tak schopen autoinfekce. Silnostěnný naopak odchází s výměškou do vnějšího prostředí.

Kryptosporidie se přenášejí fekálně-orální cestou. Riziko nákazy kryptosporidii narůstá při blízkém osobním kontaktu, během péče o nemocná zvířata, nebo při blízkém kontaktu s nimi. Oocysty mohou být přenášeny také pitnou vodou, byly detekovány i v rekreačních vodních plochách, jejich zdrojem může být i závlahová voda.

## 2.5 Člověku nebezpečné kryptosporidie

Kryptosporidíóza je průjmové onemocnění vyvolané mikroskopickými parazity rodu *Cryptosporidium*, kteří mohou osidlovat převážně gastrointestinální trakt lidí a zvířat (Fayer et al. 2010; Chalmers et Davies 2010). Z obrázku č. 8 je patrné, že se onemocnění vyskytuje prakticky ve všech částech světa (Putignani et Menichella 2010).

**Obrázek č. 8: Výskyt případů lidské kryptosporidíózy v období 1998 – 2008**



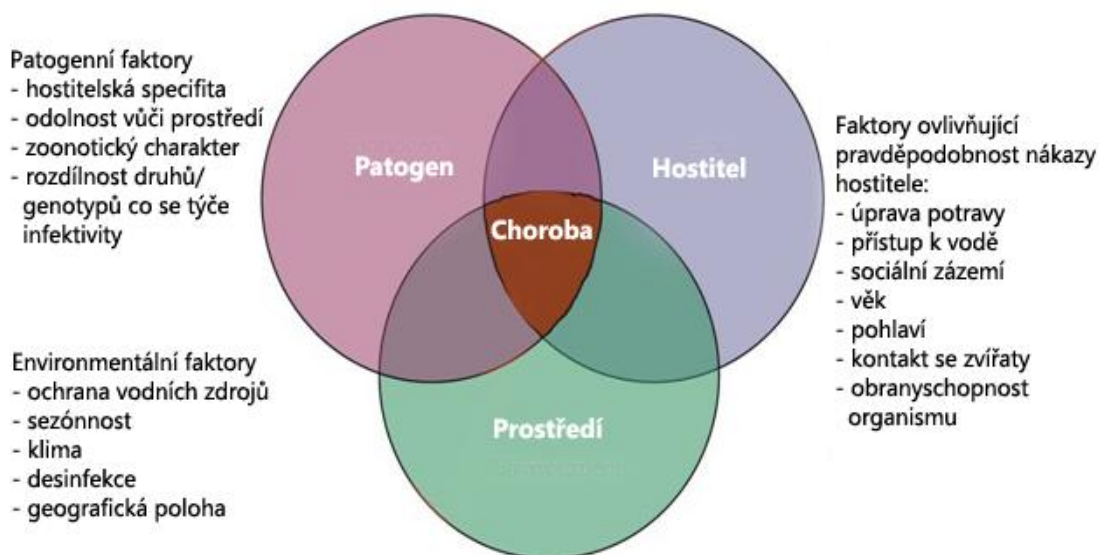
Zdroj: Putignani et Menichella 2010; vlastní úprava

Parazit může přežít mimo tělo hostitele dlouho dobu. Je velmi odolný desinfekčním účinkům na bázi chlóru (Korich et al. 1997; Shields et al. 2008).

Kryptosporidie byly dlouho považovány za hostitelsky specifické. Návazné experimenty ale prokázaly, že jedním druhem kryptosporidie se může infikovat více druhů zvířat (Morgan et al. 2000c; Hart 1999) včetně člověka. Například druhy *C. felis*, *C. andersoni*, *C. canis*, *C. suis* a *Cryptosporidium* deer genotype byly identifikovány v 0,2, 0,1, 0,04, 0,04, a 0,04 procentech případů u přibližně 2500 osob trpících průměrně (Leoni et al. 2006).

Dosud bylo popsáno 19 různých kryptosporidií spolu s dalšími genotypy, kterými se může nakazit člověk (Rose 1997; Smith et Rose 1998; Ryan et al. 2004; Cacciò et al. 2005; Smith et al. 2006; Xiao et Ryan 2008; Kváč et al. 2009a; Feltus et al. 2010). Významný dopad na lidské zdraví mají v současnosti pouze dva z nich: *C. hominis* a *C. parvum* (Morgan et al. 1999a; Cacciò et Pozio 2006). Byly přitom popsány různé cesty a způsoby infekce, které mohou být příčinou onemocnění člověka (Hunter et al. 2004; Cacciò 2005; Hunter et Thompson 2005), viz níže uvedený obrázek.

### Obrázek č. 9: Faktory, které mohou vést k infekci kryptosporidiiemi



Zdroj: Putignani et Menichella 2010; vlastní úprava

Lidskou kryptosporidiózu kromě *C. parvum* a *C. hominis*, které bývají v souvislosti s tímto onemocněním identifikovány nejčastěji, mohou vyvolat i jiné druhy kryptosporidií (Cama et al. 2008). Jejich přehled přináší následující tabulka.

**Tabulka č. 4: Známé druhy a genotypy rodu *Cryptosporidium* infekční pro člověka**

<i>C. andersoni</i>	<i>C. monkey genotype</i>
<i>C. baileyi</i>	<i>C. muris</i>
<i>C. canis</i>	<i>C. parvum</i>
<i>C. cuniculus</i>	<i>C. pig genotype II</i>
<i>C. felis</i>	<i>C. skunk genotype</i>
<i>C. hominis</i>	<i>C. squirrel genotype</i>
<i>C. hominis monkey genotype</i>	<i>C. monkey genotype</i>
<i>C. horse genotype</i>	<i>C. suis</i>
<i>C. chipmunk genotype</i>	<i>C. ubiquitum</i>
<i>C. meleagridis</i>	<i>C. wrairi</i>

Zdroj: Ditrich et al. 1991; Morgan et al. 1998; Morgan et al. 1999b; Xiao et al. 2002a; Buret et al. 2003; Xiao et Ryan 2004; Xiao et al. 2007; Kváč et al. 2009b; Fayer et al. 2010; Robinson et al. 2010; Xiao 2010

## 2.6 Zoonotické kryptosporidie v ptačích hostitelích

Kryptosporidióza patří mezi časté parazitární infekce ptactva. Nemoc byla popsána u více než 30 druhů ptáků (Lindsay et Blagburn 1990; O'Donoghue 1995; Fayer 1997; Sréter et Varga 2000), ve více než 30 zemích celého světa.

U ptáků bylo dosud identifikováno šest druhů kryptosporidií, které jsou infekční pro lidské hostitele. Jmenovitě se jedná o *C. meleagridis* (Snyder et al. 1988; Sréter et Varga 2000), *C. baileyi* (Ditrich et al. 1991), *C. galli* (Ryan et al. 2003a; Fayer 2007), *C. parvum* (Gomes et al. 2012), *C. muris* a *C. andersoni*, které v roce 2006 Ngoová a kolektiv identifikovali v ptačích výkalech. Paraziti byli popsáni jak u divoce žijících zvířat, tak v klecových chovech. Byli zjištěni také u domestikovaných ptáků (O'Donoghue 1995; Sréter et Varga 2000).

Za neinfekční pro člověka jsou zatím považovány *C. avian* genotype I, II, III, IV a V (Abe et Makino 2010), jež byly mimo jiné detekovány u kanárů (*Serinus canaria*) (Antunes et al. 2008), pštrosů (*Struthio camelus*) (Santos et al. 2005; Meireles et al. 2006; Ng et al. 2006.), korel (Nakamura et al. 2009), kruhoočka japonského (*Zosterops*



*japonica*) (Ng et al. 2006l) a korel chocholátých (*Nymphicus hollandicus*) (Qia et al. 2011). Popsány byly rovněž další genotypy druhu *Cryptosporidium*: goose genotype I a II, duck genotype včetně dvou odlišných genotypů v kanadské huse (*Branta canadensis*) (Jellison et al. 2004; Zhou et al. 2004). U sluky lesní (*Scolopax rusticola*) byl identifikován tzv. Eurasian woodcock genotype (Ryan et al. 2003b). Studie indikují, že genetická diverzita mezi různými ptačími izoláty kryptosporidií je mnohem větší než se původně předpokládalo. S přihlédnutím k tomu, že některé z těchto kryptosporidií jsou infekční také člověku, představují ptáci významné zdravotní riziko.

### 2.6.1 *Cryptosporidium parvum*

#### **Infekce u člověka**

*Cryptosporidium parvum* je nejčastěji identifikovaným druhem kryptosporidie mezi savci včetně člověka. Parazit byl poprvé popsán u myši (Tyzzer 1912). Infikuje krajinu tlustého i tenkého střeva (Tzipori et al. 1981). Velikost oocyst nepřesahuje 4,5  $\mu\text{m}$  v průměru. Podle Upton a Currenta činí 5,0  $\times$  4,5  $\mu\text{m}$  (Upton et Current 1985).

*Cryptosporidium parvum* má zoonotický charakter (Xiao et Ryan 2004) a je infekční pro širokou řadu zvířecích hostitelů včetně člověka. Fylogeneticky má velmi blízko k *C. hominis*, který se ale vyskytuje hlavně mezi lidmi (Robertson et Gjerde 2007). Šíře hostitelského spektra je tak hlavním fenotypovým rozdílem mezi těmito dvěma druhy (Cacciò 2005; Xiao et Fayer 2008). Výskyt *C. hominis* a *C. parvum* je dále odlišen geograficky, rozšířením a patogenitou (Hunter et Thompson 2005; Xiao et Feng 2008). Oba druhy mají na svědomí nejvíce případů lidské kryptosporidiózy (Ogunkolade et al. 1993; Awad-el-Kariem et al. 1995, 1998; Alves et al. 2000, 2001; Gasser et al. 2001; Palmer et al. 2003).

#### **Infekce u ptáků**

Parazit byl v roce 2004 spolu s *C. hominis* identifikován u bernešky velké (*Branta canadensis*). Nositelem těchto kryptosporidií bylo více než deset procent vyšetřovaných ptáků (Zhou et al. 2004). Nově na přítomnost *C. parvum* upozornil v

roce 2012 Gomes a kolektiv. Kryptosporidie byla nalezena také u chůvičky japonské (*Lonchura striata domestica*).

### **Další hostitelé**

Parazitická onemocnění vyvolaná *C. parvum* byla dosud objevena hlavně mezi přežvýkavci (dobytek, ovce, kozy, jeleni) a lidmi. Parazit může být příčinou infekce také mezi prasaty a v koloniích myši (Morgan et al. 1999a; Giles et al. 2001; Akiyoshi et al. 2002).

### **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

O hlavním zdroji infekce *C. parvum* se dosud spekuluje. Může jím být konzumace kontaminované vody (Fontán-Sainz et al. 2012). Prevalence kryptosporidiózy a počet oocyst *C. parvum* je v trusu některých druhů volně žijících ptáků velmi vysoká (Smith et al. 1993; Graczyk et al. 1998). Ptáci mohou být z tohoto pohledu nejen pasivními roznašeči onemocnění (Graczyk et al. 1996; Graczyk et Cranfield 1998), ale také se mohou stát aktivními vektory, které kontaminují vodní zdroje kryptosporidii a mohou hrát významnou roli v propuknutí epidemie lidské kryptosporidiózy. Možný přenos kryptosporidií na člověka a zdroje infekce ilustrují obrázky 1 a 9 v kapitole 2.1, resp. 2.5.

## **2.6.2 *Cryptosporidium meleagridis***

### **Infekce u člověka**

*Cryptosporidium meleagridis* způsobuje u člověka poruchy zažívacího traktu (Akiyoshi a kol. 2003; Chappell et al. 2011). Parazit je třetím nejčastějším původcem lidské kryptosporidiózy (Pedraza-Diaz et al. 2000; Xiao et al. 2001a). V Peru byl dokonce *C. meleagridis* častěji identifikován u infikovaných lidí než *C. parvum* (Cama et al. 2008). Oocysty jsou kulaté s velikostí přibližně  $4,5 \times 5,3 \mu\text{m}$  (Lindsay et al. 1989). Jsou tak mnohem menší ve srovnání s jinými oocystami, které vyvolávají ptačí kryptosporidiózu, jak ilustruje tabulka č. 5.

Původ *C. meleagridis* se pravděpodobně odvíjí od některé z kryptosporidií, které se dříve specializovaly pouze na savce. Na ptactvo, které požíralo nakaženou kořist, se mohl druh adaptovat během vývoje (Xiao et al. 2002b). Hypotézu podporuje zjištění, z něhož vyplývá, že *C. meleagridis* napadá značné množství savců, čímž se výrazně liší od *C. baileyi*. Také z fylogenetické analýzy vyplývá, že je *C. meleagridis* příbuzný s „lidskými“ *C. parvum* a *C. hominis*.

**Tabulka č. 5: Morfologické srovnání oocyst vybraných druhů a genotypů rodu *Cryptosporidium***

Druh/Genotyp	Délka oocysty (µm)	Šířka oocyst (µm)
<i>C. baileyi</i>	6,0 - 7,5	4,8 - 5,7
<i>C. galli</i>	8,0 - 8,5	6,2 - 6,4
<i>C. meleagridis</i>	4,5 - 6,0	4,2 - 5,3
<i>C. avian</i> genotype II	6,0 - 6,5	4,5 - 6,6
<i>C. avian</i> genotype III	7,5	6,0
<i>C. avian</i> genotype IV	8,3	6,3
<i>C. eurasian woodcock</i> genotype	8,5	6,4

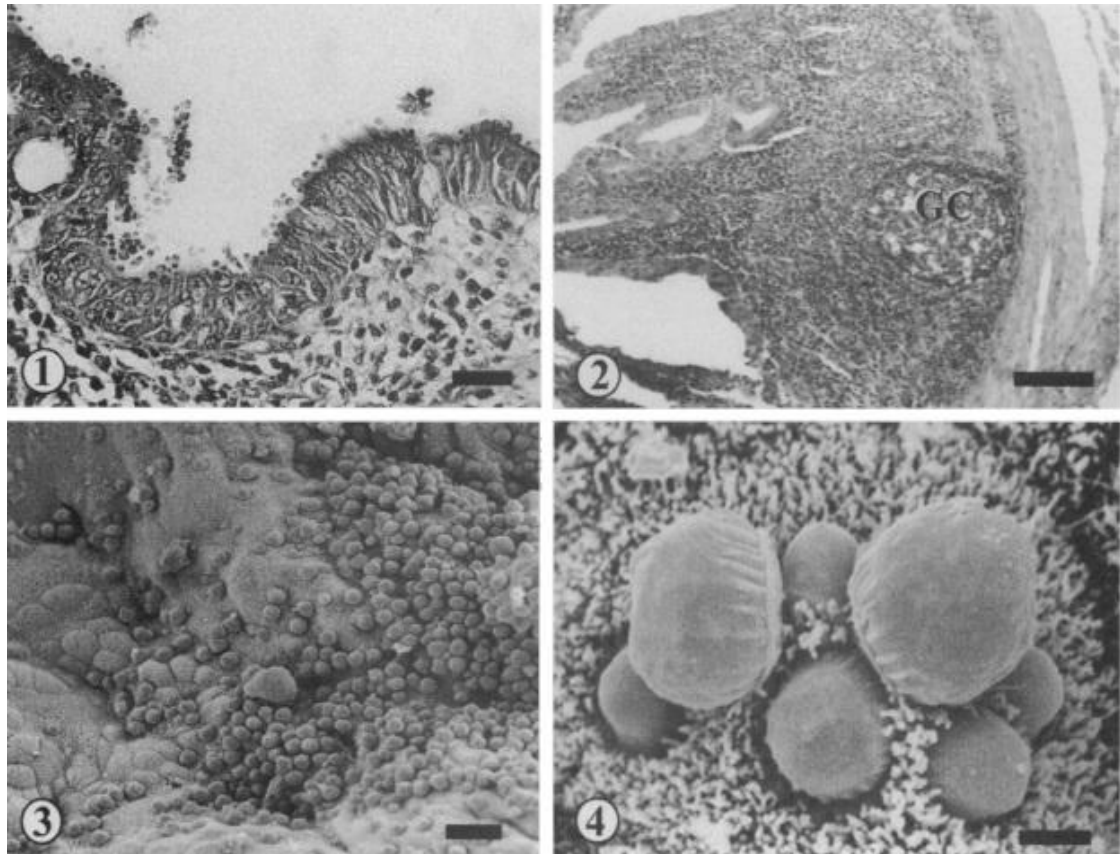
Zdroj: Lindsay et al. 1989; Ryan et al. 2003; Meireles et al. 2006; Ng et al. 2006

### Infekce u ptáků

*Cryptosporidium meleagridis* bylo poprvé izolováno z krocanů. Později bylo identifikováno v dalších druzích ptáků včetně papoušků a kuřat (Slavin 1955; Xiao et al. 1999a, 1999b, 2000; Morgan et al. 2000a; Sulaiman et al. 2000, 2002). V roce 2011 byli v čínských obchodech s ptactvem popsáni brkoslavi severní (*Bombycilla garrulus*), hrdličky východní (*Streptopelia orientalis*) a holubi domácí (*Columba livia*) infikovaní *C. meleagridis*. Nákaza se projevila u 8,6 % vyšetřovaných ptáků (Qia et al. 2011). S výskytem *C. meleagridis* u infikovaných zvířat bývá spojována enteritida krocanů, andulek, křepelek, papoušků, ale také labutí a hrdliček. Infekční stádia parazita byla experimentálně přenesena z krocanů na imunodeficientní myši a z nich na kuřata (Sréter et al. 2000).

Nejvyšší prevalenci parazit vykazuje v dolní části tenkého střeva a v epiteliálních buňkách fabriciovy burzy (Taconi et al. 2001). Vývoj kryptosporidiózy u kuřat dokumentuje následující obrázek.

**Obrázek č. 10: Vybrané vývojové fáze kryptosporidií na stěnách močovodu**



(1) Na snímku močovodu je zřejmý značný počet různých vývojových fází kryptosporidií. (2) Močovod kolonizovaný kryptosporidiemi. Imunitní odezvu organismu na infekci signalizuje přítomnost germinálního centra (GC). (3) Snímek elektronového mikroskopu epiteliálních buněk močového traktu s patrnými vývojovými fázemi velkého počtu kryptosporidií. (4) Zvětšenina snímku „3“.

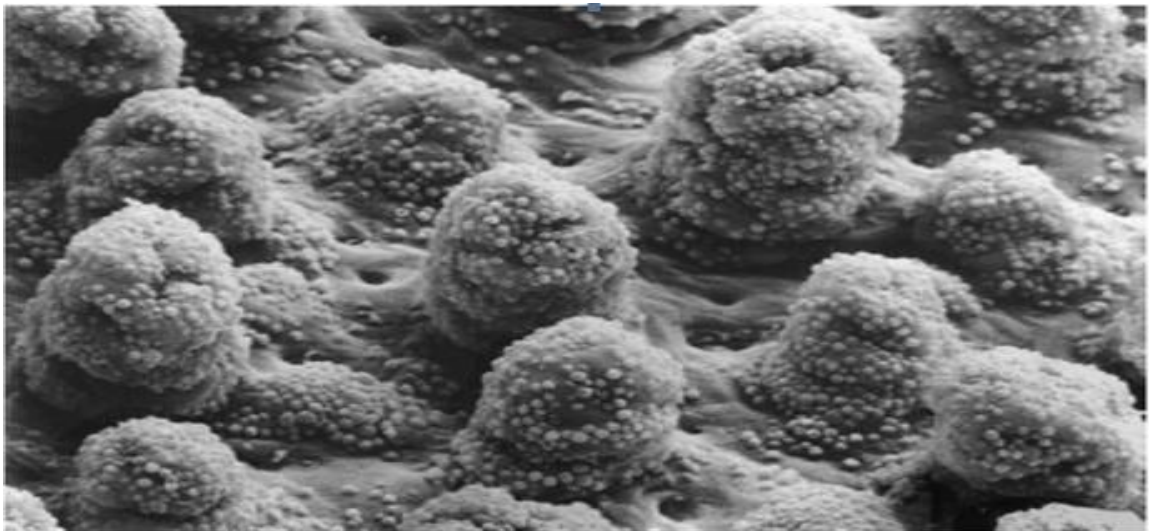
Zdroj: Trampel et al. 2000

Histologické vyšetření také ukázalo, že se parazit nachází ve velkém počtu i ve střední části tenkého střeva. Další oblasti zaživacího ústrojí nebývají tolik zasaženy. Onemocnění probíhá u odlišných druhů různě. Zatímco u hrdliček a křepelek se pojí s vysokou nakažlivostí a úmrtností, v případě krocanů je projev a šíření nákazy méně závažný (Gharagozlou et al. 2006).

## Další hostitelé

Lidský izolát parazita je infekční pro kuřata, myši (viz obrázek č. 11), prasata i dobytek (Pereira et al. 2002; Akiyoshi et al. 2003). Infekčnost a virulence *C. meleagridis* je v těchto zvířatech stejná jako v případě *C. parvum* (Chappell et al. 2011). Z České republiky je znám případ psa, který byl nakažen touto kryptosporidií (Hajdušek et al. 2004).

### Obrázek č. 11: Povrch tenkého střeva infikované myši (zvětšení 225×)



Zdroj: Koudela et Vítovec 1998

## Přenos a možné zdroje lidské infekce

Možný přenos kryptosporidií na člověka a zdroje infekce ilustrují obrázky 1 a 9 v kapitole 2.1, resp. 2.5.

### 2.6.3 *Cryptosporidium baileyi*

#### Infekce u člověka

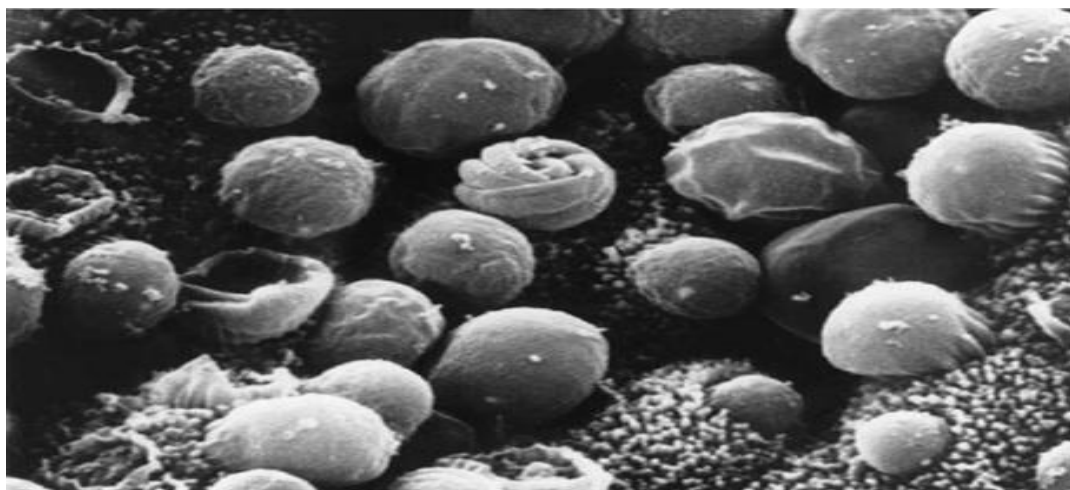
*Cryptosporidium baileyi* (Current et al. 1986) může být infekční pro osoby s poruchami imunitního systému způsobenými virem HIV, případně u lidí, kteří podstoupili imunosupresivní léčbu například po transplantaci ledvin (Ditrich et al.

1991). Izolátem získaným z lidské tkáně se však nepodařilo nakazit žádnou z pokusných myší. Naopak u uměle infikovaných kuřat se nemoc plně rozvinula (Ditrich et al. 1991).

### **Infekce u ptáků**

V komerčně chovaných brojlerových kuřatech byl parazitický prvok *Cryptosporidium baileyi* identifikován v roce 1986 (Current et al. 1986). Vývoj *C. baileyi* probíhá v epitelových buňkách v tlustém střevě a v dolní části tenkého střeva. Jak ukazuje obrázek č. 12, parazit osidluje také krajinu kloaky. Jedna z membrán hostitelské buňky, která kryla schizont, se rozpadla a odhalila merozoity. Vlevo jsou patrné zbytky buněk po úniku parazitů.

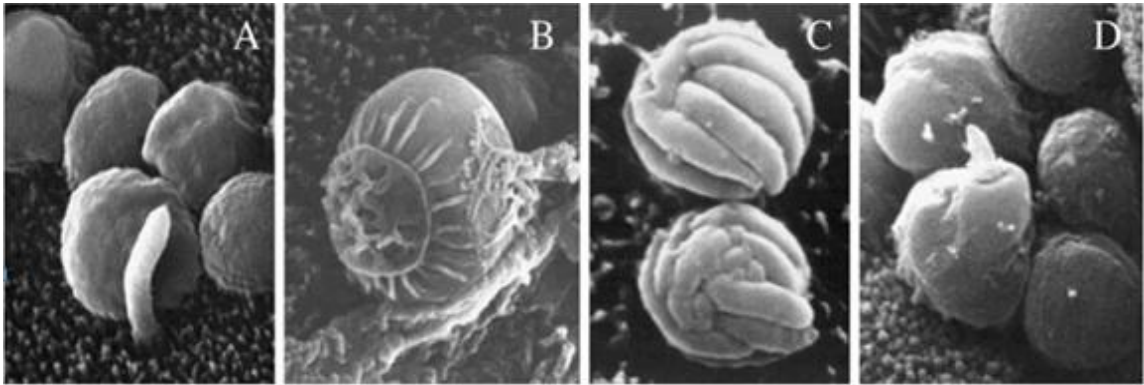
**Obrázek č. 12: Snímek sliznice kloaky kuřete infikovaného *C. baileyi***



Zdroj: Current et al. 1986

Oocysty *C. baileyi* charakterizují rozměry přibližně  $6,3 \times 5,2$  mikrometrů (Current et al. 1986), srovnání s jinými druhy kryptosporidií přináší tabulka č. 5. Byly popsány dva typy oocyst, které vznikají z makrogamet o rozměrech  $4,7 \times 4,7$  mikrometrů. První typ se širokým ochranným obalem prochází trávicí soustavou neporušen a je vylučován v exkrementech. Druhý chrání tenkostěnná slupka, která snadno praská poté, co je vyloučena z hostitelské buňky. Sporozoiti z těchto oocyst následně infikují epitelové buňky vnitřních sliznic. Tenkostěnné oocysty byly spatřeny také v dýchací trubici (Cheadle et al. 1999). Vývojové fáze *C. baileyi* přibližuje obrázek č. 13.

**Obrázek č. 13: Vývojové fáze *Cryptosporidium baileyi***



(A) Jediný merozoit napadá hostitelskou buňku. (B) Pohled na spodní část přichycovacího systému parazita, který byl oddělen od hostitelské buňky. (C) Dva meronti typu I. (D) Mikrogameta proniká do makrogamety.

Zdroj: Current et al. 1986

*Cryptosporidium baileyi* přirozeně infikuje spojivky, nosohltan, průdušnice, průdušky, plíce, tenké a tlusté střevo, fabriciovu burzu, ledviny, močové cesty a oblast kloaky. Vysokou úmrtnost a nakažlivost vykazuje parazit mezi brojlerovými kuřaty. Infekce se vyznačuje těžším průběhem hlavně mezi mladšími ptáky (Lindsay et Blagburn 1990). Tento parazit je pravděpodobně nejčastější kryptosporidií mezi ptáky. Kromě kuřat byl zaznamenán například mezi racky, kormorány, jeřáby, tukany, krůtami, kachnami, husami, křepelkami, pštrosy a papoušky. Izoláty se podařilo nakazit i další druhy ptáků včetně domestikovaných hus, kachen, bažantů, koroptví i korel (Lindsay et al. 1990; Rhee et al. 1997; Morgan et al. 2001; Pavlásek 1993, 2001; Abe et Iseki 2004). Parazit byl v roce 2011 objeven v Číně u timálie čínské (*Leiothrix lutea*), rýžovníka šedého (*Padda oryzivora*), zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*), majny obecné (*Acridotheres tristis*), choholouše obecného (*Galerida cristata*), amadiny Gouldové (*Chloebia gouldiae*) a také u straky obecné (*Pica pica*). *Cryptosporidium bailey* byla infikována více než polovina vyšetřovaných zvířat (Qia et al. 2011).

### **Další hostitelé**

*Cryptosporidium baileyi* dosud nebylo objeveno u jiných hostitelů vyjma ptáků a člověka. V případě laboratorních myši a potkanů, kteří byli infikováni oocystami, se kryptosporidíóza nerozvinula (Current et al. 1986). Lidskými izoláty *C. baileyi* se podařilo infikovat myši, telata, kočata, štěňata a kozy (Current et al. 1983). Kvůli

nedostatku morfologických a biologických dat však Current o tři roky později prohlásil, že druh, který byl zodpovědný za klinické projevy nemoci u člověka, by měl být nazván *C. parvum*.

### **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Vyvolat infekci lidskými izoláty *C. baileyi* se podařilo u perorálně a intratracheálně naočkovaných kuřat (Ditrich et al. 1991). Oocysty parazita byly nalezeny v trusu nemocných zvířat. Lze vyvozovat, že se parazit může šířit vodním prostředím, případně vzduchem. Další možné zdroje přenosu infekce na člověka a zdroje *C. baileyi* ilustrují obrázky 1 a 9 v kapitole 2.1, resp. 2.5.

### **2.6.4 *Cryptosporidium galli***

#### **Infekce u člověka**

Oocysty *Cryptosporidium galli* byly popsány v ptačím trusu (Pavlásek 1999). U člověka dosud nebyl zaznamenán případ infekce tímto parazitem.

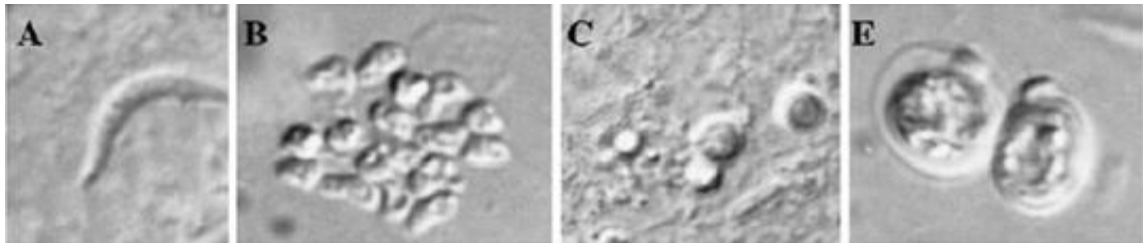
#### **Infekce u ptáků**

Oocysty *C. galli* s rozměry  $8,3 \times 6,3 \mu\text{m}$  (srovnání s dalšími druhy viz tabulka č. 5) jsou větší než oocysty jiných ptačích kryptosporidií (viz tabulka č. 5). Na rozdíl od ostatních kryptosporidií, které jsou infekční pro ptáky, začíná vývojový cyklus *C. galli* v epitelových buňkách v žláznatém žaludku, avšak ne v dýchacím traktu, či v tenkém a tlustém střevě (Pavlásek 2001). Parazit bývá spojován s onemocněními, které provází vysoká míra mortality (Morgan et al. 2001; Pavlásek 2001; Ryan et al. 2003a). *Cryptosporidium galli* bylo dříve identifikováno jako *C. blagburni* u australských pěnkav, které uhynuly na akutní průjem (Morgan et al. 2001). Následné molekulární analýzy ale ukázaly, že *C. blagburni* a *C. galli* jsou jeden a týž druh (Ryan et al. 2003). Vývojový cyklus *C. galli* je málo prozkoumán. Endogenní životní cyklus parazita podle všeho probíhá v epitelových buňkách žláznatého žaludku (viz obrázek č. 14), kde byly také pozorovány vývojové stádia od oocyst po trofozoity a makrogamonty. Histopatologie nakažených pěnkav ukázala silnou nekrózu a hyperplazii glandulárních



slizničních buněk, na kterých bylo přichyceno velké množství oocyst (Morgan et al. 2001).

**Obrázek č. 14: Životní cykly *Cryptosporidium galli* diagnostikované ve stěrech ze sliznice žláznatého žaludku slepic**



(A) Sporozoit. (B) Shluk trofozoitů. (C) Mikrogamonti. (E) Zygoty.

Zdroj: Pavlásek 2001

Mezi hostitele *C. galli* lze zařadit širokou škálu ptáků. Přirozené infekce byly zachyceny u pěnkav, kuřat, tetřevů, dlasků, hýlů, papoušků, plameňáků, či zoborožců (Morgan et al. 2001). Morfologicky podobné oocysty byly pozorovány u divokých bažantů, vlh a pěvců (Ryan et al. 2003). Oocysty *C. galli* byly popsány také u brkoslava severního (*Bombycilla garrulus*) a timálie stříbrouché (*Leiothrix argentauris*). Infekčních bylo 14,3 procent vyšetřovaných ptáků (Qia et al. 2011).

### **Další hostitelé**

Hostitelé, ve kterých by probíhal úspěšný vývoj *C. galli*, nebyli mimo ptačí říši dosud nalezeni.

### **2.6.5 Méně obvyklé zoonotické druhy kryptosporidií**

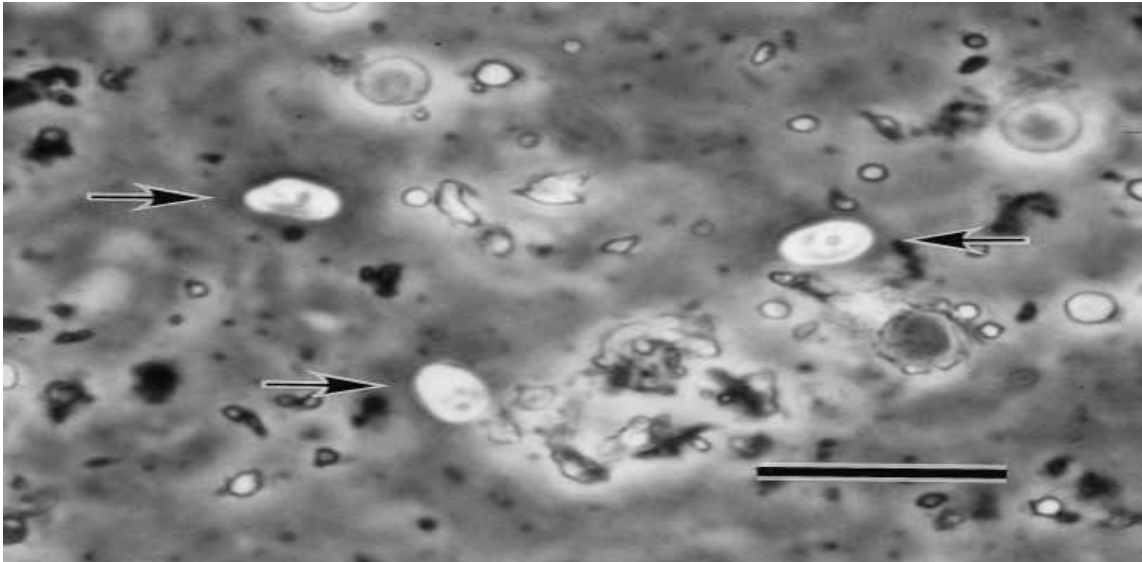
Lidskou kryptosporidiózu vyvolávají za určitých okolností i další méně rozšířené druhy kryptosporidií, které jsou uvedeny v tabulce č. 4. Ze zoonotických druhů, které mohou roznášet ptáci, a jenž jsou infekční pro člověka, byly popsány *C. muris* a *C. andersoni*.

### 2.6.5.1 *Cryptosporidium muris*

#### Infekce u člověka

V roce 1907 Ernest Edward Tyzzer popsal parazitického prvoka s oocystami o velikost  $7 \times 5 \mu\text{m}$  v zažívacím ústrojí pokusných myší. Kryptosporidie byla identifikována v řadě lidských hostitelů (Tiangtip et Jongwutiwes 2002), hlavně mezi osobami s oslabeným imunitním systémem (Guyot et al. 2001; Gatei et al. 2002b; Palmer et al. 2003). Obrázek č. 15 ilustruje výskyt *C. muris* u jinak zcela zdravých jedinců.

**Obrázek č. 15: Fázová kontrastní mikroskopie oocyst *Cryptosporidium muris* ze stolice zdravé dívky z Indonésie**



Světle znázorněné oocysty obsahují černé reziduální tělíska.

Zdroj: Tatsuya et al. 2000

#### Infekce u ptáků

*Cryptosporidium muris* bylo identifikováno u lelouna soviho (*Podargus stridoides*) (Ng et al. 2006).

## **Další hostitelé**

*Cryptosporidium muris* je infekční pro řadu dalších hostitelů včetně křečků, pískomilů, veverek, horských koz, mar stepních, damanů, opic či makaků (Anderson 1991; Chalmers et al. 1997; Koudela et al. 1998; Xiao et al. 1999b; Torres et al. 2000; Guyot et al. 2001; Morgan et al. 2000b; Morgan et al. 2001; Dubey 2002; Gatei et al. 2002a; Tiangtip et Jongwutiwes 2002; Palmer et al. 2003). Parazit byl identifikován také u hadů, varanů a užovek (Morgan et al. 1999b; Ryan et al. 2003).

## **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Parazitem *C. muris* se pravděpodobně mohou nakazit plazi a ptáci pozřením infikované kořisti, v tomto případě hlodavců. Modelovým příkladem je lelkoun soví, který preduje na hlodavcích, u něhož bylo v trusu nalezeno velké množství oocyst (Ng et al. 2006). Lze předpokládat, že se infekční oocysty *C. muris* mohou přenášet nejen vodním prostředím, ale také potravou. Uměle infikovat prasata oocystami *C. muris*, které byly získány z myši domácí, se však nepodařilo (Kváč et al. 2012). Další možné způsoby přenosu kryptosporidií na člověka a zdroje infekce ilustrují obrázky 1 a 9 v kapitole 2.1, resp. 2.5.

### **2.6.5.2 *Cryptosporidium andersoni***

#### **Infekce u člověka**

*Cryptosporidium andersoni* je infekční pro člověka (Leoni et al. 2000). Oocysty parazita byly mimo jiné identifikovány ve výkalech dvou HIV pozitivních osob ve Francii (Guyot et al. 2001)

#### **Infekce u ptáků**

Parazit byl identifikován u koroptyve korunkaté (*Rollulus rouloul*) (Ng et al. 2006).

## **Další hostitelé**

*Cryptosporidium andersoni* patří mezi časté parazity dojnic (Wade et al. 2000). Organismus byl identifikován ve výkalech dobytka (Lindsay et al. 2000). Podle Ondráčkové (2007) je dobytčí izolát *C. andersoni* infekční pro pískomila saharského a veverkoocasého. Vůči infekci *C. andersoni* je vnímavá také mastomyš (*Mastomys coucha*) (Kváč et al. 2007). Oocysty *C. andersoni* byly popsány ve výkalech velbloudů (Wang et al. 2008).

## **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Přenos *C. andersoni* na člověka je možný díky odolným oocystám, které mohou být přenášeny fekálně-orální cestou, nebo prostřednictvím kontaminovaných potravin, případně vody. Další možné způsoby přenosu kryptosporidií na člověka a zdroje infekce ilustrují obrázky 1 a 9 v kapitole 2.1, resp. 2.5.

## 3 Mikrosporidie

### 3.1 Obecná charakteristika

Mikrosporidie jsou rozsáhlou skupinou eukaryotních parazitických organismů s přibližně 1300 formálně popsánymi druhy ve sto šedesáti rodech (Sprague et al. 1992; Wittner et Weiss 1999; Franzen et Müller 2001; Lee et al. 2009; Choudhary et al. 2011). Údaj není konečný, všichni možní hostitelé mikrosporidií dosud nebyli plně prozkoumáni. Parazit vytváří intracelulární spóry (Sprague 1977; Sprague et Becnel 1998), které infikují širokou řadu živočišných druhů od hlístic, přes korýše (Keeling et Fast 2002), po člověka, v některých případech také vybrané zástupce říše protistů (Troemel et al. 2008). Z dnes známých druhů mikrosporidií je 16 infekčních pro člověka, hlavně pro osoby s poruchami imunity; vyskytují se však také u imunokompetentních osob (Didier et Weiss 2008). Zvláště rozšířené jsou mikrosporidie mezi rybami a v hmyzí říši. Většina bezobratlých živočichů nebyla na přítomnost mikrosporidií vyšetřena (Keeling 2009).

### 3.2 Historie

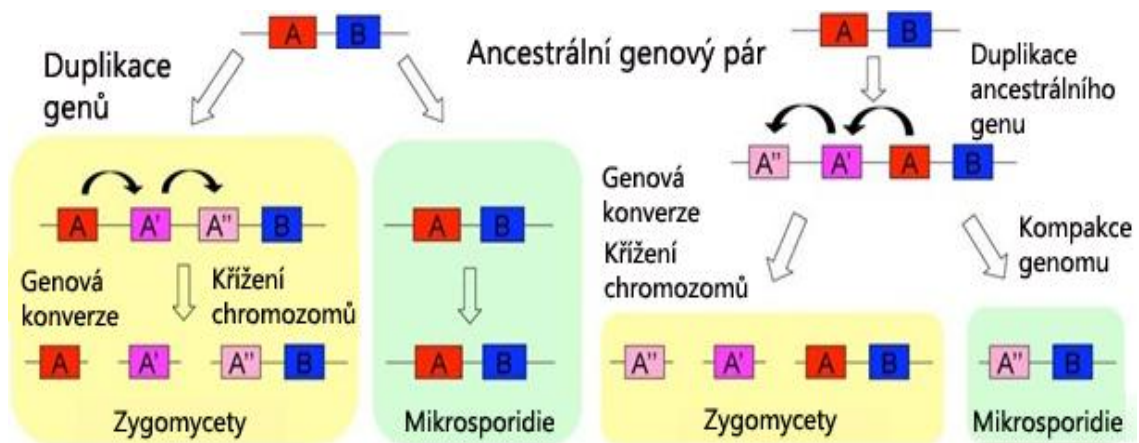
Mikrosporidie byly poprvé popsány jako patogeny bource morušového (Nägeli 1857). Mezi savci byla mikrosporidióza identifikována počátkem minulého století. Nemoc byla příčinou neurologických poruch v chovech králíků (Wright and Craighead 1922). První zaznamenaný případ lidské mikrosporidiózy je datován do 60. let minulého století. Infekce proběhla u devítiletého dítěte (Matsubayashi et al. 1959). Do roku 1985 bylo zachyceno méně než tucet případů lidské mikrosporidiózy (Wittner et Weiss 1999). V polovině 90. let diagnostikoval Desportes a jeho tým průjmové onemocnění vyvolané *Enterocytozoon bieneusi* u osob se syndromem získaného selhání imunity (Desportes et al. 1985). Případů infekcí, které vyvolaly různé druhy mikrosporidií, byla poté zjištěna celá řada. Paraziti byli detekováni nejen u osob s rozvinutým AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome), u pacientů po orgánové transplantaci, nebo léčených imunosupresivními léky, ale také byly popsány u imunokompetentních osob (Weber et Bryan 1994; Sax et al. 1995; Wanke et al. 1996; Raynaud et al. 1998; Weber et al.

1999b; Gumbo et al. 1999; Wittner et Weiss 1999; Metge et al. 2000; Lores et al. 2002b; Lewis et al. 2003).

### 3.3 Taxonomie

Taxonomická historie parazita je velmi bohatá. Srovnávat mikrosporidie s dalšími eukaryotními živočichy a zařadit je do už existující skupiny, je obtížné nejen díky jejich unikátnímu infekčnímu aparátu. V roce 1857, v době prvního popisu mikrosporidií, byl parazit zařazen mezi uměle vytvořenou skupinu hub - *Schizomycetes*. Organismy byly později považovány za parazitickou odnož říše protistů (přesněji za příslušníky podtřídy *Cnidosporidia*). Kvůli domnělé nepřítomnosti mitochondrií byly mikrosporidie popisovány jako prehistorický pozůstatek eukaryotické linie (Vossbrinck et al. 1986). Nové fylogenetické studie a genetický rozbor ale ukázaly na evoluční příbuznost mikrosporidií se zygomycetami (Lee et al. 2010), viz následující obrázek.

**Obrázek č. 16: Hypotéza paralogního příbuzenského vztahu mezi syntenickými geny v zygomycetách a mikrosporidiích**



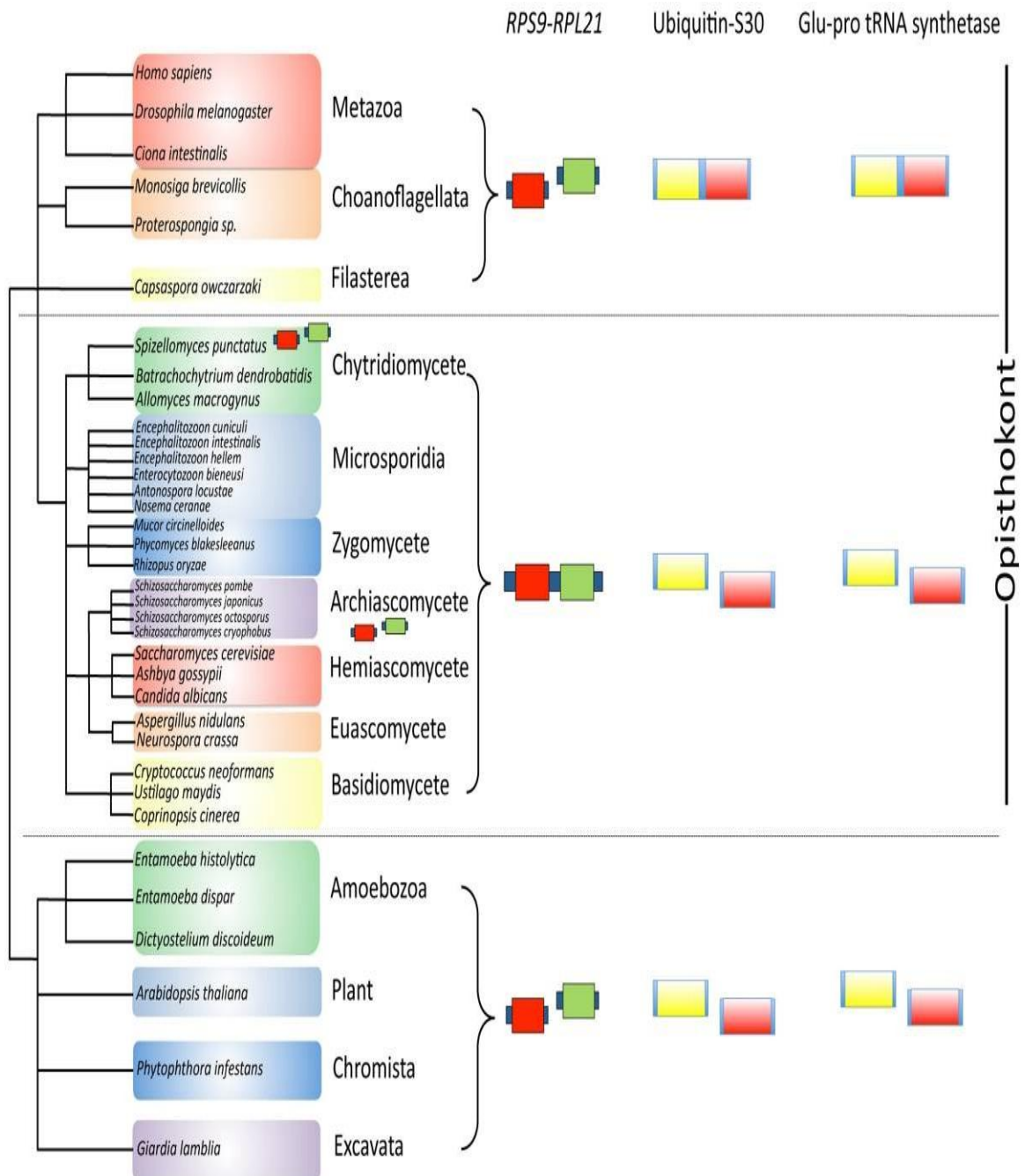
Výsledkem genové duplikace, konverze a chromozomové translokace v syntenické oblasti byla formace syntenického lokusu s paralogními geny.

Zdroj: Lee et al. 2010

Nepřítomnost mitochondrií v mikrosporidiích vyvrátil objev redukovaných mitosomů (Williams et al. 2002). V návaznosti byly v genetickém kódu mikrosporidií popsány syntenické geny (RPL21 a RPS9), které jsou ve stejném pořadí uloženy také v

genomu celé říše hub (s několika výjimkami, například *Schizosaccharomyces pombe*), viz obrázek č. 17.

**Obrázek č. 17: Unikátní genová charakteristika hub a mikrosporidií se syntenickými ribosomálními geny RPS9-RPL21**

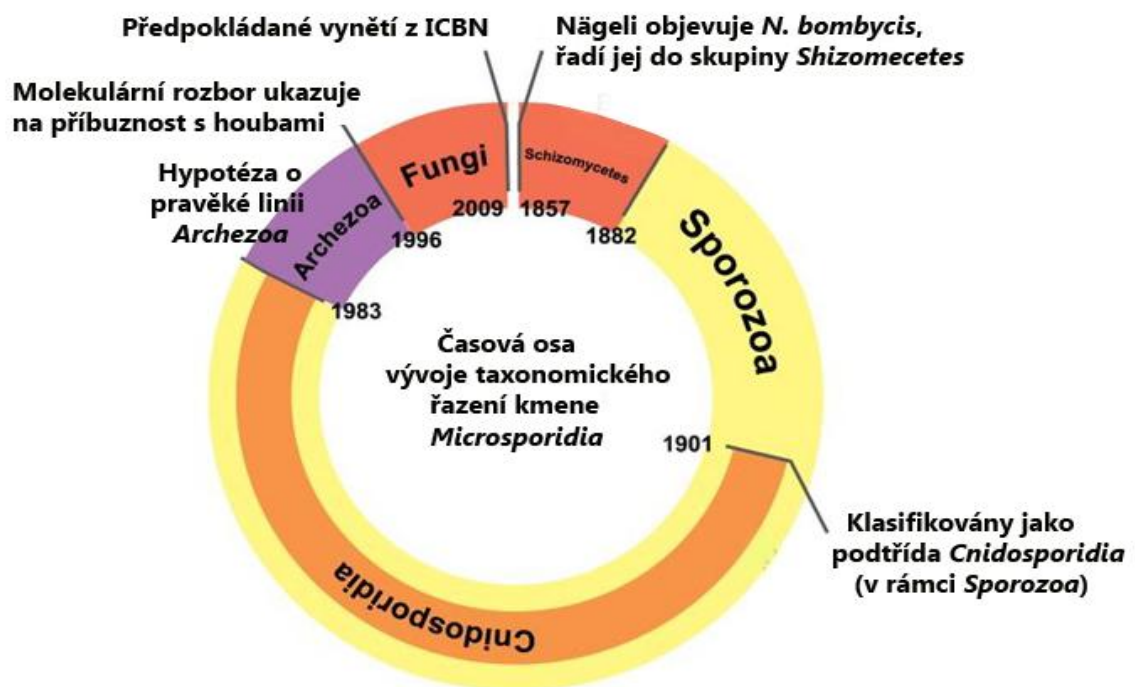


Zdroj: Lee et al. 2010

Nález syntenických genů RPS9 a RPL21 podporuje správnost zařazení mikrosporidií do říše hub. Syntenické geny RPL21-RPS9 totiž nebyly nalezeny u jiných opiskontních organismů, ani u jiných skupin eukaryotů.

Fylogenetické zařazení mikrosporidií však není zcela zřejmé ani dnes (Corradi et al. 2009). Uvažuje se dokonce o vyloučení mikrosporidií z botanické nomenklatury ICBN a o jejich zařazení do zoologické nomenklatury ICZN (Redhead et al. 2009), jak dokumentuje následující obrázek.

**Obrázek č. 18: Taxonomické zařazení mikrosporidií od roku 1857**



Zdroj: Keeling 2009

Nehledě na taxonomické zařazení mikrosporidií má jejich předpokládaná evoluční spojitost s houbami významný dopad na to, jak interpretujeme jejich nezvyklé charakteristiky. Mikrosporidie proto nadále nepředstavují zástupce organismů s prehistorickými evolučními prvky, ale namísto toho jsou symbolem vysoce specializovaných vnitrobuněčných parazitů (Xu et Weiss 2005).

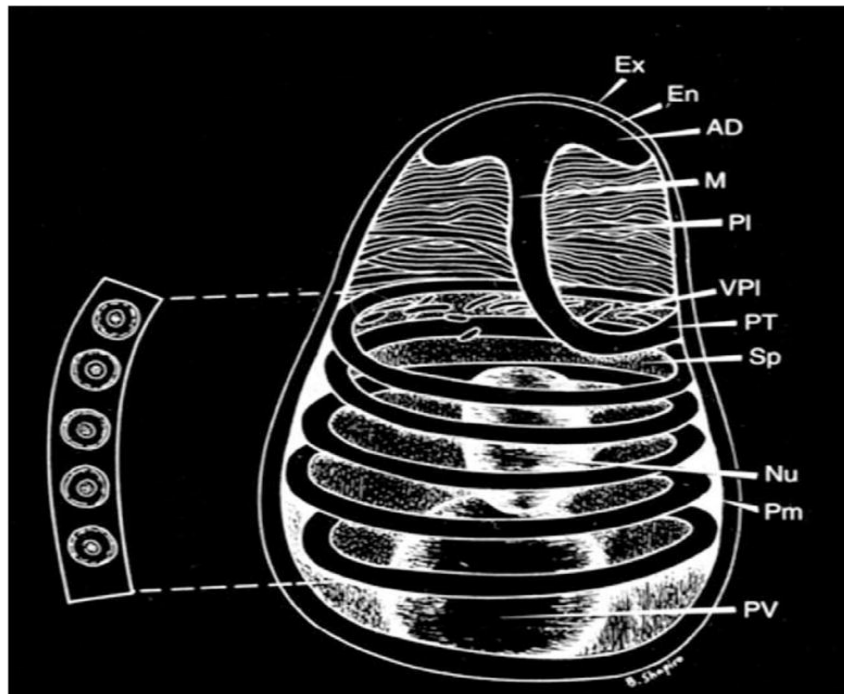


### 3.4 Životní cyklus

Životní cyklus mikrosporidie zahrnuje růstovou (proliferační) fázi, vytváření spór (sporogonii) a takzvanou infekční fázi, ve které může dospělá spóra infikovat vhodného hostitele (Xu et Weiss 2005).

Spóra (obrázek č. 19) je chráněna vnějším obalem před nepříznivými účinky okolního prostředí. Zároveň se jedná o jediný dosud popsáný stav, kdy je mikrosporidie schopna přežít mimo hostitelskou buňku (Vávra et Larson 1999). Velikost spór se pohybuje od 1 do 10  $\mu\text{m}$ .

**Obrázek č. 19: Schéma spóry mikrosporidie**

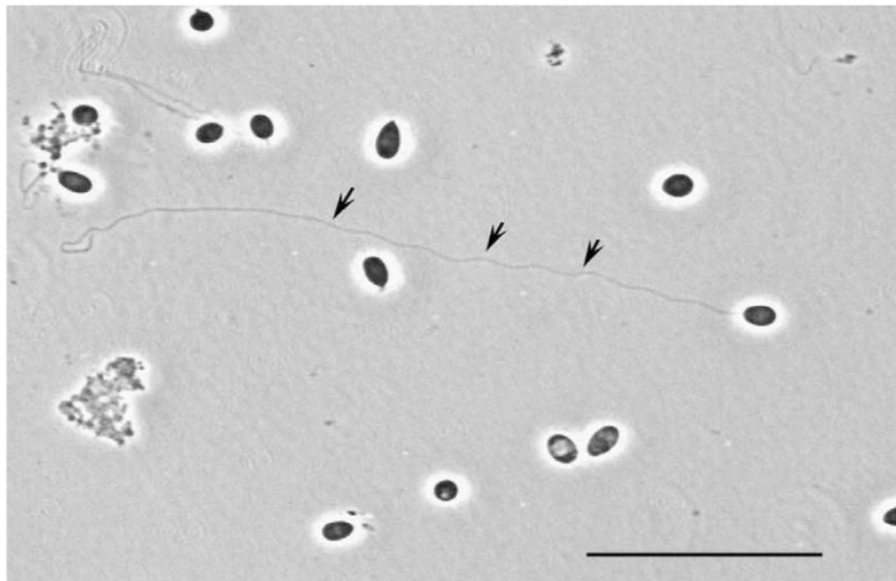


Obal spóry se skládá z tzv. exospóry (Ex), která je hustě nabitá elektrony, z elektronlucentní endospóry (En), zadní vakuoly (PV), ribozomů a vnitřní plazmatické membrány. Sporoplasma (Sp) obsahuje jedno jádro (Nu) (tzv. monokaryon; existují také spóry se sporoplasmou se dvěma jádry - tzv. diplokaryon). Polární trubice je připevněna ke spóře kotevním diskem (AD). Kotevní disk je rozdělen na tzv. přímou část - manubrium (M) a zadní oblast tvořenou pěti cívkami (PT), které obtáčejí sporoplasma. Manubrium obklopuje lamelární (PI) a vesikulární polaroplast (VPI).

Zdroj: Wittner et Weiss 1999

Paraziti jsou vybaveni unikátním specializovaným infekčním orgánem, tzv. polárním filamentem (Xu et Weiss 2005). V dormantních sporách je stočen uvnitř. Při stimulaci – stimuly mohou být pH, teplota, koncentrace soli (Hashimoto et al. 1976; Undeen et Avery 1984; Undeen et Epsky 1990), se filament rozvine (viz obrázek č. 20), vymrští a proniká membránou hostitelské buňky. Proces probíhá velmi rychle. Šipky v níže uvedeném obrázku ukazují na extrudovaný polární filament.

**Obrázek č. 20: Germinace spór *Brachiola algerae* ve vodném kyselém roztoku**

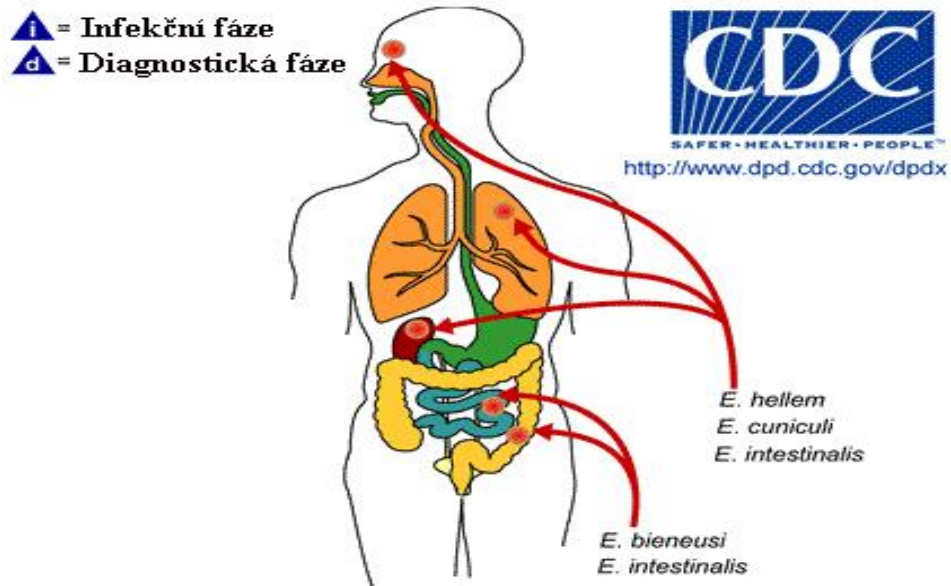


Zdroj: Xu et Weiss 2005

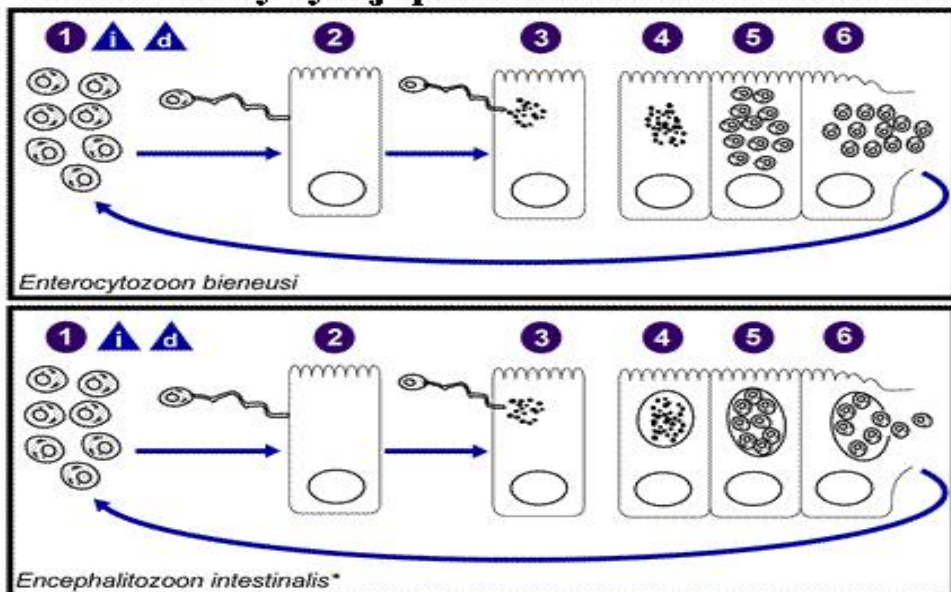
Filament napojený na hostitelskou buňku evokuje funkci potrubí, které do hostitele dopravuje infekční materiál, sporoplazmu. Mikrosporidie využívají podobného mechanismu pro únik z buněčné vakuoly fagocytů, kterými byly polapeny (Franzen 2005). Po přibližně 20 minutách se sporoplazma mění v meront, nastává rozlišení vnitřních organel (Vávra 1976).

Uvnitř buňky prochází meront extenzivní multiplikací a podstupuje merogonii, případně schizogonii, jak dokumentuje obrázek č. 21. Jakmile počet spór kompletně vyplní hostitelskou cytoplazmu, praská buněčná membrána a spóry unikají do okolí. Již volně dospělé spóry mohou infikovat nové buňky a pokračovat tak v životním cyklu (CDC 2012).

Obrázek č. 21: Životní cyklus vybraných zástupců kmene Microsporidia



**Vnitrobuněčný vývoj spór *E. bienewsi* a *E. intestinalis***



\*Vývoj uvnitř parazitoforní vakuoly probíhá také v případě *E. hellem* a *E. cuniculi*

Infekční spóra (1). Spóra infikuje hostitelskou buňku (2). Pomocí polární trubice je do hostitele dopravována sporoplazma (3). Vývoj může probíhat v přímém kontaktu s hostitelskou cytoplazmou (*E. bienewsi*), nebo v parazitoforní vakuole (*E. intestinalis*). V cytoplazmě, nebo v parazitoforní vakuole prochází mikrosporidie sporogonií, vytvářejí se sporoblasty, které dozrávají v jednotlivé spóry (4). Během sporogonie se kolem spór utváří obal, který jí poskytuje ochranu před nepříznivými podmínkami (5). Dospělé spóry unikají do okolí (6).

Zdroj: CDC 2012

### 3.5 Člověku nebezpečné mikrosporidie

Před pandemií AIDS bylo diagnostikováno pouze osm případů mikrosporidiózy u člověka (Weber et al. 1994). Ve většině případů se přitom nepodařilo odhalit druh parazita, který infekci vyvolal. *Enterocytozoon bieneusi* byl v těle pacienta s chronickým průjmem popsán dva roky předtím, než došlo k objevu a popisu viru HIV coby příčiny nemoci AIDS (Desportes et al. 1985). Následně byly popsány nové rody a druhy mikrosporidií (viz tabulka č. 6), které jsou pro lidské hostitele oportunními parazity a mohou infikovat de facto jakýkoliv orgán v těle a široké spektrum buněk (Orenstein 2003).

**Tabulka č. 6: Známé druhy kmene Microsporidia infekčních pro člověka**

<i>Brachiola algerae</i>	<i>Microsporidium ceylonensis</i>
<i>Brachiola vesicularum</i>	<i>Nosema ocularum</i>
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	<i>Pleistophora ronneaefiei</i>
<i>Encephalitozoon hellem</i>	<i>Trachipleistophora anthropophthera</i>
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	<i>Trachipleistophora hominis</i>
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	<i>Tubulinosema acridophagus</i>
<i>Microsporidium africanum</i>	<i>Vittaforma corneae</i>

Zdroj: Mathis et al. 2005; Choudhary et al. 2011

Mikrosporidiové infekce v lidském hostiteli způsobuje nejčastěji *Enterocytozoon bieneusi* a *Encephalitozoon intestinalis*. Oba druhy se vyskytují celosvětově, hlavně u HIV pozitivních pacientů s chronickým průjmem. Diagnostikovány jsou ale také v imunokompetentních osobách s akutním průjmem. *Encephalitozoon cuniculi* a *Encephalitozoon hellem* byly zjištěny s několika výjimkami u pacientů s oslabenou imunitou, přičemž paraziti vyvolávali lokální infekce, například očí (Weber et al. 2000), ale také multiorgánové poruchy (Sprague 1977).

Imunodeficitní pacienti jsou infikováni také dalšími vzácnějšími druhy mikrosporidií typu *Vittaforma corneae* (dříve *Nosema corneum*), *Pleistophora ronneaefiei*, *Trachipleistophora* spp., *Brachiola* spp., *Trachipleistophora hominis*, *Brachiola algerae*, *Nosema ocularum*, *Microsporidium ceylonensis*, *Microsporidium*

*africanum*, ještě vzácněji druhy rodu *Tubulinosema* (*Tubulinosema acridophagus*) (Choudhary et al. 2011).

Díky rozšířené antiretrovirální léčbě HIV pozitivních osob, která obnovuje imunitní systém pacientů, výrazně poklesl počet lidské mikrosporidie (Weber et al. 2000). Přesto se odhaduje, že dvě třetiny lidí s HIV, kteří žijí v oblasti subsaharské Afriky, kde není dostupná moderní léčba, trpí nemocemi a častými úmrtími kvůli oportunním parazitům, a tedy i mikrosporidiím. Studie prokázaly, že 13 procent HIV pozitivních dospělých z Mali, kteří trpí chronickým průjmem, je pozitivních na *E. bienersi*. Jde zároveň o nejrozšířenější typ mikrosporidie v Africe (Cisse et al. 2002).

Mikrosporidiální infekce jsou v rostoucí míře případů diagnostikovány u lidí se záměrně potlačenou imunitou, kteří podstoupili orgánovou transplantaci, parazit rovněž vyvolává oční infekce u jinak zdravých osob (Goetz et al. 2001; Theng et al. 2001; Chan et al. 2003; Lewis et al. 2003; Carlson et al. 2004; Gamboa-Dominguez et al. 2003; Teachey et al. 2004).

### **3.6 Zoonotické mikrosporidie v ptačích hostitelích**

Mikrosporidie jsou v zámoří považovány za možné kontaminanty přirozeného prostředí a jejich výskyt je dlouhodobě sledován státní správou (CDC 2012). Přestože téma parazitických mikrosporidií postupem času zaměstnává stále více odborníků, není dosud znám přesný způsob jejich přenosu, neexistuje dokonce ani jednotná identifikace spór a odstranění, či případná inaktivace spór v kontaminované vodě patří i nadále mezi technologicky náročné úkoly (Nwachuku et Gerba 2004). Lidská mikrosporidie je navíc jen obtížně léčitelná. Doposud získaná data napovídají, že se na epidemiích lidské mikrosporidie významnou měrou podílí znečištěná voda (Dowd et al. 1998; Cotte et al. 1999; Thurston-Enriquez et al. 2002).

Spóry mikrosporidií s předpokládaným zoonotickým charakterem byly nalezeny v exkrementech vodních ptáků. Jediná návštěva infikovaného ptáka může do vodního zdroje vnést  $9,1 \times 10^6$  spór mikrosporidií, které jsou člověku nebezpečné (Slodkovicz-Kowalska et al. 2006). Přesvědčivý a jednoznačný důkaz o přenosu choroby na člověka ale dosud neexistuje (Franzen et Müller 2001).

Identifikace mikrosporidií, o kterých je známo, že nejčastěji infikují člověka (*Encephalitozoon intestinalis*, *E. hellem*, *E. cuniculi* a *Enterocytozoon bieneusi*) nepatří mezi snadné úkoly. Paraziti mohou infikovat širokou řadu hostitelů. Pouhá morfologie spór přitom neposkytuje dostatek informací pro přesný druhový popis (Wasson et Peper 2000). Jasně rozpoznání konkrétního druhu je možné například díky metodě FISH (Fluorescence in Situ Hybridization), která je hojně využívána pro diagnózu (Graczyk et al. 2002, 2004). Díky odlišné fluoroscenci je možné rozlišovat mezi jednotlivými druhy hledaných mikrosporidií (Hester et al. 2000).

### **3.6.1 *Enterocytozoon* spp.**

V rámci čeledi Enterocytozoonidae jsou rozeznávány dva rody:

1. *Nucleospora* s dvěma dosud známými druhy, kterými jsou *N. salmonis* (parazit lososovitých ryb) (Docker et al. 1997) a *N. sekunda*, coby parazit afrických ryb (Lom et Dyková 2002).

2. *Enterocytozoon* se dvěma dosud popsánými zástupci *E. bieneusi*, který napadá cytoplazmu enterocytů a dalších epitelových buněk savců včetně člověka (Desportes et al. 1985) a *E. hepatopenaei*, který byl popsán u krevet tygřích (*Penaeus monodon*) ve slinivkojaterní žláze (Tourtip et al. 2009).

#### **3.6.1.1 *Enterocytozoon bieneusi***

*Enterocytozoon bieneusi* byl poprvé morfologicky popsán v roce 1985 jako oportunistický střevní patogen člověka v souvislosti s onemocněním HIV. Parazit vyvolává nejčastěji diagnostikované případy mikrosporidiózy u lidí (Lobo et al. 2006). Jeho spóry byly nalezeny rovněž ve výkalech prasat (Desplazes et al. 1996a), později také ve výměšcích a tkáňových odběrech dalších savců (Mansfield et al. 1997).

#### **Infekce u člověka**

Chronický průjem vyvolaný *E. bieneusi* byl do roku 2005 diagnostikován u několika set pacientů infikovaných virem HIV (Mathis et al. 2005). Lidská mikrosporidióza způsobená *E. bieneusi* byla diagnostikována na všech obydlích

kontinentech. Prevalence parazita mezi HIV pozitivními osobami se ale postupně snižuje (Conteas et al. 1998). Důvodem je retrovirální léčba HIV, která má pozitivní účinky na činnost imunitního systému (Weber et al. 1999a). Výskyt *E. bienewisi* mezi imunodeficientními pacienty se například ve Švýcarsku díky antivirotikům podařilo snížit o polovinu (Weber et al. 1999a). Prevalence parazita mezi HIV pozitivními osobami může dosahovat až padesáti procent, jak přibližuje následující tabulka.

**Tabulka č. 7: Vybrané studie, které demonstrují prevalenci *E. bienewisi* u HIV-pozitivních osob**

<b>Geografická oblast</b>	<b>Počet vyšetřených pacientů/popis onemocnění</b>	<b>Promořenost (%)</b>
Mali (Bamako)	61/chronický průjem	13,1
Zimbabwe (Harare)	129/průjem déle než týden	13,0
USA (Washington)	67/průjem déle než týden	30,0
USA (New York)	68/průjem	37,0
Austrálie	139/průjem	3,5
Thajsko	66/chronický průjem	33,3
Francie (Paříž)	18/chronický průjem	50,0
Německo (Cologne)	46/průjem	22,0
Anglie (Londýn)	59/průjem	14,0
Švýcarsko	164/chronický průjem	10,7

Zdroj: Peacock et al. 1991; Molina et al. 1993; Ryan et al. 1993; Kotler et al. 1994; van Gool et al. 1995; Franzen et al. 1996; Maiga et al. 1997; Wanachiwanawin et al. 1998; Weber et al. 1999a; Cisse et al. 2002

V České republice vyšetřoval Sak a kolektiv 386 osob na přítomnost mikrosporidií (Sak et al. 2010a). Infikována jimi byla přibližně třetina. Vysoká promořenost mikrosporidii byla zaznamenána u lidí starších padesáti let. Také v následujícím výzkumu byly stejným týmem nalezeny specifické protilátky proti *E. bienewisi* u většiny z 15 vyšetřovaných osob (Sak et al. 2011a). Současně bylo zachyceno sedm různých genotypů *E. bienewisi*. Studie dokazují, že je expozice mikrosporidiím běžná i u imunokompetentních osob, u kterých není mikrosporidióza

spojena s jakoukoliv klinickou manifestací nemoci. Parazit byl popsán rovněž ve Španělsku u 17 procent lidí důchodového věku, kteří trpěli průjmovým onemocněním (Lores et al. 2001). Důvodem infekce může být imunitní systém oslabený stářím. Na druhou stranu se nepotvrdilo, že by děti byly náchylnější k infekci *E. bienewsi* než zdravé dospělé osoby (van Gool et al. 1995).

Spóry *E. bienewsi* byly nalezeny také ve stolici sedmi z téměř sto padesáti osob s průjmovým onemocněním, kteří se vraceli do Německa (Müller et al. 2001). Ze studií provedených v minulé dekádě plyne, že parazit vyvolává asymptomatické infekce u jinak zdravých lidí, kteří žijí v tropických oblastech. Organismus byl identifikován v jednom procentu vyšetřovaných vzorků stolice u dětí v Africe a v Asii (Bretagne et al. 1993). V Asii a Africe se *E. bienewsi* nakazili kromě dětí i jejich pečovatelé (Mungthin et al. 2001).

Projevy infekce vyvolané *E. bienewsi* byly popsány hlavně mezi dospělými osobami, kteří trpí poruchami imunity kvůli HIV/AIDS, případně u lidí, kteří užívají imunosupresivní léčbu (Goetz et al. 2001; Botterel et al. 2002). Parazit ale vyvolává onemocnění také u HIV negativních imunokompetentních osob. V takových případech bývá v Evropě a Africe spojován s takzvaným cestovním průjmem (Deluol et al. 1994; Sobottka et al. 1995). Byl zjištěn také u pacientů, kteří prodělali orgánovou transplantaci (Gainzarain et al. 1998; Liguory et al. 2001).

Dosud ale není jasné, zda je parazit zoonoticky přenášen, nebo zda je běžným organismem lidské mikroflóry, a zda tedy vyvolává vážné zdravotní problémy jen při poruchách imunitního systému.

### **Infekce u ptáků**

*Enterocytozoon bienewsi* byl nalezen u mnoha domácích a divokých zvířat včetně ptáků (Rinder et al. 2000; Dengjel et al. 2001; Matos et Azevedo 2004; Matos et al. 2005; Kašičková et al. 2009). Nasnadě je proto otázka, zda některé ze zvířat nemohou být jeho přirozenými rezervoáry, z nichž se zoonoticky přenáší na člověka (Snowden et Phalen 2004; Mathis et al. 2005). Mezi dosud popsané hostitele *E. bienewsi* patří například zástupci čeledi papouškovitých, holubovitých a vrabcovitých (Kašičková et al. 2009). Parazit se vyskytuje jak u volně žijících, tak u domestikovaných ptáků.



V Německu byl parazit odhalen u dvou z osmi kuřat vykazujících projevy nákazy. Vyskytoval se rovněž u šestiny asymptomatických holubů, kteří byli vyšetřeni ve Španělsku (Reetz et al. 2002; Haro et al. 2005). Jen u několika vzorků *E. bienersi* získaných z infekčních ptáků byl určen genotyp. Dva vzorky kuřat z Německa byly infikovány genotypem J, o kterém je známo, že se adaptoval na dobytek (Reetz et al. 2002). Dva genotypy určené ve Španělsku se lišily od všech těch, které byly dosud popsány (Haro et al. 2005). Genotyp Peru6, který byl nalezen v ptácích v Portugalsku, má identické sekvence jako genotyp Peru6, který v roce 2003 popsal Sulaiman a kolektiv v Peru u pacientů s AIDS. Podle Kašičkové a kolektivu (2009) byla infekce *E. bienersi* zjištěna u osminy z 287 vzorků trusu, které pocházely z exotických druhů ptáků prodávaných v České republice. Přibližně 9 procent ptáků bylo infikováno *E. bienersi* spolu s *E. cuniculi*, nebo *E. hellem*. Zjištění podporuje tvrzení o vysokém zoonotickém potenciálu *E. bienersi* a nízké hostitelské specifitě *E. bienersi* (Kašičková et al. 2009).

Na kontaminaci životního prostředí mikrosporidii se mohou vysokou měrou podílet holubi, kteří jsou jedním z přírodních rezervoárů *E. bienersi* (Haro et al. 2005). Parazit se může zoonoticky rozšiřovat také znečištěnou potravou a vodou (Chacín-Bornilla 2006). Infikovaná zvířata přitom nemusejí projevovat symptomy probíhající infekce. Jsou však přímými roznašeči nejen *E. bienersi* (Lobo et al. 2006), ale také dalších druhů, například *E. hellem* (Snowden et Phalen 2004). Mikrosporidie mohou být v ptačích hostitelích výrazně oportunními parazity, podobně jako u člověka (Lobo et al. 2006).

### **Další hostitelé**

Výskyt *E. bienersi* byl prokázán u domestikovaných prasat. Spóry parazita byly poprvé identifikovány ve Švýcarsku v roce 1996 (Deplazes et al. 1996a). Podle studie Breitenmosera (1999) byla ze 109 prasat nakažena více než třetina. Také Buckholt (2002), který zkoumal přítomnost enterocytozoonu ve stolici prasat z oblasti severovýchodní Ameriky, prokázal přítomnost spór v přibližně třetině odebraných vzorků z více než dvou set odchycených zvířat. Nákazy způsobené *E. bienersi* byly popsány také u psů, domestikovaných koček, králíků a kuřat. Nevyhnuły se ani dobytku, či lamám (Mathis et al. 1999; Dengjel et al. 2001; Lores et al. 2002a; Sak et al.

2008). Parazit byl identifikován také u koní. U čtyř zvířat byl popsán *E. bienewisi* genotyp D, který je infekční mimo jiné pro člověka (Santín et al. 2010). Experimentálně se izoláty lidských mikrosporidií podařilo z vyšších savců nakazit makaky (Tzipori et al. 1997) a prasata chovaná v prostředí se známými mikroorganismy (Kondova et al. 1998).

### **Přenos a zdroje lidské infekce**

Nález *E. bienewisi* v lidských imunokompetentních přenašečích naznačuje, že se parazit, nebo aspoň některé z jeho genotypů, přirozeně vyskytují v populaci. Předpoklad, že se mikrosporidie může šířit z jednoho člověka na druhého, podporuje studie provedená mezi thajskými sirotky (Mungthin et al. 2001).

*Enterocytozoon bienewisi* se pravděpodobně může přenášet i vzduchem. Zjištění podporuje nález parazita v plicích osob trpících AIDS (Lores et al. 2002b). Mikrosporidie jsou ve velkém vylučovány v ptáčích exkrementech. Trus schne ve venkovním prostředí velmi rychle a rozpadá se na prach. Inhalace prachu, který obsahuje životaschopné spory, proto může zahájit infekční proces, hlavně v případě osob s poruchami imunity (Lobo et al. 2006). Do dneška bylo odhaleno více než 120 genotypů druhu *Enterocytozoon bienewisi* s mnoha vysoce adaptovanými kmeny, které pravděpodobně nemají příliš velký dopad na lidské zdraví, a které jsou zároveň spojeny se specifickými skupinami zvířat (Santín et al. 2006, 2010). Velká skupina genotypů *E. bienewisi* ale není striktně hostitelsky specifická a často parazituje jak ve zvířatech, tak v lidech (Sulaiman et al. 2003b; Kašičková et al. 2009; Slodkiewicz-Kowalska 2009).

### **3.6.2 *Encephalitozoon* spp.**

V rodu *Encephalitozoon* byly jako lidské patogeny identifikovány tři druhy: (i) *E. cuniculi*, který je široce rozšířený mezi savci (Canning et Lom 1986) a celosvětově mezi domestikovanými králíky; (ii) *E. hellem*, který Didierová a kolektiv v roce 1991 odlišila od *E. cuniculi*, a který byl rovněž popsána mezi ptáky v USA a Indonésii; a (iii) *E. intestinalis*, identifikovaný v roce 1993 mezi imunodeficitními osobami trpícími AIDS (Cali et al. 1993). Všechny výše zmíněné druhy produkují spory, které jsou z morfologického hlediska nerozlišitelné. Vnitrodruhové genetické variability byly dosud

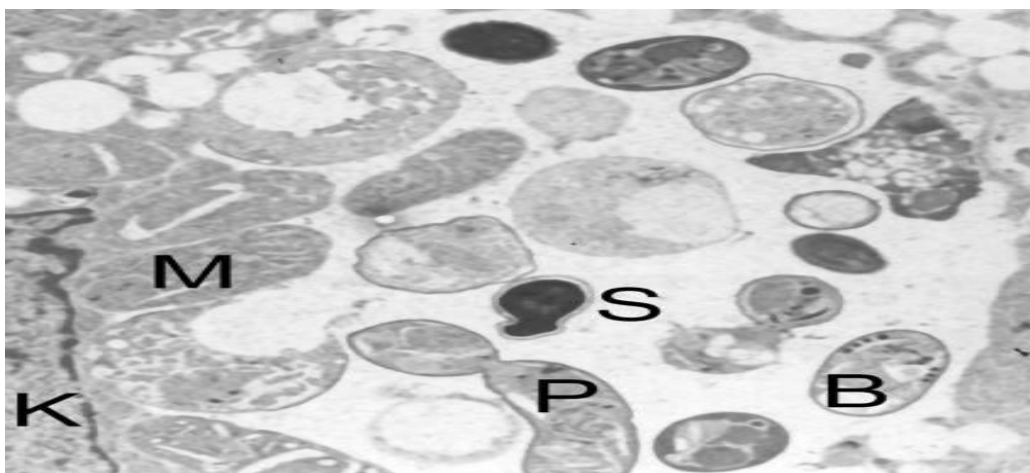
popsány u *E. cuniculi* a *E. hellem*. V rámci *E. cuniculi* rozeznáváme čtyři genotypy (I, II, III a IV) podle hostitelů, ve kterých byly diagnostikovány (králík, myš, pes a člověk) (Furuya 2009; Xiao et al. 2001c). Také v případě *E. hellem* bylo popsáno několik genetických variant (1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C) (Haro et al. 2003). *Encephalitozoon lacertae* (Canning et Lom 1986) jako čtvrtý zástupce rodu *Encephalitozoon* byl objeven pouze u plazů. Geneticky je velmi blízký *E. cuniculi*.

### 3.6.2.1 *Encephalitozoon cuniculi*

#### Infekce u člověka

Vůbec poprvé byla parazitární nákaza vyvolaná *E. cuniculi* (obrázek č. 22) popsána v souvislosti s neurologickými poruchami (Wright et Craighead 1922). U člověka byl parazit diagnostikován v roce 1959 (Matsubayashi et al. 1959). Protože se popis spór mikrosporidie spoléhal pouze na jejich morfologii, nelze potvrdit, že šlo skutečně o infekce vyvolané *E. cuniculi*. Novější diagnózy byly učiněny až díky moderním imunologickým a molekulárním metodám u několika pacientů s HIV, po orgánové transplantaci a u osob s idiopatickým deficitem CD4<sup>+</sup> T-lymfocytů.

#### Obrázek č. 22: Fotografie vývojových fází *Encephalitozoon cuniculi* v hostitelské buňce z elektronového mikroskopu



(K) - jádro hostitelské buňky, (M) - meront, (P) - sporont, který se dělí na dva sporoblasty (B), (S) - dospělá spóra.

Zdroj: Mathis et al. 2005

Z České republiky je znám případ mozkového abscesu, který způsobil *E. cuniculi* současně s koinfekcí *Streptococcus intermedius* v těle diabetického pacienta s nevýrazným oslabením imunitního systému (Ditrich et al. 2011). U lidí může parazit vyvolat onemocnění nervového systému, nebo dokonce multiorgánové poruchy (Ditrich et al. 2011). Většina infekcí dosud proběhla hlavně u imunodeficitních osob s rozvinutým syndromem AIDS (Fournier et al. 2000). Studie Webera z roku 2000 dokumentuje infekci pacienta, který byl HIV negativní. Protilátky proti *E. cuniculi* genotyp II byly nalezeny také u imunokompetentních osob žijících v České republice (Sak et. al. 2011a, 2011b).

Protilátky proti *E. cuniculi* má až 42 procent osob, u kterých proběhlo některé z tropických onemocnění, případně strávili v tropech určitou dobu. Podobná prevalence protilátek byla popsána u lidí s onemocněním ledvin, psychickými a neurologickými poruchami (Hollister et al. 1987). Studie naznačují, že se člověk setkává s *E. cuniculi* často, ve velké většině případů však bez klinického projevu (Mercer et Birbeck 1984; Malčeková et al. 2010a). Parazit je rozšířený celosvětově, jak vyplývá z tabulky č. 8.

**Tabulka č. 8: Hlavní hostitelé a vybraná geografická území, kde byl identifikován *E. cuniculi***

Genotyp	Hostitel	Území
<i>E. cuniculi</i> genotyp I (rabbit genotype)	králík	Švýcarsko, USA, Německo, Itálie, Japonsko, Austrálie
	člověk	Švýcarsko, Itálie, USA
<i>E. cuniculi</i> genotyp II (mouse genotype)	myš	Česká republika, Anglie, USA
	krysa	Švýcarsko
	arktická liška	Norsko, Finsko
<i>E. cuniculi</i> genotyp III (dog genotype)	pes	USA, jižní Afrika
	poloopice	
<i>E. cuniculi</i> genotyp IV (human genotype)	člověk	Francie

Zdroj: Mathis et al. 2005; Talabani et al. 2010

*Encephalitozoon cuniculi* nejspíš není přirozeným lidským patogenem. Jeho zoonotický původ je tudíž značně pravděpodobný. Svědčí o tom i případ šesti pacientů ve Švýcarsku, z nichž dva potvrdili přímý kontakt s králíky. Osoby byly infikovány *E. cuniculi* genotyp I (Mathis et al. 1997, Weber et al. 1997).

Dva pacienti z USA, u kterých byl popsán *E. cuniculi* genotyp III, vlastnili psa. Mikrosporidíóza u psa však potvrzena nebyla (Didier et al. 1996; Teachey et al. 2004). U další osoby s HIV byla v Chile podle klinických příznaků předpokládána infekce *E. cuniculi* genotyp III. Tezi podporovala skutečnost, že se osoba s klinickými příznaky mikrosporidíózy starala o psy (Weitzel et al. 2001).

Diseminovaná infekce, jejíž příčinou byl *Encephalitozoon cuniculi* genotyp IV, byla popsána mimo jiné ve Francii v souvislosti s případem pacienta po transplantaci ledviny (Talabani et al. 2010). Infekční oocysty nebyly v moči nemocného zachyceny až po více než pětíměsíční léčbě albendazolem.

### **Infekce u ptáků**

*Encephalitozoon cuniculi* může díky nízké hostitelské specifitě infikovat širokou řadu zvířat (Didier et al. 1998; Weber et al. 1994). Díky imunohistologické metodě (Reetz 1993, 1999) byl parazit nalezen v kuřatech. V roce 2007 byl popsán u nového ptačího hostitele - australského papouška (Kašičková et al. 2007). Kašičková a kolektiv (2009) posléze diagnostikovali u exotických druhů ptáků *E. cuniculi* genotypu I (2,4%), II (8,0%) a III (0,7%). *Encephalitozoon cuniculi* genotyp II byl popsán také v exkrementech raroha loveckého (*Falco rusticolus*) (Malčková et al. 2010b).

Parazit byl popsán také v trusu asymptomatických andulek (*Melopsittacus undulatus*) vyšetřovaných v České republice (Sak et al. 2010b). Ptáci byli zároveň koinfikováni *E. hellem*. K podobným závěrům dospěl Lee a kolektiv (2011) v případě papoušků chovaných v jihokorejských domácnostech. Také v trusu ptáků byl identifikován člověku nebezpečný *E. cuniculi* genotyp II.

### **Další hostitelé**

*Encephalitozoon cuniculi* může být příčinou zánětu placenty a potratů u koní (Patterson-Kane et al. 2003). Seroepidemiologické studie odhalily protilátky proti

stejnému parazitu také u koz a dobytka (Halánová et al. 1999, 2003). Použitý test ale nebyl pro *E. cuniculi* specifický.

Zatímco v laboratorních podmínkách je možné *E. cuniculi* díky vysoce hygienickému prostředí a pravidelnému screeningu vymýtit (Wasson et Peper 2000), stále zůstává v domácích chovech. Ve Švýcarsku a Anglii byly specifické protilátky proti *E. cuniculi* nalezeny skoro u čtvrtiny zdravých zvířat. V případě zvířat, která byla v přímém kontaktu s nemocnými králíky s projevujícími se symptomy nemoci, byly protilátky diagnostikovány až u 85 procent hostitelů (Deplazes et al. 1996b; Müller 1998; Harcourt-Brown et Holloway 2003). Přírodním rezervoárem *E. cuniculi* jsou pravděpodobně volně žijící divocí králíci (Wilson 1979). Zvířata se mohou infikovat požitím spór, případně jejich přijetím spolu s močí (Baneux et Pognan 2003). Vylučování spór bylo popsáno u 9 z 11 zvířat trpících projevy parazitického onemocnění vyvolaného *E. cuniculi* (Cox et Walden 1972).

V laboratorních a domácích podmínkách patří encefalitozoonóza způsobená *E. cuniculi* mezi celosvětově rozšířenou chorobu, která se vyskytuje u králíků. Chronická infekce probíhá několik let bez příznaků. Vyústit může ve vážné neurologické onemocnění bez ohledu na pohlaví a věk zvířat (Müller 1998), viz obrázek č. 23.

**Obrázek č. 23: Králík postižený tortikolitidou způsobenou parazitem *E. cuniculi***



Zdroj: Mathis et. al. 2005

*Encephalitozoon cuniculi* byl v mnoha případech diagnostikován u myši, krys, křečků a morčat (Canning et Lom 1986; Wasson et Peper 2000). Myši by zároveň mohly být rezervoáry parazita, který napadá arktické lišky a norky (Hersteinsson et al. 1993). V Norsku a Finsku byly lišky infikovány *E. cuniculi* genotyp II. Stejný genotyp se mimo jiné podařilo identifikovat také u myši pocházející z České republiky, viz tabulka 8.

Parazit je schopen infikovat také psy - onemocnění způsobuje *E. cuniculi* genotyp III. Infekce byla popsána v Tanzánii, Jižní Africe a v USA (Shaddock et al. 1978; Botha et al. 1979; Canning et Lom 1986; Snowden et al. 1999). U koček bylo rozpoznáno jen několik případů encefalitozoonózy (Canning et Lom 1986; Lobo et al. 2003).

Onemocnění způsobuje velké ztráty v chovech modrých lišek (*Alopex lagopus*) na severu Evropy (Akerstedt 2002). Vyvolává jej *E. cuniculi* genotyp II. Zjištěno bylo rovněž u mnoha šelem, například u lišek, divokých psů, nebo leopardů. Jsou známy i případy, kdy se nákaza projevila u a opic (Guscetti et al. 2003; Reetz et al. 2004).

### **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Přímý přenos *E. cuniculi* mezi zvířaty a lidmi nebyl dosud jasně prokázán. Díky molekulárním rozborům různých genotypů se ale ukázalo, že různé genotypy parazita nejsou striktně vázány na konkrétního hostitele. Například mikrosporidie, které infikovaly ptáky, jsou stejného genotypu jako ty, které vyvolávají onemocnění u člověka. To mimo jiné svědčí o výrazném zoonotickém potenciálu *E. cuniculi*.

Spóry *E. cuniculi* jsou vysoce odolné a v příznivých podmínkách mohou bez hostitele přežít i několik měsíců (Waller 1979; Li et al. 2003). Ve vodě byly nalezeny stopy po přítomnosti *E. cuniculi* genotyp II (Thurston-Enriquez et al. 2002). Je proto možné, že se parazit šíří požitím infikované vody. Geneticky je příbuzný s *E. hellem* a *E. intestinalis*.

### 3.6.2.2 *Encephalitozoon hellem*

#### Infekce u člověka

Expozice mikrosporidiím včetně *E. hellem* je běžná a chronická mikrosporidióza není u jinak zdravé populace spojena s klinickou manifestací nemoci (Sak et al. 2011a). Výsledky Sakova týmu otevírají otázky ohledně potenciálního rizika, které plyne z reaktivace latentní mikrosporidiózy u osob s oslabeným systémem. Onemocnění může vyústit v život ohrožující chorobu.

Parazit může způsobovat asymptomatické infekce dýchacího ústrojí (Scaglia et al. 1998). V HIV pozitivních pacientech vyvolává rozsáhlé infekce mnoha orgánů, hlavně oka (Font et al. 2003).

#### Infekce u ptáků

Mikrosporidie, a platí to i pro *E. hellem*, jsou častěji nalézány u ptáků (6,1 %) než u savců (0,7 %) (Slodkowicz-Kowalska 2009). Studie, která konvenčními a molekulárními postupy analyzovala exkrementy 570 volně žijících a v zajetí chovaných ptáků, odhalila 21 zvířat, které ve výměšcích šířily různé druhy mikrosporidií, včetně druhů infekčních pro člověka, viz tabulka 6. Mezi popsányými parazity byli *E. hellem* (3,5 %) a *E. intestinalis* (0,2 %) (Slodkowicz-Kowalska et al. 2006). Mikrosporidie bylo mezi vodním ptactvem infikováno 8,6 procenta populace. To je několikanásobně vyšší počet než v případě ptáků, jejichž domovem je souš (1,1 % nakažených). (Slodkowicz-Kowalska et al. 2006).

Podle Slodkowicz-Kowalské a kolektivu (2006) šíří vodní ptáci do prostředí řádově více spór než suchozemští, jak dokumentuje tabulka č. 9. V gramu exkrementů uvolní do prostředí průměrně  $3,6 \times 10^5$  spór, oproti  $4,4 \times 10^4$ . Jediná návštěva infikovaného ptáka může do vodního zdroje vnést  $9,1 \times 10^6$  spór mikrosporidií, které jsou člověku nebezpečné. Ptačí výkaly mohou parazity zamořit značnou plochu přírodních zdrojů, včetně chráněných oblastí pro výrobu pitné vody. Mezi nové hostitele *E. hellem* byly podle stejné studie zařazeny kachny divoké, husy velké, labutě velké, černokrké, černé a koskoroba, jeřábi černí, holubi nikobarští a vrány šedé. Počet zjištěných řádů, pro které je infekční *E. hellem*, se tím rozšířil o další dva (vrubozobí a krátkokřídlí).



**Tabulka č. 9: Počet spór *E. hellem*, které mohou vnášet do prostředí vybrané druhy vodních a suchozemských ptáků**

<b>Hostitel</b>	<b>Počet spór/gram stolice</b>
kachna divoká ( <i>Anas platyrhyncho</i> )	$3,1 \times 10^4$
husa velká ( <i>Anser anser</i> )	$2,6 \times 10^5$
labuť velká ( <i>Cygnus olor</i> )	$5,1 \times 10^5$
vrána černá ( <i>Corvus corone</i> )	$3,1 \times 10^4$
andulka vlnkovaná ( <i>Melopsittacus undulatus</i> )	$2,0 \times 10^3$
holub nikobarský ( <i>Caloenas nicobarica</i> )	$1,0 \times 10^5$

Zdroj: Slodkowicz-Kowalska et al. 2006

Před popisem *E. hellem* (Didier et al. 1991) byly mikrosporidie rodu *Encephalitozoon* zjištěny u papouškovitých. Parazit vyvolává v papoušcích závažné infekce ledvin a střev a vylučování spór výkaly může ukazovat na to, že jsou tyto ptáci významným zdrojem zoonotické infekce. *Encephalitozoon hellem* byl identifikován i mezi pštrosy (*Struthio camelus*) (Snowden et Logan 1999), kolibříky a také mezi astrildovitými ptáky ze severní Austrálie (*Chloebia gouldiae*) (Carlishe et al. 2002). *Encephalitozoon hellem* je zároveň častým parazitem australských hrdliček (*Agapornis roseicollis*) (Canning et Lom 1986; Norton et Prior 1994). Počet popisovaných druhů ptáků, kteří trpí infekcemi způsobenými *E. hellem*, se neustále zvyšuje.

Epidemiologická studie, která zkoumala výskyt parazita ve třech různých ptačích populacích mezi 198 jedinci, našla *E. hellem* ve čtvrtině ze zkoumaných subjektů (Snowden 2004). Způsob přenosu tohoto parazita mezi ptáky je není znám. V rámci pokusu, při němž byla infikována kuřata a krocani spóry *E. hellem*, byla mikrosporidie prokázána pouze v exkrementech kuřat. Výsledky studie ukazují, že některé druhy ptáků jsou jen jejími asymptomatickými přenašeči (Mathis et al. 2005).

Spóry *E. hellem* byly identifikovány v trusu papoušků, pěvců a měkkozobých (Kašíčková et al. 2009). Z téměř tří set vzorků trusu, které byly získány z obchodů s exotickým ptactvem v České republice, obsahovalo oocysty parazita 6,3 procenta. Analýza potvrdila nízkou hostitelskou specifitu *E. hellem*. Parazit byl nalezen také u devíti přirozeně infikovaných andulek (*Melopsittacus undulatus*), většina z nich byly koinfikována *E. cuniculi*. *E. hellem* byl popsán v plicích, játrech a v tenkém střevě. Ani jeden z infikovaných ptáků, který vnašel do prostředí parazitické spory, nevykazoval klinické projevy mikrosporidie (Sak et al. 2010a).

Spóry parazita bývají v ptácích diagnostikovány v ledvinách a střevu. Jejich vylučování pravděpodobně probíhá ve výkalech (Black et al. 1997; Canning et Lom 1986; Norton et Prior 1994; Suter et al. 1998). Black a kolektiv (1997) zaznamenali několik případů encephalitozoonózy s vysokou úmrtností mezi kuřaty, dospělci stejné skupiny ale nebyli parazitem viditelně zasaženi. V některých případech propukla mikrosporidie u ptáků, kteří byli přemístěni do nového území (Canning et Lom 1986, Suter et al. 1998). Pozorování svědčí o tom, že se parazit vyskytuje i v dospělých ptácích a stres z nového prostředí může snížit práh odolnosti k této infekci (Mathis et al. 2005). Podle Bartona (2003) existuje spojitost mezi imunosupresivními ptačími cirkoviry (PBFDV) a zvýšeným výskytem *E. hellem* v ptačích hejnech.

Dosud popsané varianty *E. hellem* ukazují na několik genetických izolátů (Mathis et al. 1999). Genotyp 1, který v diagnostikovaných případech dosud jasně převažuje, byl popsán u několika pacientů z USA (Katiyar et al. 1995, Xiao et al. 2001) a v Evropě (Franzen et al. 1998, Xiao et al. 2001b). Stejný genotyp byl zjištěn také u v divočině chyceného papouška v Indonésii (Suter et al. 1998) a v zástupci papouškovitých z USA (Snowden et al. 2000). Genotypy 2 a 3 (Mathis et al. 1999) a 2b (Xiao et al. 2001c), byly diagnostikovány u lidských izolátů ze Švýcarska a Tanzanie. Genotypů *E. hellem*, které byly dosud objeveny u člověka, existuje nejméně šest (Peuvel et al. 2000; Xiao et al. 2001c; Haro et al. 2003).

### **Další hostitelé**

Experimentálně se *E. hellem* podařilo nakazit myš (Snowden et al. 1998). Onemocnění vyústilo v rozsáhlou systémovou infekci.

## **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Hlavním zdrojem *E. hellem* jsou pravděpodobně vodní ptáci. Bylo zjištěno, že izoláty *E. hellem*, které pocházejí z labutě černé, jsou identické s těmi, které byly identifikovány v těle HIV pozitivního pacienta v USA před deseti lety (Słodkiewicz-Kowalska 2009). Kontaminaci prostředí mikrosporidii způsobují rovněž chovní a přirozeně se vyskytující ptáci včetně druhů, které žijí v zoologických zahradách. *Encephalitozoon hellem* dosud nebyl popsán v povrchových vodách. Nebyla ani zpracována žádná epidemiologická studie, která by poukázala na míru infekčnosti *E. hellem* pro člověka. Nicméně z několika analýz plyne, že lidé s oční mikrosporidiazou chovali, případně byli ve styku s chovanými ptáky (Friedberg et al. 1990; Orenstein et al. 1990; Yee et al. 1991). Spóry vnášené do lidské populace se mohou také přenášet z jednoho člověka na druhého. V případě HIV pozitivních osob byly spory *E. hellem* nalezeny mimo jiné ve výměšcích dýchacího ústrojí, v nosním sekretu a moči (Orenstein et al. 1990a, 1990b; Weber et al. 1993). Výskyt parazita v dolním a horním dýchacím traktu může být důkazem, že se přenáší vzduchem (Schwartz et al. 1992). Pravděpodobný je také přenos krví (Gatti et al. 1997), nebo kontaminovanou potravou.

### **3.6.2.3 *Encephalitozoon intestinalis***

#### **Infekce u člověka**

Lidskou mikrosporidiazu nejčastěji vyvolávají *E. bienersi* a *E. intestinalis*. Onemocnění bylo zjištěno u HIV pozitivních pacientů na všech kontinentech kromě Antarktidy a Arktidy (Coyle et al. 1996; Boldorini et al. 1998; Leder et al. 1998; Ferreira et al. 2001; Graczyk et al. 2002).

U nemocných s rozvinutým AIDS se může vyvinout několik zároveň probíhajících parazitárních onemocnění, která nezávisle na sobě vyvolávají *E. intestinalis* a *E. bienersi* (Franzen et al. 1998). Podle Lucy a kolektivu (2008) je *E. intestinalis* více rozšířen, než se dosud předpokládalo. Tato mikrosporidie byla objevena také u HIV negativních osob s cestovním průjmem (Raynaud et al. 1998). Protilátky proti parazitu má velká část imunokompetentní populace (van Gool et al. 1997).

## **Infekce u ptáků**

Na přítomnost *E. intestinalis* v tělech ptáků upozornila v roce 2006 studie Slodkowicz-Kowalské a kolektivu. Spóry do prostředí vnášela husa domácí. Stejný parazit byl identifikován také u holubů chovaných na farmě a u divokých vran (Slodkowicz-Kowalska 2009).

## **Další hostitelé**

Experimentálně nakažené myši vylučují spóry *E. intestinalis* náhodně a v nevelkém množství (Achbarou et al. 1996). Situace se podobá stavu prasat, která byla nakažena *E. bienewisi* (Breitenmoser et al. 1999). Podle Graczyka a kolektivu (2002) trpěly stejným onemocněním i horské gorily a rovněž lidé, kteří se pohybovali v jejich prostředí. Spóry *E. intestinalis* byly objeveny také ve výkalech lemuru vari (*Varecia variegata rubra*), resp. kata (*Lemur catta*) (Slodkowicz-Kowalska 2009).

## **Přenos a možné zdroje lidské infekce**

Přenos *E. intestinalis* na člověka je nejasný. Infekce propuká v různých místech (střevo, dýchací systém, oči) (Franzen et Müller 2001) a spóry jsou vylučovány do okolí stolicí, mohou být inhalovány, nebo se do těla dostanou kontaminovanými prsty. Voda může být dalším způsobem přenosu parazita na člověka. *E. intestinalis* byl zachycen v povrchové i podpovrchové vodě (Dowd et al. 1998; Thurston-Enriquez et al. 2002). Parazit byl popsán ve vzorcích odebraných z vodních toků (Graczyk et al. 2004). Kontakt s kontaminovaným prostředím může být z tohoto důvodu rizikový. Stejně nebezpečný je podle Slodkowicz-Kowalské (2009) kontakt s holuby, vránami a husami. Ptáci mohou být zdrojem zoonotických infekcí hlavně pro chovatele a ornitology. Výskyt mikrosporidií u ptactva v zoologických zahradách tak nemusí představovat velké riziko jen pro ošetřovatele, ale také pro návštěvníky (Slodkowicz-Kowalska 2009).

## 4 Návrhy dalšího výzkumu a prevence

Ze zpracované literární rešerše vyplývá, že mikrosporidie a kryptosporidie mohou být nakažlivé pro bezpočet živočišných druhů. Na základě těchto údajů lze vyvodit, že volně žijící i chovaní ptáci mohou být aktivními i pasivními roznašeči kryptosporidií a mikrosporidií. Svými exkrementy mohou kontaminovat životní prostředí a být jedním z faktorů epidemie lidské kryptosporidiózy a mikrosporidiózy.

Bakalářská práce upozorňuje rovněž na to, že ani po mnohaletém výzkumu, který byl věnován oběma výše zmíněným parazitárním onemocněním, není znám jejich přesný způsob přenosu z ptáků na člověka.

Další výzkum a prevence by se měl zaměřit na tyto vybrané oblasti:

1. Navrhnout nové možnosti dezinfekce vodních zdrojů jako účinný nástroj před epidemiemi, které mohou vyvolat zoonotické druhy kryptosporidií a mikrosporidií.
2. Identifikovat a detailně popsat další genotypy dnes známých druhů zoonotických mikrosporidií.
3. Na základě fylogenetických dat vytipovat nové druhy kryptosporidií a mikrosporidií, které mohou být infekční pro člověka.
4. Pro *Cryptosporidium baileyi* ověřit možnou infekčnost pro lidského hostitele. Nebezpečnost této kryptosporidie pro člověka byla dosud popsána pouze v jediné studii.
5. Nalézt další hostitele genotypů druhu *Cryptosporidium*, které byly izolovány z ptáků, tedy *C. avian* genotype I, II, III, IV a V, *C. goose* genotype I a II, *C. duck* genotype a *C. Eurasian woodcock* genotype a identifikovat jejich další možné přírodní rezervoáry.
6. Zpracovat nové detailní studie, na jejichž základě bude přesně popsán způsob přenosu zoonotických druhů kryptosporidií a mikrosporidií na člověka.
7. Podrobně analyzovat odpověď lidského a ptačího imunitního systému na infekci způsobenou kryptosporidiiemi a mikrosporidiiemi.

8. Molekulárními analýzami ověřit hypotézu, zda jsou genotypy *E. bieneusi* zoonotického charakteru, nebo zda vznikly při adaptaci na člověka.
9. Lidé s oslabeným imunitním systémem by měli pitnou vodu před užitím převařovat.
10. Osoby s oslabeným imunitním systémem by se měly vyhnout koupání v přírodních vodních nádržích, rybnících, i ve veřejných bazénech.
11. Osoby se sníženou imunitou by pokud možno neměly přijít do styku s trusem infikovaných zvířat, či lidí. Prachovými částmi se mohou přenášet některé druhy mikroskopických parazitů. V úvahu tak připadá nošení roušky v místech s předpokládaným výskytem mnoha druhů živočichů, a tedy i jejich exkrementů a dalších výměšků.
12. Pečlivé omývání potravin by mělo být samozřejmostí i pro jinak zdravé osoby s normální funkcí imunitního systému. Mikrosopičtí parazité se mohou přenášet také spolu s užitou závlahovou vodou.

## 5 Přehled použité literatury

- ABE N., ISEKI M. (2004). Identification of *Cryptosporidium* isolates from cockatiels by direct sequencing of the PCR-amplified small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitol. Res.*, 92:523-526.
- ABE N., MAKINO I. (2010). Multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium* isolates from cockatiels, Japan. *Parasitol Res.*, 106:1491-1497.
- ACHBAROU A., OMBROUCK C., GNERAGBE T., CHARLOTTE F., RÉNIA L., DESPORTES-LIVAGE I., MAZIER D. (1996). Experimental model for human intestinal microsporidiosis in interferon gamma receptor knockout mice infected by *Encephalitozoon intestinalis*. *Parasite Immunol.*, 18:387-92.
- AKERSTEDT J. (2002). An indirect ELISA for detection of *Encephalitozoon cuniculi* infection in farmed blue foxes (*Alopex lagopus*). *Acta. Vet. Scand.*, 43:211-220.
- AKIYOSHI D. E., DILO J., PEARSON C., CHAPMAN S., TUMWINE J., TZIPORI S. (2003). Characterization of *Cryptosporidium meleagridis* of human origin passaged through different host species. *Infect. Immun.*, 71:1828-1832.
- AKIYOSHI D. E., FENG X., BUCKHOLT M. A., WIDMER G., TZIPORI S. (2002). Genetic Analysis of a *Cryptosporidium parvum* human genotype 1 isolate passaged through different host species. *Infect. Immun.*, 70:5670-5675.
- ALVES M., MATOS O., PEREIRA DA FONSECA I., DELGADO E., LOURENCO A. M., ANTUNES F. (2001). Multilocus genotyping of *Cryptosporidium* isolates from human HIV-infected and animal hosts. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2001:17-18.
- ALVES M., MATOS O., SPANO F., ANTUNES F. (2000). PCR-RFLP analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from HIV-infected patients in Lisbon, Portugal. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 94:291-297.
- ANDERSON B. C. (1991). Prevalence of *Cryptosporidium muris*-like oocysts among cattle populations of the United States: preliminary report. *J. Protozool.*, 38:14-15.
- ANTUNES R. G., SIMÕES D. C., NAKAMURA A. A., MEIRELES M. V. (2008). Natural infection with *Cryptosporidium galli* in canaries (*Serinus canaria*), in a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) and in lesser seed-finches (*Oryzoborus angolensis*) from Brazil. *Avian Dis.*, 52:702-705.
- AWAD-EL-KARIEM F. M., ROBINSON H. A., DYSON D. A., EVANS D., WRIGHT S., FOX M. T., McDONALD V. (1995). Differentiation between human and animal strains of *Cryptosporidium parvum* using isoenzyme typing. *Parasitology*, 110:129-132.

- AWAD-EL-KARIEM F. M., ROBINSON H. A., PETRY F., McDONALD V., EVANS D., CASEMORE D. (1998). Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using molecular and biological markers. *Parasitol. Res.*, 84:297-301.
- BANEUX P. J., POGNAN F. (2003). In utero transmission of *Encephalitozoon cuniculi* strain type I in rabbits. *Lab. Anim.*, 37:132-8.
- BARTON C. S., PHALEN D. N., SNOWDEN K. F. (2003). Prevalence of microsporidian spores shed by asymptomatic lovebirds: evidence for a potential emerging zoonosis. *J. Avian. Med. Surg.*, 17:197-202.
- BLACK S. S., STEINOHRT L. A., BERTUCCI D. C., ROGERS L. B., DIDIER E. S. (1997). *Encephalitozoon hellem* in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Vet. Pathol.*, 34:189-198.
- BLAGBURN B. L., CURRENT W. L. (1983). Accidental infection of a researcher with human *Cryptosporidium*. *J. Infect. Dis.*, 148:772-773.
- BOLDORINI R., MONGA G., TOSONI A., DIDIER E. S., NEBULONI M., COSTANZI G., MAZZUCCO G., ORENSTEIN J. M. (1998). Renal *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* infection in a patient with AIDS. Post-mortem identification by means of transmission electron microscopy and PCR. *Virchows Arch.*, 432:535-539.
- BOTHA W. S., VAN DELLEN A. F., STEWART C. G. (1979) Canine encephalitozoonosis in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 50:135-144.
- BOTTEREL F., MINOZZI C., VITTECOQ D., BOURÉE P. (2002). Pulmonary localization of *Enterocytozoon bieneusi* in an AIDS patient: Case Report and Review. *J. Clin. Microbiol.*, 40:4800-4801.
- BREITENMOSER A. C., MATHIS A., BURGI E., WEBER R., DEPLAZES P. (1999). High prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine with four genotypes that differ from those identified in humans. *Parasitology*, 118:447-453.
- BRETAGNE S., FOULET F., ALKASSOUM W., FLEURY-FEITH J., DEVELOUX M. (1993). Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* spores in the stool of AIDS patients and african children not infected by HIV. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 86:351-357.
- BUCKHOLT M. A., LEEM J. H., TZIPORI S. (2002). Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: An 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Applied Environ. Microbiol.*, 68:2595-2599.
- BURET A. G., CHIN A. C., SCOTT K. G. (2003). Infection of human and bovine epithelial cells with *Cryptosporidium andersoni* induces apoptosis and disrupts tight junctional ZO-1: effects of epidermal growth factor. *Int. J. Parasitol.*, 33:1363-1371.



- CACCIÒ S. M. (2005). Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parassitology*, 47:185-192.
- CACCIÒ S. M., POZIO E. (2006). Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 4:429-443.
- CACCIÒ S. M., THOMPSON R. C. A., MCCLAUCHLIN J., SMITH H. V. (2005). Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol.*, 21:430-437.
- CALI A., KOTLER D. P., ORENSTEIN J. K. (1993). *Septata intestinali* n. g., n. sp., an intestinal microsporidian associated with chronic diarrhoea and dissemination in AIDS patients. *J. Euk. Microbiol.*, 40:101-112.
- CAMA V. A., BERN C., ROBERTS J., CABRERA L., STERLING C. R., ORTEGA Y., GILMAN R. H., XIAO L. (2008). *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerg. Infect. Dis.*, 14:1567-1574.
- CANNING E. U., LOM J. (1986). The microsporidia of vertebrates. Academic Press, UK, London, 289s.
- CARLISLE S. J., MARCIANO-CABRAL F., STAAB A., LUDWICK C., CABRAL G. A. (2002). Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. *In. Imm.*, 2:69-82.
- CARLSON J. R., LI L., HELTON C. L., MUNN R. J., WASSON K., PEREZ R. V., GALLAY B. J., FINKBEINER W. E. (2004). Disseminated microsporidiosis in a pancreas/kidney transplant recipient. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 128:41-43.
- CARRENO R. A., MARTIN D. S., BARTA J. R. (1999). *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Parasitol. Res.*, 85:899-904.
- CDC (2012). Dostupné z: <http://www.cdc.gov>, staženo dne 20. února 2012.
- CISSE A. O., OUATTARA A., THELLIER M., ACCOCEBERRY I., BILIGUI S., MINTA D., DOUMBO O., DESPORTES-LIVAGE I., THERA M. A., DANIS M., DATRY A. (2002). Evaluation of an immunofluorescent-antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bienersi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali). *J. Clin. Microbiol.*, 40:1715-1718.
- CONTEAS C. N., BERLIN O. G., LARIVIERE M. J., PANDHUMASS S. S., SPECK C. E., PORSCHE R., NAKAYA T. (1998). Examination of the prevalence and seasonal variations of intestinal microsporidiosis in the stools of persons with chronic diarrhea and human immunodeficiency virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 58:559-556.

- CORRADI N., KEELING P. J. (2009). *Microsporidia*: a journey through radical taxonomical revisions. *Fung. Biol. Rev.*, 23:1-8.
- CORSO P. S., KRAMER M. H., BLAIR A. K., ADDISS D. G., DAVIS J. P., HADDIX A. C. (2003). Costs of Illness in the 1993 Waterborne *Cryptosporidium* Outbreak, Milwaukee, Wisconsin. *Emerg. Infect. Dis.*, 9:426-431.
- COTTE L., RABODONIRINA M., CHAPUIS F., BAILLY F., BISSUEL F., RAYNAL C., GELAS P., PERSAT F., PIENS M. A., TREPO C. (1999). Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in persons with and without human immunodeficiency virus infection. *J. Infect. Dis.*, 180:2003-2008.
- COX J. C., WALDEN N. B. (1972). Presumptive diagnosis of *Nosema cuniculi* in rabbits by immunofluorescence. *Res. Vet. Sci.*, 13:595-597.
- COYLE C. M., WITTNER M., KOTLER D. P., NOYER C., ORENSTEIN J. M., TANOWITZ H. B., WEISS L. M. (1996). Prevalence of microsporidiosis due to *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* among patients with AIDS-related diarrhea: determination by polymerase chain reaction to the microsporidian small-subunit rRNA gene. *Clin. Infect. Dis.*, 23:1002-1006.
- CURRENT W. L., REESE N. C., ERNST J. V., BAILEY W. S., HEYMAN M. B., WEINSTEIN W. M. (1983). Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. *N. Engl. J. Med.*, 308:1252-1257.
- CURRENT W. L., UPTON S. J., HAYNES T. B. (1986). The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J. Protozool.*, 33:289-296.
- DELUOL A. M., POIROT J. L., HEYER F., ROUX P., LEVY D., ROZENBAUM W. (1994). Intestinal microsporidiosis: about clinical characteristics and laboratory diagnosis. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 41:33s.
- DENGJEL B., ZAHLER M., HERMANN S., HEINRITZI K., SPILLMANN T., THOMASCHKE A., LOSCHER T., GOTHE R., RINDER H. (2001). Zoonotic potential of *Enterocytozoon bieneusi*. *J. Clin. Microbiol.*, 39:4495-4499.
- DEPLAZES P., MATHIS A., BAUMGARTNER R., TANNER I., WEBER R. (1996b). Immunologic and molecular characterization of *E. cuniculi*-like microsporidia from humans and rabbits indicates that *E. cuniculi* is a zoonotic parasite. *Clin. Inf. Dis.*, 22:557-559.
- DEPLAZES P., MATHIS A., MÜLLER C., WEBER R. (1996a). Molecular epidemiology of *Encephalitozoon cuniculi* and first detection of *Enterocytozoon bieneusi* in faecal samples of pigs. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 43:93s.

- DESPORTES I., LE CHARPENTIER Y., GALIAN A., BERNARD F., COCHAND-PRIOU B., LAVERGNE A., RAVISSE P., MODIGLIANI R. (1985). Occurrence of a new microsporidan: *Enterocytozoon bieneusi* n. g., n. sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J. Protozool.*, 32:250-254.
- DIDIER E. S., DIDIER P. J., FRIEDBERG D. N., STENSON S. M., ORENSTEIN J. M., YEE R. W., TIO F. O., DAVIS R. M., VOSSBRINCK C., MILLICHAMP N., SHADDUCK J. A. (1991). Isolation and characterization of a new human microsporidian, *Encephalitozoon hellem* (n. sp.), from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J. Infect. Dis.*, 163:617-621.
- DIDIER E. S., SNOWDEN K. F., SHADDUCK J. A. (1998). Biology of microsporidian species infecting mammals. *Adv. Parasitol.*, 40:283-320.
- DIDIER E. S., VISVESVARA G. S., BAKER M. D., ROGERS L. B., BERTUCCI D. C., DE GROOTE M. A., VOSSBRINCK C. R. (1996). A microsporidian isolated from an AIDS patient corresponds to *Encephalitozoon cuniculi* III, originally isolated from domestic dogs. *J. Clin. Microbiol.*, 34:2835-2837.
- DIDIER E. S., WEISS L. M. (2008). Overview of *microsporidia* and microsporidiosis. *Protist.*, 5:243-255.
- DILLINGHAM R. A., LIMA A. A., GUERRANT R. L. (2002). Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes Infect.*, 4:1059-1066.
- DITRICH O., CHRDLA A., SAK B., CHMELÍK V., KUBÁLE J., DYKOVÁ I., KVÁČ M. (2011). *Encephalitozoon cuniculi* genotype I as a causative agent of brain abscess in an immunocompetent patient. *J. Clin. Microbiol.*, 49:2769-2771.
- DITRICH O., PALKOVIČ L., STĚRBA J., PROKOPIČ J., LOUDOVÁ J., GIBODA M. (1991). The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. *Parasitol. Res.*, 77:44-47.
- DOCKER M. F., KENT M. L., HERVIO D. M. L., KHATTRA J. S., WEISS L. M., CALI A., DEVLIN R. H. (1997). Ribosomal DNA sequence of *Nucleospora salmonis* Hedrick, Groff and Baxa, 1991 (Microsporea: Enterocytozoonidae): Implications for phylogeny and nomenclature. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 44:55-60.
- DOWD S. E., GERBA C. P., PEPPER I. L. (1998). Confirmation of the human-pathogenic microsporidia *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis*, and *Vittaforma corneae* in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64:3332-3335.
- DUBEY J. P., MARKOVITS J. E., KILLARY K. A. (2002). *Cryptosporidium muris*-like infection in stomach of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Vet. Pathol.*, 39:363-371.
- FAYER R. (1997). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. CRC Press, USA, Boca Raton, 251s.

- FAYER R. (2007). General biology. In: Fayer R., Xiao L. (Eds.), *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. Second edition, CRC Press, Boca Raton, pp. 1-42.
- FAYER R., SANTÍN M. (2009). *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). *Vet. Parasitol.*, 164:192-200.
- FAYER R., SANTÍN M., MACARISIN D. (2010). *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Vet. Parasitol.*, 27:23-32.
- FAYER R., SANTÍN M., TROUT J. M. (2008). *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet. Parasitol.*, 156:191-198.
- FELTUS D. C., GIDDINGS C. W., SCHNECK B. L., MONSON T., WARSHAUER D., MCEVOY J. M. (2006). Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. *J. Clin. Microbiol.*, 44:4303-4308.
- FERREIRA F. M., BEZERRA L., SANTOS M. B, BERNARDES R. M., AVELINO I., SILVA M. L. (2001). Intestinal microsporidiosis: a current infection in HIV-seropositive patients in Portugal. *Microb. Infect.*, 3:1015-1019.
- FLETA J., SANCHEZ-ACEDO C., CLAVEL A., QUILEZ J. (1995). Detection of *Cryptosporidium* oocysts in extraintestinal tissues of sheep and pigs. *Vet. Parasitol.*, 59:201-205.
- FONT R. L., SU G. W., MATOBA A. Y. (2003). Microsporidial stromal keratitis. *Arch. Ophthalmol.*, 121:1045-1047.
- FONTÁN-SAINZ M., GÓMEZ-COUSO H., FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ P., ARES-MAZÁS E. (2012). Evaluation of the solar water disinfection process (SODIS) against *Cryptosporidium parvum* using a 25-L static solar reactor fitted with a compound parabolic collector (CPC). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 86:223-228.
- FOURNIER S., LIGUORY O., SANTILLANA-HAYAT M., GUILLOT E., SARFATI C., DUMOUTIER N., MOLINA J., DEROUIN F. (2000). Detection of microsporidia in surface water: a one-year follow-up study. *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, 29:95-100.
- FRANZEN (2005). How do microsporidia invade cells? *Folia Parasitol.*, 52:36-40.
- FRANZEN C., MÜLLER A. (2001). Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. *Microbes Infect.*, 3:389-400.
- FRANZEN C., MÜLLER A., HARTMANN P., HEGENER P., SCHRAPPE M., DIEHL V., FÄTKENHEUER G., SALZBERGER B. (1998). Polymerase chain reaction for diagnosis and species differentiation of microsporidia. *Folia Parasitol.*, 45:140-148.
- FRANZEN C., MÜLLER A., HEGENER P., HARTMANN P., SALZBERGER B., FRANZEN B., DIEHL V., FÄTKENHEUER G. (1996). Polymerase chain reaction for microsporidian DNA in gastrointestinal biopsy specimens of HIV-infected patients. *AIDS*, 10:23-27.

- FRIEDBERG D. N., STENSON S. M., ORENSTEIN J. M., TIerno P. M., CHARLES N. C. (1990). Microsporidial keratoconjunctivitis in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch. Ophthalmol.*, 108:504-508.
- FURUYA K. (2009). Spore-forming microsporidian encephalitozoon: current understanding of infection and prevention in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62:413-422.
- GAINZARAIN C., CANUT A., LOZANO M., LABORA A., CARRERAS F., FENOY S., NAVAJAS R., PIENIAZEK N. J., DA SILVA A. J., DEL AGUILA C. (1998). Detection of *Enterocytozoon bieneusi* in two human immunodeficiency virus-negative patients with chronic diarrhea by polymerase chain reaction in duodenal biopsy specimens and review. *Clin. Infect. Dis.*, 27:394-398.
- GAMBOA-DOMINGUEZ A., DE ANDA J., DONIS J., RUIZ-MAZA F., VISVESVARA G. S., DILIZ H. (2003). Disseminated *encephalitozoon cuniculi* infection in a Mexican kidney transplant recipient. *Transplantation*, 75:1898-1900.
- GASSER R. B., ZHU X., CACCIO S., CHALMERS R., WIDMER G., MORGAN U. M., THOMPSON R. C., POZIO E., BROWNING G. F. (2001). Genotyping *Cryptosporidium parvum* by single-strand conformation polymorphism analysis of ribosomal and heat shock gene regions. *Electrophor.* 22:433-437.
- GATEI W., ASHFORD R. W., BEECHING N. J., KAMWATI S. K., GREENSILL J., HART C. A. (2002a). *Cryptosporidium muris* infection in an HIV-infected adult, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.*, 8:204-206.
- GATEI W., SUPUTTAMONGKOL Y., WAYWA D., ASHFORD D. W., BAILEY J. W., GREENSILL J., BEECHING N. J., HART C. A. (2002b). Zoonotic species of *Cryptosporidium* are as prevalent as the anthroponotic in HIV-infected patients in Thailand. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 96:797-802.
- GATTI S., SACCHI L., NOVATI S., CORONA S., BERNUZZI A. M., MOURA H., PIENIAZEK N. J., VISVESVARA G. S., SCAGLIA M. (1997). Extraintestinal microsporidiosis in AIDS patients: clinical features and advanced protocols for diagnosis and characterization of the isolates. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 44:79s.
- GHARAGOZLOU M. J., DEZFOULIAN O., RAHBARI S., BOKAIE S., JAHANZAD I., RAZAVI A. N. E. (2006). Intestinal cryptosporidiosis in turkeys in Iran. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 53:282-285.
- GILES M., WEBSTER K. A., MARSHALL J. A., CATCHPOLE J., GODDARD T. M. (2001). Experimental infection of a lamb with *Cryptosporidium parvum* genotype 1. *Vet. Rec.*, 149:523-525.
- GOETZ M., EICHENLAUB S., PAPE G. R., HOFFMANN R. M. (2001). Chronic diarrhea as a result of intestinal microsporidiosis in a liver transplant recipient. *Trans.*, 71:334-337.

- GOMES R. S., HUBER F., DA SILVA S., BERGAMO DO BOMFIM T. C. (2012). *Cryptosporidium* spp. parasitize exotic birds that are commercialized in markets, commercial aviaries and pet shops. *Parasitol. Res.*, 110:1363-1370.
- GRACZYK T. K., BOSCO-NIZEYI J., DA SILVA A. J., MOURA I. N., PIENIAZEK N. J., CRANFIELD M. R., LINDQUIST H. D. (2002). A single genotype of *Encephalitozoon intestinalis* infects free-ranging gorillas and people sharing their habitats in Uganda. *Parasitol. Res.*, 88:926-931.
- GRACZYK T. K., CONN D. B., LUCY F., MINCHIN D., TAMANG L., MOURA L. N., DA SILVA A. J. (2004). Human waterborne parasites in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) from the Shannon River drainage area, Ireland. *Parasitol. Res.*, 93:385-391.
- GRACZYK T. K., CRANFIELD M. R. (1998). Experimental transmission of *Cryptosporidium* oocyst isolates from mammals, birds and reptiles to captive snakes. *Vet. Res.*, 29:187-195.
- GRACZYK T. K., CRANFIELD M. R., FAYER R., ANDERSON M. S. (1996). Viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts are retained upon intestinal passage through a refractory avian host. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62:3234-3237.
- GRACZYK T. K., FAYER R., TROUT J. M., LEWIS E. J., FARLEY C. A., SULAIMAN I., LAL A. A. (1998). *Giardia* sp. cysts and infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in the feces of migratory Canada geese (*Branta canadensis*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 64:2736-2738.
- GUMBO T., SARBAH S., GANGAIDZO I. T., ORTEGA Y., STERLING C. R., CARVILLE A., TZIPORI S., WIEST P. M. (1999). Intestinal parasites in patients with diarrhea and human immunodeficiency virus infection in Zimbabwe. *AIDS*, 13:819-821.
- GUSCETTI F., MATHIS A., HATT J. M., DEPLAZES P. (2003). Overt fatal and chronic subclinical *Encephalitozoon cuniculi* microsporidiosis in a colony of captive emperor tamarins (*Saguinus imperator*). *J. Med. Primatol.*, 32:111-119.
- GUYOT K., FOLLET-DUMOULIN A., LELIEVRE E., SARFATI C., RABODONIRINA M., NEVEZ G., CAILLIEZ J. C., CAMUS D., DEI-CAS E. (2001). Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates obtained from humans in France. *J. Clin. Microbiol.*, 39:3472-3480.
- HAJDUŠEK O., DITRICH O., ŠLAPETA J. (2004). Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in animal and human hosts from the Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, 122:183-192.

- HALÁNOVÁ M., CISLÁKOVÁ L., VALENČÁKOVÁ A., BÁLENT P., ADAM J., TRÁVNÍČEK M. (2003). Serological screening of occurrence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in humans and animals in Eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ Med.*, 10:117-120.
- HALÁNOVÁ M., LETKOVÁ V., MACÁK V., STEFKOVIC M., HALÁN M. (1999). The first finding of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in cows in Slovakia. *Vet. Parasitol.*, 82:167-171.
- HARCOURT-BROWN F. M., HOLLOWAY H. K. (2003). *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits. *Vet. Rec.*, 152:427-431.
- HARO M., DEL AGUILA C., FENOY S., HENRIQUES-GIL N. (2003). Intraspecies genotype variability of the microsporidian parasite *Encephalitozoon hellem*. *J. Clin. Microbiol.*, 41:4166-4171.
- HARO M., IZQUIERDO F., HENRIQUES-GIL N., ANDRÉS I., ALONSO F., FENOY S., DE LAGUILA C. (2005). First detection and genotyping of human-associated microsporidia in pigeons from urban parks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71:3153-3157.
- HART C. A. (1999). Cryptosporidiosis. In: Gilles H. M. (Ed.), *Protozoal Diseases*, Hodder Arnold Publishers, London, pp. 592-610.
- HASHIMOTO K., SASAKI Y., TAKINAMI K. (1976). Conditions for extrusion of the polar filament of the spore of *Plistophora anguillarum*, a microsporidian parasite in *Anguilla japonica*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 42:837-845.
- HERSTEINSSON P., GUNNARSSON E., HJARTARDÓTTIR S., SKÍRNISSON K. (1993). Prevalence of *Encephalitozoon cuniculi* antibodies in terrestrial mammals in Iceland, 1986 to 1989. *Wildl. J. Dis.*, 29:341-344.
- HESTER F. D., LINQUIST H. D. A., BOBST A. M., SCHAFFER F. W. (2000). Fluorescent in situ detection of *Encephalitozoon hellem* spores with a 6-carboxyfluorescein-labeled ribosomal RNA-targeted oligonucleotide probe. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 47:299-308.
- HOLLISTER W. S., CANNING E. U. (1987). An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and its use in determination of infections in man. *Parasitology*, 94:209-219.
- HUANG R. L., CHAO C. F., DING D. C., YU C. P., CHANG C. C., LAI H. C., YU M. H., LIU H. S., CHU T. Y. (2004). Multiple epithelial and nonepithelial tumors in hereditary nonpolyposis colorectal cancer: characterization of germline and somatic mutations of the MSH2 gene and heterogeneity of replication error phenotypes. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 153:108-114.
- HUNTER P. R., HUGHES S., WOODHOUSE S., RAJ N., SYED Q., CHALMERS R. M., VERLANDER N. Q., GOODACRE J. (2004). Health sequelae of human cryptosporidiosis in immunocompetent patients. *Clin. Infect. Dis.*, 39:504-510.

- HUNTER P. R., NICHOLS G. (2002). Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev.*, 15:145-54.
- HUNTER P. R., THOMPSON R. C. (2005). The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Int. J. Parasitol.*, 35:1181-1190.
- HUNTER P. R., WAITE M., RONCHI E. (2003). Drinking water and infectious disease establishing the links. CRC Press, USA, Boca Raton, 221s.
- CHACÍN-BORNILLA L. (2006). Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection. *Invest. Clin.*, 47:105-107.
- CHALMERS R. M., DAVIES A. P. (2010). Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Exp. Parasitol.*, 124:138-146.
- CHALMERS R. M., STURDEE A. P., BULL S. A., MILLER A., WRIGHT S. E. (1997). The prevalence of *Cryptosporidium parvum* and *C. muris* in *Mus domesticus*, *Apodemus sylvaticus* and *Clethrionomys glareolus* in an agricultural system. *Parasitol. Res.*, 83:478-482.
- CHAN C. M., THENG J. T., LI L., TAN D. T. (2003). Microsporidial keratoconjunctivitis in healthy individuals: a case series. *Ophthalmology*, 110:1420-1425.
- CHAPPELL C. L., CHAPPELL C. L., OKHUYSEN P. C., LANGER-CURRY R. C., AKIYOSHI D. E., WIDMER G., TZIPORI S. (2011). *Cryptosporidium meleagridis*: Infectivity in healthy adult volunteers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85:238-242.
- CHARLES K., ROSER D., ASHBOLT N., DEERE D., MCGUINNESS R. (2003). Buffer distances for on-site sewage systems in Sydney's drinking water catchments. *Water Sci. Technol.*, 47:183-189.
- CHEADLE M. A., TOIVIO-KINNUCAN M., BLAGBURN B. (1999). The ultrastructure of gametogenesis of *Cryptosporidium baileyi* (Eimeriorina; Cryptosporidiidae) in the respiratory tract of broiler chickens (*Gallus domesticus*). *J. Parasitol.*, 85:609-615.
- CHECKLEY W., EPSTEIN L. D., GILMAN R. H., BLACK R. E., CABRERA L., STERLING C. R. (1998). Effects of *Cryptosporidium parvum* infection in Peruvian children: growth faltering and subsequent catch-up growth. *Am. J. Epidemiol.*, 148:497-506.
- CHECKLEY W., GILMAN R. H., EPSTEIN L. D., SUAREZ M., DIAZ J. F., CABRERA L., BLACK R. E., STERLING C. R. (1997). Asymptomatic and symptomatic cryptosporidiosis: their acute effect on weight gain in Peruvian children. *Am. J. Epidemiol.*, 145:156-163.



- CHOUHDARY M. M., METCALFE M. G., ARRAMBIDE K., BERN C., VISVESVARA G. S., PIENIAZEK N. J., BANDEA R. D., DELEON-CARNES M., ADEM P., CHOUHDARY M. M., ZAKI S. R., SAEED M. U. (2011). *Tubulinosema* sp. microsporidian myositis in immunosuppressed patient. *Emerg. Infect. Dis.*, 17:1727-1730.
- IQBAL A., LIM Y. A., SURIN J., SIM B. L. (2012). High diversity of *Cryptosporidium* subgenotypes identified in Malaysian HIV/AIDS individuals targeting gp60 gene. *PLoS One*, 7:31139.
- JELLISON K. L., DISTEL D. L., HEMOND H. F., SCHAUER D. B. (2004). Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada geese (*Branta canadensis*): evidence for five novel genotypes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70:452-458.
- JIANG J., ALDERISIO A. K., XIAO L. (2005). Distribution of *Cryptosporidium* genotypes in storm event water samples from three watersheds in New York. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71:4446-4454.
- JIRKŮ M., VALIGUROVÁ A., KOUDELA B., KRÍŽEK J., MODRÝ D., ŠLAPETA J. (2008). New species of *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa) from amphibian host: morphology, biology and phylogeny. *Folia Parasitol.*, 55:81-94.
- KAŠIČKOVÁ D., SAK B., KVÁČ M., DITRICH O. (2007). Detection of *Encephalitozoon cuniculi* in a new host-cockateel (*Nymphicus hollandicus*) using molecular methods. *Parasitol. Res.*, 101:1685-1688.
- KAŠIČKOVÁ D., SAK B., KVÁČ M., DITRICH O. (2009). Sources of potentially infectious human microsporidia: molecular characterisation of microsporidia isolates from exotic birds in the Czech Republic, prevalence study and importance of birds in epidemiology of the human microsporidial infections. *Vet. Parasitol.*, 165:125-130.
- KATIYAR S. K., VISVESVARA G. S., EDLIND T. D. (1995). Comparisons of ribosomal RNA sequences from amitochondrial protozoa: implications for processing, mRNA binding and paromomycin susceptibility. *Gene.*, 152:27-33.
- KEELING P. (2009). Five Questions about Microsporidia. *PLoS Pathog.*, 5:1000489.
- KEELING P. J., FAST N. M. (2002). Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Ann. Rev. Microbiol.*, 56:93-116.
- KONDOVA I., MANSFIELD M., BUCKHOLT M. A., STEIN B., WIDMER G., CARVILLE A., LACKNER A., TZIPORI S. (1998). Transmission and serial propagation of *Enterocytozoon bieneusi* from humans and rhesus macaques in gnotobiotic piglets. *Infect. Immun.*, 66:5515-5519.

- KORICH D. G., MEAD J. R., MADORE M. S., SINCLAIR N. A., STERLING C. R. (1997). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56:1423-1428.
- Kotler D. P., Giang T. T., Garro M. L., Orenstein J. M. (1994). Light microscopic diagnosis of microsporidiosis in patients with AIDS. *Am. J. Gastroenterol.*, 89:540-544.
- KOUDELA B., MODRÝ D. (1998). New species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from lizards. *Folia Parasitol.*, 45:93-100.
- KOUDELA B., MODRÝ D., VÍTOVEC J. (1998). Infectivity of *Cryptosporidium muris* isolated from cattle. *Vet. Parasitol.*, 76:181-188.
- KOUDELA B., VÍTOVEC J. (1998). Biology and pathogenicity of *Eimeria neodebliecki* Vetterling, 1965 in experimentally infected pigs. *Parasitol. In.*, 47:249-256.
- KULKARNI S. V., KAIRON R., SANE S. S., PADMAWAR P. S., KALE V. A., THAKAR M. R., MEHENDE S. M., RISBUD A. R. (2009). Opportunistic parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea by the level of immunosuppression. *Indian J. Med. Res.*, 130:63-66.
- KVÁČ M., KESTŘANOVÁ M., KVĚTOŇOVÁ D., KOTKOVÁ M., ORTEGA Y., MCEVOY J., SAK B. (2012). *Cryptosporidium tyzzeri* and *Cryptosporidium muris* originated from wild West-European house mice (*Mus musculus domesticus*) and East-European house mice (*Mus musculus musculus*) are non-infectious for pigs. *Exp. Parasitol.* (v tisku)
- KVÁČ M., ONDRÁČKOVÁ Z., KVĚTOŇOVÁ D., SAK B., VÍTOVEC J. (2007). Infectivity and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* to a novel host, southern multimammate mouse (*Mastomys coucha*). *Vet. Parasitol.*, 143:229-233.
- KVÁČ M., SAK B., HANZLÍKOVÁ D., KOTILOVÁ J., KVĚTOŇOVÁ D. (2009a). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pigs at slaughterhouses in South Bohemia, Czech Republic. *Parasitol. Res.*, 104:425-428.
- KVÁČ M., SAK B., KVĚTOŇOVÁ D., DITRICH O. (2009b). *Cryptosporidium* pig genotype II in immunocompetent man. *Emerg. Infect. Dis.*, 15:982-983.
- LASSER K. H., LEWIN K. J., RYNING F. W. (1979). Cryptosporidial enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinemia. *Hum. Pathol.*, 10:234-240.
- LEANDER B. S., CLOPTON R. E., KEELING P. F. (2003). Phylogeny of gregarines (Apicomplexa) as inferred from SSU rDNA and betatubulin. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53:345-354.
- LEDER K., RYAN N., SPELMAN D., CROWE S. M. (1998). Microsporidial disease in HIV-infected patients: a report of 42 patients and review of the literature. *Scand. J. Infect. Dis.*, 30:331-338.

- LEE S. C., CORRADI N., DOAN S., DIETRICH F. S., KEELING P. J., HEITMAN J. (2010). Evolution of the sex-Related Locus and Genomic Features Shared in Microsporidia and Fungi. PLoS ONE, 5:10539.
- LEE S. C., WEISS L. M., HEITMAN J. (2009). Generation of genetic diversity in microsporidia via sexual reproduction and horizontal gene transfer. Commun. Integr. Biol., 2:414-417.
- LEE S. Y., LEE S. S., LYOO Y. S., PARK H. M. (2011). DNA detection and genotypic identification of potentially human-pathogenic microsporidia from asymptomatic pet parrots in South Korea as a risk factor for zoonotic emergence. Appl. Environ. Microbiol., 77:8442-8444.
- LEONI F., AMAR C., NICHOLS G., PEDRAZA-DIAZ, S., MCLAUCHLIN J. (2006). Genetic analysis of *Cryptosporidium* from 2414 humans with diarrhoea in England between 1985 and 2000. J. Med. Microbiol., 55:703-707.
- LEWIS N. L., FRANCIS I. C., HAWKINS G. S., CORONEO M. T. (2003). Bilateral microsporidial keratoconjunctivitis in an immunocompetent non-contact lens wearer. Cornea, 22:374-376.
- LI X., PALMER R., TROUT J. M., FAYER R. (2003). Infectivity of microsporidia spores stored in water at environmental temperatures. J. Parasitol., 89:185-188.
- LIGUORY O., SARFATI C., DEROUIN F., MOLINA J. M. (2001). Evidence of different *Enterocytozoon bienersi* genotypes in patients with and without human immunodeficiency virus infection. J. Clin. Microbiol., 39:2672-2674.
- LINDSAY D. S., BLAGBURN B. L., HOERR F. J. (1990). Small intestinal cryptosporidiosis in cockatiels associated with *Cryptosporidium baileyi*-like oocysts. Avian Dis., 34:791-793.
- LINDSAY D. S., BLAGBURN B. L., SUNDERMANN C. A. (1989). Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium meleagridis* and *Cryptosporidium baileyi* from birds. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 56:91-92.
- LINDSAY D. S., UPTON S. J., OWENS D. S., MORGAN U. M., MEAD J. R., BLAGBURN B. L. (2000). *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle *Bos taurus*. J. Eukaryot. Microbiol., 47:91-95.
- LINDSAY D., BLAGBURN B. (1990). Cryptosporidiosis in birds. In: Dubey J. P., Speer C. A., Fayer R. (Eds.), Cryptosporidiosis in man and animals. CRC Press, Boca Raton, pp. 125-148.
- LOBO M. L., TELES A., DA CUNHA M. B., HENRIQUES J., LOURENÇO A. M., ANTUNES F., MATOS O. (2003). Microsporidia detection in stools from pets and animals from the zoo in Portugal: a preliminary study. J. Eukaryot. Microbiol., 50:581-582.

- LOBO M. L., XIAO L., CAMA V., MAGALHÃES N., ANTUNES F., MATOS O. (2006). Identification of potentially human-pathogenic *Enterocytozoon bieneusi* genotypes in various birds. *Appl. Env. Microbiol.*, 11:7380-7382.
- LOM J., DYKOVÁ I. (2002). Ultrastructure of *Nucleospora secunda* n. sp. (Microsporidia), parasite of enterocytes of *Nothobranchius rubripinnis*. *Eur. J. Protistol.*, 38:19-27.
- LORES B., ARIAS C., LÓPEZ-MIRAGAYA I., TORRES J., FENOY S., DEL AGUILA C. (2001). Molecular diagnosis of intestinal microsporidiosis in pediatric patients from Vigo (NW, Spain). *Res. Rev. Parasitol.*, 61:43-49.
- LORES B., DEL AGUILA C., ARIAS C. (2002a). *Enterocytozoon bieneusi* (Microsporidia), in faecal samples from domestic animals from Galicia, Spain. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97:941-945.
- LORES B., LÓPEZ-MIRAGAYA I., ARIAS C., FENOY S., TORRES J., DEL AGUILA C. (2002b). Intestinal microsporidiosis due to *Enterocytozoon bieneusi* in elderly human immunodeficiency virus-negative patients from Vigo, Spain. *Clin. Infect. Dis.*, 34:918-992.
- LUCY E. F., GRACZYK T. K., TAMANG L., MIRAFLOR A., MINCHIN D. (2008). Biomonitoring of surface and coastal water for *Cryptosporidium*, *Giardia*, and human-virulent microsporidia using molluscan shellfish. *Parasitol. Res.*, 103:1369-1375.
- LUMB R., SMITH K., O'DONOGHUE P. J., LANSER J. A. (1988). Ultrastructure of the attachment of *Cryptosporidium* sporozoites to tissue culture cells. *Parasitol. Res.*, 74:531-536.
- MACKENZIE W. R., HOXIE N. J., PROCTOR M. E., GRADUS M. S., BLAIR K. A., PETERSON D. E., KAZMIERCZAK J. J., ADDISS D. G., FOX K. R., ROSE J. B., JEFFREY P. D. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N. Engl. J. Med.*, 331:161-167.
- MAIGA I., DOUMBO O., DEMBELE M., TRAORE H., DESPORTES-LIVAGE I., HILMARSDOTTIR I., GIBOYAU E., MAIGA L., KASSAMBARA L., EL FAKHRY Y., DATRY A., GENTILINI M., PICHARD E. (1997). Human intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali): the presence of *Enterocytozoon bieneusi* in HIV seropositive patients. *Santé*, 7:257-262.
- MALČEKOVÁ B., HALÁNOVÁ M., SULÍNOVÁ Z., MOLNÁRA L., RAVASZOVÁ P., ADAMC J., HALÁNA M., VALOCKÝ I., BARANOVIČ M. (2010a). Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon intestinalis* in humans and animals. *Res. Vet. Science*, 89:358-361.

- MALČEKOVÁ B., VALENČÁKOVÁ A., LUPTÁKOVÁ L., MOLNAR L., RAVASZOVÁ P., NOVOTNÝ F. (2010b). First detection and genotyping of *Encephalitozoon cuniculi* in a new host species, gyrfalcon (*Falco rusticolus*) Parasitol. Res., 108:1479-1482.
- MANSFIELD K. J., CARVILLE A., HEBERT D., CHALIFOUX L., SHVETZ D., LIN K. C., TZIPORI S., LACKNER A. (1997). Identification of an Enterocytozoon bienersi-like microsporidian in simian-immunodeficiency-virus-inoculated macaques with hepatobiliary disease. Am. J. Pathol., 150:1395-1405.
- MATHIS A., MICHEL M., KUSTER H., MÜLLER C., WEBER R., DEPLAZES P. (1997). Two Encephalitozoon cuniculi strains of human origin are infectious to rabbits. Parasitology, 114:29-35.
- MATHIS A., TANNER I., WEBER R., DEPLAZES P. (1999). Genetic and phenotypic intraspecific variation in the microsporidian *Encephalitozoon hellem*. Int. J. Parasitol., 29:767-70.
- MATHIS A., WEBER R., DEPLAZES P. (2005). Zoonotic Potential of the Microsporidia. Clin Microbiol Rev., 18: 423-445.
- MATOS E, MATOS P, AZEVEDO C (2005) Observations on the intracytoplasmic microsporidian *Steinhausia mytilovum*, a parasite of mussel (*Mytella guyanensis*) oocytes from the Amazon river estuary. Brazilian. J. Morphol. Sci., 22:183-186.
- MATOS E., AZEVEDO C. (2004). Ultrastructural description of *Microsporidium brevirostris* sp. n., parasite of the teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon River. A. Protozool., 43:261-267.
- MATSUBAYASHI H., KOIKE T., MIKATA I., TAKEI H., HAGIWARA S. (1959). A case of Encephalitozoon-like body infection in man. Arch. Pathol., 67:181-187.
- MEINHARDT P. L., CASEMORE D. P., MILLER K. B. (1996). Epidemiologic aspects of human cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. Epidemiol. Rev., 18:118-136.
- MEIRELES M. V., SOARES R. M., DOS SANTOS M. M., GENNARI S. M. (2006). Biological studies and molecular characterization of a *Cryptosporidium* isolate from ostriches (*Struthio camelus*). J. Parasitol., 92:623-626.
- MEISEL J. L., PERERA D. R., MELIGRO C., RUBIN C. E. (1976). Overwhelming watery diarrhoea associated with a *cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. Gastroenterology, 70:1156-1160.
- MERCER E. H., BIRBECK M. S. (1984). Antibody against *Encephalitozoon cuniculi* in Swedish homosexual men. Scand. J. Infect. Dis., 16:389-391.

- METGE S., VAN NHIEU J. T., DAHMANE D., GRIMBERT P., FOULET F., SARFATI C., BRETAGNE S. (2000). A case of *Enterocytozoon bieneusi* infection in an HIV-negative renal transplant recipient. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 19:221-223.
- MOLBAK K., ANDERSEN M., AABY P., HOJLYNG N., JAKOBSEN M., SODEMANN M., DA SILVA A. P. (1997). *Cryptosporidium* infection in infancy as a cause of malnutrition: a community study from Guinea-Bissau, west Africa. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65:149-152.
- MOLINA J. M., SARFATI C., BEAUVAIS B., LÉMANN M., LESOURD A., FERCHAL F., CASIN I., LAGRANGE P., MODIGLIANI R., DEROUIN F. (1993). Intestinal microsporidiosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic unexplained diarrhea: prevalence and clinical and biologic features. *J. Infect. Dis.*, 167:217-221.
- MORGAN U. M., BUDDLE J. R., ARMSON A., ELLIOT A., THOMPSON R. C. (1999a). Molecular and biological characterisation of *Cryptosporidium* in pigs. *Aust. Vet. J.*, 77:44-47.
- MORGAN U. M., DEPLAZES P., FORBES D. A., SPANO F., HERTZBERG H., SARGENT K. D., ELLIOT A., THOMPSON R. C. (1999b). Sequence and PCR-RFLP analysis of the internal transcribed spacers of the rDNA repeat unit in isolates of *Cryptosporidium* from different hosts. *Parasitology*, 118:49-58.
- MORGAN U. M., MONIS P. T., XIAO L., LIMOR J., SULAIMAN I., RAIDAL S., O'DONOGHUE P., GASSER R., MURRAY A., FAYER R., BLAGBURN B. L., LAL A. A., THOMPSON R. C. (2001). Molecular and phylogenetic characterisation of *Cryptosporidium* from birds. *Int. J. Parasitol.*, 31:289-296.
- MORGAN U. M., SARGENT K. D., ELLIOT A., THOMPSON R. C. (1998). *Cryptosporidium* in cats—additional evidence for *C. felis*. *Vet. J.*, 156:159-161.
- MORGAN U. M., XIAO L., HILL D. B., O'DONOGHUE P., LIMOR J., LAL A. A., THOMPSON R. C. (2000c). Detection of the *Cryptosporidium parvum* 'human' genotype in a dugong (*Dugong dugon*). *J. Parasitol.*, 86:1352-1354.
- MORGAN U. M., XIAO L., LIMOR J., GELIS S., RAIDAL S. R., FAYER R., LAL A. A., ELLIOT A., THOMPSON R. C. (2000a). *Cryptosporidium meleagridis* in an Indian ring-necked parrot (*Psittacula krameri*). *Aust. Vet. J.*, 78:182-183.
- MORGAN U. M., XIAO L., MONIS P., SULAIMAN I., PAVLÁSEK I., BLAGBURN B., OLSON M., UPTON J. S., KHRAMTSOV N. V., LAL A. A., ELLIOT A., THOMPSON R. C. (2000b). Molecular and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium muris* from various hosts. *Parasitology*, 120:457-464.
- MÜLLER A., BIALEK R., KÄMPER A., FÄTKENHEUER G., SALZBERGER B., FRANZEN C. (2001). Detection of microsporidia in travelers with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, 39:1630-1632.

- MÜLLER C. (1998). Untersuchungen zur Diagnostik, Biologie und Verbreitung von Microsporidien bei Kaninchen und anderen Tierarten. University of Zürich, Zürich, Switzerland, 110s.
- MUNGTHIN M., SUWANNASAENG R., NAAGLOR T., AREEKUL W., LEELAYOOVA S. (2001). Asymptomatic intestinal microsporidiosis in Thai orphans and child-care workers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 95: 304-306.
- NÄGELI K. W. (1857). Über die neue Krankheit der Seidenraupe und cerwandte Organismen. *Bot. Z.*, 15:760-761.
- NAKAMURA A. A., SIMÕES D. C., ANTUNES R. G., DA SILVA D. C., MEIRELES M. V. (2009). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of birds kept in captivity in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 166:47-51.
- NG J., PAVLÁSEK I., RYAN U. (2006). Identification of Novel *Cryptosporidium* Genotypes from Avian Hosts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72:7548-7553.
- NIME F. A., BUREK J. D., PAGE D. L., HOLSCHER M. A., YARDLEY J. H. (1976). Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 70:592-598.
- NORTON J. H., PRIOR H. C. (1994). Microsporidiosis in a peach-faced lovebird (*Agapornis roseicollis*). *Aust. Vet. J.*, 71:23-24.
- NWACHUKU N., GERBA C. P. (2004). Emerging waterborne pathogens: Can we kill them all? *Curr. Opin. Biotechnol.*, 15:175-180.
- O'DONOGHUE P. J. (1995). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol.* 25:139-195.
- OGUNKOLADE, B. W., H. A. ROBINSON, V. McDONALD, K. WEBSTER, AND D. A. EVANS. (1993). Isoenzyme variation within the genus *Cryptosporidium*. *Parasitol. Res.*, 79:385-388.
- ONDRÁČKOVÁ Z. (2007). Infektivita *Cryptosporidium andersoni* pro různé druhy hlodavců. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, Česká republika, 42s.
- ORENSTEIN J. M. (2003). Diagnostic pathology of microsporidiosis. *Ultrastruct. Pathol.*, 27:141-149.
- ORENSTEIN J. M., CHIANG J., STEINBERG W., SMITH P. D., ROTTERDAM H., KOTLER D. P. (1990a). Intestinal microsporidiosis as a cause of diarrhea in human immunodeficiency virus-infected patients: a report of 20 cases. *Hum. Pathol.*, 21:475-481.

- ORENSTEIN J. M., SEEDOR J., FRIEDBERG D. N., S. S. M., TIERNO P. M., CHARLES N. C., M. D. M., LOWDER C. Y., MCMAHON J. T., LONGWORTH D. L., RUTHERFORD I., YEE R. W., MARTINEZ A., TIO F., HELD K. (1990b). Microsporidian keratoconjunctivitis in patients with AIDS. *Morb. Mort. Wkly. Rep.*, 39:188-189.
- PALMER C. J., XIAO L., TERASHIMA A., GUERRA H., GOTUZZO E., SALLDIAS G., BONILLA J. A., ZHOU L., LINDQUIST A., UPTON S. J. (2003). *Cryptosporidium muris*, a rodent pathogen recovered from a human in Peru. *Emerg. Infect. Dis.*, 9:1174-1176.
- PANCIERA R. J., THOMASSEN R. W., GARNER F. M. (1971). Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Pathol.*, 8:479-484.
- PATTERSON-KANE J. C., CAPLAZI P., RURANGIRWA F., TRAMONTIN R. R., WOLFSBORF K. (2003). *Encephalitozoon cuniculi* placentitis and abortion in a quarterhorse mare. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 15:57-59.
- PAVLÁSEK I. (1993). The black-headed gull (*Larus ridibundus* L.), a new host for *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). *Vet. Med.*, 38:629-638.
- PAVLÁSEK I. (1999). Kryptosporidie - biologie, diagnostika, hostitelské spektrum, specifita a vztah k životnímu prostředí. *Remedia-Klin. Mikrobiol.*, 3:290-301.
- PAVLÁSEK I. (2001). Findings of cryptosporidia in the stomach of chickens and of exotic and wild birds. *Veterinářství*, 51:103-108.
- PEACOCK C. S., BLANSHARD C., TOVEY D. G., ELLIS D. S., GAZZARD B. G. (1991). Histological diagnosis of intestinal microsporidiosis in patients with AIDS. *J. Clin. Pathol.*, 44:558-563.
- PEDRAZA-DIAZ S., AMAR C., MCCLAUCHLIN J. (2000). The identification and characterisation of an unusual genotype of *Cryptosporidium* from human faeces as *Cryptosporidium meleagridis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 189:189-194.
- PEREIRA S. J., RAMIREZ N. E., XIAO L., WARD L. A. (2002). Pathogenesis of human and bovine *Cryptosporidium parvum* in gnotobiotic pigs. *J. Infect. Dis.*, 186:715-718.
- PEUVEL I., DELBAC F., METENIER G., PEYRET P., VIVARES C. P. (2000). Polymorphism of the gene encoding a major polar tube protein PTP1 in two microsporidia of the genus *Encephalitozoon*. *Parasitology*, 6:581-587.
- POWER M. L., RYAN U. M. (2008). A new species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*). *J. Parasitol.*, 94:1114-1117.
- PUTIGNANI L., MENICHELLA D. (2010). Global distribution, public health and clinical impact of the protozoan pathogen *Cryptosporidium*. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, 39s.



- QIA M., WANGA R., NINGA CH., LIA X., ZHANGA L., JIANA F., SUNA Y., XIAO L. (2011). *Cryptosporidium* spp. in pet birds: Genetic diversity and potential public health significance. *Ex. Parasitol.*, 128:336-340.
- RAYNAUD L., DELBAC F., BROUSSOLLE V., RABODONIRINA M., GIRAULT V., WALLON M., COZON G., VIVARES C. P., PEYRON F. (1998). Identification of *Encephalitozoon intestinalis* in travelers with chronic diarrhea by specific PCR amplification. *J. Clin. Microbiol.*, 36:37-40.
- REDHEAD S. A., KIRK P., KEELING P. J., WEISS L. M. (2009). Proposals to exclude the phylum *Microsporidia* from the Code. *Taxon*, 58:10-11.
- REDUKER D. W., SPEER C. A., BLIXT J. A. (1985). Ultrastructure of *Cryptosporidium parvum* oocysts and excysting sporozoites as revealed by high resolution scanning electron microscopy. *J. Protozool.*, 32:708-711.
- REETZ J. (1993). Naturally-acquired microsporidia (*Encephalitozoon cuniculi*) infections in hens. *Tierarztl. Prax.*, 21:429-435.
- REETZ J. (1999). Natural transmission of microsporidia (*Encephalitozoon cuniculi*) by way of the chicken egg. *Tierarztl. Prax.*, 22:147-150.
- REETZ J., RINDER H., THOMSCHKE A., MANKE H., SCHWEBS M., BRUDEREK A. (2002). First detection of the microsporidium *Enterocytozoon bieneusi* in non-mammalian hosts (chickens). *Int. J. Parasitol.*, 32:785-787.
- REETZ J., WIEDEMANN M., AUE A., WITTSTATT U., OCHS A., THOMSCHKE A., MANKE H., SCHWEBS M., RINDER H. (2004). Disseminated lethal *Encephalitozoon cuniculi* (genotype III) infections in cotton-top tamarins (*Oedipomidas oedipus*)--a case report. *Parasitol. Int.*, 53:29-34.
- REYNOLDS K. A., MENA K. D., GERBA C. P. (2008). Risk of waterborne illness via drinking water in the United States. *Rev Environ Contam Toxicol.*, 192:117-158.
- RHEE J. K., KIM H. C., PARK B. K. (1997). Effects of *Cryptosporidium baileyi* infection on the bursa of Fabricius in chickens. *Korean J. Parasitol.*, 35:181-187.
- RINDER H., THOMSCHKE A., DENGJEL B., GOTHE R., LOSCHER T., ZAHLER M. (2000). Close genotypic relationship between *Enterocytozoon bieneusi* from humans and pigs and first detection in cattle. *J. Parasitol.*, 86:185-188.
- ROBERTSON L. J., GJERDE B. K. (2007). *Cryptosporidium* oocysts: challenging adversaries? *Trends Parasitol.*, 23:344-347.

- ROBINSON G., WRIGHT S., ELWIN K., HADFIELD S. J., KATZER F., BARTLEY P. M., HUNTER P. R., NATH M., INNES E. A., CHALMERS R. M. (2010). Re-description of *Cryptosporidium cuniculus* Inman and Takeuchi, 1979 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): morphology, biology and phylogeny. *Int. J. Parasitol.*, 40:1539-1548.
- ROSE J. B. (1997). Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. *Annu. Rev. Public Health*, 18:135-161.
- RYAN N. J., SUTHERLAND G., COUGHLAN K., GLOBAN M., DOULTREE J., MARSHALL J., BAIRD R. W., PEDERSEN J., DWYER B. (1993). A new trichrome-blue stain for detection of microsporidial species in urine, stool, and nasopharyngeal specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 31:3264-3269.
- RYAN U. M., MONIS P., ENEMARK H. L., SULAIMAN I. M., SAMARASINGHE B., READ C., BUDDLE R., ROBERTSON I., ZHOU L., THOMPSON R. C., XIAO L. (2004). *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). *J. Parasitol.*, 90:769-773.
- RYAN U. M., POWER M., XIAO L. (2008). *Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from the red kangaroo (*Macropus rufus*). *J. Eukaryot. Microbiol.*, 55:22-26.
- RYAN U. M., XIAO L., READ C., SULAIMAN I. M., MONIS P., LAL A. A., FAYER R., PAVLÁSEK I. (2003a). A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlásek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. *J. Parasitol.*, 89:809-813.
- RYAN U. M., XIAO L., READ C., ZHOU L., LAL A. A., PAVLÁSEK I. (2003b). Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:4302-4307.
- SAK B., KUČEROVÁ Z., KVÁČ M., KVĚTOŇOVÁ D., ROST M., SECOR E. W. (2010a). Seropositivity for *Enterocytozoon bieneusi*, Czech Republic. *Emerg Infect Dis.*, 16:335-337.
- SAK B., KVÁČ M., KUČEROVÁ Z., KVĚTOŇOVÁ D., SAKOVÁ K. (2011a) Latent microsporidial infection in immunocompetent individuals - a longitudinal study. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 5:1162.
- SAK B., BRADY D., PELIKÁNOVÁ M., KVĚTOŇOVÁ D., ROST M., KOSTKA M., TOLAROVÁ V., HŮZOVÁ Z., KVÁČ M. (2011b). Unapparent microsporidial infection among immunocompetent humans in the Czech Republic. *J. Clin. Microbiol.*, 49:1064-1070.
- SAK B., KAŠIČKOVÁ D., KVÁČ M., KVĚTOŇOVÁ D., DITRICH O. (2010b). Microsporidia in exotic birds: intermittent spore excretion of *Encephalitozoon* spp. in naturally infected budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Vet. Parasitol.*, 168:196-200.

- SAK B., KVÁČ M., HANZLÍKOVÁ D., CAMA V. (2008). First report of *Enterocytozoon bieneusi* infection on a pig farm in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, 153: 220-224.
- SANTÍN M., CORTÉS V., JESÚS A., FAYER R. (2010) A zoonotic genotype of *enterocytozoon bieneusi* in horses. *J. Parasitol.*, 96:157-161.
- SANTÍN M., TROUT J. M., VECINO J. A., DUBEY J. P., FAYER R. (2006). *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bieneusi* in cats from Bogota (Colombia) and genotyping of isolates. *Vet. Parasitol.*, 141:334-339.
- SANTOS M. M. A. B., PEIRÓ J. R.; MEIRELES M. V. (2005). *Cryptosporidium* infection in ostriches (*Struthio camelus*) in Brazil: clinical, morphological and molecular studies. *Brazil. J. P. Sci.*, 7:113-117.
- SAX P. E., RICH J. D., PIECIAK W. S., TRNKA Y. M. (1995). Intestinal microsporidiosis occurring in a liver transplant recipient. *Trans.*, 60:617-618.
- SCAGLIA M., BANDI C., NOVATI S., GATTI S., BERNUZZI S. M., CORONA S., SACCHI L. (1998). Respiratory microsporidiosis due to *Encephalitozoon hellem*: the first case report in an immunocompetent subject. *Parasitol. Int.*, 47:203.
- SHADDUCK J. A., BENDELE R., ROBINSON G. T. (1978). Isolation of the causative organism of canine encephalitozoonosis. *Vet. Pathol.*, 15:449-460.
- SHIELDS J. M., HILL V. R., ARROWOOD M. J., BEACH M. J. (2008). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* under chlorinated recreational water conditions. *J. Water Health*, 6:513-520.
- SCHWARTZ D. A., BRYAN R. T., HEWAN-LOWE K. O., VISVESVARA G. S., WEBER R., CALI A., ANGRITT P. (1992). Disseminated microsporidiosis (*Encephalitozoon hellem*) and acquired immunodeficiency syndrome. Autopsy evidence for respiratory acquisition. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 116:660-668.
- SLAVIN D. (1955). *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *J. Comp. Pathol.*, 65:262-266.
- SŁODKOWICZ-KOWALSKA A. (2009). Animal reservoirs of human virulent microsporidian species. *Wiad Parazytol.*, 55:63-65.
- SŁODKOWICZ-KOWALSKA A., GRACZYK T. K., TAMANG L., JĘDRZEJEWSKI S., NOWOSAD A., ZDUNIAK P., SOLARCZYK P., GIROUARD A. S., MAJEWSKA A. C. (2006). Microsporidia species known to infect humans are present in aquatic birds; implications for transmission via water? *Appl. Environ. Microbiol.*, 72:4540-4544.
- SMITH H. V., BROWN J., COULSON J. C., MORRIS G. P., GIRDWOOD R. W. (1993). Occurrence of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in *Larus* spp. gulls. *Epidemiol. Infect.*, 110:135-143.

- SMITH H. V., CACCIO S. M., TAIT A., MCLAUCHLIN J., THOMPSON R. C. A. (2006). Tools for investigating the abiotic transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76:5977-5986.
- SMITH H. V., ROSE J. B. (1998). Waterborne cryptosporidiosis: current status. *Parasitol. Today*, 14:14-22.
- SNOWDEN K. F. (2004). Zoonotic microsporidia from animals and arthropods with a discussion of human infections. *World Class Parasites*, 9:123-134.
- SNOWDEN K. F., DIDIER E. S., ORENSTEIN J. M., SHADDUCK J. A. (1998). Animal models of human microsporidial infections. *Lab. Anim. Sci.*, 48:589-92.
- SNOWDEN K. F., LOGAN K., PHALEN D. N. (2000). Isolation and characterization of an avian isolate of *Encephalitozoon hellem*. *Parasitology*, 121:9-14.
- SNOWDEN K. F., PHALEN D. N. (2004). Encephalitozoon infection in birds. *Sem. Avian Exot. Anim. Med.*, 13:94-99.
- SNOWDEN K., LOGAN K. (1999). Molecular identification of *Encephalitozoon hellem* in an ostrich. *Avian Dis.*, 43:779-782.
- SNOWDEN K., LOGAN K., DIDIER E. S. (1999). *Encephalitozoon cuniculi* strain III is a cause of encephalitozoonosis in both humans and dogs. *J. Infect. Dis.*, 180:2086-2088.
- SNYDER D. B., CURRENT W. L., RUSSEK-COHEN E., GORHAM S. L., MALLINSON E. T., MARQUARDT W. W., SAVAGE P. K. (1988). Serologic incidence of *Cryptosporidium* in Delmarva broiler flocks. *Poult. Sci.*, 67:730-735.
- SOBOTTKA I., ALBRECHT H., SCHOTTELIUS J., SCHMETZ C., BENTFELD M., LAUFF R., SCHWARTZ D. A. (1995). Self limited travelers diarrhea due to a dual infection with *Enterocytozoon bieneusi* and *Cryptosporidium parvum* in an immunocompetent HIV-negative child. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 14:919-920.
- SPRAGUE (1977). *Systematics of the Microsporidia*. Plenum Press, USA, New York, 510s.
- SPRAGUE V., BECNEL J. J. (1998). Note on the name author-date combination for the taxon *Microsporidies Balbiani*, 1882, when ranked as a phylum. *J. Invertebr. Pathol.*, 71:91-94.
- SPRAGUE V., BECNEL J. J., HAZARD E. I. (1992). Taxonomy of phylum *Microspora*. *Crit. Rev. Microbiol.*, 18:285-239.
- SRÉTER T., KOVÁCS G., DA SILVA A. J., PIENIAZEK N. J., SZÉLL Z., DOBOS-KOVÁCS M., MÁRIALIGETI K., VARGA I. (2000). Morphologic, host specificity, and molecular characterization of a hungarian *Cryptosporidium meleagridis* isolate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66:735-738.

- SRÉTER T., VARGA I. (2000). Cryptosporidiosis in birds—a review. *Vet. Parasitol.*, 87:261-279.
- SULAIMAN I. M., BERN C., GILMAN R., CAMA V., KAWAI V., VARGAS D., TICONA E., VIVAR A., XIAO L. (2003a). A molecular biologic study of *Enterocytozoon bienersi* in HIV-infected patients in Lima, Peru. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 50:591-596.
- SULAIMAN I. M., FAYER R., LAL A. A., TROUT J. M., SCHAEFER F. W., XIAO L. (2003b). Molecular characterization of microsporidia indicates that wild mammals harbor host-adapted *Enterocytozoon* spp. as well as human-pathogenic *Enterocytozoon bienersi*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:4495-4501.
- SULAIMAN I. M., LAL A. A., XIAO L. (2002). Molecular phylogeny and evolutionary relationships of *Cryptosporidium* parasites at the actin locus. *J. Parasitol.*, 88:388-394.
- SULAIMAN I. M., MORGAN U. M., THOMPSON R. C., LAL A. A., XIAO L. (2000). Phylogenetic relationships of *Cryptosporidium* parasites based on the 70-kilodalton heat shock protein (HSP70) gene. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66:2385-2391.
- SUTER C., MATHIS A., HOOP R., DEPLAZES P. (1998). *Encephalitozoon hellem* infection in a yellow-streaked lory (*Chalcopsitta scintillata*) imported from Indonesia. *Vet. Rec.*, 143:694-695.
- ŠLAPETA J. (2008). Centenary of the genus *Cryptosporidium*: from morphological to molecular species identification. In: Ortega-Pierres M. G., Caccio S., Fayer R., Mank T., Smith H., Thompson R. C. A. (Eds.), *Giardia and Cryptosporidium*. CABI Publishing, Mexico, Morelia, pp. 31-50.
- TACCONI G., PEDINI A. V., GARGIULO A. M., COLETTI M., PIERGILI-FIORETTI D. (2001). Retrospective ultramicroscopic investigation on naturally cryptosporidial-infected commercial turkey poult. *Avian Dis.*, 45:688-695.
- TALABANI H., SARFATI C., PILLEBOUT E., VAN GOOL T., DEROUIN F., MENOTTI J. (2010). Disseminated infection with a new genovar of *Encephalitozoon cuniculi* in a renal transplant recipient. *J. Clin. Microbiol.* 48: 2651-2653.
- TATSUYA K., HOSA D., RANUH I. G., UGA S., YANAGI T., KOHNO S. (2000). Short report: possible *Cryptosporidium muris* infection in humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 62:70–72.
- TEACHEY D. T., RUSSO P., ORENSTEIN J. M., DIDIER E. S., BOWERS C., BUNIN N. (2004). Pulmonary infection with microsporidia after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 33:299-302.

- THENG J., CHAN C., LING M. L., TAN D. (2001). Microsporidial keratoconjunctivitis in a healthy contact lens wearer without human immunodeficiency virus infection. *Ophthalmology*, 108:976-978.
- THURSTON-ENRIQUEZ J. A., WATT P., DOWD S. E., ENRIQUEZ R., PEPPER I. L., GERBA C. P. (2002). Detection of protozoan parasites and microsporidia in irrigation waters used for crop production. *J. Food Prot.*, 65:378-382.
- TIANGTIP R., JONGWUTIWES S. (2002). Molecular analysis of *Cryptosporidium* species isolated from HIV-infected patients in Thailand. *Trop. Med. Int. Health*, 7:357-364.
- TORRES J., GRACENEA M., GOMEZ M. S., ARRIZABALAGA A., GONZALEZ-MORENO O. (2000). The occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *C. muris* in wild rodents and insectivores in Spain. *Vet. Parasitol.*, 92:253-260.
- TOURTIP S., WONGTRIPOP S., STENTIFORD G. D., BATEMAN K. S., SRIURAIRATANA S., CHAVADEJ J., SRITUNYALUCKSANA K., WITHYACHUMNARNKUL B. (2009). *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): Fine structure and phylogenetic relationships. *J. Invertebr. Pathol.*, 102:21-29.
- TRAMPEL D. W., PEPPER T. M., BLAGBURN B. L. (2000). Urinary tract cryptosporidiosis in commercial laying hens. *Avian Dis.*, 44:479-484.
- TROEMEL E. R., FÉLIX M. A., WHITEMAN N. K., BARRIÈRE A., AUSUBEL M. F. (2008). Microsporidia are natural intracellular parasites of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol.*, 6:309.
- TYZZER E. E. (1907). A sporozoon found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 5:12-13.
- TYZZER E. E. (1912). *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd.*, 26:394-412.
- TYZZER E. E. (1929). Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am. J. Hyg.*, 10: 269-383.
- TZIPORI S., ANGUS K. W., GRAY E. W., CAMPBELL I., ALLAN F. (1981). Diarrhea in lambs experimentally infected with *Cryptosporidium* isolated from calves. *Am. J. Vet. Res.*, 42:1400-1404.
- TZIPORI S., CARVILLE A., WIDMER G., KOTLER D., MANSFIELD K., LACKNER A. (1997). Transmission and establishment of a persistent infection of *Enterocytozoon bieneusi*, derived from a human with AIDS, in simian immunodeficiency virus-infected rhesus monkeys. *J. Infect. Dis.*, 175:1016-1020.
- UNDEEN A. H., AVERY S. E. (1984) Germination of experimentally nontransmissible microsporidia. *J. Invertebr. Pathol.*, 43:299-301.

- UNDEEN A. H., EPSKY N. D. (1990) In vitro and vivo germination of *Nosema locustae* (Microspora: Nosematidae) spores. J. Invertebr. Pathol., 56:371-379.
- UPTON S. J., CURRENT W. L. (1985). The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. J. Parasitol., 71:625-629.
- VAN DEN AKKER B., WHIFFIN V., COX P., BEATSON P., ASHBOLT N. J., ROSER D. J. (2011) Estimating the risk from sewage treatment plant effluent in the Sydney catchment area. Water Sci. Technol. 63:1707-1715.
- VAN GOOL T., LUDERHOFF E., NATHOO K. J., KIIRE C. F., DANKERT J., MASON P. R. (1995). High prevalence of *Enterocytozoon bienersi* infections among HIV-positive individuals with persistent diarrhoea in Harare, Zimbabwe. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 89:478-480.
- VAN GOOL T., VETTER J. C., WEINMAYR B., VAN DAM A., DEROUIN F., DANKERT J. (1997). High seroprevalence of *Encephalitozoon* species in immunocompetent subjects. J. Infect. Dis., 175:1020-1024.
- VÁVRA J. (1976). Structure of the Microsporidia. In: I. A. Bulla, Cheng T. C. (Eds.), Comparative Pathobiology. Vol. 1., Plenum Press, New York, pp. 1–85.
- VÁVRA J., LARSSON J. (1999). Structure of the Microsporidia. In: Wittner M., Weiss L. M., (Eds.), The Microsporidia and microsporidiosis, ASM Press, Washington D. C., pp. 7-84.
- VOSSBRINCK C. R., WOESE C. R. (1986). Eukaryotic ribosomes that lack a 5.8S RNA. Nature, 320:257-288.
- WADE S. E., MOHAMMED H. O., SCHAAF S. L. (2000). Prevalence of *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C. andersoni*) in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. Vet. Parasitol., 93:1-11.
- WALLER T. (1979). Sensitivity of *Encephalitozoon cuniculi* to various temperatures, disinfectants and drugs. Lab. Anim., 13:227-230.
- WANACHIWANAWIN D., MANATSATHIT S., LERTLAITUAN P., THAKERNGPOL K., SUWANAGOOL P. (1998). Intestinal microsporidiosis in HIV infected patients with chronic diarrhea in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 29:767-771.
- WANG R., ZHANG L., NING C., FENG Y., JIAN F., XIAO L., LU B., AI W., DONG H. (2008). Multilocus phylogenetic analysis of *Cryptosporidium andersoni* (Apicomplexa) isolated from a bactrian camel (*Camelus bactrianus*) in China. Parasitol. Res., 102:915-920.
- WANKE C. A., DEGIROLAMI P., FEDERMAN M. (1996). *Enterocytozoon bienersi* infection and diarrheal disease in patients who were not infected with human immunodeficiency virus: case report and review. Clin. Infect. Dis., 23:816-818.

- WASSON K., PEPPER R. L. (2000). Mammalian microsporidiosis. *Vet. Pathol.*, 37:113-128.
- WEBER R., BRYAN R. T. (1994). Microsporidial infections in immunodeficient and immunocompetent patients. *Clin. Infect. Dis.*, 19:517-521.
- WEBER R., BRYAN R. T., SCHWARTZ D. A., OWEN R. L. (1994). Human microsporidial infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 7:426-461.
- WEBER R., DEPLAZES P., FLEPP M., MATHIS A., BAUMANN R., SAUER B., KUSTER H., LUTHY R. (1997). Cerebral microsporidiosis due to *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 336:474-478.
- WEBER R., DEPLAZES P., SCHWARTZ D. (2000). Diagnosis and clinical aspects of human microsporidiosis. *Contrib Microbiol.*, 6:166-192.
- WEBER R., KUSTER H., VISVESVARA G. S., BRYAN R. T., SCHWARTZ D. A., LÜTHY R. (1993). Disseminated microsporidiosis due to *Encephalitozoon hellem*: pulmonary colonization, microhematuria, and mild conjunctivitis in a patient with AIDS. *Clin. Infect. Dis.*, 17:415-419.
- WEBER R., LEDERGERBER B., ZBINDEN R., ALTWEGG M., PFYFFER G. E., SPYCHER M. A., BRINER J., KAISER L., OPRAVIL M., MEYENBERGER C., FLEPP M. (1999a). Enteric infections and diarrhea in human immunodeficiency virus-infected persons: prospective community-based cohort study. *Swiss HIV Cohort Study. Arch. Intern. Med.*, 159:1473-1480.
- WEBER R., SCHWARTZ D. A., DEPLAZES P. (1999b). Laboratory diagnosis of microsporidiosis. In: Wittner M., Weiss L. M. (Eds.), *The microsporidia and microsporidiosis*, ASM Press, Washington D. C., pp. 315-363.
- WEISBURGER W. R., HUTCHEON D. F., YARDLEY J. H., ROCHE J. C., HILLIS W. D., CHARACHE P. (1979). Cryptosporidiosis in an immunosuppressed renal-transplant recipient with IgA deficiency. *Am. J. Clin. Pathol.*, 72:473-478.
- WEITZEL T., WOLFF M., DABANCH J., LEVY I., SCHMETZ C., VISVESVARA G. S., SOBOTTKA I. (2001). Dual microsporidial infection with *Encephalitozoon cuniculi* and *Enterocytozoon bieneusi* in an HIV-positive patient. *Infection*, 29:237-239.
- WILLIAMS B. A., HIRT R. P., LUCOCQ J. M., EMBLEY T. M. (2002). A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature*, 418:865-869.
- WILSON J. M. (1979). *Encephalitozoon cuniculi* in wild European rabbits and a fox. *Res. Vet. Sci.*, 26:114.
- WITTNER M., WEISS L. M. (1999). *The microsporidia and microsporidiosis*. ASM Press. USA, Washington D. C., 533s.



- WRIGHT J. H., CRAIGHEAD E. M. (1922). Infectious motor paralysis in young rabbits. *J. Exp. Med.*, 36:135-140.
- XIAO L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp. Parasitol.*, 124:80-89.
- XIAO L. H., ESCALANTE L., YANG C. F., SULAIMAN I., ESCALANTE A. A., MONTALI R. J., FAYER R., LAL A. A. (1999a). Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:1578-1583.
- XIAO L. H., MORGAN U. M., LIMOR J., ESCALANTE A., ARROWOOD M., SHULAW W., THOMPSON R. C. A., FAYER R., LAL A. A. (1999b). Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:3386-3391.
- XIAO L., BERN C., ARROWOOD M., SULAIMAN I. M., ZHOU L., KAWAI V., VIVAR A., LAL A. A., GILMAN R. H. (2002a). Identification of the *Cryptosporidium* pig genotype in a human patient. *J. Infect. Dis.*, 185:1846-1848.
- XIAO L., BERN C., LIMOR J., SULAIMAN I. M., ROBERTS J., CHECKLEY W., CABRERA L., GILMAN R. H., LAL A. A. (2001a). Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J. Infect. Dis.*, 183:492-497.
- XIAO L., CAMA V. A., CABRERA L., ORTEGA Y., PEARSON J., GILMAN R. H. (2007). Possible transmission of *Cryptosporidium canis* among children and a dog in a household. *J. Clin. Microbiol.*, 45:2014-2016.
- XIAO L., FAYER R. (2008). Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int. J. Parasitol.*, 38:1239-1255.
- XIAO L., FENG Y. (2008). Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 52:309-323.
- XIAO L., LI L., MOURA H., SULAIMAN I., LAL A. A., GATTI S., SCAGLIA M., DIDIER E. S., VISVESVARA G. (2001b). Genotyping *Encephalitozoon hellem* isolates by analysis of the polar tube protein gene. *J. Clin. Microbiol.*, 39:2191-2196.
- XIAO L., LI L., VISVESVARA G. S., MOURA H., DIDIER E. S., LAL A. A. (2001c). Genotyping *Encephalitozoon cuniculi* by multilocus analyses of genes with repetitive sequences. *J. Clin. Microbiol.*, 39:2248-2253.
- XIAO L., LIMOR J., MORGAN U. M., SULAIMAN I. M., THOMPSON R. C., LAL A. A. (2000). Sequence differences in the diagnostic target region of the oocyst wall protein gene of *Cryptosporidium* parasites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66:5499-5502.

- XIAO L., RYAN U. M. (2004). Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 17:483-490.
- XIAO L., RYAN U. M. (2008). Molecular epidemiology. In: Fayer R., Xiao L (Eds.), *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis, Second edition, CRC Press, Boca Raton, pp. 119-172.
- XIAO L., SULAIMAN I. M., RYAN U. M., ZHOU L., ATWILL E. R., TISCHLER M. L., ZHANG X., FAYER R., LAL. A. A. (2002b). Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *Int. J. Parasitol.*, 32:1773-1785.
- XU Y., WEISS L. M. (2005). The microsporidian polar tube: A highly specialised invasion organelle. *Int. J. Parasitol.*, 35:941-953.
- YEE R. W., TIO F. O., MARTINEZ J. A., HELD K. S., SHADDUCK J. A., DIDIER E. S. (1991). Resolution of microsporidial epithelial keratopathy in a patient with AIDS. *Ophthalmology*, 98:196-201.
- ZHOU L., KASSA H., TISCHLER M. L., XIAO L. (2004). Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in canada geese (*Branta canadensis*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 70:4211-4215.
- ZHOU L., SINGH A., JIANG J., XIAO L. (2003). Molecular Surveillance of *Cryptosporidium* spp. in raw wastewater in Milwaukee: Implications for understanding outbreak occurrence and transmission dynamics. *J. Clin. Microbiol.*, 41:5254-5257.