

MARIA WESOŁOWSKA¹, JACEK GAŚSIOROWSKI², STANISŁAW JANKOWSKI¹

Pierwotniaki oportunistyczne występujące u osób z niedoborami immunologicznymi

The Opportunistic Protozoa in Immunocompromised Individuals

¹ Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM we Wrocławiu

² Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM we Wrocławiu

Streszczenie

Pasożyty oportunistyczne są przyczyną poważnych schorzeń u pacjentów w stanie immunosupresji, szczególnie zakażonych HIV ($CD4 < 100/mm^3$). Do najczęściej spotykanych drobnoustrojów należą *Cryptosporidium*, mikrosporydia, *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli* i *Cyclospora cayetanensis*. W artykule scharakteryzowano biologię, epidemiologię oraz diagnostykę wybranych gatunków (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 2, 349–355).

Słowa kluczowe: zakażenie oportunistyczne, *Cryptosporidium*, mikrosporydia, *Toxoplasma*, epidemiologia, transmisja.

Abstract

Opportunistic parasites are recognized as an important cause of severe infections in immunocompromised patients, especially those with HIV ($CD4 < 100/mm^3$). The most frequent microorganisms are *Cryptosporidium*, microsporidia, *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli* and *Cyclospora cayetanensis*. This paper reviews basic biology, epidemiology, microscopic, immunological and molecular methods used to detect and identify species (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 2, 349–355).

Key words: opportunistic infections, *Cryptosporidium*, microsporidia, *Toxoplasma*, epidemiology, transmission.

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie inwazjami oportunistycznymi. Wywoływane są przez organizmy znajdujące się w środowisku człowieka, które u osób z zaburzeniami odporności występują częściej i powodują choroby o cięższym przebiegu niż u osób immunokompetentnych. Do wzrostu zainteresowania przyczynił się gwałtowny rozwój pandemii AIDS. Szacuje się, że w 2002 r. ponad 40 milionów ludzi na świecie było zakażonych wirusem HIV [1]. Wiadomo, że ważną rolę w zapobieganiu chorobom odgrywa nie tylko poziom stanu sanitarnego, ale również sytuacja ekonomiczna, warunki socjalne i klimat. W związku z tym wyższą częstość zarażenia pierwotniakami oportunistycznymi notuje się w krajach rozwijających się niż w rozwiniętych [2].

Ryzyko wystąpienia niektórych zakażeń oportunistycznych wzrasta wraz ze spadkiem liczby limfocytów CD4 w krwi obwodowej. U osób z prawidłowym układem odpornościowym zaraże-

nia są bezobjawowe bądź mogą wystąpić skąpe objawy kliniczne, z reguły ustępujące samoistnie [3, 4]. U osób ze znaczącymi niedoborami immunologicznymi, np. w przebiegu zakażenia HIV, u chorych przyjmujących leki immunosupresyjne, u niemowląt oraz u dzieci z niedojrzałym jeszcze układem immunologicznym, a także u ludzi w podeszłym wieku, organizmy oportunistyczne, a wśród nich pasożyty mogą stać się przyczyną poważnych schorzeń, będących niekiedy nawet bezpośrednią przyczyną śmierci. W praktyce klinicznej rozpoznaje się coraz większą liczbę gatunków pasożytniczych patogenów. U osób w stanie immunosupresji obraz kliniczny może być typowy, ale coraz częściej dochodzi również do zajęcia różnych narządów i układów, w których nie powinny pasyzytować te organizmy [5].

Źródłem zarażenia patogenami oportunistycznymi są najczęściej: woda zanieczyszczona stadiami dyspersyjnymi, skażona żywność, gleba i kon-

takt z osobą zarażoną [5, 6]. W niektórych przypadkach można zarazić się poprzez transplantację narządów od chorego dawcy [7]; dotyczy to np. toksoplazmozy. W ostatnich latach zanotowano wybuchy epidemii wywołane przez różne gatunki pierwotniaków oportunistycznych. W 1993 r. wybuchła największa, obejmująca setki tysięcy ludzi, wodnopochozna epidemia kryptosporydiozy w Milwaukee (USA). Zarażonych wówczas zostało 403 000 osób, 4 tysiące hospitalizowano, a około 100 osób z niedoborami immunologicznymi zmarło [8]. Należy również wymienić wodnopochozną epidemię mikrosporydiozy we Francji [9].

Zarażenia pasożytniczymi pierwotniakami są często problemem niedocenianym przez lekarzy. Wśród organizmów oportunistycznych zwraca się zwykle uwagę na zakażenia bakteryjne i grzybicze, rzadziej pasożytnicze. Wynika to niejednokrotnie z trudności diagnostycznych, ponieważ tradycyjne metody wykrywania wymagają dużego doświadczenia, a metody molekularne są kosztowne i wykonywane tylko w niektórych laboratoriach. Niedostatek ogólnie dostępnych informacji dla lekarzy, trudności w interpretacji wyników badań, a także brak dostatecznych standardów diagnostycznych wpływa na mniejsze zainteresowania tą grupą patogenów. W artykule przedstawiono biologię, epidemiologię, źródła i drogi zarażeń najczęściej spotykanymi pierwotniakami oportunistycznymi w naszej strefie klimatycznej. Zalicza się do nich przede wszystkim: *Cryptosporidium* sp., mikrosporydia, *Toxoplasma gondii* oraz *Isospora belli* i *Cyclospora cayetanensis*. W warunkach pozaeuropejskich wymienia się również *Leishmania donovani*, lecz ze względu na występowanie geograficzne nie jest szerzej omawiany w pracy.

Cryptosporidium

Pierwotniaki z rodzaju *Cryptosporidium* Tyzzer 1907, należące do typu *Apicomplexa* pasożytują u różnych żywicieli. Występują u kręgowców, takich jak gady, ptaki, u 80 gatunków ssaków dzikich i udomowionych oraz u człowieka. Dotychczas opisano 20 gatunków *Cryptosporidium*.

Kryptosporydioza u człowieka została po raz pierwszy stwierdzona w 1976 r. Częstość występowania *Cryptosporidium* wśród osób z biegunkami wynosi 0,1–27% w krajach rozwiniętych i 0,1–37,5% w krajach rozwijających się [6, 10]. W świetle ostatnich badań, spośród kilku gatunków *Cryptosporidium* rozpoznanych u człowieka, prawdopodobnie większą rolę w chorobotwórczości odgrywa *C. hominis* (znany uprzednio jako *C. parvum*, genotyp 1), a nieco mniejszą *C. parvum* (znany uprzednio jako *C. parvum*, genotyp 2), jed-

nocześnie szeroko rozpowszechniony u zwierząt, głównie cieląt i owiec. U pacjentów stwierdzono ponadto dwa gatunki typowe dla zwierząt: *C. meleagridis* oraz *C. felis* [11].

Cykl rozwojowy *Cryptosporidium* zachodzi u jednego żywiciela i zwykle jest ograniczony do enterocytów jelita cienkiego. Stadium dyspersyjnym jest oocysta. Człowiek zaraża się na drodze fekalno-oralnej, inhalacyjnej, przez picie wody skażonej oocystami, spożywanie skażonej żywności oraz kontakt z zarażonymi zwierzętami [4, 6]. Największym rezerwuarem zoonotycznym są zarażone zwierzęta, które wraz z kałem wydalają oocysty do środowiska i są ciągłym źródłem inwazji. Należą tu zarówno zwierzęta hodowlane, a zwłaszcza bydło, kozy i owce, jak i dziko żyjące [3, 5, 6, 12]. Na przykład obecność oocyst *C. parvum* stwierdzono u gryzoni ze sklepów zoologicznych, które są często trzymane również w warunkach domowych. Bliski kontakt człowieka ze zwierzętami, niedocenywanie roli higieny, sprzyja zarażeniom, a szeroki wachlarz żywicielski przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska. Wykazano, że cielęta z biegunką, zarażone *C. parvum*, wydają do środowiska kilka miliardów oocyst dziennie. Skażenie gleby prowadzi do zanieczyszczenia wód powierzchniowych i gruntowych. Sprzyjają temu ulewne deszcze, powodzie i niedoskonały proces uzdatniania wody. Oocysty są odporne na działanie wielu czynników fizykochemicznych, takich jak niska temperatura środowiska i chlorowanie wody, a z powodu swoich małych rozmiarów nie są zatrzymywane przez filtry w procesie oczyszczania. Tradycyjne metody uzdatniania wody pitnej nie niszczą oocyst. Jak wynika z uzyskanych informacji, we wrocławskich basenach rekreacyjnych woda jest jedynie chlorowana. Zatem do zarażenia może dojść również przez przypadkowe spożycie skażonej wody podczas kąpieli w zbiorniku naturalnym lub basenie [6, 8]. Wykazano, że wektorami *C. parvum* mogą być również muchy, przenoszące oocysty na żywność [13]. Nieznana jest jeszcze skala tego zjawiska, gdyż badania są w toku. Dawki inwazyjne pasożyta są niewielkie, około 10 oocyst może zarazić osobę immunokompetentną, co udowodniono doświadczalnie na zdrowych ochotnikach [14].

Pożłknięta oocysta, w przewodzie pokarmowym ulega ekscystacji, uwalniając się cztery inwazyjne sporozoit. W jelicie cienkim przybierają charakter troficzny i wnikają do enterocytów. Trofozoity w procesie schizogonii intensywnie namnażają się, uwalniając meronty I rzędu, zawierające po 8 merozoitów, które zarażają sąsiednie enterocyty. Następnie pojawiają się meronty II rzędu zawierające po 4 merozoity. Niektóre z tych merozoitów zapoczątkowują stadium gamogonii, pro-

wadzące do powstania oocyst. U *Cryptosporidium parvum* powstają dwa typy oocyst: cienkościenne i grubościenne. Oocysty cienkościenne pozostają w jelicie żywiciela, grubościenne natomiast są wydalane na zewnątrz. Intensywne namnażanie merontów oraz wytwarzanie oocyst cienkościennych w organizmie gospodarza powoduje jego masową autoinwazję utrzymującą się długo, przede wszystkim u pacjentów z obniżoną odpornością. Oocysty grubościenne, o wymiarach 4–6 µm, są wydane z kałem do środowiska zewnętrznego (gleba, woda). Zachowują inwazyjność przez kilka miesięcy [4–6]. Oocysty *C. parvum* nie różnią się morfologicznie od oocyst *C. hominis*. Jedynie badania molekularne mogą wskazać, którym gatunkiem zarażony jest żywiciel [12].

Do objawów klinicznych kryptosporydiozy należą: zmęczenie, ogólne osłabienie, brak łaknienia, ból brzucha, czasem wymioty, wodniste biegunki i utrata masy ciała. U osób immunokompetentnych zwykle dochodzi do samowyleczenia, u osób z obniżoną odpornością natomiast zarażenie prowadzi do wyniszczenia organizmu, a nawet śmierci [4, 15–17]. U zarażonych pacjentów największe zmiany patomorfologiczne występują w jelicie cienkim. Błona śluzowa z czasem zmienia się, jest przekrwiona z objawami zapalenia lub owrzodzenia. Dochodzi do skrócenia i niszczenia kosmków, co wpływa na zaburzenia wchłaniania i sekrecji [3, 16, 17]. U osób z niedoborami odpornościowymi zostają zasiedlone również inne narządy. Stwierdzono kryptosporydiozę pozajelitową obejmującą głównie pęcherzyk i drogi żółciowe oraz układ oddechowy [14, 17].

Diagnostyka polega na badaniu kału różnymi technikami laboratoryjnymi. W rutynowych badaniach mikroskopowych nie wykrywa się oocyst, zatem nie są one zalecane do wykrywania tych pasożytów. Oocysty można wykryć w świeżych preparatach w mikroskopie fluorescencyjnym z wykorzystaniem ich autofluorescencji, nie jest to jednak metoda polecana do szerszej diagnostyki [18]. Najczęściej stosuje się rozmazy barwione według zmodyfikowanej metody Ziehl-Neelsena [19] oraz Kinyouna, safraniną i błękitem metylowym [6]. Wykorzystuje się ponadto metody immunoenzymatyczne oraz badania molekularne, a zwłaszcza łańcuchową reakcję polimerazy PCR oraz testy immunofluorescencyjne [20, 21]. Tradycyjne metody barwienia są czasochłonne i mało czułe. Najbardziej skuteczne są metody molekularne, aczkolwiek rzadko stosowane ze względu na wysokie koszty. W przypadku przewlekłej biegunki stosuje się również biopsję jelita [6].

Przewlekła kryptosporydioza, potwierdzona etjologicznie, z biegunką trwającą ponad miesiąc, jest uznawana jako choroba wskazująca na AIDS [22].

Mikrosporydia

Mikrosporydia są obligatoryjnymi, wewnątrzkomórkowymi pierwotniakami, pasożytującymi zarówno u bezkręgowców, jak i u kręgowców. Stwierdzono ich obecność u zwierząt dziko żyjących i udomowionych, takich jak: świnie, psy, koty, króliki, a także u niektórych ptaków, również hodowanych w warunkach domowych. Zwierzęta stanowią rezerwuar pasożyta i źródło kontaminacji środowiska [23]. Źródłem zarażenia mikrosporydiami może być skażona woda, zarówno wodociągowa, jak i z basenów, a także innych zbiorników. Brakuje jednak szerszych opracowań dotyczących skażenia formami dyspersyjnymi wód powierzchniowych i gruntowych oraz ścieków. Obecność pasożyta w różnych środowiskach stwarza duże możliwości zarażenia, co jest szczególnie niebezpieczne dla osób z deficytem immunologicznym. Do zarażenia dochodzi drogą fekalno-oralną oraz wziewną [23].

Mikrosporydia charakteryzują się brakiem swoistości tkankowej. U chorych z obniżoną odpornością wykrywa się je w jelitach, wątrobie, nerkach, układzie oddechowym, przewodach żółciowych, mięśniach, gałce ocznej, a także w ośrodkowym układzie nerwowym [23–26]. Objawy kliniczne związane z mikrosporydiozą zależą od gatunku pasożyta, umiejscowienia w organizmie człowieka oraz od statusu immunologicznego pacjenta. W badaniach pacjentów zakażonych HIV, przeprowadzonych w USA, Europie i Australii stwierdzono prevalencję zarażenia 2–50% chorych [23].

Obecnie jest znanych 1200 gatunków mikrosporydiów, należących do ponad 140 rodzajów, pasożytujących u różnych żywicieli [23, 27]. Przed pojawieniem się pandemii AIDS, inwazje tym pasożytem wykrywano rzadko, dopiero w połowie lat 80. XX w. wzrosło zainteresowanie tym patogenem i opisano wiele nowych gatunków. Najwcześniej poznanym gatunkiem u człowieka był *Enterocytozoon bieneusi* wywołujący chroniczną biegunkę i zapalenie jelit, szczególnie u pacjentów z głębokim deficytem immunologicznym (m.in. zakażonych wirusem HIV). Znajdowano go również w drogach żółciowych, pęcherzykach płucnych, nabłonku oskrzeli i zatok. Inwazja tym patogenem wywołuje zmiany w błonie śluzowej, atrofię kosmków i stany zapalne błony właściwej [23, 28]. Zwrócono uwagę na szerokie rozprzestrzenienie tego pasożyta w środowisku człowieka. Jego obecność stwierdzono u takich zwierząt hodowlanych, jak: świnie, psy, króliki i koty. Do pasożytów człowieka należą również mikrosporydia z rodzaju *Encephalitozoon*, np. *E. intestinalis*, wywołujący biegunki, szczególnie u osób z obni-

zoną odpornością. Pierwszy przypadek encefalitozoonozy, wywołanej przez pierwotniaka należącego do tego gatunku u pacjenta niezakażonego HIV, opisano w 1993 r. u niemieckiego studenta z biegunką trwającą dwa tygodnie. *E. cuniculi* znajdowano w wątrobie, nabłonku nerek i układzie oddechowym [23, 25, 26, 28, 29]. Gatunek *E. hellem* najczęściej wywołuje mikrosporydiozę oczną, lokuje się również w nabłonku dróg moczowych, oskrzeli i płuc [23, 25]. *Pleistophora* i *Trachipleistophora* należą do mikrosporydiów wywołujących stany zapalne mięśni [29]. Spory *Pleistophora* stwierdzono w mięśniach ryb, stąd przypuszcza się, że jedzenie surowych bądź niedogotowanych ryb może być przyczyną zarażenia u człowieka [23]. Wszystkie te gatunki najczęściej występują u osób z obniżoną odpornością, wywołując gwałtowny przebieg choroby, prowadzący nawet do śmierci.

Mimo że mikrosporydia należą do Eukariota, mają wiele cech molekularnych i cytologicznych charakterystycznych dla Prokariota. Na przykład rybosomy zawierają prokariotyczny RNA, są pozbawione mitochondriów oraz klasycznego aparatu Golgiego. Formą dyspersyjną jest spora, która dzięki obecności chityny w otoczce wewnętrznej, jest bardzo oporna na działanie czynników środowiska [23]. Człowiek zaraża się drogą pokarmową, przez połknięcie spory, choć odnotowano również drogę inhalacyjną [25]. Spora ma charakterystyczną budowę z drożną nicią biegunową, przez którą sporoplazma zostaje wystrzelona do komórki organizmu żywiciela. Wewnątrz komórki rozmnaża się przez podział lub jądro ulega wielokrotnym podziałom, które prowadzą do powstania komórek wielojądrowych (merogonia). Następnym etapem jest sporogonia, w wyniku której wytwarzane są spory. Mogą zarażać następne komórki żywiciela albo jako formy inwazyjne – z wydzielinami opuszczają jego organizm [23].

Mikrosporydia sprawiają trudności w rutynowej diagnostyce, ze względu na małe rozmiary: $1,0\text{--}4,0 \times 0,5\text{--}2,0 \mu\text{m}$ i trudno barwiące się spory. Najczęściej stosuje się barwienia rozmazów z osadu moczu, rozmazu kału, wymazów i zeskrabin ze spojówki i błony śluzowej oka z użyciem chromotropu, według metody opracowanej przez Webera et al. [30] lub barwników fluorescencyjnych, takich jak Uvitex 2B, Calcofluor White [23, 26, 30]. W diagnostyce wykorzystuje się ponadto biopsję jelita [23]. Identyfikację gatunkową prowadzi się jedynie za pomocą mikroskopu elektronowego lub diagnostyki molekularnej z wykorzystaniem PCR w wyspecjalizowanych laboratoriach. Identyfikacja gatunku jest konieczna do efektywniejszego leczenia, ponieważ gatunki mikrosporydiów różnią się wrażliwością na działanie leków. Niestety, ze

względu na wysoki koszt badań, metody te nie są stosowane w rutynowej diagnostyce [23, 26, 28].

Toxoplasma gondii

Przewlekła toksoplazmoza, wywołwana przez *Toxoplasma gondii* jest zakażeniem oportunistycznym wskazującym na AIDS [21] i dlatego pierwotniak ten został uwzględniony w niniejszej pracy. *Toxoplasma gondii*, Nicolle et Manceaux, 1908, występuje kosmopolitycznie, pasożytując wewnątrzkomórkowo. Ma doskonałą zdolność adaptacyjną do wielu gatunków żywicieli pośrednich, do których należy większość ssaków i niektóre ptaki. Stąd wywołuje jedną z najczęstszych antropozoonoz i jednocześnie jest najbardziej rozpowszechnionym zakażeniem na świecie. Badania przeprowadzone w Ameryce Łacińskiej, Europie, Azji i Afryce szacują prevalencję zarażenia w granicach 30–75% ludzi. W USA określa się je na poziomie 3–42%. Częstość zarażenia *T. gondii* w Polsce wynosi 35,81% (w przedziale 5–65% w różnych regionach kraju). W badaniach prowadzonych w krajach europejskich uzyskiwano zróżnicowane wyniki dotyczące zarażenia u kobiet, np. w Finlandii – 20,3%, w Niemczech i Francji – 40–80% populacji, a w Austrii około 20–60% [31]. Przebieg zarażenia jest najczęściej bezobjawowy lub skąpoobjawowy pod postacią zapalenia węzłów chłonnych lub zespołu mononukleozopodobnego [7, 31]. U chorych zakażonych HIV, w stanie skrajnej immunosupresji (liczba limfocytów $\text{CD4} < 100 \text{ kom./mm}^3$) następuje reaktywacja zarażenia utajonego. Najczęściej występuje toksoplazmoza mózgowa z ogniskowymi ropniami i mikroropniami oraz zapalenie mózgu. Stwierdzano również pozamózgową toksoplazmozę, powodującą stany zapalne i martwicze w płucach, sercu, żołądku, trzustce, wątrobie, mięśniach, a także gałce ocznej [32, 33].

Zarażenie populacji *T. gondii* zależy od zwyczajów kulinarnych oraz poziomu sanitarno-higienicznego. W badaniach przeprowadzonych w USA wśród pacjentów zakażonych HIV, prevalencję zarażenia określa się na poziomie 3–22%, czyli nie częściej niż w populacji ogólnej, w tym 11% u mężczyzn i 20–22% u kobiet [7]. Wyższy poziom zarażenia u kobiet tłumaczy się przede wszystkim zwyczajami kulturowymi. Kobiety częściej niż mężczyźni pracują przy obróbce żywności, wykonują prace porządkowe czy też ogrodnicze w kontakcie z ziemią, a zatem są narażone na spotkanie z formami dyspersyjnymi i łatwiej zostają zarażone. Toksoplazmoza nie jest niebezpieczna dla kobiet w ciąży, tylko dla rozwijającego się płodu. Formami inwazyjnymi dla człowieka

są przede wszystkim sporozycy, tachyzoity w pseudocystach i bradyzoity w cystach, znajdujące się w pokarmach pochodzenia zwierzęcego [34]. Z kałem zarażonego kota są wydalone oocysty, które po dojrzewaniu zawierają sporozycy. Do zarażenia toksoplazmozą dochodzi najczęściej drogą pokarmową, doustnie, przez pożywienie zakażone sporozycami, spożycie niedogotowanego mięsa, szczególnie wieprzowiny lub picie skażonego, surowego mleka. Zarazić można się również bezpośrednio przez kontakt z chorym kotem. Oocysty zarażonego kota są źródłem zanieczyszczenia gleby, wody i żywności. Ważną drogą transmisji jest łożysko przez tachyzoity obecne w monocytach, powodujące inwazje wrodzone, a także w wyniku transfuzji krwi i podczas transplantacji zainfekowanych narządów. Również pewne środowiska zawodowe są narażone na ryzyko zarażenia toksoplazmozą przez uszkodzoną skórę, np.: rolnicy, pracownicy laboratoriów oraz rzeźni. Do zarażenia może dojść przez błonę śluzową *rectum* u homoseksualistów [35, 36]

W rozwoju *T. gondii* występuje przemiana pokoleń: pokolenie płciowe, które zachodzi w nabłonku jelitowym kota (żywiciel ostateczny) oraz pokolenie bezpłciowe, które przebiega w organizmach ssaków i niektórych ptaków (żywiciel pośredni). Po wnikięciu pasożyta do organizmu rozwija się faza ostra choroby, pasożyty wnikają do monocytów, makrofagów oraz komórek siateczki lub śródbłonka i intensywnie rozmnażają się w formie tachyzoitów w pseudocystach. Następnie przenoszą się do mięśni poprzecznie prążkowanych, gładkich, a także do ośrodkowego układu nerwowego, gałki ocznej i innych narządów tworząc bradyzoity w cystach. Cysta otacza się błoną komórkową żywiciela, z czasem tkanką łączną, która zostaje wysycona solami wapnia. W tej formie pozostają u żywicieli pośrednich, m.in. u człowieka, stanowiąc etap przewlekłego zarażenia i jednocześnie rezerwuariusz pasożyta [31].

Diagnostyka polega na wykrywaniu tachyzoitów (pseudocysty) i bradyzoitów (cysty) w barwionych preparatach z wód płodowych, płynu mózgowo-rdzeniowego, biopsji węzłów chłonnych, skrawków mięśniowych lub szpiku kostnego człowieka. W zależności od postaci toksoplazmozy wykonuje się badania specjalistyczne. W toksoplazmozie ocznej – angiografię fluoresceinową i ultrasonografię, a w neurotoksoplazmozie badania rentgenowskie ujawniające zwapnienia oraz tomografię komputerową. Duże znaczenie mają odczyny immunologiczne, wykrywające w surowicy przeciwciała klasy IgG, IgM oraz IgA, antygeny lub DNA. Wysoką czułość w wykrywaniu swoistych przeciwciał cechują odczyny immuno fluorescencyjne i aglutynacji bezpośredniej. Testy immunoenzymatyczne odznaczają się niższą swo-

istością w porównaniu z wymienionymi odczynami, ale mogą być z powodzeniem stosowane w celu ustalenia rozpoznania [31, 34, 37].

Isospora belli i *Cyclospora cayetanensis*

Isospora belli Wenyon, 1923 i *Cyclospora cayetanensis* Ortega, 1994, należą do kokcydiów pasażujących wewnątrzkomórkowo w komórkach nabłonkowych błony śluzowej jelita człowieka. Są kosmopolitycznymi pierwotniakami, choć wyższą prevalencję notuje się u ludzi w krajach rozwijających się [2]. Na przykład, częstość występowania izosporozji u pacjentów chorych na AIDS na Haiti wynosi 15%, a wśród pacjentów amerykańskich 0,2%. W USA sporadycznie zdarzają się epidemie wywołane przez tego pasożyta [38, 39]. Oocysta *I. belli* ma kształt owalny, o wymiarach 20–30 µm. W środowisku zewnętrznym jądro oocysty dzieli się na dwie sporocysty zawierające po cztery sporozycy [38]. Oocysty *C. cayetanensis* natomiast są okrągłe o średnicy 8–10 µm i zawierają po dwie sporocysty z dwoma sporozycami [39, 40]. Rozwój tych pasożytów jest podobny do cyklu rozwojowego *C. parvum*. Oocysty opuszczają wraz z kałem organizm zarażonego osobnika i po osiągnięciu dojrzałości w środowisku zewnętrznym zawierają sporozycy. Człowiek zaraża się przez spożycie wody lub żywności zanieczyszczonych sporozycami. Pasożyty te stanowią zagrożenie dla pacjentów z zaburzeniami odporności, szczególnie zakażonych wirusem HIV. Najczęściej spotykane objawy zarażenia, podobnie jak w przypadku *C. parvum*, to: bóle brzucha, uporczywe biegunki, stany zapalne jelit, miejscowe zniszczenia kosmków. Może to upośledzać wchłanianie pokarmu [5, 38, 40]. Obecnie diagnostyka opiera się na rutynowych badaniach koproscopowych oraz mikroskopowym oglądaniu preparatów barwionych m.in. metodą Ziehl-Neelsena. Oocyst poszukuje się w preparatach bezpośrednich oraz rozmazach kałowych, barwionych zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena [5, 38]. Ponieważ, podobnie jak oocysty *C. parvum*, wykazują autofluorescencję, można ich również poszukiwać w świeżych rozmazach stolca z użyciem mikroskopu fluorescencyjnego [17].

Przewlekła izosporozja z biegunką trwającą ponad miesiąc jest uznawana jako choroba wskazująca na AIDS [22].

Podsumowanie

Rozwój technik diagnostycznych umożliwił poznanie nowych gatunków pierwotniaków pasażujących u człowieka, które do tej pory nie były

traktowane jako chorobotwórcze. Zagrożenie jest poważne, ponieważ rozpowszechnienie tych patogenów w przyrodzie jest bardzo duże, ze względu na utrzymujący się rezerwuuar zoonotyczny. Z powodu narastających problemów związanych ze statusem immunologicznym, jak np. immunosupresja związana m.in. z transplantacją narządów, czy też powiększającej się liczby pacjentów zakażonych HIV, wiele pierwotniaków może być przyczyną rozwoju inwazji oportunistycznych, które w chwili obniżenia odporności mogą wywoływać poważne schorzenia, prowadzące nawet do śmierci. Wprowadzenie kombinowanego leczenia zakażenia

HIV, jakim jest wysoce aktywna terapia antyretrowirusowa (HAART) wpłynęło nieco na obniżenie liczby pacjentów z objawami klinicznymi wywołwanymi przez pierwotniaki oportunistyczne. Aby opanować sytuację, należy zwrócić większą uwagę na diagnostykę chorób pasożytniczych oraz profilaktykę, szczególnie u osób z upośledzoną odpornością. Przestrzeganie podstawowych zasad higieny, zabezpieczanie żywności przed skażeniem formami dyspersyjnymi i prawidłowe uzdatnianie wody może ograniczyć rozprzestrzenianie się pasożytów.

Piśmiennictwo

- [1] **Horowitz H, Wormser G:** Care of the adult patient with HIV infection. AIDS and other manifestations of HIV infection. Wormser GP: ELSEVIER Academic Press, San Diego 2004, 323–352.
- [2] **Verdier RI, Fitzgerald D, Johnson W, Pape JW:** Trimethoprim-Sulfamethoxazole compared with ciprofloxacin for treatment and prophylaxis of *Isospora belli* and *Cyclospora cayentanensis* infection in HIV-infected patients: A randomized, controlled trial. *Ann I Med* 2000, 132, 885–888.
- [3] **Majewska A, Sulima P, Werner A, Baralkiewicz G, Juszczak J, Pieniążek NJ:** Kryptosporydioza u osób zakażonych HIV. *Wiad Parazytol* 1999, 45, 125–128.
- [4] **Okhuysen PC, Chapell CL, Crabb JH, Sterling CR, DuPont HL:** Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J Infect Dis* 1999, 180, 1275–1281.
- [5] **Siński E:** *Cryptosporidium* sp.: epidemiologia, źródła i drogi zarażeń. *Klin Ch Zak, Zak Szpit* 1999, 3, 83–87.
- [6] **O'Donoghue PJ:** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol* 1995, 25, 139–195.
- [7] **Falusi O, French A, Seaberg E, Tien P, Watts H, Minkoff H, Piessens E:** Prevalence and predictors of *Toxoplasma* seropositivity in women with and risk for human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2002, 35, 1414–1417.
- [8] **MacKenzie W, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addis DG, Fox KR, Rose JB, Davis JP:** A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med* 1994, 331, 161–167.
- [9] **Cotte L, Rabodonirina M, Chapuis F, Bailly F, Bissuel F, Raynal C, Gelas P:** Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in person with and without human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1999, 180, 2003–2008.
- [10] **Wesołowska M, Mowszet K, Wróbel G, Jankowski S:** Kryptosporydioza u dzieci z przewlekłą biegunką. *Wiad Parazytol* 2004, 50, 393–396.
- [11] **Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton J:** *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 2004, 17, 72–97.
- [12] **Majewska A, Kasprzak W, Werner A, Kozakiewicz B:** Investigations on cryptosporidiosis in humans and livestock from the same localities. *Acta Parasitol* 1999, 44, 211–214.
- [13] **Graczyk TK, Grimes BH, Knight R, Szostakowska B, Kruminis-Łozowska W, Carewicz M, Tamang L, Da-silva AJ, Myjak P:** Mechanical transmission of *Cryptosporidium parvum* oocyst by flies. *Wiad Parazytol* 2004, 50, 243–247.
- [14] **DuPont HI, Chappell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubowski W:** The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *N Engl J Med* 1995, 332, 13, 855–859.
- [15] **Spano F, Crisanti A:** *Cryptosporidium parvum*: the many secrets of a small genome. *Int J Parasitol* 2000, 30, 533–565.
- [16] **Delis SG, Tector T, Kato N, Mittal D:** Diagnosis and treatment of *Cryptosporidium* infection in intestinal transplant recipients. *Transplant Proc* 2002, 34, 951–952.
- [17] **Clark DP, Sears CL:** The pathogenesis of Cryptosporidiosis. *Parasitol Today* 1996, 12, 221–225.
- [18] **Davies A, Stewart B:** Autofluorescence in the oocyst of marine and freshwater fish Coccidia. *Folia Parasitol* 2000, 47, 157–158.
- [19] **Weber R, Bryan RT, Juranek DD:** Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1992, 30, 2869–2873.
- [20] **Henriksen SA, Pohlenz JE:** Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand* 1981, 22, 594–596.
- [21] **Pieniążek N, Moura INS, Da Silva AJ, Majewska AC, Werner A, Sulima P:** Nowa metoda wykrywania *Cryptosporidium* w próbach kału przy zastosowaniu PCR. Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Zastosowanie technik molekularnych w parazytologii” IMMIT Gdynia, 7–8 V 1999.
- [22] **Rogowska-Szadkowska D:** Definicje i systemy klasyfikacji zakażenia ludzkim wirusem upośledzenia odporności (HIV) u dorosłych (> 13. roku życia). *Probl HIV AIDS*, 1996, 2, 13–19.

- [23] **Didier ES, Didier PJ, Snowden KF, Shadduck JA:** Microsporidiosis in mammals. *Microb Infect* 2000, 2, 709–720.
- [24] **Okhuysen PC, White AC:** Parasitic infections of the intestines. *Curr Opin Infect Dis* 1999, 12, 467–472.
- [25] **Weber R, Kuster H, Visvesvara GS, Bryan RT, Schwartz DA, Luthy R:** Disseminated Microsporidiosis due to *Encephalitozoon hellem*: pulmonary colonization, microhematuria, and mild conjunctivitis in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993, 17, 415–419.
- [26] **Sheikh RA, Prindiville TP, Yenamanda S, Munn RJ:** Microsporidial AIDS cholangiopathy due to *Encephalitozoon intestinalis*: case report and review. *Am J Gastroenterol* 2000, 95, 2364–2371.
- [27] **Ovcharenko M, Wita I:** Meandry systematyki mikrosporydiów. *Wiad Parazytol*, 2002, 48, 319–331.
- [28] **Majewska AC:** Mikrosporydioza u osób zakażonych HIV. *Klin Ch Zak Zak Szp* 1999, 3, 89–94.
- [29] **Kucerova-Pospisilova Z, Stankova M, Ditrich O:** *Encephalitozoon intestinalis* infection in an AIDS patient – a case report. *Centr Eur J Publ Health* 1999, 7, 43–46.
- [30] **Weber R, Bryan MD, Owen RL, Wilcox CM, Gorelkin L, Visvesvara GS:** Improved light-microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. *Clin Infect Dis* 1992, 326, 161–166.
- [31] **Jones J, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R:** Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv* 2001, 56, 96–305.
- [32] **Ahuja SK, Ahuja SS, Thelmo W, Seymour A, Phelps KR:** Necrotizing pancreatitis and multisystem organ failure associated with toxoplasmosis in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993, 16, 432–434.
- [33] **Masur H, Kaplan J, Holmes K:** Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons – 2002: Recommendations of the U.S. Public Health Service and the Infectious Diseases Society of America. *Ann Intern Med* 2002, 137, 5Part 2, Suppl., 435–477.
- [34] **Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE, Sims PFG:** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction – food for thought. *Int J Parasit* 2002, 32, 1193–1199.
- [35] **Choi W, Nam H, Kwak N, Huh W, Kim Y:** Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *J Infect Dis* 1997, 175, 1280–1282.
- [36] **Tan JS:** Human zoonotic Infections transmitted by dogs and cats. *Arch Intern Med* 1997, 157, 1933–1943.
- [37] **Długońska H, Dytnerska K:** Antygeny *Toxoplasma gondii*. *Wiad Parazytol* 2000, 46, 327–334.
- [38] **Goodgame RW:** Understanding intestinal spore-forming Protozoa: *Cryptosporidia*, *Microsporidia*, *Isospora*, and *Cyclospora*. *Ann Int Med* 1996, 124, 429–441.
- [39] **Herwaldt B:** *Cyclospora cayentanensis*: A review, focusing on the outbreaks of *Cyclospora* in the 1990s. *Clin. Infect. Dis.* 2000, 31, 1040–1057.
- [40] **Pape JW, Verdier RI, Boncy M, Boncy J, Johnson W:** *Cyclospora* infection in adults infected with HIV: clinical manifestations, treatment, and prophylaxis. *Ann Int Med* 1994, 121, 654–657.

Adres do korespondencji:

Maria Wesołowska
Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM
ul. Mikulicza-Radeckiego 9
50-367 Wrocław
e-mail: wesol@biolog.am.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 4.08.2004 r.

Po recenzji: 1.09.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 22.09.2004 r.

Received: 4.08.2004

Revised: 1.09.2004

Accepted: 22.09.2004