



# Генотипы IIaA15G2R1 и IbA10G2 *Cryptosporidium* при гастроэнтерите у детей в возрасте до 5 лет

Е.Г. Старикова<sup>1</sup>, Н.И. Шубина<sup>2</sup>, О.В. Воронкова<sup>1</sup>, Н.Д. Яровой<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск

<sup>2</sup> ОГБУЗ «Медико-санитарная часть № 2», г. Томск

**Цель исследования:** определение генотипов инфицирующих видов криптоспоридий, вызывающих острые кишечные инфекции у детей в возрасте до 5 лет, и установление особенностей клинического течения криптоспоридиоза в зависимости от генотипа возбудителя.

**Дизайн:** одномоментное исследование.

**Материалы и методы.** В исследование включали детей в возрасте до 5 лет, госпитализированных с признаками гастроэнтерита. Для идентификации криптоспоридий микроскопировали мазки фекалий, окрашенных по Цилю — Нильсену после предварительного концентрирования модифицированным эфир-формалиновым методом. Генотипы криптоспоридий определяли посредством полимеразной цепной реакции.

**Результаты.** Из 26 образцов кала, положительных по криптоспоридиозу, с использованием специфических праймеров (к поверхностному гликопротеину криптоспоридий gp60) в 3 случаях (11,5%, группа 1) выявлены *C. hominis* (генотип IbA10G2), в 10 (38,5%, группа 2) — *C. parvum* (генотип IIaA15G2R1), в 13 образцах (50,0%, группа 3) генотип и вид криптоспоридий определить не удалось. Дети, инфицированные криптоспоридиями IIaA15G2R1, имели более высокую скорость оседания эритроцитов, различие с группой 3 статистически значимо:  $p = 0,036$ . При этом детям группы 3 инфузионная терапия назначалась статистически значимо чаще, чем в первых двух группах:  $p < 0,05$ .

**Заключение.** Криптоспоридии *C. hominis* и *C. parvum* с генотипами IbA10G2 и IIaA15G2R1 соответственно ответственны за половину случаев криптоспоридиоза у детей до 5 лет.

**Ключевые слова:** криптоспоридиоз, генотип, гастроэнтерит, дети.

**Для цитирования:** Старикова Е.Г., Шубина Н.И., Воронкова О.В., Яровой Н.Д. Генотипы IIaA15G2R1 и IbA10G2 *Cryptosporidium* при гастроэнтерите у детей в возрасте до 5 лет // Доктор.Ру. 2018. № 11 (155). С. 10–14. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-155-11-10-14



## IIaA15G2R1 and IbA10G2 Genotypes of *Cryptosporidium* in Gastroenteritis in Children of up to 5 Years Old

E.G. Starikova<sup>1</sup>, N.I. Shubina<sup>2</sup>, O.V. Voronkova<sup>1</sup>, N.D. Yaravoy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk

<sup>2</sup> Medical Unit No.2, Tomsk

**Study Objective:** to identify the genotypes of infecting cryptosporidia causing acute enteric infections in children of up to 5 years old; and to find out the peculiarities of clinical progression of cryptosporidiosis depending on the pathogen gene type.

**Study Design:** cross-sectional study.

**Materials and Methods.** The study enrolled children of up to 5 years old hospitalised with symptoms of gastroenteritis. In order to identify cryptosporidia, microscopic examination of excrement smear was performed after Ziehl-Neelsen staining of samples and preliminary concentration with modified ether formaldehyde. Cryptosporidia gene types were identified by polymerase chain reaction.

**Results.** Out of 26 excrement samples positive for cryptosporidiosis when using specific primers (to surface cryptosporidia glycoprotein gp60) 3 cases (11.5%, group 1) demonstrated *C. hominis* (gene type IbA10G2), 10 cases (38.5%, group 2) — *C. parvum* (gene type IIaA15G2R1); 13 samples (50.0%, group 3) did not allow identifying cryptosporidia gene type. Children infected with IIaA15G2R1 cryptosporidia showed higher erythrocyte sedimentation rate, with statistically significant difference with group 3:  $p = 0.036$ . In group 3, infusion therapy was prescribed more often than in the other two groups:  $p < 0.05$ .

**Conclusion.** *C. hominis* and *C. parvum* cryptosporidia with IbA10G2 and IIaA15G2R1 gene types, respectively, caused a half of all cryptosporidiosis cases in children of up to 5 years old.

**Keywords:** cryptosporidiosis, gene type, gastroenteritis, children.

**For reference:** Starikova E.G., Shubina N.I., Voronkova O.V., Yaravoy N.D. IIaA15G2R1 and IbA10G2 Genotypes of *Cryptosporidium* in Gastroenteritis in Children of up to 5 Years Old. Doctor.Ru. 2018; 11(155): 10–14. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-155-11-10-14

**К**риптоспоридиоз представляет собой протозойное заболевание с преимущественным поражением ЖКТ, клинически протекающее в форме гастроэнтеритов различной степени тяжести.

В настоящее время идентифицирован 31 вид криптоспоридий. Криптоспоридии являются одноклеточными паразитами, они широко распространены в природе, инфицируют диких и домашних животных, а также являются

Воронкова Ольга Владимировна — д. м. н., доцент, профессор кафедры биологии и генетики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2. E-mail: voronkova-ov@yandex.ru

Старикова Елена Григорьевна — д. м. н., ассистент кафедры биологии и генетики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2. E-mail: elena.g.starikova@yandex.ru

Шубина Наталья Ивановна — врач-инфекционист ОГБУЗ «МСЧ № 2». 634041, г. Томск, ул. Белы Куна, д. 3. E-mail: natalva.i.shubina@Haii.com  
Яровой Николай Дмитриевич — студент 5-го курса медико-биологического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2. E-mail: koly-yarovoy@yandex.ru

вторым по значимости (после ротавируса) этиологическим фактором острых кишечных инфекций (ОКИ) у человека. Доказано, что криптоспоридии вызывают наиболее тяжелые случаи диареи у детей в возрасте до 5 лет, нередко приводящие к летальному исходу [1].

Криптоспоридии имеют моноксенный цикл развития, протекающий в ЖКТ одного хозяина. Инфицирование человека происходит при заглатывании ооцист, из которых в тонком кишечнике высвобождаются спорозоиты, проникающие в щеточную каемку энтероцитов. Далее следуют повторяющиеся циклы спорогонии либо гаметогонии с образованием ооцист. Повреждение стенки тонкого кишечника в результате жизнедеятельности паразита сопровождается такими клиническими симптомами, как частый водянистый стул, боль в животе, повышение температуры тела; позднее развивается синдром мальабсорбции [2].

Способность вызывать ОКИ у человека установлена для 20 видов криптоспоридий. Наиболее часто вспышки ОКИ и спорадические случаи диареи во всем мире сопряжены с инфицированием двумя видами криптоспоридий: *Cryptosporidium hominis* и *C. parvum*. Отдельные генотипы *C. hominis* и *C. parvum* идентифицируют на основании секвенирования гликопротеина gp60. Последний является наиболее информативным генетическим маркером для генотипирования изолятов криптоспоридий [3].

Изучение распространенности криптоспоридиоза у ВИЧ-инфицированных лиц показало, что клиническое течение заболевания находится в зависимости от того, какие виды и генотипы возбудителя преобладают у пациента. Так, инфекция, вызванная *C. hominis* (генотипов Id и Ib), *C. parvum*, *C. canis*, *C. felis*, ассоциирована с более тяжелым клиническим течением криптоспоридиоза и характеризуется хронической диареей и значительной потерей массы тела [4]. Принимая во внимание зависимость клинической картины криптоспоридиоза от генотипического профиля возбудителя, а также различающуюся вирулентность генотипических вариантов криптоспоридий в отношении организма человека, следует отметить, что молекулярно-биологическая диагностика (генотипирование) паразита играет важную роль в определении риска тяжелого течения заболевания, развития осложнений, а также контагиозности инфекции для окружающих [5].

**Цель исследования:** определение генотипов инфицирующих видов криптоспоридий, вызывающих острые кишечные инфекции у детей в возрасте до 5 лет, и установление особенностей клинического течения криптоспоридиоза в зависимости от генотипа возбудителя.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование являлось одномоментным. В него включали больных, госпитализированных в инфекционное отделение Медико-санитарной части № 2 (г. Томск). Анализ кала (выявление ооцист криптоспоридий, ПЦР) выполняли на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ) Минздрава России (г. Томск).

Проведение работы одобрено этическим комитетом СибГМУ Минздрава России (протокол № 5123 от 27.12.2017).

Обследованы 98 детей в возрасте до 5 лет включительно, которые поступили в инфекционный стационар с марта по май 2017 г. Все дети были госпитализированы в порядке скорой медицинской помощи в связи с повышением температуры до 38–39 °С, жидким водянистым стулом от 3 до 10 раз в сутки, слабостью, снижением аппетита; в некоторых случаях

отмечалась рвота. Родители (опекуны) всех обследованных пациентов после разъяснения в доступной для них форме информации об объемах и характере медицинских манипуляций, а также о возможных последствиях их проведения давали свое письменное согласие на участие ребенка в исследовании.

Материалом для исследования служил кал. Для концентрирования ооцист криптоспоридий применяли устройство одноразового использования Mini Parasep (Diasys Ltd, США). Приготовление препаратов осуществляли следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносили осадок, полученный после концентрирования кала, высушивали на воздухе; далее мазки окрашивали по Цилю — Нильсену (ЭКОлаб, Россия). Окрашенные препараты микроскопировали с иммерсионной системой на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss, Германия). Ооцисты криптоспоридий, окрашенные по Цилю — Нильсену, имели вид округлых красных образований диаметром 3–5 мкм.

Выделение ДНК возбудителя проводили спиртовым преципитатным методом. Для разрушения ооцист использовали бусины silica-zir (BioSpec Products, США) различного диаметра. Количество выделенной ДНК, а также присутствие примесей определяли на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США).

Генотипирование криптоспоридий выполняли методом ПЦР. ДНК амплифицировали посредством ПЦР с применением флуорофора FAM и гасителя флуоресценции BHQ-1 на амплификаторе Mini Opticon (Bio-Rad, США). ПЦР проводили в объеме 25 мкл, реакционная смесь содержала буфер K25 (× 1), 0,2 mM dNTP, 300 nM праймеров, 0,5 ед. акт. SmartAq ДНК-полимеразы, блокированной антителами (Биолабмикс, Россия).

Использовали праймеры, позволяющие специфично амплифицировать фрагменты ДНК криптоспоридий:

- 1) *C. parvum* (генотип IIaA15G2R1):
  - Forward 5'-GAGGAAGGTAGTGAAGACGATG-3';
  - Probe FAM-CCAGCTCAAAGTGAAGCGCAAC-BHQ1;
  - Reverse 5'-GGTGCATAGACGATAGTGTAGG-3';
- 2) *C. hominis* (генотип IbA10G2):
  - Forward 5'-CCGTATAGTCTCCGCTGATTC-3';
  - Probe FAM-TCTCCGCATCTGCTTCTCTTGC-BHQ1;
  - Reverse 5'-GCCACCTTGAGTATCTGTGCC-3'.

Для каждой пары праймеров были подобраны оптимальные режимы амплификации путем варьирования температуры отжига, состава амплификационного буфера, а также параметров амплификационного цикла.

Полученные результаты проанализированы при помощи пакета статистических программ SPSS 23.0 (IBM SPSS Statistics, США). Описание количественных показателей выполнено с указанием медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (25%; 75%), описание качественных показателей — с приведением абсолютной и относительной частоты встречаемости. Межгрупповое сравнение количественных показателей независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела — Уоллиса, качественных показателей — с помощью критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона. Для внутригруппового сравнения количественных показателей двух независимых выборок применяли U-критерий Манна — Уитни, качественных показателей —  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Бонферрони. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У 26 (26,5%) из 98 детей, госпитализированных по поводу ОКИ, в фекалиях определялись ооцисты криптоспоридий.

В результате ПЦР ДНК криптоспоридий, проведенной с использованием специфических праймеров, у 3 из 26 (11,5%) пациентов было установлено наличие возбудителей, относящихся к генотипу IbA10G2 *C. hominis*, у 10 (38,5%) детей — к генотипу IIaA15G2R1 *C. parvum*. В 13 (50,0%) образцах отсутствовали фрагменты ДНК, комплементарные подобранным праймерам к генотипам IbA10G2 *C. hominis* и IIaA15G2R1 *C. parvum*, генотип и вид криптоспоридий установить не удалось.

Для анализа особенностей клинического течения заболевания в зависимости от генотипа возбудителя все пациенты с криптоспоридиозом были разделены на три группы: *первую группу* составили больные, у которых были обнаружены *C. hominis* (генотип IbA10G2); *вторую группу* — больные, позитивные по *C. parvum* (генотип IIaA15G2R1); в *третью группу* вошли пациенты, инфицированные криптоспоридиями с иными генотипами. Дети первой группы были в возрасте 12 (n = 1) и 24 (n = 2) месяцев, второй группы —

12 (11,5; 24) месяцев, третьей — 36 (12; 42) месяцев. Первая группа состояла только из мальчиков, во вторую группу входили 5 (50,0%) девочек и 5 (50,0%) мальчиков, в третью — 8 (61,5%) девочек и 5 (38,5%) мальчиков. По возрасту группы не различались (p = 0,158).

В результате сравнительного анализа клинико-лабораторных показателей ОКИ, вызванной разными генотипами криптоспоридий, было установлено, что значения температуры тела, частота стула и общее количество лейкоцитов в крови у больных исследуемых групп статистически значимых различий не имеют. При этом СОЭ в группе детей, зараженных *C. parvum*, оказалась статистически значимо выше, чем у пациентов с неидентифицированным генотипом криптоспоридий (p = 0,036). По характеру течения заболевания группы различий не имели (табл.).

Следует отметить, что в случае инфицирования детей криптоспоридиями, не относящимися к изучаемым генотипам,

Таблица

Клинико-лабораторные особенности криптоспоридиоза у детей в зависимости от генотипа возбудителя и назначенное лечение

Показатели	Группа 1 (n = 3)	Группа 2 (n = 10)	Группа 3 (n = 13)	Межгрупповые различия	Внутригрупповые различия
Число дефекаций*	2; 3; 5	5 (2; 10)	3 (2; 5)	p = 0,434	–
Температура тела, °С*	38,0; 38,5; 38,5	38,8 (38,3; 39,5)	39,0 (38,0; 39,7)	p = 0,567	–
Лейкоциты, × 10 <sup>9</sup> /л*	6,0; 13,0; 14,1	13,3 (12,6; 17,0)	9,3 (7,4; 15,1)	p = 0,117	–
СОЭ, мм/ч*	8; 10; 37	10,5 (8,0; 17,5)	6,0 (4,5; 9,5)	<b>p = 0,023</b>	p <sub>1-3</sub> = 0,082 <b>p<sub>2-3</sub> = 0,036</b> p <sub>1-2</sub> = 0,864
Волнообразное течение ОКИ, абс. (%)	0 (0,0)	1 (10,0)	2 (15,4)	p = 0,740	–
Повторная госпитализация, абс. (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	p = 1,000	–
<b>Сопутствующие патогены, абс. (%)</b>					
Отсутствуют	0 (0,0)	2 (20,0)	0 (0,0)	p = 0,121	p <sub>1-3</sub> = 1,000 p <sub>2-3</sub> = 0,092 p <sub>1-2</sub> = 0,399
Вирусы	1 (33,3)	1 (10,0)	5 (38,5)		p <sub>1-3</sub> = 0,872 p <sub>2-3</sub> = 0,128 p <sub>1-2</sub> = 0,332
Бактерии	0 (0,0)	5 (50,0)	2 (15,4)		p <sub>1-3</sub> = 0,474 p <sub>2-3</sub> = 0,070 p <sub>1-2</sub> = 0,119
Бактерии + вирусы	2 (66,7)	2 (20,0)	6 (46,2)		p <sub>1-3</sub> = 0,532 p <sub>2-3</sub> = 0,194 p <sub>1-2</sub> = 0,129
<b>Назначенное лечение, абс. (%)</b>					
Инфузионная терапия	0 (0,0)	2 (20,0)	10 (76,9)	<b>p = 0,006</b>	<b>p<sub>1-3</sub> = 0,039</b> <b>p<sub>2-3</sub> = 0,021</b> p <sub>1-2</sub> = 1,000
Кишечные антисептики	2 (66,7)	6 (60,0)	10 (76,9)	p = 0,680	–
Антибиотики	1 (33,3)	8 (80,0)	10 (76,9)	p = 0,253	–
Противовирусные препараты	1 (33,3)	4 (40,0)	4 (30,8)	p = 0,898	–

\* В группах 2, 3 данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей.

Примечания.

1. Первая группа — *C. hominis*-позитивные пациенты; вторая группа — *C. parvum*-позитивные пациенты; третья группа — больные с неидентифицированным генотипом криптоспоридий.

2. ОКИ — острая кишечная инфекция.

для нормализации состояния пациентов статистически значимо чаще, чем при других этиологических вариантах криптоспориоза, приходилось прибегать к назначению инфузионной терапии ( $p < 0,05$ ). Антибиотики и противовирусные препараты использовали с одинаковой частотой во всех группах больных (см. табл.).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Основным путем заражения криптоспоридиями является фекально-оральный путь. При этом передача возбудителя возможна в нескольких вариантах: от человека к человеку, от животного к человеку, а также при употреблении контаминированной воды и пищи. Эпидемиологические исследования показали, что для разных видов криптоспоридий тот или иной вариант передачи возбудителя является преимущественным. Так, *C. hominis* чаще передается от человека к человеку; для *C. parvum* и других видов криптоспоридий, являющихся возбудителями антропозоонозов, наиболее характерна передача от животного к человеку [6].

Существуют разные подходы к определению видов криптоспоридий: анализ сиквенса ДНК различных локусов; исследование множественных микросателлитных маркеров; анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных ДНК, изучение подвижности гетеродуплексов [7].

Показано, что ген *gp60* является наиболее высокополиморфным участком ДНК из всех изученных на сегодняшний день кодирующих локусов криптоспоридий. Секвенирование *gp60* выявило пять аллельных групп, проиндексированных как Ia, Ib, Ic, Id и II. Животные изоляты содержали аллель II типа, который также был идентифицирован в изолятах человека. Аллель гена *gp60* I типа содержался только в человеческих изолятах криптоспоридий [8].

В нашем исследовании для генотипирования криптоспоридий использовались специфические праймеры к генотипам возбудителей IIaA15G2R1 и IbA10G2, которые вызывают заболевание у детей в возрасте до 5 лет. Было установлено, что только у 3 из 26 (11,5%) детей, больных криптоспориозом, заболевание вызвано генотипом IbA10G2 *C. hominis*. Между тем данные литературы свидетельствуют о том, что *C. hominis* является наиболее распространенным видом паразита, детектируемым у человека, в частности у детей первых лет жизни и у женщин в возрасте от 15 до 45 лет [9]. Данный вид широко распространен в экономически развивающихся странах, включая Индию, Бразилию, Пакистан и Перу [10–12]. Показано также, что генотипы криптоспоридий Ia, Ib, Id и Ie вызывают ОКИ у людей чаще всего, при этом наибольшая гетерогенность характерна для Перу, Малайзии и Индии. Вирулентный генотип Ib ответственен за большинство вспышек криптоспориоза по всему миру. Большая часть вспышек криптоспориоза в США ассоциирована с генотипом IbA10G2, который также вызывал эпидемии криптоспориоза в Европе [9].

В индустриальных странах, таких как Австралия, США, страны Европы, *C. hominis* встречается с той же частотой, что и *C. parvum*, при этом на Ближнем Востоке *C. parvum* доминирует над другими видами криптоспоридий у паци-

ентов с криптоспориозом [13]. Два основных генотипа *C. parvum* — IIaA15G2R1 и IIaA18G3R1 — наиболее часто вызывали криптоспориоз в Португалии, Нидерландах и Ирландии [14]. В экономически развивающихся странах, включая Индию, Малайзию, Уганду, Кению, были обнаружены генотипы IIb и IIe [9].

Предполагают, что между видами и генотипами криптоспоридий часто происходят генетические рекомбинации, что, в свою очередь, приводит к возникновению более трансмиссивных и вирулентных вариантов возбудителя. Так, например, установлено, что благодаря генетическим рекомбинациям появился гипертрансмиссионный генотип IIaA15G2R1, вызывавший вспышки криптоспориоза в США, Канаде, Великобритании и Испании [15].

Результаты проведенного нами исследования показали, что у 10 из 26 (38,5%) обследованных пациентов с криптоспориозом заболевание было вызвано *C. parvum* (генотип IIaA15G2R1). Значения СОЭ, характеризующие выраженность системного воспалительного ответа на паразитарную инвазию, оказались выше в группе детей, зараженных *C. parvum*. Однако к назначению инфузионной терапии для борьбы с дегидратацией чаще приходилось прибегать в случае инфицирования криптоспоридиями, не относившимися к генотипам IIaA15G2R1 *C. parvum* и IbA10G2 *C. hominis*.

Существует несколько других видов криптоспоридий, таких как *C. meleagridis*, *C. canis* и *C. felis*, которые ассоциированы с ОКИ у человека. Установлено, что они широко распространены в экономически развивающихся странах [9]. Криптоспориоз, ассоциированный с *C. cervine*, напротив, чаще регистрируется в индустриальных странах, включая Канаду, Великобританию и США [9].

В нашем исследовании у 13 из 26 (50,0%) обследованных пациентов возбудители не относились ни к генотипу IIaA15G2R1 *C. parvum*, ни к генотипу IbA10G2 *C. hominis* (указанные генотипы не определялись применявшимися при амплификации ДНК праймерами). Вероятно, в этом случае главными этиологическими факторами криптоспориоза оказались другие вирулентные генотипы *C. parvum* и *C. hominis* либо иные, менее распространенные, виды криптоспоридий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принимая во внимание зависимость клинической картины и особенностей течения криптоспориоза от генотипической принадлежности инфицирующего вида возбудителя, следует подчеркнуть важность применения молекулярно-генетических методов диагностики в практическом здравоохранении с целью ранней верификации наиболее вирулентных этиологических вариантов криптоспориоза, своевременного проведения профилактики, этиотропной и патогенетической терапии.

*Исследование выполнено на средства гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (договор № 14W01.17.3455-МД).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Liu L., Oza S., Hogan D., Perin J., Rudan I., Lawn J.E. et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet*. 2015; 385(9966): 430–40. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61698-6

2. Bouzid M., Hunter P.R., Chalmers R.M., Tyler K.M. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(1): 115–34. DOI: 10.1128/CMR.00076-12
3. Garcia R.J.C., Hayman D.T.S. Evolutionary processes in populations of *Cryptosporidium* inferred from *gp60* sequence data. *Parasitol. Res.* 2017; 116(7): 1855–61. DOI: 10.1007/s00436-017-5459-1

4. Asma I., Sim B.L., Brent R.D., Johari S., Yvonne Lim A.L. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in HIV/AIDS patients in Malaysia. *Trop. Biomed.* 2015; 32(2): 310–22.
5. Старикова Е.Г., Воронкова О.В., Ковширина Ю.В., Шубина Н.В. Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза. *Вестн. РАМН.* 2017; 72(6): 420–7. [Starikova E.G., Voronkova O.V., Kovshirina Yu.V., Shubina N.V. Kriptosporidii i macroorganism: faktori, vliyayushchie na razvitie kriptosporidioza. *Vestn. RAMN.* 2017; 72(6): 420–7. (in Russian)]
6. Ryan U., Fayer R., Xiao L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology.* 2014; 141(13): 1667–85. DOI: 10.1017/S0031182014001085
7. Checkley W., White A.C.Jr., Jaganath D., Arrowood M.J., Chalmers R.M., Chen X.M. et al. A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(1): 85–94. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70772-8
8. Lendner M., Dauschies A. *Cryptosporidium* infections: molecular advances. *Parasitology.* 2014; 141(11): 1511–32. DOI: 10.1017/S0031182014000237
9. Khan A., Shaik J.S., Grigg M.E. Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. *Acta Trop.* 2018; 184: 1–14. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.10.023
10. Bushen O.Y., Kohli A., Pinkerton R.C., Dupnik K., Newman R.D., Sears C.L. et al. Heavy cryptosporidial infections in children in northeast Brazil: comparison of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007; 101(4): 378–84. DOI: 10.1016/j.trstmh.2006.06.005
11. Gatei W., Das P., Dutta P., Sen A., Cama V., Lal A.A. et al. Multilocus sequence typing and genetic structure of *Cryptosporidium hominis* from children in Kolkata, India. *Infect. Genet. Evol.* 2007; 7(2): 197–205. DOI: 10.1016/j.meegid.2006.08.006
12. Cama V.A., Bern C., Roberts J., Cabrera L., Sterling C.R., Ortega Y. et al. *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(10): 1567–74. DOI: 10.3201/eid1410.071273
13. Nazemalhosseini-Mojarad E., Feng Y., Xiao L. The importance of subtype analysis of *Cryptosporidium* spp. in epidemiological investigations of human cryptosporidiosis in Iran and other Mideast countries. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench.* 2012; 5(2): 67–70.
14. Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp. Parasitol.* 2010; 124(1): 80–9. DOI: 10.1016/j.exppara.2009.03.018
15. Feng Y., Torres E., Li N., Wang L., Bowman D., Xiao L. Population genetic characterisation of dominant *Cryptosporidium parvum* subtype IIaA15G2R1. *Int. J. Parasitol.* 2013; 43(14): 1141–7. DOI: 10.1016/j.ijpara.2013.09.002 