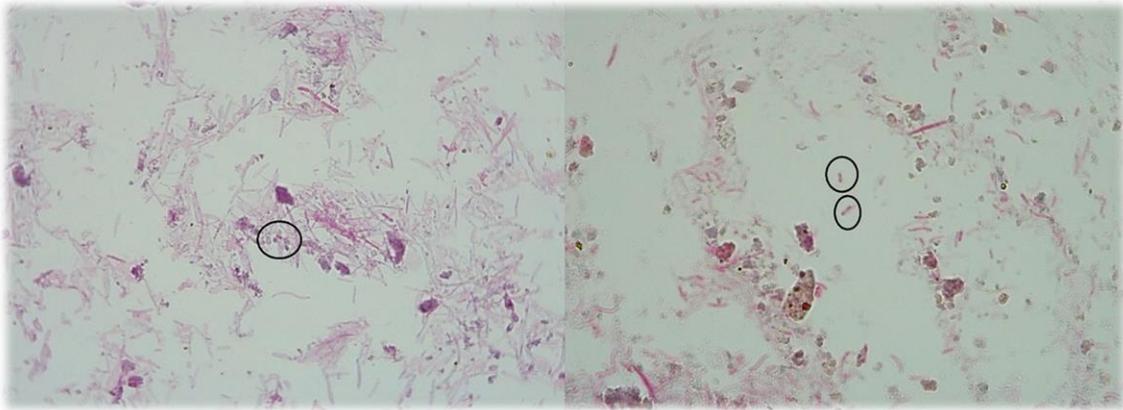


# Estudio de microsporidios en fauna peridoméstica



## Trabajo de Fin de Máster

Máster Universitario en Investigación y Diagnóstico  
de Enfermedades Tropicales

Tutores:

Dra. Pilar Foronda Rodríguez

Edgar Baz González

Román Pino Vera

Área de parasitología

Septiembre 2020

## **Resumen**

En este momento se conocen 17 especies de microsporidios patógenas de humanos, causando problemas gastrointestinales autolimitados en la mayoría de afectados, pero con la posibilidad de cronificación y de diseminación a otros órganos en personas inmunodeprimidas, en las que puede desarrollarse una patología grave.

Dado que en España no se ha hecho ningún estudio sobre prevalencia de estos parásitos en roedores y que en Canarias solo consta uno realizado en humanos, se ha realizado una búsqueda bibliográfica de los últimos artículos en estos animales para conocer la situación actual y evaluar su papel como posibles reservorios así como el potencial de los microsporidios como agente zoonótico, atendiendo a aspectos como la relación entre el hospedador y el huésped, los métodos y muestras utilizados para el diagnóstico y la extrapolación a las especies habitantes de Canarias.

Palabras clave: Microsporidios, roedores, zoonosis, Canarias.

## **Abstract**

At the moment, 17 microsporidia species are known as pathogen for humans, causing auto limited gastrointestinal problems in most of cases, with the possibility of chronification and dissemination to another organs in immunosuppressed people, which can develop severe disease.

Given that there is no research about the prevalence of these parasitic in rodents in Spain and there is just one in the Canary Islands concerning humans, a bibliographic search has been done looking for the last papers about these animals to know the actual situation and to evaluate their labour as possible reservoirs as well as their and the performance of the microsporidia as zoonotic agent, attending aspects like the relationship between host and guest, diagnostic test and samples utilized and extrapolation to resident canary species.

Keywords: Microsporidia, rodents, zoonosis, Canary Islands.

## **Introducción**

Los microsporidios son un amplio grupo de parásitos intracelulares distribuidos por todo el mundo que infectan a una gran variedad de animales, incluyendo a los humanos (CDC, 2019). El primer informe sobre microsporidios data de 1838 en el que se reportó su presencia en peces y posteriormente se observó en insectos como causa de la pebrina, una enfermedad de los gusanos de seda que afectó negativamente a la industria de la seda en Europa. A día de hoy la clasificación taxonómica no está del todo clara y los investigadores han propuesto diferentes clasificaciones a lo largo de la historia encasillándolos como algas unicelulares, levaduras, o células tumorales; actualmente se les considera relacionados con los hongos y protistas (Faisal y Bokhari, 2020).

Aunque la infección en humanos se conoce desde la década de 1950, fue a partir de 1985 y la mejora de los métodos de diagnóstico cuando empezó a ganar importancia entre la población inmunodeprimida como los enfermos con VIH o trasplantados, en los cuales los microsporidios se comportan como patógenos oportunistas (Han y Weiss, 2017). De las 17 especies consideradas patógenas para los humanos *Enterocytozoon bienusi*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Encephalitozoon cuniculi* y *Encephalitozoon hellem* son las más frecuentes tanto en personas como en animales, lo que supone un problema de salud pública por su potencial zoonótico (Weiss y Becnel, 2014).

## **Transmisión y clínica**

La vía de transmisión principal en humanos es la ingesta de agua o alimentos contaminados con las esporas del parásito excretadas por individuos infectados a través de la orina o las heces (Stentiford et al., 2016). Una vez dentro del organismo los microsporidios usan una estructura característica llamada filamento polar para inyectar su contenido (esporoplasma) en el citoplasma de la célula hospedadora. A partir de este esporoplasma se desarrolla una célula multinucleada que dará lugar a multitud de nuevas esporas, que serán liberadas tras la lisis de la membrana plasmática (Faisal et al., 2020) (figura 1).

Los síntomas de la microsporidiosis varían según la especie del patógeno involucrada y el estado del sistema inmune del hospedador. Lo más frecuente es un cuadro intestinal con diarrea, dolor abdominal y pérdida de peso en pacientes inmunodeprimidos y una diarrea autolimitada de menos de un mes de duración en individuos sanos (Didier y Weiss, 2011). Mientras que las infecciones por *E. bienusi* suelen permanecer en el sistema digestivo, el género *Encephalitozoon* tiende a diseminarse por el organismo y causar otras patologías según el tejido afectado como queratitis, hepatitis o encefalitis (Didier, 2005).

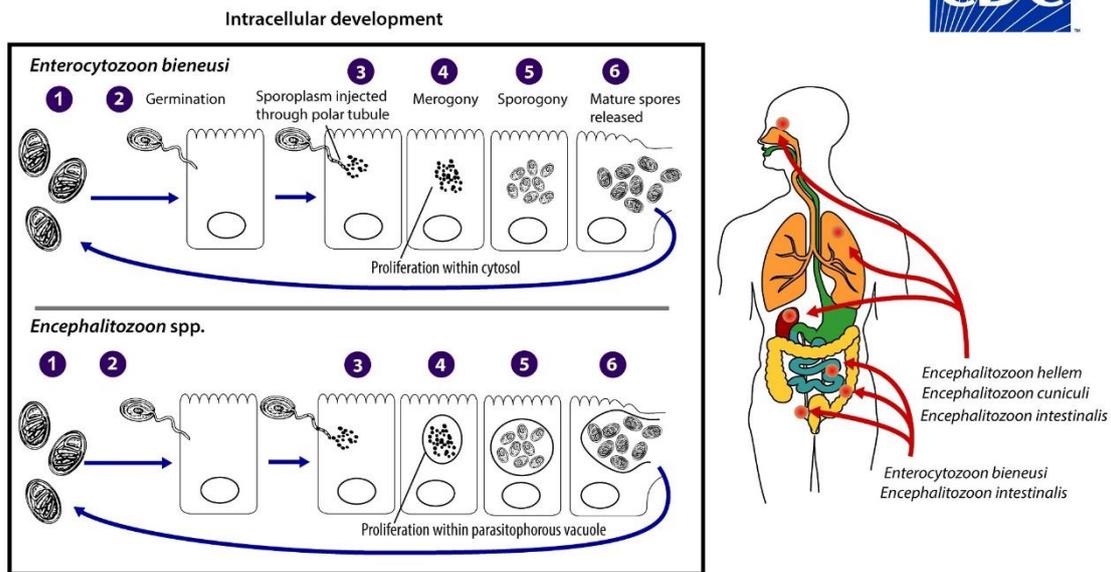


Figura 1. Ciclo biológico de *Enterocytozoon bienewisi* y *Encephalitozoon spp.* La principal diferencia entre las especies es la localización en el organismo del hospedador y la presencia o ausencia de vacuola parasitofora. (CDC, 2019).

### Diagnóstico y tratamiento

La microscopía óptica es la técnica más utilizada para la identificación de microsporidios en muestras de tejido, fluidos o heces; utilizando tinciones selectivas como el calcoflúor, el cromotrope 2R o anticuerpos marcados con fluorescencia que faciliten la diferenciación (figura 2). Este método requiere de personal especializado pues el pequeño tamaño de las esporas (1-5 micras) dificulta su visualización, además de que pueden confundirse con otros microorganismos no patógenos presentes de forma natural como bacterias o levaduras de la microbiota intestinal si se trata de una muestra de heces. Por otro lado, la microscopía electrónica se presenta como el método de referencia puesto que, a diferencia de la microscopía óptica, permite la identificación a nivel de especie según las características morfológicas, aun así, es una técnica de coste elevado que requiere de un equipo que no suele estar presente en la mayoría de laboratorios (Thellier y Breton, 2008).

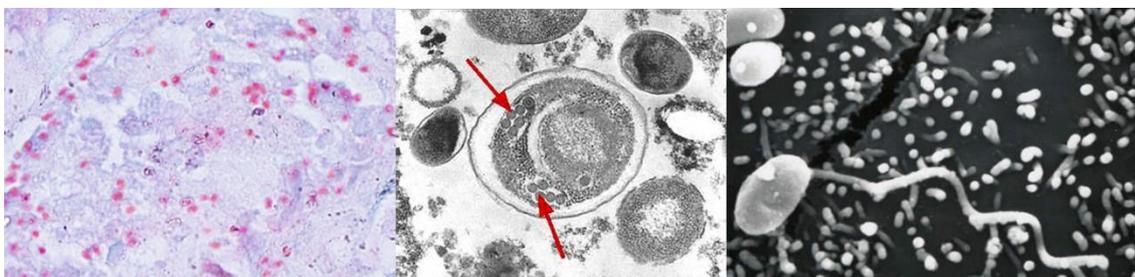


Figura 2. Microsporidios bajo microscopía. Izquierda: *E. cuniculi* en biopsia de riñón con tinción tricrómica modificada de Ryan. Centro: microscopía electrónica de transmisión de *E. bienewisi*, las flechas señalan los cortes del filamento polar. Derecha: microscopía electrónica de barrido de una espora de microsporidio con el filamento polar extendido. (CDC, 2019).

El diagnóstico molecular, como la PCR, también puede utilizarse para la identificación de especies con una sensibilidad mayor que la microscopía y con la ventaja de poder analizar varias muestras simultáneamente. Los genomas de la mayoría de las especies que afectan a los humanos son conocidos y los primers para los genes del rRNA han sido evaluados en múltiples estudios (Ghosh y Weiss, 2009).

Por último, se han testado técnicas serológicas para la detección de anticuerpos tanto IgG como IgM, sobre todo con ELISA o inmunofluorescencia indirecta. La imposibilidad de diferenciar entre una infección reciente o pasada junto con una menor sensibilidad respecto a los métodos moleculares hacen que no sean útiles para el diagnóstico de la microsporidiosis, aunque puede ser utilizada con fines epidemiológicos para exámenes de seroprevalencia en la población (Han y Weiss, 2018)

No hay un tratamiento específico para la infección por microsporidios, varios ensayos han utilizado antifúngicos y antihelmínticos como la fumagilina (usada contra la microsporidiosis por *Nosema apis* en abejas), el itraconazol o el albendazol con diferentes resultados. En la mayoría de los casos el tratamiento consiste en paliar los síntomas de deshidratación por la diarrea con sueroterapia, suplementación nutricional e inhibidores de la motilidad intestinal, además de asegurar el seguimiento de la terapia antirretroviral en los pacientes con VIH (HHS, 2020).

En Canarias se realizó un estudio sobre la presencia de microsporidios en humanos y se identificó la especie *E. bienusi* en muestras de pacientes (Abreu Acosta et al., 2005).

## **Hipótesis y objetivos**

Considerando el carácter zoonótico de los microsporidios y su detección previa en humanos de Canarias, se realizó una revisión y análisis de artículos enfocados en roedores como reservorios de microsporidios. En un principio se había planteado como un trabajo experimental para la búsqueda de microsporidios en roedores de Canarias, pero debido a la situación de alerta causada por la COVID - 19, los ensayos no se pudieron finalizar. Como objetivos concretos se plantean los siguientes:

- Establecer las relaciones entre las especies de microsporidios y sus hospedadores, y analizar el grado de especificidad.
- Extrapolar los datos obtenidos sobre las especies de microsporidios presentes en roedores, a las especies de roedores de las Islas Canarias.
- Evaluar el riesgo de transmisión a humanos y su implicación para la salud pública.

## **Material y métodos**

Se realizó una búsqueda de artículos en la base de datos de libre acceso PubMed. Los términos de búsqueda utilizados fueron “microsporidia” y “rodents” y se limitó a publicaciones fechadas hace menos de diez años para tener datos recientes. Se seleccionaron estudios realizados sobre poblaciones animales salvajes de Europa o África por su cercanía a Canarias y, por lo tanto, su mayor posibilidad de compartir especies. Tras la lectura de los resúmenes y comprobar que se cumplían estos criterios se procedió al análisis del texto completo.

Los datos obtenidos se tabularon para facilitar su comparación y separaron según el año, país, especies estudiadas, tipo de muestra, método diagnóstico, y prevalencia (tabla 1).

Además, el laboratorio cuenta con muestras de roedores de tres Islas Canarias: Tenerife, Lanzarote y El Hierro, obtenidas en mayo de 2018, octubre de 2018 y febrero de 2019 respectivamente. Se capturaron un total de 96 individuos: 50 ratas (*Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*) y 46 ratones (*Mus musculus*) utilizando trampas de vivo con cebo tipo Ferrolan. Tras la identificación de la especie, sexo y búsqueda de ectoparásitos los roedores fueron sacrificados con dióxido de carbono y diseccionados, obteniéndose el contenido intestinal de cada uno de ellos además de distintos tejidos para otros estudios llevados a cabo en el laboratorio. Todos estos procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética de la Investigación y de Bienestar Animal (CEIBA) de la Universidad de La Laguna. El objetivo inicial de esta recolección fue la búsqueda de microsporidios en las heces de los roedores de las Islas mediante microscopía óptica y PCR, pero debido al estado de alerta por COVID – 19 y el cierre de los centros universitarios, no se pudo llevar a cabo.

## Resultados y discusión

Se encontraron 6 artículos que cumplían con los criterios de selección establecidos: 4 realizados en Europa Central, uno en Reino Unido y uno en Egipto (tabla 1), además se encontraron varios estudios sobre roedores en Asia concretamente en China y Japón (Deng et al., 2018; Tsukada et al., 2013 entre otros), aparte de multitud de artículos sobre la prevalencia en otras especies animales como: perros y gatos (Dashti et al., 2019), cerdos (Luo et al., 2019) o conejos (Morsy et al., 2020).

Las especies de microsporidios estudiadas son principalmente *E. bienusi* (3) y *E. cuniculi* (5), además de *E. intestinalis* en el artículo de Danišová et al. (2015) y *E. hellem* en el de Sak et al. (2011); todas con capacidad para infectar a humanos. Estos dos estudios hacen una comparativa entre las prevalencias de distintas especies de microsporidios en *Mus musculus* con una diferencia notable entre ambos, 0,35%-1,07% frente a 6,8%-16,7% respectivamente. Además, en el primer artículo se observa una mayor frecuencia de *E. bienusi* mientras que en el segundo la especie predominante es *E. cuniculi*, aunque en ningún caso se hace un estudio estadístico para determinar si esta disparidad es significativa o debida al azar. Estos datos, junto con los relativos a *M. musculus* de Perec-Matysiak et al. (2015) son los que más relación podrían tener con la situación de Canarias, al estudiar la misma especie de roedor que se puede encontrar en las islas, es importante mencionar que ningún artículo se realiza sobre otras especies del archipiélago como *Rattus rattus* o *Rattus norvegicus* (figura 3). Los datos entre diferentes estudios no son comparables debido a las variaciones entre los mismos: zona de muestreo, especies de hospedador y huésped, método diagnóstico, etc.

Según el Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias (Biota, 2020) las especies de roedores de las Islas corresponden con las encontradas por el equipo del laboratorio: *R. rattus*, *R. norvegicus* y *M. musculus* (figura 3). También se puede encontrar a la ardilla moruna (*Atlantoxerus getulus*) y el ratón de malpaís (*Malpaisomys insulares*) en las islas más orientales. Por esta razón se dificulta la extrapolación de los datos de artículos de Meredith et al. (2013) y Perec-Matysiak et al. (2019) que estudian géneros roedores diferentes como *Apodemus* o *Myodes*.



Figura 3. *Mus musculus* (izquierda) y *Rattus rattus* (derecha), las especies de roedores más frecuentes de Canarias. (Biota, 2020).

Además, los microclimas de Canarias no son comparables con las zonas de Europa estudiadas, en las cuales el clima es templado y húmedo con grandes extensiones boscosas. Las zonas áridas alejadas de las poblaciones humanas de las islas como el sur de Tenerife, Fuerteventura o Lanzarote, cuentan con una densidad de población de roedores más baja y, por lo tanto, deberían tener índices de prevalencia de microsporidios menores, ya que estos requieren de un contacto estrecho entre los animales para la parasitación debido a su vía de transmisión principal (contacto con secreciones y heces), de esta manera, no se podría establecer una relación a priori entre los datos obtenidos de estudios europeos y los datos de población de roedores en esas zonas de las islas aunque las especies capturadas sean las mismas. Si bien, es conocida la alta resistencia de las esporas a condiciones adversas como temperaturas extremas, salinidad, variaciones del pH o deshidratación (Faisal et al, 2020), lo que podría igualar las diferencias entre las tasas de infección de las zonas de mayor y menor densidad de población. El artículo de Abu-Akkada et al. (2015) realizado en Egipto podría ser una mejor aproximación por las condiciones climatológicas del país, semejantes a esas zonas de las islas, sin embargo, los animales obtenidos provenían de centros veterinarios o granjas y no de capturas en la naturaleza, lo que supone una diferencia importante a la hora de establecer la prevalencia en individuos silvestres.

En cuanto a las técnicas diagnósticas empleadas observamos que 5 de 6 artículos utilizan diversos métodos de PCR sobre heces, orina o bazo para la detección de los parásitos mientras que en dos casos se realiza una detección de anticuerpos en sangre por diferentes técnicas. Abu-Akkada et al. (2015) hace una comparativa entre los porcentajes de prevalencia obtenidos mediante serología y detección de ADN y concluye que la detección de anticuerpos ofrece información más fiable sobre la prevalencia de *E. cuniculi* en animales que los métodos moleculares. Este artículo es el más completo en cuanto a rango de especies pues, además de comparar datos de ratas de laboratorio y ratas salvajes (con un mayor número de resultados positivos sobre las últimas), también incluye animales de ganadería y mascotas: vacas, cabras, búfalos, conejos, perros y ovejas (sin concretar la especie de ninguno de ellos).

Los estudios de Perek-Matysiak et al., de 2015 y 2019, que analizaron muestras tanto de bazo como de heces mediante PCR anidada, detectaron un mayor porcentaje de positivos en heces, lo que lleva a pensar que los microsporidios son capaces de expulsar esporas al entorno, aunque el organismo del hospedador sea capaz de controlar la infección. Estos artículos no comentan el estado de salud aparente de los roedores por lo que en los casos de infecciones sintomáticas esta diferencia entre las muestras podría variar.

De los 96 casos positivos detectados en el estudio de Sak et al. (2011), seis ratones mostraron coinfección, en los cuales *E. bienusi* coexistía con *E. cuniculi* o con *E. hellem*. Aun así, ningún animal presentaba signos de microsporidiosis, concluyendo que la presencia de distintas especies dentro del mismo hospedador es posible, aunque no muy frecuente, y que además no parece aumentar el riesgo de padecer la enfermedad en roedores. Este artículo es el único junto con el de Danišová et al. (2015) que investiga varias especies de microsporidios a la vez, pero este último no aporta datos sobre coinfecciones encontradas.

Tabla 1. Datos obtenidos. a) entre paréntesis se indica el número de individuos del estudio, b) entre paréntesis se muestra el número de ensayos positivos, c) los valores subrayados representan los positivos por PCR.

Artículo	Especie <sup>a</sup>	Muestra	Técnica diagnóstica	Prevalencia <sup>b</sup>
Danišová et al., 2015. Eslovaquia	<i>Mus musculus</i> (280)	Heces	PCR en tiempo real	<i>E. bienewisi</i> 1,07 % (3) <i>E. cuniculi</i> 0,35 % (1) <i>E. intestinalis</i> 0,35% (1)
Perec-Matysiak et al., 2015. Polonia	<i>Apodemus agrarius</i> (184) <i>Apodemus flavicollis</i> (60) <i>Mus musculus</i> (21) <i>Myodes glareolus</i> (46)	Heces Bazo	PCR anidada	<i>E. bienewisi</i> : <i>A. agrarius</i> 42,9 % (79) <i>A. flavicollis</i> 30% (18) <i>M. musculus</i> 28,6% (6) <i>M. glareolus</i> 39,1% (18)
Meredith et al., 2013. Inglaterra y Escocia	<i>Myodes glareolus</i> (178) <i>Microtus agrestis</i> (312) <i>Apodemus sylvaticus</i> (303) Zorro (96) <i>Felis silvestris catus</i> (27)	Suero	Detección de anticuerpos por aglutinación directa	<i>E. cuniculi</i> : <i>M. glareolus</i> 10,7% (19) <i>M. agrestis</i> 5,8% (18) <i>A. sylvaticus</i> 1% (3) Zorro 44,7% (21) <i>F. s. catus</i> 0%
Perec-Matysiak et al., 2019. Polonia, República Checa y Eslovaquia.	<i>Apodemus agrarius</i> (203) <i>Apodemus flavicollis</i> (149) <i>Apodemus sylvaticus</i> (45) <i>Myodes glareolus</i> (68)	Heces Bazo	PCR anidada	<i>E. cuniculi</i> : <i>A. agrarius</i> 16,7% (34) <i>A. flavicollis</i> 18,1% (27) <i>A. sylvaticus</i> 13,3% (6) <i>M. glareolus</i> 4,4% (3)
Abu-Akkada et al., 2015. Egipto.	Vaca (64) Búfalo (56) Oveja (22) Cabra (31) Conejo (73) Perro (20) Rata (58, 30 laboratorio)	Suero Orina	Detección de anticuerpos mediante inmunofluorescencia y ELISA indirectas  PCR estándar	<i>E. cuniculi</i> <sup>c</sup> : Vaca 28,1% (18) <u>5,7% (2)</u> Búfalo 46,4 (26) <u>4,4% (2)</u> Oveja 9% (2) Cabra 67.7% (21) Conejo 41% (30) <u>2,8% (1)</u> Perro 40% (8) Rata 36,2 (21)
Sak et al., 2011. Alemania y República Checa.	<i>Mus musculus musculus</i> (127) <i>Mus musculus domesticus</i> (162)	Heces	PCR anidada	<i>E. bienewisi</i> : <i>M. m. musculus</i> 11% (14) <i>M. m. domesticus</i> 10,5% (17) <i>E. cuniculi</i> : <i>M. m. musculus</i> 14,2% (18) <i>M. m. domesticus</i> 16,7% (27) <i>E. hellem</i> : <i>M. m. musculus</i> 11,8% (15) <i>M. m. domesticus</i> 6,8% (11)

Meredith et al. (2013) no observó diferencias significativas entre sexos mientras que Abu-Akkada et al. (2015) descubrió una mayor prevalencia en hembras y Sak et al., (2011) en machos, solo en el subgénero *M. m. musculus*. Por otro lado, tanto Meredith et al. (2013) como Abu-Akkada et al. (2015) coinciden en que la prevalencia aumenta con la edad de los animales de estudio debido principalmente al desarrollo del sistema inmune con la madurez, pues ambos estudios se centran en la detección de anticuerpos.

Es interesante destacar un aspecto discutido en el artículo de Meredith et al. (2013) en el cual no solo analiza roedores sino también dos especies depredadoras (gatos y zorros) con una diferencia drástica entre ellas. Mientras que ningún gato del estudio dio resultados positivos en serología, un 44,7% de zorros presentó anticuerpos frente a *E. cuniculi*, un porcentaje mucho mayor que en los roedores analizados, en los que la mayor prevalencia fue del 10,7% en *Myodes glareolus*. Los autores discuten en el artículo si es posible una bioacumulación debido a la ingesta de animales infectados, lo que da indicios de una nueva vía de transmisión posible aparte de la contaminación de alimentos con heces u orina o el contacto directo con estas secreciones. Por otro lado, la ausencia de anticuerpos en los gatos remarca esta idea pues su hábitat más cercano al humano y el menor contacto con ratones silvestres dificulta la infección, pues todas las muestras de gatos fueron obtenidas de clínicas veterinarias, aunque es cierto que el tamaño muestral es menor en comparación con el resto de los animales (27 de 916) con el error estadístico que eso conlleva.

Todos los autores coinciden en remarcar la importancia de los roedores como reservorios de microsporidios, pues favorecen la propagación del parásito tanto a otros animales como a humanos, con los problemas en términos de salud pública que ello supone, aunque ningún artículo señala medidas de prevención para evitarlo. Esta situación se ve potenciada por la inespecificidad de los microsporidios, que hace posible su supervivencia dentro de multitud de especies diferentes; y por la resistencia de las esporas infectivas a condiciones ambientales adversas, que permiten su viabilidad durante largos periodos de tiempo. Con los resultados de los estudios revisados en cuanto a prevalencia en roedores y los datos obtenidos de pacientes en Canarias (Abreu-Acosta et al., 2005) entendemos que es posible la presencia de reservorios de microsporidios en las islas y que estos supongan un riesgo de infección humana, por lo tanto, consideramos necesario la búsqueda e identificación de estos parásitos en las poblaciones de roedores locales.

## Conclusiones

1. Las especies de microsporidios más patógenas para humanos, *Enterocytozoon bienusi*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Encephalitozoon hellem* y *Encephalitozoon intestinalis*, no presentan especificidad, ya que se han encontrado tanto en humanos como en distintas especies animales.
2. Se ha descrito la infección por las cuatro especies de microsporidios estudiadas en una especie de roedor que es común en Canarias, *Mus musculus*, aunque la detección se realizó en zonas con diferencias en clima y geografía con respecto a las islas, lo que podría influir en su distribución.
3. Los microsporidios no suelen causar infección sintomática en roedores, aun así, son capaces de expulsar esporas viables al medio, que pueden ser diseminadas y transmitidas a otros animales o a humanos, suponiendo un riesgo para la salud pública cuya importancia estaría relacionada con las especies implicadas.

## **Bibliografía**

Abreu-Acosta, N., Lorenzo-Morales, J., Leal-Guio, Y., Coronado-Álvarez, N., Foronda, P., Alcoba-Florez, J., Izquierdo, F., Batista-Díaz, N., Del Águila, C., Valladares, B., 2005. *Enterocytozoon bieneusi* (microsporidia) in clinical samples from immunocompetent individuals in Tenerife, Canary Islands, Spain. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 99, 848–855.

Abu-Akkada, S. S., Ashmawy, K. I., Dweir, A. W., 2015. First detection of an ignored parasite, *Encephalitozoon cuniculi*, in different animal hosts in Egypt. *Parasitology Research* 114, 843-850.

Biota, 2020. Consultado el 11 de agosto de 2020. Disponible en <https://www.biodiversidadcanarias.es/biota/especies?pagina=1&searchSpeciesTabs=scientificTab&nombreCientifico=&subnomine=&nombreComun=&tipoBusqueda=NOMBRE&codigo=&filoPk=6&clasePk=12&ordenPk=44&tipo=>

CDC, 2019. DPDx – Microsporidiosis. Consultado el 13 de abril de 2020. Disponible en <https://www.cdc.gov/dpdx/microsporidiosis/>

Danišová, O., Valenčáková, A., Stanko, M., Luptáková, L., Hasajová, A., 2015. First report of *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* infection of wild mice in Slovakia. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 22 (2), 251–252.

Dashti, A., Santín, M., Cano, L., de Lucio, A., Bailo, B., Hernández, M., Köster, P. C., Fernández-Basterra, J. A., Aramburu-Aguirre, J., López-Molina, N., Fernández-Crespo, J. C., Calero-Bernal, R., Carmena, D., 2019. Occurrence and genetic diversity of *Enterocytozoon bieneusi* (Microsporidia) in owned and sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Parasitology Research* 118 (10), 2979-2987.

Deng, L., Li, W., Zhong, Z., Chai, Y., Yang, L., Zheng, H., Wang, W., Fu, H., He, M., Huang, X., Zuo, Z., Wang, Y., Cao, S., Liu, H., Ma, X., Wu, K., Peng, G., 2018. Molecular characterization and new genotypes of *Enterocytozoon bieneusi* in pet chipmunks (*Eutamias asiaticus*) in Sichuan province, China. *BMC Microbiology* 18 (37).

Didier, E. S., 2005. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Tropica* 94, 61–76.

Didier, E. S., Weiss, L. M., 2011. Microsporidiosis: not just in AIDS patients. *Current opinion in infectious diseases* 24 (5), 490–495.

Faisal, A. F., Bokhari, A. A., 2020. *Microsporidium*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.

Ghosh, K., Weiss, L. M., 2009. Molecular diagnostic tests for microsporidia. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases* 2009, 926521.

Han, B., Weiss L. M., 2017. Microsporidia: Obligate Intracellular Pathogens within the Fungal Kingdom. *Microbiology Spectrum* 5 (2).

Han, B., Weiss, L. M., 2018. Therapeutic targets for the treatment of microsporidiosis in humans. *Expert opinion on therapeutic targets* 22 (11), 903–915.

HHS (Department of Health and Human Services), 2020. Microsporidiosis. Adult and Adolescent Opportunistic Infection. Consultado el 16 de abril de 2020. Disponible en <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/4/adult-and-adolescent-opportunistic-infection/324/microsporidiosis>

Luo, R., Xiang, L., Liu, H., Zhong, Z., Liu, L., Deng, L., Liu, L., Huang, X., Zhou, Z., Fu, H., Luo, Yan., Peng, G., 2019. First report and multilocus genotyping of *Enterocytozoon bieneusi* from Tibetan pigs in southwestern China. *Parasite* 26 (24).

Meredith, A. L., Cleaveland, S. C., Brown, J., Mahajan, A., Shaw, D. J., 2013. Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Wild Rodents, Foxes and Domestic Cats in Three Sites in the United Kingdom. *Transboundary and Emerging Diseases* 62, 148–156.

Morsy, E. A., Salem, H. M., Khattab, M. S., Hamza, D. A., Abuowarda, M. M., 2020. *Encephalitozoon cuniculi* infection in farmed rabbits in Egypt. *Acta Veterinaria Scandinavica* 62 (11).

Perec-Matysiak, A., Buńkowska-Gawlik, K., Kváč, M., Sak, B., Hildebrand, J., Leśniańska, K., 2015. Diversity of *Enterocytozoon bieneusi* genotypes among small rodents in southwestern Poland. *Veterinary Parasitology* 214, 242-246.

Perec-Matysiak, A., Leśniańska, K., Buńkowska-Gawlik, K., Čondlová, S., Sak, B., Kváč, M., Rajský, D., Hildebrand, J., 2019. The opportunistic pathogen *Encephalitozoon cuniculi* in wild living Murinae and Arvicolinae in Central Europe. *European Journal of Protistology* 69, 14–19.

Sak, B., Kváč, M., Květoňová, D., Albrecht, T., Piálek, J., 2011. The first report on natural *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon* spp. infections in wild East-European House Mice (*Mus musculus musculus*) and West-European House Mice (*M. m. domesticus*) in a hybrid zone across the Czech Republic-Germany border. *Veterinary Parasitology* 178 (3-4), 246-250.

Stentiford, G. D., Becnel, J. J., Weiss, L. M., Keeling, P. J., Didier, E. S., Williams, B. P., Bjornson, S., Kent, M. L., Freeman, M. A., Brown, M., Troemel, E. R., Roesel, K., Sokolova, Y., Snowden, K. F., Solter, L., 2016. Microsporidia - Emergent Pathogens in the Global Food Chain. *Trends in Parasitology* 32 (4), 336–348.

Thellier, M., Breton J., 2008. *Enterocytozoon bieneusi* in human and animals, focus on laboratory identification and molecular epidemiology. *Parasite* 15 (3), 349-358

Tsukada, R., Tsuchiyama, A., Sasaki, M., Park, C., Fujii, Y., Takesue, M., Hatai, H., Kudo, N., Ikadai, H., 2013. *Encephalitozoon* infections in Rodentia and Soricomorpha in Japan. *Veterinary Parasitology* 198, 193-196.

Weiss, L. M., Becnel, J. J., 2014. *Microsporidia: Pathogens of Opportunity*. Wiley.