

## Giardie – výhody a nevýhody rôznych typov testovania



Zdroj obrázka: envatoelements

*Giardia (G.) intestinalis* (syn. *G. duodenalis*, *G. lamblia*) sa vyskytuje u rôznych stavovcov. Giardie patria medzi najčastejšie endoparazity u mladých zvierat mladších ako jeden rok. Cysty vylučujú zvieratá s klinickými príznakmi, ako je hnačka tenkého čreva, ale aj zvieratá s inaparentným priebehom. Infekcia vyvoláva čiastočnú imunitu, preto miera detekcie u zvierat starších ako jeden rok výrazne klesá. Napriek tejto čiastočnej imunitu môže dôjsť k reinfekcii. Giardie sú bičíkaté prvoky, ktoré sa pod mikroskopom morfológicky nedajú odlíšiť od iných prvokov. Špecifickosť hostiteľa sa vždy považovala za minimálnu, ale len veľmi málo giardií izolovaných z malých zvierat spôsobuje ochorenie u ľudí.

### Druhy

Existujú viaceré genotypy (asambláže) s rôznym spektrom hostiteľov (A – G). Zatiaľ čo asambláž A (*G. duodenalis*) sa vyskytuje prevažne u ľudí a niektorých ďalších cicavcov, ale zriedkavo

u psov a mačiek, asambláž B (*G. enterica*) sa vyskytuje prevažne u ľudí, ale zriedkavo u psov a mačiek. Asambláže C a D (*G. canis*) vedú k infekciám u psov a asambláž F (*G. felis*) u mačiek. V prípade pozitívneho PCR výsledku možno spraviť genotypizáciu rôznych asambláží giardií.

Prenos asambláží patogénnych pre človeka zo psov na ľudí je pri bežnej hygiene nepravdepodobný.

### Životný cyklus

Cysty giardií sa prijímajú orálne a v tenkom čreve excystujú a vytvárajú trofozoity. Tie sa prichytia na slizničné epitelové bunky tenkého čreva, množia sa opakovaným delením a vytvárajú nové cysty. Obdobie prepatencie trvá 4 až 16 dní.

Vysoko rezistentné a okamžite infekčné cysty sa vylučujú prerušovane vo veľmi veľkom množstve do prostredia trusom počas týždňov až mesiacov (patencia). Vo vlhkom prostredí zostávajú

infekčné najmenej 3 mesiace a v truse približne 1 týždeň, ale sú citlivé na vysychanie a nízke teploty (- 4 °C počas jedného týždňa).

Cysty giardií sa prenášajú orálne ako infekcia špinou, ako aj prostredníctvom vody a krmiva kontaminovaného výkalmi. Minimálna infekčná dávka je veľmi nízka a predstavuje len niekoľko cýst.

### Klinické príznaky

Okrem inaparentného priebehu môže giardia spôsobiť chronickú intermitentnú hnačku s riedkou až vodnatou stolicou a prímiesami hlienu, ako aj vracanie, úbytok hmotnosti a apatiu. Zničené glykokalyxu a adhézia na mikroklky vedie k maldigescii. Enzýmy sú inhibované a nasleduje zápalová reakcia.

Existuje niekoľko metód na diagnostikovanie infekcie giardiou.

### Diagnostika

#### Mikroskopia

##### Natívny preparát

Trofozoity možno zistiť v čerstvom truse ihneď po defekácii. Na tento účel sa množstvo trusu približne veľkosti hrášku zmieša s trochou fyziologického roztoku, preniesie sa na podložné sklíčko a prikryje sa krycím sklíčkom. Typické trofozoity sú potom viditeľné mikroskopicky (obr. 1).



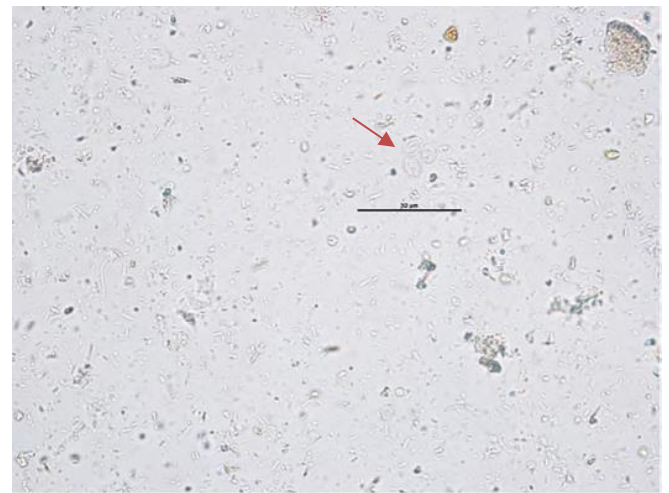
**Obr. 1:** Trofozoit giardie (zväčšenie 400x)  
Zdroj obrázka: Laboklin

Pri tejto príležitosti je možné u mačky identifikovať aj *Tritrichomonas foetus* (400-

násobné zväčšenie). Rozlíšiť ich môžeme na základe rôznych pohybových vzorcov. Giardia sa pohybuje „ako padajúci list“ a trichomonády (napr. *Tritrichomonas foetus*) majú trhavý a otáčavý pohyb, skôr na jednom mieste.

#### Flotácia/sedimentácia

Počas flotácie sú cysty vážne poškodené vysokým obsahom soli vo flotačnom roztoku. Vhodnejšie je spracovanie pomocou SAFC, čo je špeciálny sedimentačný proces. Na zvýšenie citlivosti tejto mikroskopickkej detekčnej metódy by sa mala použiť zberná vzorka trusu z 2 – 3 dní, pretože intenzita vylučovania cýst značne kolíše a vylučovanie môže byť aj prerušované. Pri spracovaní pomocou SAFC možno vidieť typické cysty s tenkým obalom a axiálnou tyčinkou. Zvyčajne sa dajú jasne rozpoznať pri 400-násobnom zväčšení (obr. 2).



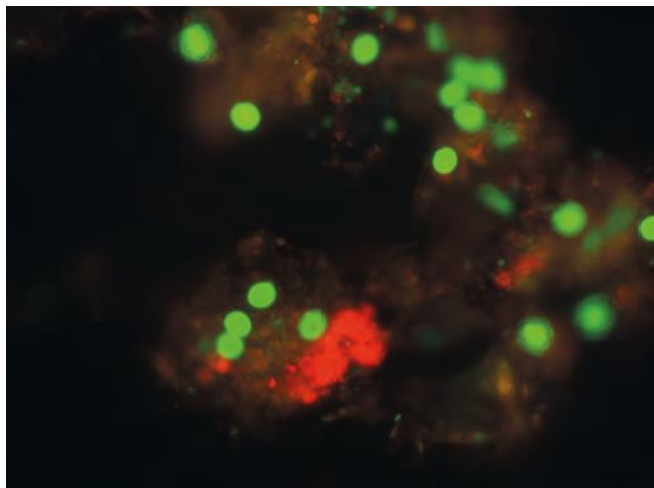
**Obr.2:** Cysty giardií (zväčšenie 400x)  
Zdroj obrázka: Laboklin

Existuje riziko zámény najmä s kvasinkami, ktoré môžu mať podobný tvar a veľkosť, ale na rozdiel od giardií nemajú jadrá ani stredové telieska. Na rozdiel od imunologickej detekcie je mikroskopia menej citlivá. Túto skutočnosť treba zohľadniť pri výbere vyšetrovacej metódy.

#### Imunologické postupy

##### IFAT (nepriamy fluorescenčný test)

Vylučované cysty spracované metódou SAFC možno farbiť fluorescenčnou metódou a potom ich možno lepšie rozpoznať mikroskopicky pomocou špeciálnych svetelných filtrov (obr. 3).



Obr. 3: Cysty (zelené) vo fluorescenčnom mikroskope (zväčšenie 400x)

Zdroj obrázka: Laboklin

### EIA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Obidva hlavné proteíny steny cýst (Cyst-Wall-Proteins) CWP-1 a CWP-2 sa zhlukujú do veľkého heterodiméru, tzv. giardia-špecifického antigénu GSA-65. Ten sa potom zisťuje pomocou enzýmovej imunoanalýzy (EIA). Vďaka enzýmovému zosilneniu farebnej reakcie má EIA vyššiu citlivosť a vďaka zahrnutému kroku premývania aj vyššiu špecifitu v porovnaní s neenzýmovými imunoanalýzami (NEIA), ktoré sa v praxi používajú napríklad v rýchlotestoch. Dostupné koproantigénové testy sa preto môžu líšiť vo svojich výsledkoch, ale celkovo sú výrazne citlivejšie ako mikroskopická detekcia cýst giardií. To znamená, že diagnózu možno stanoviť pomocou vzorky stolice, aj keď sa cysty dočasne nevyučujú. Senzitivita a špecifita týchto ELISA testov je približne 98 %.

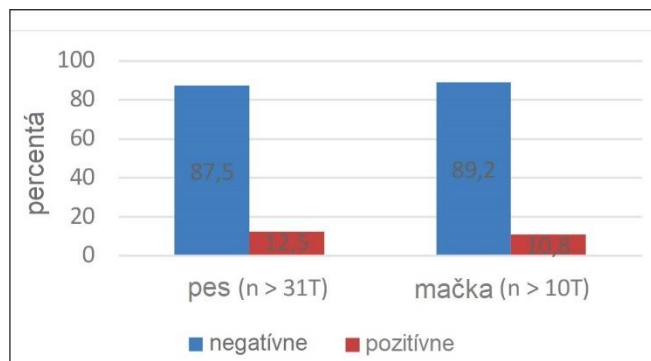
### PCR

Ide o molekulárne biologický dôkaz DNA špecifickej pre giardie pomocou PCR po koncentrácii cýst alebo priamu kopro-PCR. Citlivosť je podobná ako pri detekcii ELISA. Inhibítory v stolici môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom. PCR v pozitívnych vzorkách je veľmi vhodná na rozlíšenie rôznych asembláží s cieľom vylúčiť pre človeka patogénne kmene u pozitívneho zvierat'a.

## Výsledky rôznych metód testovania

### EIA

Antigén špecifický pre giardiu bol detegovaný v 12,5 % vzoriek vyšetrených u psov a v 10,8 % vzoriek vyšetrených u mačiek pomocou EIA (obr. 4).

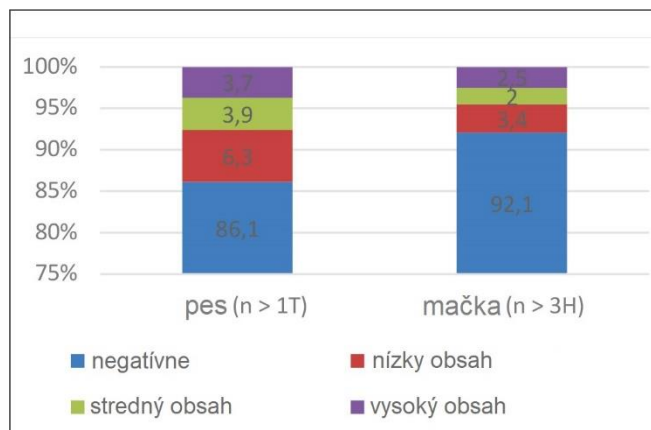


Obr. 4: Miera detekcie pomocou EIA

Zdroj obrázka: Laboklin

### IFAT

Miera detekcie pomocou imunofluorescencie po spracovaní pomocou SAFC bola u psov 14 % a u mačiek 7,9 %. Počet cýst tu bolo možné uviesť aj semikvantitatívne (obr. 5).

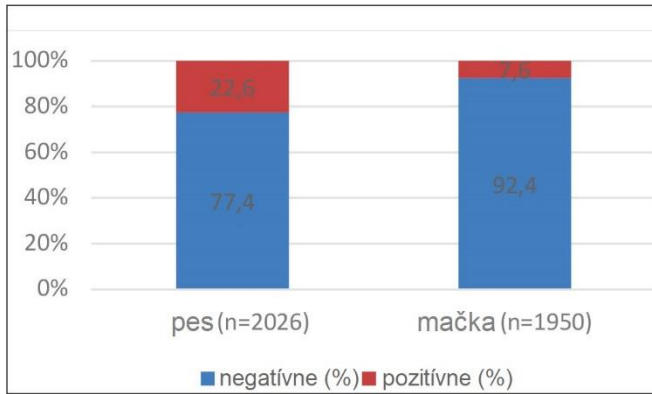


Obr. 5: Miera detekcie pomocou IFAT

Zdroj obrázka: Laboklin

### PCR

Miera detekcie pozitívnych vzoriek na giardie pomocou PCR bola 22,6 % u psov a 7,6 % u mačiek (obr. 6).



**Obr. 5:** Miera detekcie pomocou PCR

Zdroj obrázka: Laboklin

## Hodnotenie

Výber vhodného testovacieho postupu závisí od viacerých faktorov. Ak sa objavia klinické príznaky, ako je hnačka a vracanie, ako prvé vyšetrenie zo zbernej vzorky trusu sa vždy indikuje parazitologické vyšetrenie flotáciou a detekcia giardií pomocou EIA, pričom citlivosť EIA je vyššia ako citlivosť flotácie. Detekcia antigénu pomocou IFAT je tiež možná. Ak je z nejakého dôvodu potrebná diferenciácia assembláží, je testom voľby PCR. Ak je výsledok parazitológie negatívny, mali by sa vykonať ďalšie testy na objasnenie príznakov. Hoci bol patogén eliminovaný, výsledok kontroly terapie pomocou EIA môže byť pozitívny, pretože táto metóda deteguje aj usmrtené giardie. To isté platí pre ešte citlivejšiu PCR, pri ktorej je možné DNA detegovať aj niekoľko dní po úspešnej terapii. Vylučovanie infekčných cýst po terapii sa dá najlepšie preukázať pomocou IFAT po spracovaní pomocou SAFC.

## Terapia

Podľa usmernení ESCCAP (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites) sa liečba klinicky nenápadných nosičov giardiózy vo všeobecnosti neodporúča, ale je indikovaná u zvierat s gastrointestinálnymi príznakmi. V Nemecku sú na liečbu giardiózy u psov a mačiek schválené lieky obsahujúce účinné látky fenbendazol a metronidazol. Okrem medikamentózneho terapie sú na dosiahnutie trvalého úspechu liečby nevyhnutné aj dôsledné hygienické opatrenia.

## Fenbendazol

Odporúčaná dávka pre psy a mačky je 50 mg/kg telesnej hmotnosti p. o. raz denne počas 3 až 5 dní. V praxi sa však táto dĺžka liečby často ukáže ako nedostatočná. Preto sa od začiatku odporúča 5-dňová liečba.

## Metronidazol

Odporúčaná dávka je 25 mg/kg telesnej hmotnosti dvakrát denne počas 5 až 7 dní. Táto dávka by sa nemala prekročiť kvôli toxicite metronidazolu, najmä u mačiek.

V praxi sa napriek liečbe týmito účinnými látkami cysty giardií naďalej vylučujú a klinické príznaky pretrvávajú. Nedostatočný úspech liečby možno pripísať sprievodným infekciám, reinfekcii z kontaminovaného prostredia a neúplnej eliminácii parazitov.

## Kontrola úspešnosti terapie

Podľa ESCCAP by sa liečba mala monitorovať pomocou jednej z uvedených metód približne 5 - 7 dní po ukončení liečby. Ak sú výsledky pozitívne a klinické príznaky pretrvávajú, liečba sa má zodpovedajúcim spôsobom zopakovať.

*Dr. Anton Heusinger*

## Ďalšia literatúra

www.esccap.de (Bekämpfung von intestinalen Protozoen bei Hunden und Katzen)  
Lapin M. Giardia spp. in Dogs and Cats. Proceedings of the Latin American Veterinary Conference; 2017; Lima, Peru  
Scorza V, Lappin R. Giardiasis. In: Sykes JE, editor. Greene's Infectious Diseases of the Dog and the Cat. 5th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2023. p 1263-1273

## Naše vyšetrenia giardií

- Giardia EIA
- Giardia PCR
- Giardia IFAT
- Početné profily