

Giardie – Výhody a nevýhody různých metod detekce



Zdroj obrázku: envatoelements

Giardia (G.) intestinalis (syn. *G. duodenalis*, *G. lamblia*) se vyskytuje u širokého spektra obratlovců. U zvířat mladších než jeden rok je Giardia jedním z nejčastějších endoparazitů. Cysty jsou vylučovány nejen zvířaty s klinickými příznaky, jakým je průjem tenkého střeva, ale také zvířaty s bezpříznakovou infekcí. Infekce indukuje částečnou imunitu, což je důvod, proč četnost záchyty u zvířat starších než jeden rok výrazně klesá. Přesto však mohou i nadále vznikat reinfekce.

Giardie jsou bičíkatí prvoci, které nelze mikroskopicky morfologicky odlišit od jiných prvoků. Hostitelská specifita byla vždy

považována za minimální, ačkoli jen velmi málo kmenů giardií izolovaných ze zvířat způsobuje onemocnění u lidí.

Typy

Je rozpoznáno několik genotypů (asambláží) s odlišnou hostitelskou specifitou (A–G). Asambláž A (*G. duodenalis*) se vyskytuje především u lidí a různých jiných savců, ale u psů a koček je vzácný. Asambláž B (*G. enterica*) je rovněž detekován převážně u lidí a jen příležitostně u psů a koček. Asambláž C a D (*G. canis*) jsou spojovány s infekcí u psů, zatímco asambláž F (*G. felis*) je specifický pro kočky.

Genotypizace asambláží různých shluků giardií může být provedena pomocí PCR po pozitivním výsledku. Přenos patogenních asambláží ze psů na člověka je za běžných

hygienických podmínek považován za nepravděpodobný.

Životní cyklus

Cysty giardií jsou přijímány perorálně a uvolňují se (excystují) do trofozoitů v tenkém střevě. Tyto trofozoity se přichycují na epitelové buňky sliznice tenkého střeva, kde se množí opakovaným binárním dělením a následně tvoří nové cysty. Prepatentní období se pohybuje od 4 do 16 dnů. Cysty jsou vysoce rezistentní, okamžitě infekční a jsou přerušovaně vylučovány ve velkém množství stolici do prostředí po dobu týdnů až měsíců.

Ve vlhkém prostředí zůstávají infekční po dobu nejméně tří měsíců a ve stolici přibližně jeden týden. Jsou však citlivé na dehydrataci a nízké teploty (např. $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu delší než jeden týden). Přenos probíhá perorální cestou stejně jako prostřednictvím fekálně kontaminované vody a krmiva. Minimální infekční dávka je velmi nízká – stačí jen několik cyst.

Klinické projevy

Kromě bezpříznakového průběhu může *Giardia* způsobovat chronický přerušovaný průjem s řídkou, kašovitou až vodnatou konzistencí a hlenem, dále zvracení, ztrátu hmotnosti a apatii.

Destrukce glykokalyxu a přichycení na mikroklyky vede k malabsorpci, inhibici enzymů a následné zánětlivé reakci. K

diagnostice infekce *Giardia* je k dispozici několik metod.

Diagnostika

Mikroskopie

Přímý (nativní) preparát

Trofozoity lze detekovat ve čerstvé stolici ihned po defekaci. K jejich detekci se hráškově velké množství stolice smíchá s malým množstvím fyziologického roztoku, přenese se na podložní sklíčko a překryje krycím sklíčkem. Typické trofozoity jsou pak pod mikroskopem pozorovatelné v nativním stavu (obr. 1). V této fázi lze u koček rozpoznat také *Tritrichomonas foetus* (při zvětšení 400×). K odlišení giardií od trichomonád lze využít různý pohybový vzorec - u giardií vzhled „padajícího listu“, kdežto u trichomonád cukavý a rotační pohyb, přetrvávající na místě.



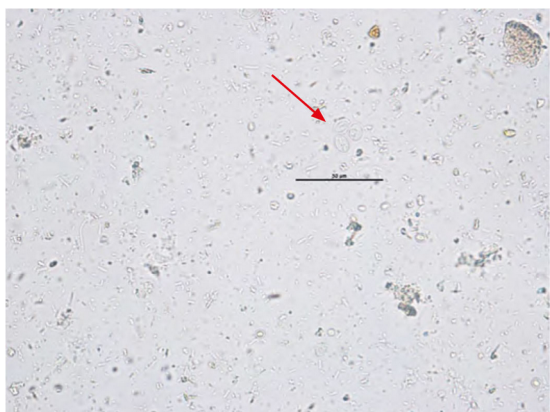
Obr. 1: *Giardia* - trofozoit (zvětšení 400x)

Zdroj: Laboklin

Flotace / Sedimentace

Při flotaci jsou cysty vážně poškozovány vysokým obsahem soli ve flotačním roztoku. Vhodnější metodou je obohacení pomocí SAFC

(sodium acetate–acetic acid–formalin concentration), tj. specializovaného sedimentačního procesu. Pro zvýšení citlivosti této mikroskopické detekční metody by měl být vzorek stolice sbírán po dobu 2–3 dnů, protože intenzita vylučování cyst výrazně kolísá a je přerušovaná. Při obohacení metodou SAFC mají typické cysty tenký obal a axiální tyčku. Při zvětšení 400× jsou obvykle dobře rozpoznatelné (obr. 2).



Obr. 2: Giardia - cysty (zvětšení 400x)
Zdroj: Laboklin

Existuje riziko záměny, zejména s kvasinkami, které mohou mít podobný tvar a velikost, ale na rozdíl od giardií postrádají jádra nebo mediánová tělíska. Mikroskopie je méně senzitivní než imunologická detekce a to by mělo být zohledněno při výběru diagnostické metody.

Imunologické metody

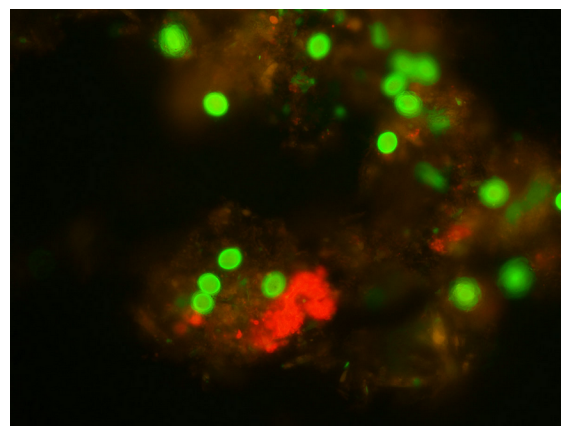
IFAT (nepřímý fluorescenční protilátkový test)

Cysty vyloučené a zpracované metodou SAFC mohou být obarveny fluorescenční technikou a poté snadněji detekovány pod mikroskopem pomocí speciálních světelných filtrů (obr. 3).

EIA (enzymově vázaný imunosorbentní test)

Dvě hlavní bílkoviny stěny cysty CWP-1 a CWP-2 se spojují do velkého heterodimeru, tzv. Giardia-specifického antigenu GSA-65. Ten je následně detekován pomocí enzymového imunoanalytického testu (EIA). Díky enzymové amplifikaci barevné reakce má EIA vyšší citlivost a, díky promývacímu kroku, i vyšší specifitu než neenzymové imunotesty (NEIA), jako jsou například rychlotesty běžně používané v praxi.

Dostupné koproantigenní testy se tak mohou lišit ve výsledcích, ale celkově jsou výrazně citlivější než mikroskopická detekce cyst giardií. To znamená, že i v případech dočasného zastavení vylučování cyst lze diagnózu stanovit pomocí vzorku stolice. Citlivost a specifita těchto ELISA testů jsou přibližně 98 %.



Obr. 3: Cysty (zelené) pod fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 400x)
Zdroj: Laboklin

PCR

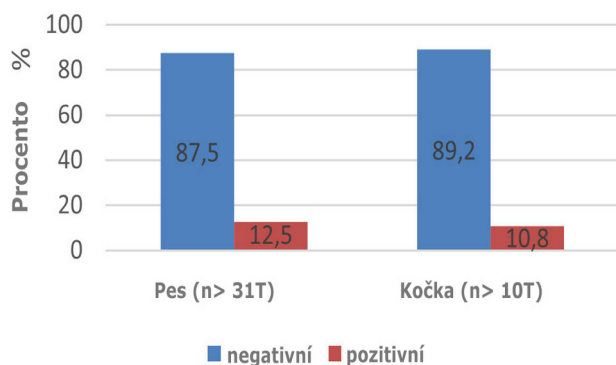
V tomto případě se molekulárně-biologická detekce DNA specifické pro Giardia

z obohacených cyst provádí pomocí PCR nebo přímé kopro-PCR. Citlivost je podobná jako u detekce pomocí ELISA, avšak přítomnost inhibitorů ve stolici mohou vést k falešně negativním výsledkům. PCR je obzvláště užitečná u pozitivních vzorků pro rozlišení různých asambláží za účelem vyloučení lidsky patogenních kmenů u pozitivního zvířete.

Výsledky různých metod detekce

EIA

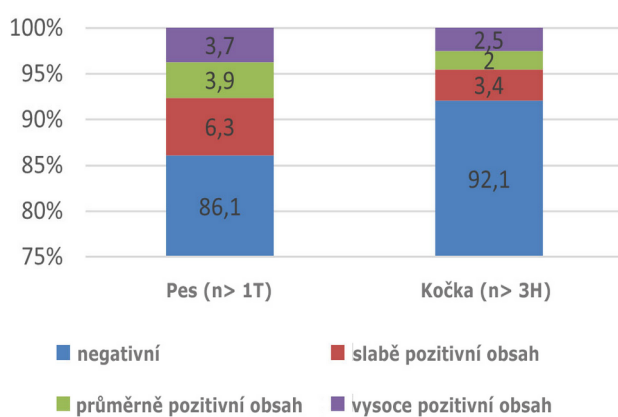
Pomocí EIA byl Giardia-specifický antigen detekován ve 12,5 % vzorků psů a v 10,8 % vzorků koček (obr. 4).



Obr. 4: Míry záchytu pomocí EIA
Zdroj obrázku: Laboklin

IFAT

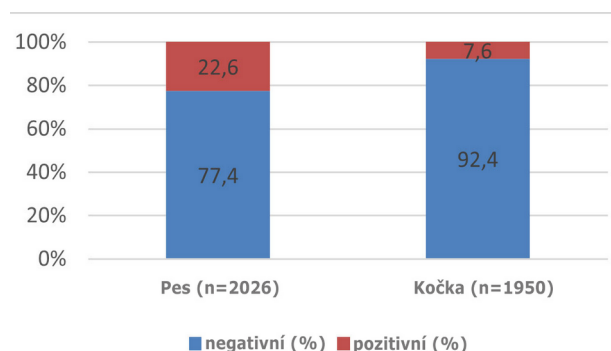
Míra záchytu pomocí imunofluorescence po obohacení metodou SAFC činila 14 % u psů a 7,9 % u koček. Zde bylo rovněž možné semikvantitativně vyjádřit množství cyst (obr. 5).



Obr. 5: Míry záchytu pomocí IFAT
Zdroj obrázku: Laboklin

PCR

Míra záchytu Giardia-pozitivních vzorků pomocí PCR činila 22,6 % u psů a 7,6 % u koček (obr. 6).



Obr. 6: Míry záchytu pomocí PCR
Zdroj obrázku: Laboklin

Vyhodnocení

Výběr vhodné testovací metody závisí na několika faktorech. Pokud jsou přítomny klinické příznaky jako průjem a zvracení, je vždy doporučováno jako první krok provést parazitologické vyšetření pomocí flotace a detekci Giardia pomocí EIA, a to ze smíšeného vzorku stolice. Z těchto metod je EIA citlivější než flotace. Možná je také

detekce antigenu pomocí IFAT. Pokud je nutné rozlišení asambláží Giardia, je metodou volby PCR. Pokud je parazitologický výsledek negativní, měly by být provedeny další diagnostické kroky k objasnění příčiny příznaků. I po úspěšné léčbě mohou výsledky EIA zůstat pozitivní, protože metoda detekuje i neživotaschopné (mrtvé) Giardia. Totéž platí pro PCR, která je ještě citlivější a může detekovat DNA několik dní po léčbě. Vylučování infekčních cyst po úspěšné terapii může být nejspolehlivěji prokázáno pomocí IFAT po obohacení metodou SAFC.

Léčba

Podle pokynů ESCCAP (Evropská vědecká rada pro parazity společenských zvířat) se léčba klinicky asymptomatických nosičů Giardia obecně nedoporučuje. Je však indikována u zvířat vykazujících gastrointestinální příznaky.

V Německu jsou pro léčbu giardiózy u psů a koček schváleny veterinární léčivé přípravky obsahující účinné látky fenbendazol a metronidazol. Kromě farmakologické léčby jsou nezbytná důsledná hygienická opatření pro dosažení trvalého terapeutického úspěchu.

Fenbendazol

Doporučená dávka pro psy a kočky je 50 mg/kg živé hmotnosti jednou denně po dobu 3 až 5 dnů. V praxi však trvání léčby po dobu 3 dnů často nestačí a proto se od začátku doporučuje 5denní léčba.

Metronidazol

Doporučená dávka je 25 mg/kg živé hmotnosti dvakrát denně po dobu 5 až 7 dnů. Vzhledem k možné toxicitě metronidazolu by

tato dávka neměla být překračována – zvláště u koček.

V praxi se často pozoruje pokračující vylučování cyst Giardia a přetrvávání klinických příznaků navzdory léčbě těmito účinnými látkami. Selhání léčby může být způsobeno současnými infekcemi, reinfekcí z kontaminovaného prostředí nebo neúplným odstraněním parazitů.

Monitorování úspěšnosti léčby

Podle ESCCAP by měla být léčba monitorována jednou z výše uvedených metod přibližně 5 až 7 dní po jejím ukončení. Pokud výsledky zůstávají pozitivní a přetrvávají klinické příznaky, měla by být léčba podle potřeby opakována.

Dr. Anton Heusinger

Reference

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 služby související s giardiemi

Giardia EIA

Giardia PCR

Giardia IFAT

Různé profily