

Giardia intestinalis – zajímavý střevní prvok

Zuzana Čermáková¹, Barbora Voxová¹, Olga Ryšková¹, Zbyněk Valenta², Lenka Plíšková³, Jiřina Lesná¹, Miroslav Förstl¹, Vladimír Buchta¹, Stanislav Plíšek⁴, Petr Prášil⁴, Radka Bolehovská³

¹Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové

²Ústřední vojenský zdravotní ústav Praha, Centrum biologické ochrany Těchonín

³Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové

⁴Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové

Souhrn

Sdělení obsahuje základní informace o biologickém cyklu a epidemiologii *Giardia intestinalis* i střevním onemocnění, které u člověka prvok vyvolává. Základem stanovení diagnózy giardiózy je laboratorní vyšetření vzorků stolice a duodenální tekutiny od pacientů při průjemovém onemocnění

Summary

Giardia intestinalis – an interesting intestinal protozoan

This report contains basic information about the life-cycle and epidemiology of *Giardia intestinalis* and intestinal illness caused by this protozoan. The fundamental point for correct diagnosis of giardiasis is laboratory examination of stool and/or duodenal fluid samples taken from pa-

s použitím různých metod, od mikroskopického průkazu cyst a trofozoitů *G. intestinalis* v biologickém materiálu až po přesnou diferenciaci jednotlivých typů giardií pomocí genotypizace. V tabulce jsou uvedeny vlastní výsledky detekce cyst i vegetativních stadií trofozoitů *G. intestinalis* získané v letech

tients suffering from diarrhoea using various methods, ranging from microscopic proof of *Giardia's* cysts and trophozoites in the biological material through to precise identification of different *Giardia's* types using genotypisation. The table shows results of *Giardia intestinalis* (both cyst and vegetative stages – trophozoites) detection acquired 2001–2007 from stool

2001–2007 ze vzorků stolice (průměrně 10 případů ročně) a průkaz trofozoitů v duodenální tekutině (1–6 případů za rok) v Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové.

KLÍČOVÁ SLOVA: GIARDIA INTESTINALIS, STŘEVNÍ PRVOK, GIARDIÓZA, LAMBLIÓZA

sample examination (approx. 10 cases/year) and trophozoites in duodenal fluid detection (1–6 cases/year) at the Department of clinical microbiology at the Faculty hospital in Hradec Králové.

KEY WORDS: GIARDIA INTESTINALIS, ENTERIC PROTOZOAN, GIARDIASIS

Giardia intestinalis (lamblia střevní, starší názvy: *Lamblia intestinalis*, *Giardia lamblia*, *Giardia duodenalis*) je celosvětově rozšířený, patogenní, čile pohyblivý, anaerobní prvok, jehož poznání prodělalo od 19. století do současnosti velký vývoj. Na začátku byl první popis morfologie, struktury a vlastností *G. intestinalis*, které v roce 1859 učinil český lékař, profesor Vilém Dušan Lambl [5], až po vytvoření kompletní databáze genomu *G. intestinalis* (Giardia DB) v současné době [15,19,23]. Biologický cyklus *G. intestinalis* je přímý, takže ke svému vývoji nepotřebuje tento prvok mezihostitele. Giardie nemají mitochondrie – organely typické pro eukaryotní organizmy, ale jejich funkci nahrazuje tzv. mitosom, který je tvořen patrně zbytky redukovaných mitochondrií.

Pohyblivá vegetativní stadia giardií (trofozoiti) jsou hruškovitého tvaru, mají 2 jádra [13], 8 bičíků a přísavku, která jim umožňuje adhezenci ke střevnímu epitelu. V tenkém střevě (v ileu) tvoří *G. intestinalis* oválné cysty, které jsou vylučovány se stolicí nebo trusem nakaženého hostitele. Cysty giardií přežívají v pitné vodě nebo půdě i několik týdnů a v přenosu se pravděpodobně uplatňují i mouchy kontaminací potravy. Nejčastějším zdrojem nákazy je voda kontaminovaná cystami giardií, především z přírodních zdrojů a koupání v přírodě, kdy mohou být cysty koncentrovány v sedimentu na dně nádrží. Osoby s výrazněji sníženou imunitou by se proto měly takovými aktivitám preventivně vyhnout [8].

Cysty jsou odolné i při nedostatečném chlorování vody a odolávají UV zá-

ření o nižší intenzitě než je 100 mJ/cm², neboť dochází k reparaci poškozené DNA prvoka [11], mohou však být spolehlivě likvidovány teplem, postačí 10minutový var. V potravinách jsou cysty *Giardia intestinalis* dobře inaktivovány během několika minut při teplotě 85–95 °C [2]. Přestože jsou giardie rozšířeny ve všech podnebných pásmech (včetně severských zemí) [15], je jejich výskyt vyšší v oblastech s teplým klimatem [14] a s nízkým hygienickým standardem. Ve světě je infikováno asi 450 mil. lidí, převážně děti (v některých dětských kolektivech může být nakaženo až 30 % dětí) [12].

Lambliózou jsou častěji postiženi jedinci s různým stupněm poškození imunitního systému, vnímavost k onemocnění je mnohem vyšší především při snížené tvorbě imunoglobulinů IgA

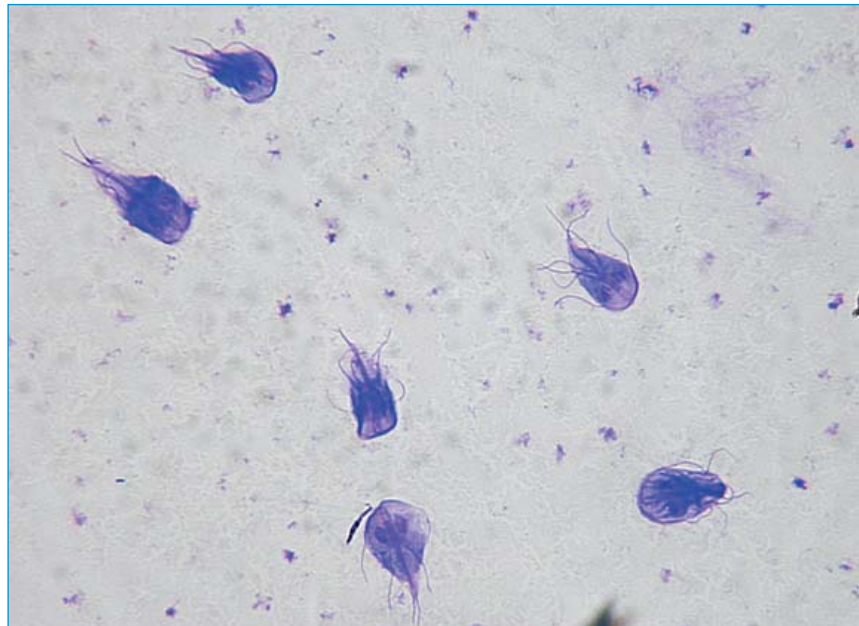
[1]. Při nákaze, ke které dochází pozřením již několika cyst giardií, projdou cysty žaludkem a v duodenu se z nich uvolní trofozoiti, kteří adherují k povrchu enterocytů v duodenu a jejunu, ale nepronikají do buněk epitelu. Na střevním epitelu zůstávají po adherenci giardií mikroskopické léze, na které reaguje epitel zkrácením a zesílením střevních mikrokliků. To má za následek poruchu absorpční schopnosti enterocytů s postupným vývojem malabsorpce. V ileu giardie vytvoří cysty, které jsou pasážovány do tlustého střeva a odtud stolicí do zevního prostředí [5]. Nákazou bývají postižena i některá zvířata (psi, kočky, morčata, potkani, skot, ovce a další), u kterých infekce probíhá často latentně [21].

Zahraniční autoři pomocí typizace klinických izolátů *G. intestinalis* molekulárně genetickými metodami zjistili, že většina zvířecích parazitů nemá souvislost s infekcemi člověka [1] a na základě odlišností ve složení některých genů byl druh *G. intestinalis* rozdělen do 7 genotypů označených A–G. Typ A obsahuje 2 podtypy, označené AI a AII. Typ AI je smíšený genotyp, blízkce příbuzných humánních a zvířecích izolátů. Typ AII obsahuje pouze izoláty humánní, stejně jako typ B. Genotypy C a D jsou nalézány u psů, typ F byl nalezen pouze u koček, typ G

u potkanů a typ E u prasat, ovcí a skotu. Zjištěná genetická diverzita může mít epidemiologický [23] a taxonomický význam. Studie provedená v Brazílii v letech 2004–2006 na souboru vzorků stolic lidí a zvířat potvrdila u humánních pacientů pouze typy AII a B [19].

V České republice bylo provedeno vyšetření trusu psů (326 vzorků) s cílem zjistit četnost výskytu cyst *G. intestinalis* – cysty byly nalezeny u psů z domácích chovů v 2,4 % a v trusu psů chovaných v útulcích v 11,1 %. Duodenální tekutina byla

vyšetřována v 8 případech, u 2 zvířat s pozitivním nálezem trofozoitů *G. intestinalis*, z nichž u 1 psa nebyly v trusu prokázány cysty. K posouzení zoonotického potenciálu bylo zároveň provedeno i koprologické vyšetření 20 osob pečujících o zvířata v útulku, ale v žádném případě u nich nebyla infekce giardiemi zjištěna [25]. V posledních letech nastal v České republice pokles výskytu humánních nálezů giardiemi, ročně je diagnostikováno zhruba okolo 200 případů autochtonních nálezů a necelé 100 infekcí importovaných [20].



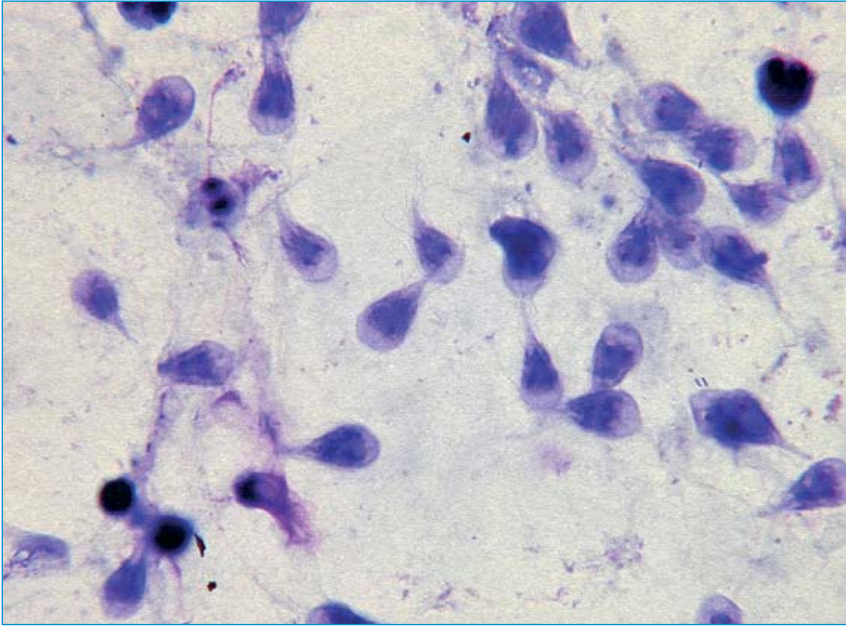
Obr. 1.

Giardia intestinalis, trofozoiti, barvení Giemsa-Romanowski, zvětšení 1 000× (foto PharmDr. B. Voxová).

Tab. 1. Přehled výskytu *Giardia intestinalis* v letech 2001–2007 v okrese Hradec Králové a blízkém okolí.

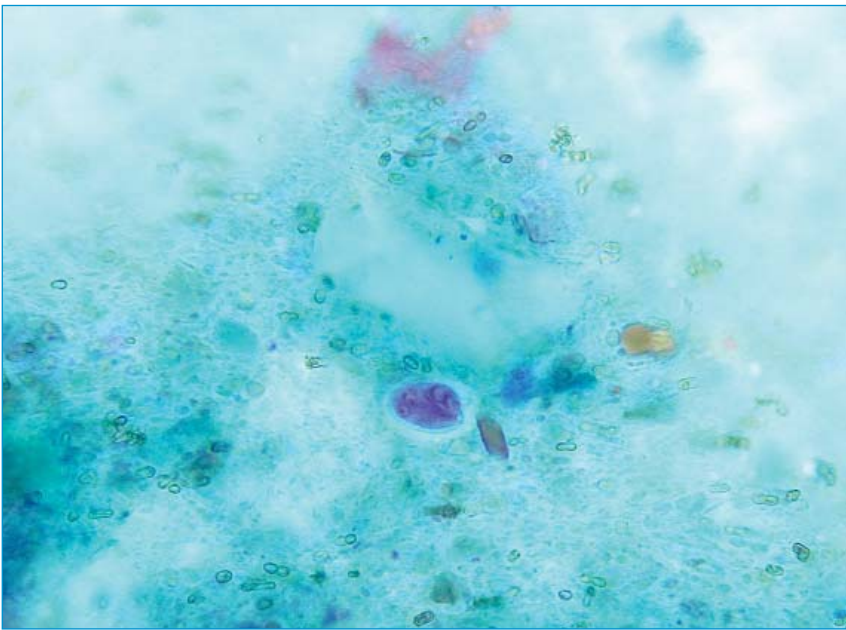
Rok	Vyšetřené osoby (odebrány 2–3 vzorky stolice)*	Pozitivní průkaz <i>G. intestinalis</i> ve stolici pacientů	Duodenální vzorky – celkem	Pozitivní průkaz trofozoitů <i>G. intestinalis</i> v duoden. obsahu
2001	1 418	10 (0,70 %)	12	0
2002	1 497	10 (0,67 %)	13	6 (46,15 %)
2003	1 177	11 (0,93 %)	9	4 (44,44 %)
2004	1 008	5 (0,49 %)	14	0
2005	904	8 (0,88 %)	17	0
2006	780	8 (1,02 %)	19	1 (5,26 %)
2007	1 100	7 (0,64 %)	11	1 (9,09 %)
Celkem	7 884	59 (0,75 %)	95	12 (12,63 %)

*Celkem vyšetřeno 22 908 vzorků stolice.



Obr. 2.

Giardia intestinalis, trofozoiti, barvení Giemsa-Romanowski, zvětšení 1 000× (foto MUDr. M. Förstl).



Obr. 3.

Giardia intestinalis, cysta, barvení trichrom Gomori, zvětšení 1 000× (foto MUDr. M. Förstl).

Klinické příznaky giardiózy u člověka jsou velmi rozmanité, nejčastěji však nákaza proběhne asymptomaticky, ale zhruba v 10 % se manifestuje v podobě nejrůznějšího poškození zažívacího systému. Pomocí genové analýzy prvoka byla nalezena souvislost mezi klinickým průběhem nákazy a genotypem *G. intestinalis*. Giardia genotypu All vyvolávají většinou onemocnění provázené klinickými příznaky, kdežto nákaza genotypem B probíhá asymptomaticky [16]. Infekce

střevním prvokem *G. intestinalis* se nejčastěji projevuje nechutenstvím, příznaky napodobujícími dráždivý tračník a funkční dyspepsii [4], bolestmi v podbříšku, nadýmáním, vodnatým průjmem bez příměsi krve, přítomností hlenu, steatorheou [22]; postupně se vyvíjí až malabsorpce a úbytek hmotnosti [24]. Protože se při rozvinuté infekci giardiemi omezuje vstřebávání tuků a v nich rozpustných vitaminů a zinku, který je důležitý pro správnou funkci imunitního systé-

mu, snižuje se odolnost organismu vůči dalším infekcím. Giardiózy mohou provázet rovněž extraintestinální příznaky – horečka, makulopapulózní exantém, plicní infiltráty, lymfadenopatie, polyartritida, aftózní ulcerace a anémie z nedostatku železa [12].

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GIARDIÓZY

K laboratorní parazitologické diagnostice lze použít vzorky stolice a duodenální tekutiny. V případě stolice průjmovité je potřebné doručit vzorek do laboratoře co nejdříve – do 2 h po defekaci, neboť při zrychlené pasáži střevního obsahu nemusí docházet k tvorbě cyst a trofozoiti (na zevní podmínky citlivá vegetativní stadia) *G. intestinalis* rychle hynou a jsou likvidovány přítomnou bakteriální flórou. Výsledek takového vyšetření může být falešně negativní. Duodenální tekutinu je nutné doručit do laboratoře do 30 min po odběru (trávicí enzymy likvidují prvoky) a při transportu nesmí vzorek vychladnout. Všechny vzorky je třeba řádně označit a v žádosti o vyšetření uvést dobu odběru materiálu, trvání obtíží, anamnézu (především cestovatelskou), dosavadní léčbu a další údaje, které by mohly mít na výsledek vyšetření vliv. Vzhledem ke skutečnosti, že k vylučování cyst prvoků může docházet nepravidelně, je velmi vhodné zasílat od každého pacienta 3 vzorky stolice odebrané s odstupem 24–48 h a vyšetření opakovat minimálně 3krát. V parazitologické laboratoři fakultní nemocnice je pro diagnostiku střevních prvoků běžně používáno více metod paralelně a tím je zvýšena senzitivita vyšetření (nativní preparát, koncentrační metody a mikroskopie po obarvení).

V práci autorů Schuurman a kol. z roku 2007 [17] je porovnávána laboratorní diagnostika *G. intestinalis* ve vzorcích stolice pomocí mikroskopie po obarvení, real-time PCR (polymerázová řetězová reakce v reálném čase)

a rychlým imunologickým testem (EIA immunoasay). Všechny 3 metody byly shledány dostatečně citlivé a specifické. Mikroskopické vyšetření uvádí senzitivitu 99 %, specificitu 97 %, real-time PCR má senzitivitu 100 %, ale specificitu pouze 92 % (možná kontaminace vzorku produktem PCR), rychlý imunologický test byl senzitivní v 98 % a ve 100 % specifický. Pro větší laboratoře se zkušenými mikrobiology doporučují autoři vzhledem k ceně a dostatečné citlivosti diagnostiku *G. intestinalis* pomocí mikroskopického vyšetření a pro ostatní laboratoře považují za dostatečné použití rychlých imunologických testů. Molekulární genetické metody (multiplex real-time PCR, PCR) jsou nezbytné pro identifikaci a rozlišení humánních a zvířecích genotypů *G. intestinalis* [9,19] a rovněž pro detekci povrchového antigenu trofozoitů [6] v průmě-

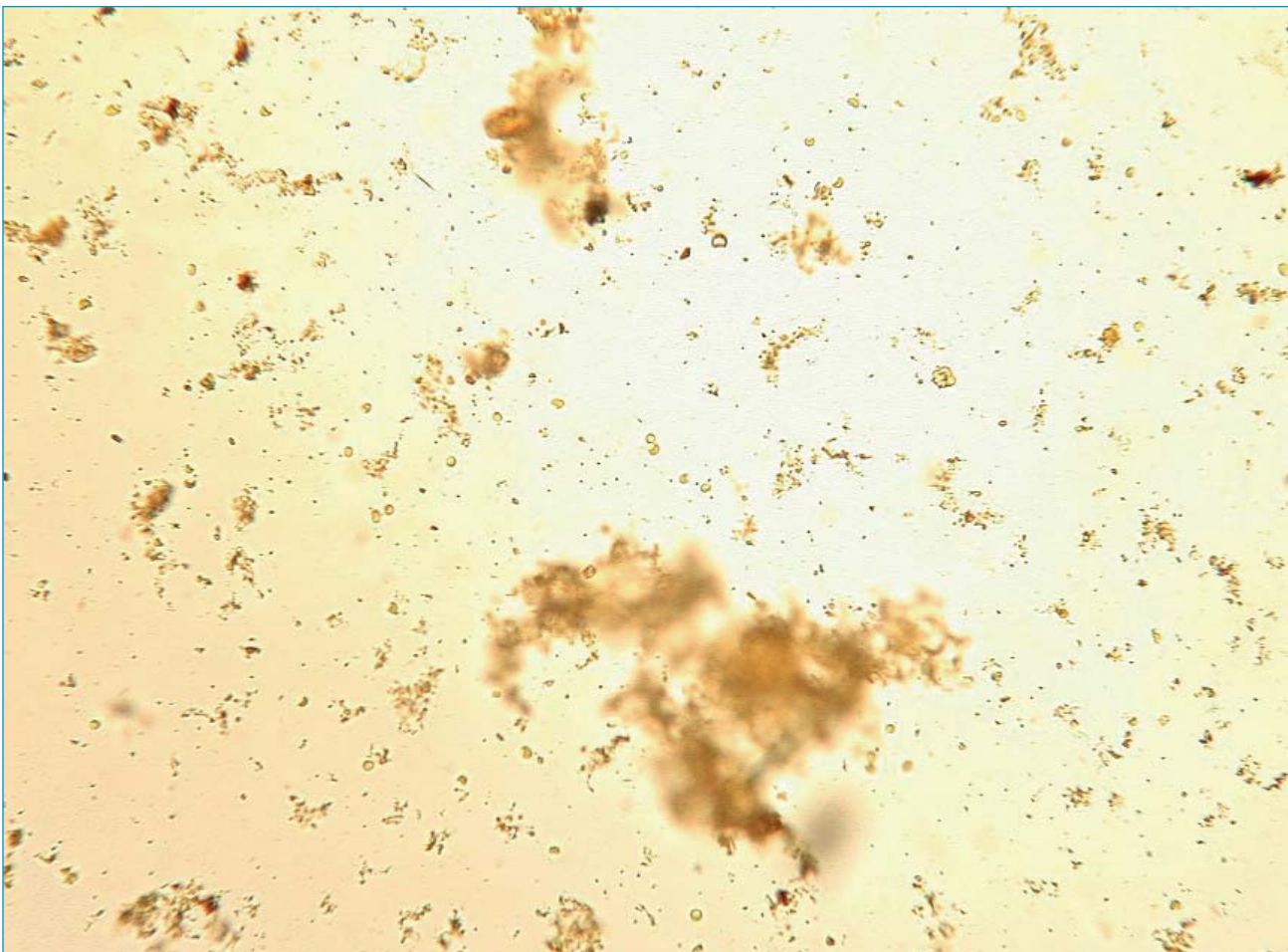
vitě stolici nebo v duodenálním obsahu, ale i z důvodů epidemiologických.

V tab. 1 uvádíme výsledky rozboru 22 908 vzorků stolice a 95 vzorků duodenální tekutiny, které byly vyšetře-



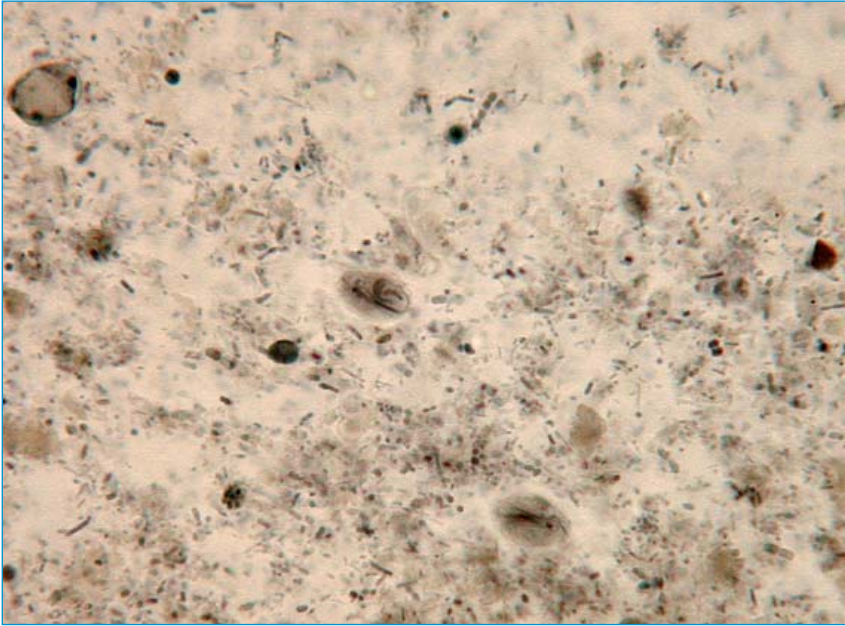
Obr. 4.

Giardia intestinalis, trofozoit na povrchu enterocyty (elektronová mikroskopie prof. MUDr. J. Špaček, DrSc.).



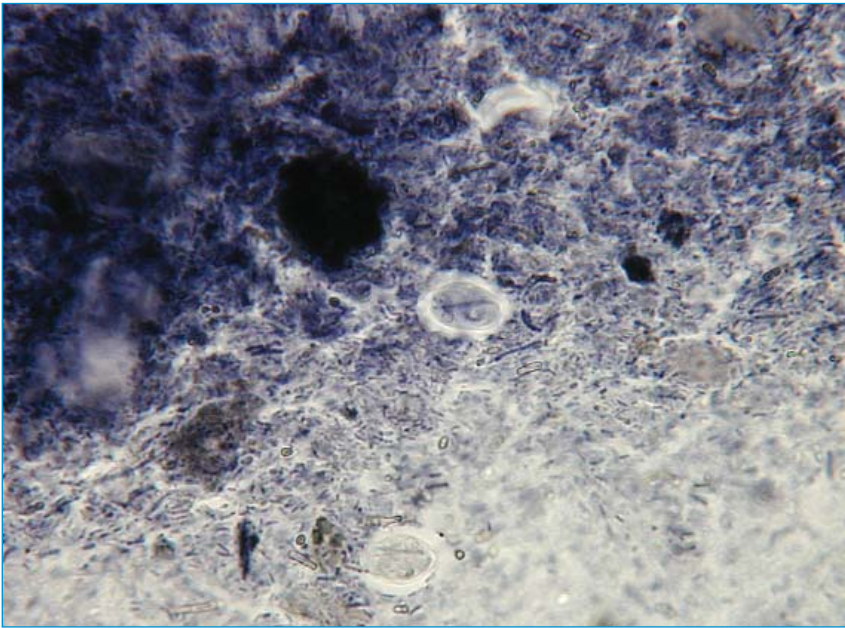
Obr. 5.

Giardia intestinalis, cysty, koncentrační metoda v síranu zinečnatém, orientační barvení Lugolovým roztokem, zvětšení 200× (foto PharmDr. B. Voxová).



Obr. 6.

Giardia intestinalis, cysty, barvení železitým hematoxilinem, zvětšení 1 000× (foto MUDr. M. Förstl).



Obr. 7.

Giardia intestinalis, cysty, barvení železitým hematoxilinem, zvětšení 1 000× (foto PharmDr. B. Voxová).

ny na přítomnost *G. intestinalis* v letech 2001 až 2007 od 7 884 osob ze spádové oblasti naší parazitologické laboratoře (okres Hradec Králové a okolí).

Hodnocený soubor biologického materiálu obsahuje všechny vzorky stolice a duodenální tekutiny, bez rozlišení diagnózy, věku a pohlaví pacientů, které byly v průběhu sledovaného období doručeny do naší laboratoře k parazitologickému vyšetření pro průkaz *G. intestinalis*.

Celkový počet vyšetření a výsledků uvádíme v tabulce pro ilustraci četnosti indikace vyšetření a pro informaci o frekvenci pozitivních nálezů *G. intestinalis* v klinickém materiálu v našem spádovém regionu. Pozitivní průkazy giardií ve stolici se v naší laboratoři pohybovaly v rozmezí 0,5–1 %, v průměru 10 nových případů ročně (což přibližně odpovídá nálezům v naší zeměpisné oblasti), v duodenální tekutině byl nález trofozoitů prvoka v rozmezí 1–6 ročně, s nejvyšší

incidencí v roce 2002. Detekce *G. intestinalis* ve vzorcích stolice i nález trofozoitů v duodenální tekutině mohou být ovlivněny mnoha faktory, na které bychom chtěli indikující lékaře upozornit. Především velmi záleží na tom, v jakém stadiu onemocnění je vzorek odebrán. Důležité je, aby odběr proběhl, pokud možno na začátku průjemového onemocnění, ještě před začátkem symptomatické léčby a terapie antibiotiky. V některých případech bývají vzorky stolice odebrány až po vyloučení bakteriální či virové etiologie průjmu, přičemž hlavně děti mohou být v té době již léčeny antibiotiky pro přidruženou bakteriální infekci.

Lékem volby u giardiózy zůstává metronidazol (nebo tinidazol), alternativou může být chinakrin, furazolidon, paromomycin, popř. albendazol. Problémem jsou zejména omezené možnosti léčby v graviditě, zvláště v 1. trimestru. Paromomycin jako perorální, nevstřebatelné antibiotikum je obvykle doporučován. V případě neúspěchu monoterapie, lze zkusit kombinovanou léčbu.

Giardia intestinalis je v různém stupni citlivá, kromě metronidazolu a jeho derivátů, i k některým dalším antibiotikům běžně používaným při léčbě bakteriálních infekcí. In vitro i in vivo byla některými autory prokazována výborná citlivost *G. intestinalis* k azithromycinu – koncentrace 100 µg/ml působí cidně na růst protozoí [10], giardie jsou rovněž dobře citlivé k paromomycinu [7]. Někteří autoři popisují také citlivost k ciprofloxacinu [18] i ke kombinacím dalších antibiotik (doxycyklin – meflochin, tinidazol). Testovaná antibiotika mají schopnost, dokonce již v nízkých koncentracích 1 µg/ml, inhibovat adheenci giardií na buňky, a je zapotřebí si uvědomit, že vnímavost k chemoterapeutikům může, společně s dalšími faktory, ovlivnit výsledek laboratorní diagnostiky [3].

Literatura

1. Ali SA, Hill DR. *Giardia intestinalis*. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 453–460.

2. Caccio SM, Rinaldi L, Cringoli G et al. Molecular identification of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in the Italian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Parasitol* 2007; 150: 146–149.

3. Crouch AA, Seow WK, Whitman LM et al. Sensitivity in vitro *Giardia intestinalis* to dyadic combinations of azithromycin, doxycycline, mefloquine, tinidazole and furazolidone. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; 84: 246–248.

4. Dizdar V, Gilja OH, Hausken T. Increased visceral sensitivity in *Giardia*-induced postinfectious irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. Effect of the 5HT3-antagonist ondansetron. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 977–982.

5. Dvořáčková M, Heroldová M. Obecná a speciální parazitologie. In Votava M et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun 2003; 381–382.

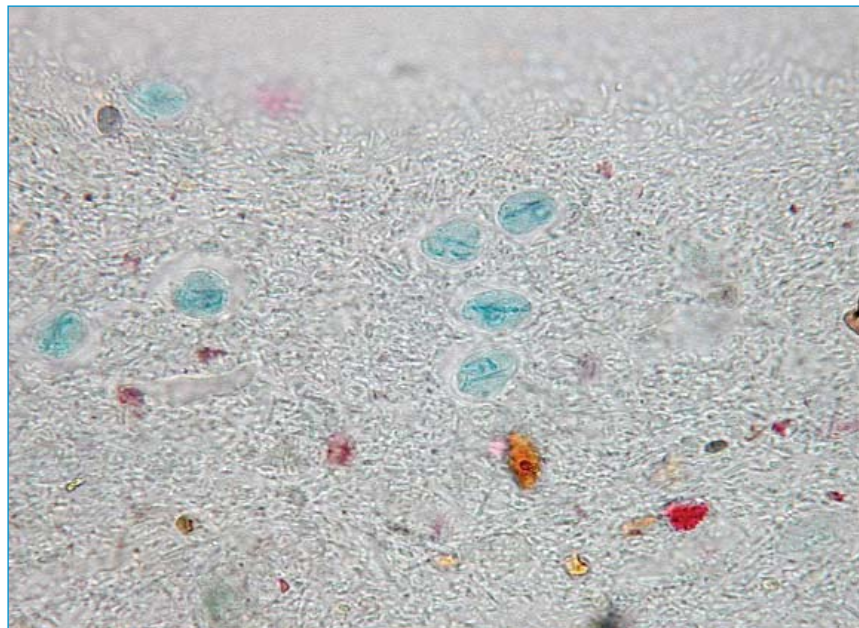
6. Ey PL, Andrews RH, Mayrhofer G. Differentiation of major genotype of *Giardia intestinalis* by polymerase chain reaction analysis of a gene encoding a trophozoite surface antigen. *Parasitology* 1993; 106: 347–356.

7. Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 114–128.

8. Graczyk TK, Sunderland D, Tamang L et al. Bather density and levels of *Cryptosporidium*, *Giardia*, and pathogenic microsporidian spores in recreational bathing water. *Parasitol Res* 2007; 101: 1729–1731.

9. ten Hove R, Schurman T, Kooistra M et al. Detection of diarrhoea-causing protozoa in general practice patients in The Netherlands by multiplex real-time PCR. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 1001–1007.

10. Jeske J, Ochęcka-Szymańska A, Malinowska B et al. Effectiveness of azithromycin in the treatment of



Obr. 8.

Giardia intestinalis, cysty, barvení trichrom Gomori, zvětšení 1 000× (foto PharmDr. B. Voxová).

giardiasis. *Med Sci Monit*. 1998; 4(3): 547–550.

11. Li D, Craik SA, Smith DW et al. Survival of *Giardia lamblia* trophozoites after exposure to UV light. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 278: 56–61.

12. Monajemzahed SM, Monajemzahed M. Comparison of iron and hematological indices in *Giardia lamblia* infection before and after treatment in 102 children in Ahwaz, Iran. *Med Sci Monit* 2008; 14: 19–23.

13. Nohynková E, Tumová P, Kulda J. Cell division of *Giardia intestinalis*: flagellar developmental cycle involves transformation and exchange of flagella between mastigonts of a diplomonad cell. *Eukaryot Cell* 2006; 5: 753–761.

14. Paniagua GL, Monroy E, Garcia-González O et al. Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2007; 6: 17.

15. Robertson LJ, Forberg T, Hermansen L et al. Molecular characterisation of *Giardia* isolates from clinical infectious following a waterborne outbreak. *J Infect* 2007; 55: 79–88.

16. Sahagún J, Clavel A, Goni P et al. Correlation between the presence of

symptoms and the *Giardia duodenalis* genotype. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27: 81–83.

17. Schuurman T, Lankamp P, van Belkum A et al. Comparison of microscopy, real-time PCR and a rapid immunoassay for the detection of *Giardia lamblia* in human stool specimens. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 1186–1191.

18. Sousa MC, Póiares-da-Silva J. The cytotoxic effects of ciprofloxacin in *Giardia lamblia* trophozoites. *Toxicology In Vitro* 2001; 15: 297–301.

19. Souza SL, Gennari MS, Richtzenhain LJ et al. Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from humans, dogs, cats and cattle from the state of Sao Paulo, Brazil, by sequence analysis of fragments of glutamate dehydrogenase (gdh) coding gene. *Vet Parasitol* 2007; 149: 258–264.

20. Stejskal F, Pyšová I, Nohynková E. Importované střevní protozoární infekce – byla přednesena na Mikrobiologickém semináři v Třeboni, 11. června 2006.

21. Svobodová V, Svoboda M, Konvalinová J. Comparison of the detection of *Giardia intestinalis* cysts with the presence of specific antibodies in dogs and cats. *Vet Med (Praha)* 1995; 40: 141–146.

22. Taichmanová Z. Laboratoř mikrobiologie. Noviny Onkologického centra 2006; 10: 6.

23. Trout J, Santin M, Greiner EC et al. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in 1-2 year old dairy cattle. *Vet Parasitol* 2006; 140: 217–222.

24. Vaništa J. Střevní parazitózy. Doporučené postupy pro praktické lékaře. *ČLS JEP* 2000; 247: 1–6.

25. Zemanová I, Husník R, Svobodová V. *Giardia intestinalis* u psů – výskyt, zoonotický potenciál a využití endoskopické diagnostiky. *Veterinářství* 2005; 55: 319–325.

Adresa pro korespondenci/

Correspondence to:

MVDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.

Ústav klinické mikrobiologie LF UK

a FN HK, FN Hradec Králové

Sokolská ul. 581

500 05 Hradec Králové

e-mail: cermakovaz@fnhk.cz