

# Implikacje kontrowersji taksonomicznych i genetycznego zróżnicowania *Giardia*

## Implications of *Giardia* taxonomic controversies and genetic diversity

PIOTR SOLARCZYK, ANNA C. MAJEWSKA

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Rodzaj *Giardia* obejmuje sześć gatunków cechujących się różnym kręgiem żywicieli. *G. intestinalis* jest częstym pierwotniakiem pasożytującym u ludzi i zwierząt i jest uważany za znaczącą przyczynę biegunki na świecie. Identyfikacja gatunku *Giardia* jest bardzo trudna, ponieważ cysty większości gatunków *Giardia* mają taką samą budowę. Kolejną trudnością jest znaczne zróżnicowanie genetyczne *Giardia*. Niektóre gatunki, zbiory, podgrupy, genotypy i nawet podtypy *Giardia* są żywicielsko specyficzne, podczas gdy inne są inwazyjne zarówno dla ludzi, jak i zwierząt. Zatem samo wykrycie cyst *Giardia* w próbach środowiskowych jest niewystarczające. Zmieniające się poglądy na status taksonomiczny w obrębie rodzaju *Giardia* doskonale ilustrują jak duży wpływ ma precyzyjna identyfikacja patogenu lub jego nazewnictwo na ustalanie norm prawnych, oszacowanie ryzyka zarażenia ludzi, dociekania epidemiologiczne, a szczególnie na ustalenie źródła zanieczyszczenia wody lub wystąpienia epidemii oraz na podjęcie wszelkich środków zapobiegawczych, a także na opracowanie wiarygodnych testów diagnostycznych.

**Słowa kluczowe:** *Giardia*, klasyfikacja, genotyp, epidemiologia

The *Giardia* genus comprises six species with a variegated range of hosts. *G. intestinalis* is a widespread protozoan parasite of humans and animals, and is regarded as the significant cause of diarrhea worldwide. The identification of the parasite species is very difficult because cysts of most species have the same morphology. A further complication is its considerable genetic heterogeneity. Some *Giardia* species, assemblages, sub-assemblages, genotypes, and even subtypes are host-specific, whereas others infect both humans and many species of animals. Thus, mere detection of *Giardia* cysts in environmental samples becomes inadequate. Constantly changing opinions regarding the *Giardia* genus taxonomic status aptly illustrate the great impact that the precise identification or nomenclature of pathogen bears on environmental laws, estimating risk of human infection, epidemiological investigations, and particularly on ascertaining the epicenter of water contamination or outbreak, undertaking any/all available preventive measures, as well as developing reliable diagnostic tests.

**Key words:** *Giardia*, classification, genotype, epidemiology

© Probl Hig Epidemiol 2015, 96(3): 540-546

www.phie.pl

Nadesłano: 01.07.2015

Zakwalifikowano do druku: 05.07.2015

**Adres do korespondencji / Address for correspondence**

dr Piotr Solarczyk

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

ul. Fredry 10, 61-701 Poznań

tel. 61 854 60 80, fax 61 854 62 31, e-mail: psolar@ump.edu.pl

## Wstęp

Wiciowce z rodzaju *Giardia* pasożytują w jelicie cienkim wielu gatunków zwierząt, w tym i człowieka. Aktualnie giardioza jest jedną z najczęstszych pasożytniczych pierwotniaków jelitowych człowieka wywoływanych przez pasożytnicze pierwotniaki jelitowe. Pomimo znacznego postępu badań dotyczących *Giardia* nadal istnieje wiele kontrowersji i niejasności związanych, między innymi z nazewnictwem, taksonomią, genetyczną różnorodnością, specyficznością żywicielską i patogennością tego pasożyta.

## Taksonomia *Giardia*

Od ponad 100 lat taksonomia *Giardia* jest obiektem wielu kontrowersji prowadzących do dezorientacji odnośnie nomenklatury tego pasożyta i do wielu niejasności w poznaniu epidemiologii giardiozy,

a szczególnie zoonotycznej transmisji. W związku z tym warto krótko przedstawić historię taksonomii *Giardia*.

Uważa się, że *Giardia* był pierwszym zaobserwowanym i dokładnie opisanym pasożytniczym pierwotniakiem [1]. Pierwszy, szczegółowy opis trofozoitów tego pasożytniczego pierwotniaka, ale bez podania nazwy gatunkowej, przedstawił Antony van Leeuwenhoek w liście datowanym na 4 listopada 1681 roku [2]. Opisał w nim również swoje dolegliwości ze strony układu pokarmowego, jednak nie wziął pod uwagę, że przyczyną tych objawów mogły być organizmy, które zaobserwował w swoim biegunkowym kale, przy użyciu samodzielnie skonstruowanego mikroskopu. Jednak opis tego pasożytniczego pierwotniaka przez Leeuwenhoeka był nieznanym przez ponad dwa wieki, co wynikało z faktu, iż ten holenderski uczyony pisał

swoje prace w języku ojczystym lub w łacińskim. Dopiero, kiedy Dobell (1932) [2] przetłumaczył list Leeuwenhoek'a, pierwszeństwo odkrycia tego pasożyta zostało przyznane holenderskiemu badaczowi.

Niemal 200 lat później po odkryciu przez Leeuwenhoek'a, bo w 1859 roku czeski lekarz Vilém Dušan Lambl, badając biegunkowy kał dziecka, ponownie odkrył i dokładnie scharakteryzował tego wiciowca, lecz także nie wiązał obecności tego pierwotniaka w kale z objawami występującymi u dziecka [3]. Lambl opisał tego pasożyta człowieka jako *Cercomonas intestinalis*, tworząc tym samym homonim, ponieważ inny organizm, o takiej samej nazwie, został już opisany wcześniej [4]. Jednakże homonimia została rozpoznana dopiero w roku 1888 roku przez Blancharda [5], który likwidując ją, utworzył nowy rodzaj *Lambliia* i umieścił w nim tego wiciowca. Dopiero w roku 1914 Alexeieff [6] wykazał, że rodzaj *Giardia* był już utworzony wcześniej – w 1882 roku przez Künstlera [7], który wykrył tego pasożyta u kijanek i nazwał go *Giardia agilis*. A zatem, zgodnie z zasadami Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej, prawidłową nazwą rodzajową jest *Giardia*, a nie *Lambliia*. Stąd też stosowanie nazwy *Lambliia intestinalis* jest błędne, ponieważ rodzaj *Lambliia* nie istnieje. W 1915 roku Stiles [8] uważając, że jest wiele nieporozumień dotyczących nazwy gatunkowej tego pasożyta nadał mu nową nazwę *Giardia lamblia*. Tym samym jeszcze bardziej skomplikował nazewnictwo tego pasożyta.

Ponadto, w latach 1920-1950 opisano ponad 40 gatunków *Giardia* na podstawie występowania u określonych gatunków żywicieli [9]. Chociaż wiele z nich było morfologicznie identycznych, to wówczas uważano, że populacje *Giardia* są wysoce swoiste dla swoich żywicieli. Ale w 1952 roku Filice [10] stwierdził, że jedynym kryterium do rozróżnienia gatunków *Giardia* są różnice w budowie trofozoitów tego pasożyta i na podstawie kształtu trofozoitów i ciałek pośrodkowych oraz wielkości tarczy przysawkowej wyróżnił trzy gatunki (grupy) morfologiczne: 1. *G. duodenalis* – pasożyta ssaków, w tym ludzi oraz ryb, gadów i ptaków; 2. *G. muris* – pasożyta gryzoni oraz 3. *G. agilis* – pasożyta płazów. Wkrótce większość badaczy zaczęła akceptować istnienie trzech morfologicznie odmiennych grup (gatunków) *Giardia*, tym bardziej, że wyniki licznych doświadczalnych krzyżowych zarażeń wskazywały na brak specyficzności żywicielskiej gatunków *Giardia* w obrębie tych trzech grup morfologicznych.

Ponadto, dzięki wykorzystaniu nowych technik badawczych, m.in. mikroskopii skaningowej i analizy molekularnej, wyodrębniono nowe gatunki występujące u ptaków – *G. psittaci* i *G. ardeae* [11, 12]. Natomiast kolejny gatunek – *G. microti* został opisany na podstawie odmiennej budowy cyst [13].

Cysty *G. microti* zawierają dwa, w pełni ukształtowane trofozoity, podczas gdy w cystach pozostałych gatunków w cytoplazmie znajdują się cztery jądra, ciała sierpowate i aksonemy. Chociaż pierwotnie ten gatunek pasożyta wykryto u norników preriowych, to później stwierdzano go u innych gatunków gryzoni, m.in. u piżmaków [14].

Aktualnie, w obrębie rodzaju *Giardia*, akceptowanych jest sześć gatunków (tabela I). Spośród nich najwięcej kontrowersji wzbudza gatunek *G. intestinalis* występujący u ludzi i licznych gatunków zwierząt. Wyniki wielu badań wskazują, że jest to albo gatunek charakteryzujący się dużą zmiennością wewnątrzgatunkową, albo też stanowi zbiór morfologicznie nierozróżnialnych gatunków. Chociaż według ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia prawidłową nazwą jest *G. intestinalis* [4], to obecnie w piśmiennictwie synonimowo są stosowane trzy nazwy tego pasożyta: w Europie – *G. intestinalis* i *G. duodenalis*, w Australii – *G. duodenalis*, natomiast w USA – *G. lamblia*. Jednoczesne stosowanie trzech różnych nazw tego pasożyta powoduje duży chaos w dociekaniach epidemiologicznych, interpretacji wyników badań laboratoryjnych przy wykorzystaniu komercyjnych testów immunodiagnostycznych i ustalaniu norm prawnych oraz stwarza problemy z wyszukiwaniem prac w bazach danych.

Identyfikacja gatunku *Giardia* jest bardzo trudna. Cysty wydalane wraz z kałem żywiciela są najczęściej podstawą rozpoznania zarażenia. Jednak cysty większości gatunków *Giardia* mają taką samą budowę (tabela I). Ponadto, obecność morfologicznie identycznych cyst *Giardia* w próbach środowiskowych utrudnia dociekania epidemiologiczne, a także oszacowanie ryzyka zarażenia ludzi. Większość gatunków tego pasożyta jest nieinwazyjna dla człowieka. Jedynym gatunkiem stwierdzonym u ludzi jest *G. intestinalis* [15].

## Genetyczne różnicowanie *Giardia*

Coraz powszechniejsze stosowanie technik biologii molekularnej w badaniach tego pasożyta sprawiło, że zaczęły się gromadzić liczne dowody wskazujące na znaczne różnicowanie genetyczne *G. intestinalis*.

Tabela I. Gatunki w rodzaju *Giardia*  
Table I. *Giardia* species

| Gatunek   | Żywiciele   | Morfologia cyst        |
|---|---|------------------------|
| <i>G. intestinalis</i><br>(syn. <i>G. duodenalis</i> ,<br><i>G. lamblia</i> ) | człowiek, wiele gatunków<br>ssaków, nieliczne gatunki<br>ptaków i ryb |                        |
| <i>G. muris</i>   | gryzonie  | identyczna             |
| <i>G. agilis</i>  | płazy   |                        |
| <i>G. ardeae</i>  | ptaki   |                        |
| <i>G. psittaci</i>  | ptaki   |                        |
| <i>G. microti</i>   | gryzonie  | zawierają 2 trofozoity |

Jedną z pierwszych publikacji na świecie dotyczyła analiza genomu 47 izolatów *Giardia*, uzyskanych od ludzi i różnych gatunków zwierząt z różnych regionów geograficznych, w tym także z terenu Wielkopolski [16]. Molekularna analiza wykazała, że większość izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi i zwierząt należy do dwóch zbiorów genotypów, które określono jako „polskie” i „belgijskie” [16]. W badaniach tych stwierdzono również pojedyncze unikalne genotypy *G. intestinalis* [16]. Wraz z udoskonaleniem technik izolacji DNA pasożyta bezpośrednio z kału oraz z prób środowiskowych zaczęły pojawiać się liczne prace, których wyniki ponownie wskazywały, że większość izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi i zwierząt w różnych regionach świata należy do dwóch głównych zbiorów genotypów. Te dwa zbiory genotypów *Giardia*, dawniej określane jako „polskie” i „belgijskie” [16], aktualnie są określane jako zbiory genotypów A i B lub – rzadziej – jako zbiory genotypów 1 i 2 oraz 3 [17-19]. Ponadto, na podstawie molekularnej charakterystyki izolatów *Giardia* uzyskanych od różnych gatunków zwierząt wykazano istnienie odrębnych genotypów, które charakteryzują się stosunkowo wąską specyficznością żywicielską [20-25]. Obecnie, w obrębie *G. intestinalis* wyróżnia się co najmniej 8 zbiorów genotypów (tabela II).

Ostatnio sugeruje się, aby genotypy *G. intestinalis* uzyskały status gatunku, np. *G. enterica* – genotypy ze zbioru B, *G. canis* – genotypy ze zbiorów C i D, *G. bovis* – genotypy E, *G. cati* – genotypy F i *G. simondi* – genotypy G [15, 26-28].

Później, w obrębie niektórych grup genotypów *G. duodenalis* (A-F) wyodrębniono podgrupy, np., w zoonotycznych grupach genotypów A i B wyodrębniono odpowiednio trzy (AI, AII, AIII) i dwie (BIII i BIV) podgrupy, co przyczyniło się do dalszych komplikacji w określeniu ryzyka zarażenia ludzi, tym bardziej, że u ludzi dotychczas nie stwierdzono *G. intestinalis* z podgrupy AIII [29, 30].

Następnie, na podstawie polimorfizmu pojedynczych nukleotydów w sekwencji markerów molekularnych izolatów *Giardia* zaczęto wyróżniać podtypy w obrębie podgrup genotypów tego pasożyta, co wraz

z stosowaniem niejednolitego nazewnictwa poszczególnych poziomów zróżnicowania genetycznego doprowadziło do dezorientacji w porównywaniu wyników genotypowania *Giardia* [31-33]. Stąd też, aby uniknąć nieporozumień zaproponowano ujednoczenie terminologii poszczególnych poziomów genetycznego zróżnicowania, np. litera A wskazuje na grupę genotypów, cyfra rzymska (AI) na podgrupę genotypów, a następnie cyfry arabskie (AI-1, AI-2) na podtypy *G. intestinalis* [31].

Kolejną trudność w interpretacji wyników genotypowania izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi i zwierząt stanowi fakt, że większość badań dotyczących zróżnicowania genetycznego *Giardia* oparta jest na analizie pojedynczego markera molekularnego z kilku najczęściej stosowanych do genotypowania (fragmenty sekwencji genów *bg*, *tpi*, *gdh*, *18S rDNA*). Ale w zależności od użytego markera molekularnego te same izolaty *Giardia* klasyfikowano do różnych zbiorów genotypów, co ma istotne przełożenie w dociekaniach epidemiologicznych, ponieważ zależnie od analizy określonego markera molekularnego można wyciągnąć odmienne wnioski dotyczące oszacowania ryzyka zarażenia człowieka [31-34].

Przeprowadzona ostatnio analiza sekwencji czterech markerów molekularnych (*tpi*, *gdh*, *bg*, *18S rDNA*) ponad dwóch tysięcy izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi, zwierząt i z prób środowiskowych wskazuje na różny potencjał zoonotyczny badanych izolatów *Giardia* w zależności od badanego poziomu genetycznego zróżnicowania i liczby markerów molekularnych [32]. Analiza sekwencji każdego markera na poziomie grupy genotypów wykazała, że u ludzi najczęściej wykrywano zbiór genotypów B (56%) i A (43%), a bardzo rzadko zbiór C (0,1%), D (0,2%), E (0,2%) i F (0,2%). Zatem po raz pierwszy wykazano, że izolaty *G. intestinalis* ze zbiorów C-F wywołują inwazję u ludzi. Co ciekawe, w przeciwieństwie do zbioru genotypów B, grupę genotypów A wykrywano także często u zwierząt i w próbach wody. Kiedy jednak przeprowadzono bardziej wnikliwą analizę tych sekwencji na poziomie podgrupy genotypów, to wykazano, że większość izolatów *G. intestinalis* od zwierząt (75%) i nieliczne od ludzi (25%) należą do podgrupy AI. Odwrotną sytuację stwierdzono odnośnie przynależności izolatów *Giardia* do podgrupy AII; w tej podgrupie znalazła się większość izolatów od ludzi (75%) i 25% izolatów od zwierząt. Z kolei do podgrupy AIII należały głównie izolaty od dzikich jeleniowatych, kilka od bydła i pojedynczy izolaty od kota [31, 32, 34-40]. Natomiast w podgrupach BIII i BIV stwierdzono podobną częstość występowania zarówno ludzkich jak i zwierzęcych izolatów *G. intestinalis*. Zatem na tym poziomie zróżnicowania genetycznego można przyjąć, że jedynie izolaty

Tabela II. Genetyczne zróżnicowanie *G. intestinalis*  
Table II. Genetic differentiation of *G. intestinalis*

| Zbiór genotypów | Żywiciele  |
|-----------------|--|
| A               | Człowiek, naczelné, psy i koty, zwierzęta hodowlane, gryzonié, dzikie ssaki, ryby          |
| B               | Człowiek, naczelné, psy, zwierzęta hodowlane, szczur niektóre gatunki dzikich ssaków, ryby |
| C i D           | Psy i inne psowate   |
| E               | Bydło i inne kopytne   |
| F               | Koty   |
| G               | Szczur, chomik   |
| H               | Ssaki morskie  |

*Giardia* należące do podgrupy AI, AII, BIII i BIV mają potencjał zoonotyczny, podczas gdy izolaty z podgrupy AIII są inwazyjne tylko dla zwierząt. Kiedy jednak przeprowadzono jeszcze bardziej wnikliwą analizę sekwencji każdego markera molekularnego, to okazało się, że liczba podtypów *Giardia* zależała od badanego genu; np. w *locus 18S-rDNA* wyróżniono 15 podtypów w grupie genotypów A, w tym pięć wykrywano zarówno u ludzi i zwierząt, siedem tylko u zwierząt, a trzy pozostałe tylko u ludzi. Także w *loci* pozostałych trzech genów (*bg*, *tpi*, *gdh*) stwierdzano od 3 do 18 podtypów w grupie genotypów A i B i wszystkie miały potencjał zoonotyczny. Podtypy określano także w grupach genotypów C do F, jednak podtypy z grup C-E wykryte dotychczas w pojedynczych przypadkach u ludzi były odmienne od tych stwierdzanych u zwierząt. Natomiast w grupie F stwierdzono kilkanaście identycznych podtypów *G. intestinalis* u ludzi i kotów. Kiedy jednak analizowano jednocześnie różne kombinacje dwóch lub trzech markerów to liczba potencjalnie zoonotycznych podtypów znacząco malała, np. analiza dwóch markerów nadal wykazywała obecność zoonotycznych podtypów w obrębie grupy genotypów A i B, ale kiedy jednocześnie analizowano trzy markery molekularne, to tylko w grupie genotypów A stwierdzono dwa zoonotyczne podtypy. Zatem, wyniki tych badań wskazują, że zwierzęta odgrywają niewielką rolę w szerzeniu giardiozy u ludzi. Jakkolwiek, nie można wykluczyć, że wniosek ten jest przedwczesny, ponieważ genetyczna heterogeniczność *Giardia* oparta jest na niewielkich fragmentach genomu tego pasożyta, które wcale nie muszą odpowiadać za jego inwazyjność. Świadczy o tym fakt zarażenia ochotnika izolatem *Giardia* z grupy genotypów B uzyskanego od wielkoszczura [41]. Określenie podtypu tego izolatu nie było wówczas możliwe, ze względu na brak dostępnych obecnie metod.

Aktualnie, w celu precyzyjnej identyfikacji gatunku/genotypu *Giardia* w dociekaniach epidemiologicznych, standardem jest wykorzystanie technik biologii molekularnej, ponieważ genetyczna charakterystyka izolatów tego pasożyta ma istotne znaczenie w określeniu źródła inwazji oraz zoonotycznego potencjału populacji *Giardia* występujących u ludzi i zwierząt na określonym terenie [42]. Zastosowanie co najmniej trzech markerów molekularnych (tzw. MLST – *Multilocus Sequence Typing*) pozwala określić zbiór, podgrupę i podtyp genotypów *G. intestinalis* [15]. Jednak określenie rozprzestrzenienia genotypów tego pasożyta u ludzi na świecie i na poszczególnych kontynentach jest trudne, ze względu na stosowanie różnych technik i markerów molekularnych do genotypowania. Ponadto, liczba zgenotypowanych izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi na poszczególnych kontynentach znacząco się różni. I tak, najwięcej

izolatów zgenotypowano w Europie (1031), następnie w Azji (707) oraz w Ameryce Środkowej i Południowej (579), a stosunkowo niewiele od ludzi w Afryce (252), w Ameryce Północnej (40) i Australii (194) [15]. Nie mniej, z analizy tych danych wynika, że obecnie u ludzi częściej wykrywane są genotypy z grupy B *G. intestinalis* (58%) niż genotypy A (37%) [15]; np. wszystkie izolaty *G. intestinalis* od ludzi w Norwegii, Wielkiej Brytanii i w Indiach należały do grupy genotypów B [27, 43], w Bangladeszu niemal 87% [44], w Peru – 76% [27], w Australii – 70% [45] i we Francji – 64% [46].

### Kontrowersje odnośnie klinicznego przebiegu giardiozy

Kliniczny przebieg giardiozy jest bardzo zróżnicowany; w wielu przypadkach inwazja ma charakter bezobjawowy, natomiast u części żywicieli występuje ostra lub przewlekła biegunka, odwodnienie, bóle brzucha, nudności, wymioty i utrata wagi [47]. Inwazja *Giardia* może być krótkotrwała i może wygasnąć spontanicznie, ale może być również inwazją przewlekłą i niepodatną na leczenie. Chociaż przyczyny tak zróżnicowanego przebiegu klinicznego giardiozy nie są znane, to zapewne czynniki ze strony żywiciela jak i pasożyta odgrywają istotną rolę. Objawy kliniczne giardiozy częściej występują u żywicieli z obniżoną odpornością, niedożywionych oraz u młodych osobników. Ponadto wykazano, że ten sam izolat *Giardia* wywołuje odmienny przebieg inwazji u różnych gatunków żywicieli [48, 49].

Patogeneza giardiozy jest nadal słabo poznana, ale największe zmiany śluzówki stwierdza się w górnym odcinku jelita cienkiego – miejscu kolonizacji pasożyta; w przebiegu giardiozy obserwuje się zanik kosmków, naciekowe skrócenie mikrokosmków oraz wzmożoną apoptozę komórek nabłonkowych jelita [50]. Wykazano także nadmierne wydzielanie jonów chlorkowych w trakcie zarażenia *Giardia* [51]. Uważa się, że zmiany śluzówki jelita cienkiego powstają w wyniku działania produktów pasożyta (prawdopodobnie toksyn) i odpowiedzi immunologicznej żywiciela [50]. Potencjalną toksyną *Giardia* może być powierzchniowe białko CRP136, które wykazuje 57% homologię z produktem genu kodującego prekursor sarafotoksyn [52]. Sarafotoksyny są grupą toksyn stwierdzonych w jadzie żmii głębowej (*Atractaspis engaddensis*) i wywołują objawy kliniczne podobne do tych obserwowanych u ludzi z ostrą giardiozą.

Markerów wirulencji *Giardia* dotychczas nie zidentyfikowano, a wyniki badań wskazujące na możliwy związek między genotypem *Giardia* i wirulencją są sprzeczne. Niektórzy autorzy wskazują, że zarażenie genotypem A *G. intestinalis* wiąże się z występowaniem biegunki u ludzi, podczas gdy inwazja wywołana

genotypem B jest bezobjawowa [28, 33, 45, 53]. Natomiast inni autorzy wykazali, że to genotyp B wywołuje objawową giardiozę u ludzi [54, 55]. Natomiast wyniki naszych wcześniejszych badań wykazały, że objawowa giardioza występowała zarówno u osób zarażonych genotypem A jak i B *G. intestinalis* [56]. Toteż, powiązanie objawów giardiozy z genotypem *Giardia* wymaga dalszych i długofalowych badań oraz wnikliwszej analizy genotypów. Być może wyniki takich badań pozwolą na określenie znaczenia różnic między genotypami a wirulencją pasożyta.

### Kontrowersje odnośnie diagnostyki, terapii i ustalania norm prawnych

Mając na uwadze aktualnie istniejący chaos taksonomiczny i znaczne zróżnicowanie genetyczne izolatów *Giardia* występujących u ludzi i zwierząt, można mieć duże wątpliwości, czy dostępne komercyjne testy immunodiagnostyczne, które coraz częściej są wykorzystywane w diagnostyce giardiozy, umożliwiają wykrywanie wszystkich gatunków, zbiorów genotypów, podgrup lub podtypów *Giardia*. Ma to niezwykle istotne znaczenie zarówno w praktyce lekarskiej i weterynaryjnej, jak i w badaniu prób środowiskowych na obecność *Giardia*.

Podobne wątpliwości nasuwają się w odniesieniu do skuteczności działania leków stosowanych w terapii giardiozy. W terapii giardiozy z reguły stosuje się pochodne 5-nitroimidazolu (metronidazol, tynidazol, ornidazol, seknidazol). Żaden z tych leków nie jest w pełni skuteczny we wszystkich przypadkach, ponieważ *G. intestinalis* wykazuje międzypopulacyjne i wewnątrzpopulacyjne zróżnicowanie we wrażliwości na działanie różnych leków [57]. Niepowodzenia w leczeniu giardiozy mogą być wynikiem lekooporności niektórych populacji *Giardia*, jakkolwiek nie można też wykluczyć reinwazji.

*Giardia* jest jednym z głównych czynników etiologicznych wodnopochoodnych epidemii wywoływanych przez pasożytnicze pierwotniaki [58, 59]. Rosnąca na świecie liczba wodnopochoodnych epidemii spowodowała konieczność opracowania strategii zapewnienia bezpiecznej dla zdrowia ludzkiego wody oraz ustalenia norm prawnych. W poszczególnych krajach są uchwalane różne akty prawne odnośnie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi – od bardzo restrykcyjnych do tolerancyjnych lub nawet niejasnych. Legislacja tak różnorodnych aktów prawnych jest wynikiem albo braku aktualnych informacji o tym pasożycie albo też wynikiem kontrowersji taksono-

micznych i znacznego zróżnicowania genetycznego *G. intestinalis*. Chociaż na świecie coraz częściej są stosowane metody wykrywania stadiów dyspersyjnych pasożytniczych pierwotniaków w wodzie, to jednak są one czasochłonne, niewydajne, kosztowne i mało praktyczne w rutynowym monitoringu wodnopochoodnych patogenów oraz dostarczają minimalne informacje o biologii tych pasożytów [58]. Precyzyjna identyfikacja gatunków i genotypów *Giardia* inwazyjnych dla człowieka oraz określenie żywotności i inwazyjności cyst ma niezwykle istotne znaczenie. W wodzie mogą znajdować się morfologicznie identyczne pasożyty ludzi i zwierząt i nie wszystkie z nich są inwazyjne dla człowieka. Zatem, samo wykrycie cyst *Giardia* w wodzie lub innych próbach środowiskowych staje się niewystarczające, ponieważ wiąże się z ponoszeniem ogromnych strat finansowych, jakie muszą ponieść przedsiębiorstwa wodno-kanalizacyjne aby usunąć istniejące zagrożenie [60].

### Wnioski

Poglądy odnośnie inwazyjności dla ludzi różnych gatunków, zbiorów genotypów, podgrup lub podtypów *Giardia* zmieniały się w szybszym tempie, niż podejmowane decyzje prawne związane z kontrolowaniem tego pasożyta. Według aktualnie obowiązujących norm, wszystkie wykryte w wodzie cysty *Giardia* są potencjalnie inwazyjne dla ludzi i woda musi być filtrowana w celu usunięcia tego zagrożenia. Konieczne staje się także sprawdzanie czułości i specyficzności komercyjnych testów immunodiagnostycznych w wykrywaniu gatunków, zbiorów, podgrup i podtypów genotypów *Giardia* i w konsekwencji – ewentualne wprowadzenie zmian opisów w dołączonych do nich ulotkach informacyjnych. Podobnego działania wymaga sprawdzenie skuteczności działania leków, co także wiąże się z dużymi nakładami finansowymi. Chociaż zmieniający się pogląd na status taksonomiczny w obrębie rodzaju *Giardia* i genetyczna różnorodność izolatów tego pasożyta prowadzi do olbrzymiej dezorientacji, to jednak należy przypuszczać, że, podobnie jak w przypadku rozrzuconych puzzli w końcu uzyskany zostanie pełen obraz. W osiągnięciu tego celu pomocne będą nowe technologie molekularne (mikromacierze lub platformy o wysokiej wydajności sekwencjonowania) oraz metody bioinformatyczne, które umożliwią analizę porównawczą sekwencji dziesiątek lub setek markerów molekularnych izolatów *Giardia* od ludzi i zwierząt z różnych regionów geograficznych.

## Piśmiennictwo / References

1. Boreham PFL, Upcroft JA, Upcroft P. Changing approaches to the study of *Giardia* Epidemiology: 1681-2000. *Int J Parasitol* 1990, 20: 479-487.
2. Dobell C. Anthony van Leeuwenhoek and his "little animals". Dover Publications, NY 1932: 224.
3. Lambl DW. Mikroskopische Untersuchungen der Darmexcreta. *Vierteljahrsschr Prakt Heilk* 1859, 61: 1-58.
4. Kasprzak W. *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia* czy *Lamblia intestinalis*? *Wiad Parazytol* 1982, 5: 589-590.
5. Blanchard R. Remarques sur le megastome intestinal. *Bull Soc Zool France* 1888, 30: 18-19.
6. Alexeieff A. Notes protistologiques. *Zoologischer Anzeiger* 1914, 44: 193-213.
7. Künstler J. Sur sinc protozoaires parasites nouveaux. *C R Séances Soc Biol Filiales* 1882, 95: 347-349.
8. Stiles CW. International rules of zoological nomenclature. *Science* 1915, 42: 609-610.
9. Kulda J, Nahýnková E. Flagellates of the human intestine and the intestines of other species. [in:] *Parasitic protozoa: Intestinal flagellates, Histomonads, Trichomonads, Amoeba, Opalinids, and Ciliates*. Vol. II. Kreier JP (ed). Academic Press 1978, 2: 1-138.
10. Filice FP. Studies on the cytology and life history of *Giardia* from the laboratory rat. *University of California Publications in Zoology* 1952, 57: 53-146.
11. Erlandsen SL, Bemrick WJ. SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *J Parasitol* 1987, 73: 623-629.
12. Erlandsen SL, Bemrick WJ, Schupp DE, et al. High-resolution immunogold localization of *Giardia* cyst wall antigens using field emission SEM with secondary and backscatter electron imaging. *J Histochem Cytochem* 1990, 38: 625-632.
13. Feely DE. Morphology of the cyst of *Giardia microti* by light and electron microscopy. *J Protozool* 1988, 35: 52-54.
14. Erlandsen SL, Sherlock LA, Januschka M, et al. Cross-species transmission of *Giardia* spp.: inoculation of beavers and muskrats with cysts of human, beaver, mouse, and muskrat origin. *Appl Environ Microbiol* 1988, 54: 2777-2785.
15. Ryan U, Cacciò SM. Zoonotic potential of *Giardia*. *Int J Parasitol* 2013, 43: 943-456.
16. Homan WL, van Enckevort FHJ, Limper L, et al. Comparison of *Giardia* isolates from different laboratories by isoenzyme analysis and recombinant DNA probes. *Parasitol Res* 1992, 78: 316-323.
17. Mayrhofer G, Andrews RH, Ey PL, et al. Division of *Giardia* isolates from humans into two genetically distinct assemblages by electrophoretic analysis of enzymes encoded at 27 loci and comparison with *Giardia muris*. *Parasitol* 1995, 111: 11-17.
18. Nash TE, Conrad JT, Mowatt MR. *Giardia lamblia*: identification and characterization of a variant-specific surface protein gene family. *J Eukaryot Microbiol* 1995, 42: 604-609.
19. Monis PT, Mayrhofer G, Andrews RH, et al. Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitol* 1996, 112: 1-12.
20. Ey P, Mansouri M, Kulda J, et al. Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyl-specific and potentially zoonotic genotypes. *J Euk Microbiol* 1997, 44: 626-635.
21. Hopkins RM, Meloni BP, Groth DM, et al. Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolated recovered from humans and dogs living in the same locality. *J Parasitol* 1997, 83: 44-51.
22. Leonhard S, Pfister K, Beelitz P, et al. The molecular characterization of *Giardia* from dogs in southern Germany. *Vet Parasitol* 2007, 150: 33-38.
23. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol* 2003, 3: 29-38.
24. Sulaiman IM, Fayer R, Bern C, et al. Triosephosphate isomerase gene characterisation and potential zoonotic transmission of *Giardia duodenalis*. *Emerg Infect Dis* 2003, 9: 1444-1452.
25. Lasek-Nesselquist E, Welch DM, Sogin ML. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *Int J Parasitol* 2010, 40: 1063-1074.
26. Thompson RC, Monis PT. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Adv Parasitol* 2004, 58: 69-137.
27. Cacciò SM, Thompson ARC, McLauchlin J, et al. Unraveling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol* 2005, 21: 430-437.
28. Thompson RCA. *Giardiasis: Modern Concepts in Control and Management*. *Ann Nestlé* 2008, 66: 23-29.
29. Cacciò SM, Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol Biochem Parasitol* 2008, 160: 75-80.
30. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, et al. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol Biol Evol* 1999, 16: 1135-1144.
31. Cacciò SM, Beck R, Lalle M, et al. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* reveals striking differences between assemblages A and B. *Int J Parasitol* 2008, 38: 1523-1531.
32. Sprong H, Cacciò SM, van der Giessen JW. ZOOPNET network and partners. Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Negl Trop Dis* 2009, 3(12): e558.
33. Read CM, Monis PT, Thompson RC. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infect Genet Evol* 2004, 4: 125-130.
34. Traub RJ, Monis PT, Robertson I, et al. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitol* 2004, 128: 253-262.
35. Cacciò SM, De Giacomo M, Pozio E. Sequence analysis of the beta-giardin gene and development of a polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int J Parasitol* 2002, 32: 1023-1030.
36. Lalle M, Frangipane di Regalbano A, Poppi L, et al. A novel *Giardia duodenalis* assemblage A subtype in fallow deer. *J Parasitol* 2007, 93: 426-428.
37. Lalle M, Pozio E, Capelli G, et al. Genetic heterogeneity at the  $\beta$ -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol* 2005, 35: 207-213.

38. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, et al. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol* 2003, 3: 29-38.
39. Robertson LJ, Forberg T, Hermansen L, et al. *Giardia duodenalis* cysts isolated from wild moose and reindeer in Norway: genetic characterization by PCR-RFLP and sequence analysis at two genes. *J Wildl Dis* 2007, 43(4): 576-85.
40. van der Giessen JW, de Vries A, Roos M, et al. Genotyping of *Giardia* in Dutch patients and animals: a phylogenetic analysis of human and animal isolates. *Int J Parasitol* 2006, 36: 849-858.
41. Majewska AC. Successful experimental infection of a human volunteer and Mongolian gerbils with *Giardia* of animal origin. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994, 88: 360-362.
42. Monis PT, Thompson RCA. Cryptosporidium and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? *Infect Genet Evol* 2003, 3: 233-244.
43. Robertson LJ, Hermansen L, Gjerde BK, et al. Application of genotyping during an extensive outbreak of waterborne giardiasis in Bergen, Norway, during autumn and winter 2004. *Appl Environ Microbiol* 2006, 72: 2212-2217.
44. Haque R, Roy S, Kabir M, et al. *Giardia* assemblage A infection and diarrhea in Bangladesh. *J Infect Dis* 2005, 192: 2171-2173.
45. Amar CF, Dear PH, Pedraza-Díaz S, et al. Sensitive PCR-restriction fragment length polymorphism assay for detection and genotyping of *Giardia duodenalis* in human feces. *J Clin Microbiol* 2002, 40: 446-452.
46. Bertrand I, Albertini L, Schwartzbrod J. Comparison of two target genes for detection and genotyping of *Giardia lamblia* in human feces by PCR and PCR-Restriction fragment length polymorphism. *J Clin Microbiol* 2005, 43: 5940-5944.
47. Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, et al. Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. *Vet Parasitol* 2006, 142: 154-158.
48. Majewska AC, Gustowska L. Comparative studies of experimental giardiasis in Mongolian gerbils. III. Changes in small intestine induced with human and zoo animal *Giardia* isolates. *Acta Parasitol* 1996, 41: 128-135.
49. Upcroft JA, McDonnell PA, Gallagher AN, et al. Lethal *Giardia* from a wild-caught sulphur-crested cockatoo (*Cacatua galerita*) established in vitro chronically infects mice. *Parasitol* 1997, 114: 407-412.
50. Buret AG. Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut* 2007, 56: 316-317.
51. Troeger H, Epple HJ, Schneider T, et al. Effect of chronic *Giardia lamblia* infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *Gut* 2007, 56: 328-335.
52. Chen N, Upcroft JA, Upcroft P. A *Giardia duodenalis* gene encoding protein with multiple repeats of a toxin homologue. *Parasitol* 1995, 111: 423-431.
53. Sahagún J, Clavel A, Goñi P, et al. Correlation between the presence of symptoms and the *Giardia duodenalis* genotype. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008, 27: 81-83.
54. Hopkins RM, Constantine CC, Groth DA, et al. PCR-based DNA fingerprinting of *Giardia duodenalis* isolates using the intragenic rDNA spacer. *Parasitol* 1999, 118: 531-539.
55. Homan WL, Mank TG. Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int J Parasitol* 2001, 31: 822-826.
56. Solarczyk P, Werner A, Majewska AC. Genotype analysis of *Giardia duodenalis* isolates obtained from humans in west-central Poland. *Wiad Parazytol* 2010, 56(2): 171-177.
57. Majewska AC, Kasprzak W, de Jonckheere JF, Kaczmarek E. Heterogeneity in the sensitivity of stocks and clones of *Giardia* to metronidazole and ornidazole. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1991, 85: 67-69.
58. Karanis P, Kourenti C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Health* 2007, 5: 1-38.
59. Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks – an update 2004-2010. *Water Res* 2011, 45: 6603-6614.
60. Bowman DD. What's in a name? *Trends Parasitol* 2005, 21(6): 267-269.