

# Povezanost invazije parazita *Giardia duodenalis* s pokazateljima hematoloških i biokemijskih pretraga krvi



Iva Šmit, D. Potočnjak\*, Vesna Matijatko, Ines Jović, F. Kajin, Mirna Brkljačić i R. Beck

## Uvod

U kliničkoj praksi s domaćim mesožderima, poglavito psima, veterinari su često suočeni sa zdravstvenim problemima kao što su kronični, intermitentni, odnosno povratni probavni poremećaji. Najčešći probavni simptomi koji se javljaju u pasa su povraćanje i proljev, a njihovi uzroci mogu biti mnogobrojni. Najčešći uzroci koji dovode do disfunkcije gastrointestinalnog trakta, odnosno manifestacije probavnih simptoma u pasa su invazije parazitima, infekcije bakterijama ili virusima, idiopatska upala (upalna bolest crijeva), intoksikacije različitog karaktera i pogreške pri hranjenju. Tijekom provođenja dijagnostičkog protokola treba isključiti sekundarne uzroke, poput bolesti jetre, bubrega, gušterače i endokrinopatije, koji u kliničkoj slici manifestiraju iste probavne smetnje (Tams, 2003.).

Klinička slika bolesti probavnog trakta i njezin intenzitet razlikuju se od pacijenta do pacijenta, što ovisi

o etiološkim čimbenicima bolesti, individualnoj dispoziciji, lokalizaciji i intenzitetu promjena u probavnom traktu (Gaschen, 2010., Šmit i sur., 2017.).

Giardijozu predstavlja parazitnu bolest ljudi i brojnih vrsta domaćih, ali i divljih životinja prouzročena bičošima iz roda *Giardia*. Česti je parazit probavnog trakta životinja uključujući i pse i mačke. Prijenos je najčešće ingestijom kontaminirane vode i hrane, a u nekim sredinama posjeduje i određeni zoonotski potencijal. Znanstvenim je istraživanjima utvrđeno da bičoš *G. duodenalis* nije genetski jedinstven. Sastoji se od 8 genetskih tipova, od kojih su neki vrsno specifični, a drugi su invazivni za različite vrste životinja i ljude. Psi mogu biti invadirani s 4 genska tipa od koja su dva potencijalno zoonotski (Beck i sur., 2011., Beck i sur., 2012.).

*G. duodenalis* najčešći je crijevni parazit u ljudi, a prouzroči kliničku sliku koja se očituje akutnim ili kroničnim proljevom,

Dr. sc. Iva ŠMIT, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Dalibor POTOČNJAK\*, dr. med. vet., redoviti profesor, (dopisni autor, e-mail: dpotocnjak@vef.hr), dr. sc. Vesna MATIJATKO, dr. med. vet., redovita profesorica, Ines JOVIĆ, dr. med. vet., asistentica, Filip KAJIN, dr. med. vet., stručni suradnik, dr. sc. Mirna BRKLJAČIĆ, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Relja BECK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

mučninom, abdominalnim bolovima, dehidracijom, nadmom i gubitkom tjelesne težine (Farthing, 1997., Eckmann, 2003.).

Invazije *G. duodenalis* u pasa su vrlo česte, a klinička slika može varirati od blage do izrazite. Određen broj pasa invadiran s *G. duodenalis* je bez ikakvih kliničkih simptoma (Tangtrongsup i Scorsa, 2010.).

Najčešći probavni simptom je vrlo učestali i tvrdokorni proljev koji varira od mekše formirane stolice pa sve do potpuno profuznog i vodenastog proljeva, a može biti akutnog ili kroničnog tijeka. U stolici može biti prisutna sluz, a može se javiti i flatulencija. Ponekad je prisutna steatoreja i vrlo neugodan miris stolice (Hernot i sur. 2005., Šmit i sur., 2016.). Većina pasa je tijekom bolesti afebrilna. U nekih životinja zabilježena je i malapsorpcija s gubitkom tjelesne težine. U imunokompetentnih životinja proljev je često samoograničavajući. Tijekom palpacije abdomena pasa često se mogu palpirati zadebljani zavoji tankih crijeva. U imunosuprimiranih životinja te u prisutnosti koinfekcija klinička slika giardioze može biti jačeg intenziteta (Owens i Greenson, 2007., Tangtrongsup i Scorza, 2010., Šmit i sur., 2017.).

Zbog česte pojavnosti *Giardia duodenalis* i posljedično razvoja probavnih simptoma u pasa vrlo je bitno u sklopu kliničke obrade pacijenta utvrditi utjecaj *G. duodenalis* na hematološke pokazatelje i biokemijske pokazatelje u krvi, kao segment kompletnog zdravstvenog statusa pacijenta tijekom ove bolesti.

U životinja invadiranih *G. duodenalis* nalazi hematoloških i biokemijskih pretraga krvi uglavnom su u fiziološkim granicama te u literaturi nisu zabilježena odstupanja koja bi se smatrala patognomoničnima. U pasa s intenzivnim i učestalim proljevom promjene referentnih vrijednosti određenih hematoloških i biokemijskih pokazatelja mogu upućivati na dehidraciju i gubitak elektrolita. Rendge-

nološkom pretragom abdomena ponekad se može ustvrditi prisutnost veće količine plina ili tekućeg sadržaja u tankim crijevima (Eckmann, 2003., Suchodolski, 2008., Tangtrongsup i Scorza, 2010.).

Najučinkovitiji način prevencije invazije *G. duodenalis* je sprječavanje ingestije invazivnih cisti onemogućavanjem pasa da piju potencijalno kontaminiranu vodu. Jedna od vrlo važnih i učinkovitih metoda smanjivanja kontaminacije okoliša cistama *G. duodenalis* je i redovito sakupljanje fecesa pasa nakon defekacije (Smith i sur., 2014.).

## Materijali i metode

U istraživanje su bila uključena 82 psa uvedena u ambulantni protokol (Inc. Veterina) koji su zaprimljeni u Kliniku za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu zbog probavnih simptoma (n=42) kao i psi koji su obrađivani u svrhu sistematskih pregleda (n=40), a nisu imali probavne simptome, odnosno, samo psi za koje su u ambulantnom protokolu postojali podatci o laboratorijskim pretragama krvi te pretragama stolice. Istraživanjem su obuhvaćeni psi neovisno o spolu i pasmini, stariji od godinu dana te samo psi koji su redovito cijepljeni protiv parvovirusne infekcije pasa i koronavirusne infekcije pasa. Uzorci stolice pasa prikupljeni su neposredno nakon defekacije u sterilne posudice zapremine 50 mL te su unutar 8 sati dostavljeni u parazitološki laboratorij Veterinarskog instituta na parazitološku obradu. Svi uzorci pretraženi su na postojanje parazita metodom flotacije te neposrednom imunofluorescencijom, a tipizacija svih giardija provedena je izdvajanjem ukupne DNK, umnažanjem specifičnog odsječka DNK i određivanjem nukleotidnog sljeda pročišćenog proizvoda za svaki pojedini izolat.

Psi su podijeljeni na dvije skupine: pse pozitivne na *G. duodenalis* i pse negativne na *G. duodenalis*. Unutar skupine

pozitivnih na *G. duodenalis* formirane su skupine pasa ovisno o pojedinom genskom tipu *G. duodenalis*.

Psi uključeni u istraživanje bili su klinički pregledani u svrhu isključivanja drugih sistemskih bolesti te su od vlasnika/držatelja uzeti temeljiti anamnestički podatci.

Klinički se pregled sastojao od:

- mjerenja tjelesne temperature, određivanja frekvencije bila i disanja
- pregleda vidljivih sluznica i palpacije potkožnih limfnih čvorova
- auskultacije pluća i srca
- palpacije abdomena.

### Uzimanje i priprema uzoraka krvi

Svim psima uzeta je krv iz *venae cephalicae antebrachii* u epruvete s kalij-

etilen diamino tetraoctenom kiselinom (EDTA) za hematološke pretrage i u epruvete s gelom za biokemijske pretrage. Krv iz epruvete s gelom ostavljena je 30 min da se zgruša te centrifugirana na 3000 okretaja tijekom 10 min.

Krv iz epruvete s antikoagulansom iskorištena je za dobivanje hematoloških pokazatelja na hematološkom brojaču Backer System Serrano 9120 (Serro-no-Backer Diagnostic, Inc, Allentown, Pennsylvania, SAD) i za diferencijalnu krvnu sliku (krvni razmaz bojan standardnim bojanjem May-Grunwald-Giemsa). Diferencijalna krvna slika dobivena je brojenjem udjela segmentiranih i nesegmentiranih granulocita, monocita i limfocita na 100 leukocita u preparatima krvnog razmaza. Rasponi referentnih vrijednosti za pojedine pokazatelje kompletne krvne slike navedeni su u tabeli 1.

**Tabela 1.** Referentne vrijednosti istraživanih hematoloških pokazatelja laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

POKAZATELJ	MJERNA JEDNICA	REFERENTNI RASPON
Eritrociti	$\times 10^{12}/L$	5,5-8,5
Hematokrit	%	37-55
Hemoglobin	g/L	120-180
Trombociti	$\times 10^9/L$	200-700
MCV	fL	60-77
MCH	pg	19-23
MCHC	g/L	320-360
MPV	fL	
RDW	%	
Leukociti	$\times 10^9/L$	6-17
Segmentirani neutrofili	%	60-77
Nesegmentirani neutrofili	%	0-1
Limfociti	%	12-33
Eozinofili	%	2-10
Bazofili	%	
Monociti	%	3-10

**Tabela 2.** Referente vrijednosti istraženih biokemijskih pokazatelja laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

POKAZATELJ	MJERNA JEDNICA	REFERENTNI RASPON
Ureja	mmol/L	3,3-8,3
Kreatinin	μmol/L	40-140
Ukupni proteini	g/L	55-75
Albumini	g/L	26-33
Ukupni bilirubin	μmol/L	-8,6
Glukoza	mmol/L	3,6-5,5
ALT	U/L	-88
AST	U/L	-82
ALP	U/L	20-156
CPK	U/L	-160
Amilaza	U/L	-1600
Lipaza	U/L	13-200
Kolesterol	mmol/L	3,5-7,1
Trigliceridi	mmol/L	0,2-1,3

Tijekom obrade istraživanjem obuhvaćenih pasa promatrani su sljedeći pokazatelji: ureja, kreatinin, glukoza, alanin aminotransferaza, aspartat aminotransferaza, alkalna fosfataza, ukupni bilirubin, alfa-amilaza, lipaza, ukupni proteini, albumini, kreatin kinaza, kolesterol i trigliceridi koje su sastavni dio biokemijskog profila, kako u dijagnostici bolesti probavnog sustava, tako i pri izvođenju sistematskih pregleda klinički zdravih pasa. Biokemijski pokazatelji određivani su u cilju isključivanja bolesti ostalih organskih sustava koje mogu dovesti do pojave nespecifičnih kliničkih simptoma (npr. zatajivanje bubrega). Biokemijski pokazatelji određeni su standardnim metodama na biokemijskom analizatoru Olympus AU 600 s kemikalijama tvrtke Olympus (Olympus diagnostica GMBH). Rasponi referentnih vrijednosti za pojedine biokemijske pokazatelje u serumu pasa navedeni su u tabeli 2.

Statistička obrada podataka obavljena je programom Stata 13.1 (Stat Corp. USA). Rezultati su prikazani kao medijan, minimalna i maksimalna

**Tabela 3.** Vrijednosti istraženih hematoloških i biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih i neinvadiranih s *G. duodenalis* (vrijednosti s normalnom razdiobom)

Fiziološki pokazatelj	Giardije				T- TEST
	Negativni (n=57)		Pozitivni (n=25)		
	SV	SD	SV	SD	
Eritrociti ( $\times 10^{12}/L$ )	6,94	0,97	6,90	0,79	P=0,8600
Hemoglobin (g/L)	164,56	22,57	160,16	18,32	P=0,3936
Hematokrit (%)	49,44	6,99	47,96	5,35	P=0,3487
Segmentirani neutrofilni (%)	61,19	12,96	61,12	13,98	P=0,9818
Kreatinin ( $\mu\text{mol}/L$ )	101,24	22,23	98,68	18,77	P=0,6162
Bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ )	3,10	0,92	2,75	1,28	P=0,5386
Glukoza (mmol/L)	4,99	0,54	5,07	0,56	P=0,6592

**Tabela 4.** Vrijednosti istraženih hematoloških i biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih i neinvadiranih s *G. duodenalis* (vrijednosti s nenormalnom razdiobom).

POKAZATELJ	Giardije				MAN WHITNEY TEST
	Negativni (n=57)		Pozitivni (n=25)		
	medijan	raspon	medijan	raspon	
Trombociti (x10 <sup>9</sup> /L)	300	151-659	293	118-524	P=0,6359
Leucociti (x10 <sup>9</sup> /L)	9,8	4,9-909	10,1	4,8-22,4	0,1386
Monociti (%)	2	0-13	1	0-8	0,4394
Limfociti (%)	30	7-64	32	4-47	0,7241
Eozinofili (%)	5	0-14	4	0-37	0,9195
Nesegmentirani granulociti (%)	0	0-3	0	0-5	0,8409
<b>Ureja (mmol/L)</b>	<b>6,4</b>	<b>3,2-13,1</b>	<b>5</b>	<b>2,6-9,2</b>	<b>0,0413</b>
Albumini (g/L)	32	18-46	31	12-37	0,2111
Ukupni prot (g/L)	64	46-435	61	29-83	0,3299
<b>ALT (U/L)</b>	<b>47</b>	<b>9-131</b>	<b>36</b>	<b>20-280</b>	<b>0,0237</b>
AST (U/L)	32	19-96	35	12-70	0,5386
AP (U/L)	41	4-255	44	22-604	0,5422
Amilaza (U/L)	715	19-740	803	470-1303	0,2210
<b>Lipaza (U/L)</b>	<b>248</b>	<b>0-670</b>	<b>360</b>	<b>134-700</b>	<b>0,0134</b>
CPK (U/L)	103	0-604	140	62-312	0,0380
Kolesterol (mmol/L)	5,4	3,6-11,6	5,5	2,7-12,4	0,7394
Trigliceridi (mmol/L)	0,8	0,2-8,1	0,8	0,4-11,8	0,8553

**Tabela 5.** Vrijednosti istraženih hematoloških pokazatelja u pasa invadiranih s giardijama genske skupine C i D (vrijednosti s normalnom razdiobom)

	Genska skupina	n	SV	SD	95% interval povjerenja		T-TEST
Eritrociti (x10 <sup>12</sup> /L)	C	10	7,2	,94	6,52	7,87	P=0,1371
	D	15	6,71	,64	6,35	7,07	
Hemoglobin (g/L)	C	10	167,7	20,24	153,21	182,18	P=0,0934
	D	15	155,13	15,63	146,47	163,79	
Hematokrit (%)	C	10	49,8	6,52	45,12	54,47	P=0,1655
	D	15	46,73	44,39	49,06	46,73	
Segmentirani granulociti (%)	C	10	65,1	15,09	54,30	75,89	P=0,2538
	D	15	58,46	13,04	51,24	65,68	
Limfociti (%)	C	10	24,6	12,16	15,89	33,30	P=0,0614
	D	15	33,53	10,40	27,77	39,29	

vrijednost ili kao aritmetička sredina s pripadajućom standardnom devijacijom, ovisno o razdiobi podataka. Vrijednosti su međusobno uspoređene t-testom ili testom za neparametrijske vrijednosti (Man Whitney U-test).

## Rezultati

Opažene razlike vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja (srednja vrijednost- SV i standardna devijacija –SD) između pasa invadiranih i neinvadiranih s *G. duodenalis* nisu statistički značajne (tabela 3).

Opažene su statistički značajne razlike u koncentraciji ureje i aktivnosti ALT, lipaze i CPK (označeno bold) između pasa u kojih su izolirane *G. duodenalis* i pasa u kojih nisu izolirane *G. duodenalis* (tabela 4).

Opažene razlike u vrijednostima istraživanih hematoloških pokazatelja krvi između pasa invadiranih genskim C i D skupinama nisu statistički značajne (tabele 5 i 6).

Opažene razlike u vrijednostima istraživanih biokemijskih pokazatelja krvi između pasa invadiranih genskim skupinama C i D nisu statistički značajne (tabela 7).

Utvrđene su statistički značajne razlike u vrijednostima amilaze i kreatinin kinaze (označeno bold) između dviju skupina invadiranih pasa (tabela 8).

## Rasprava

U dosadašnjim istraživanjima malo se pažnje posvećivalo hematološkim i biokemijskim pokazateljima u pasa

**Tabela 6.** Vrijednosti istraživanih hematoloških pokazatelja u pasa invadiranih s giardijom genske skupine C i D (vrijednosti s nenormalnom razdiobom)

	Genska skupina C (n=10)		Genska skupina D (n=15)		MANN-WHITNEY TEST
	Median	Raspon	Median	Raspon	
Trombociti (x10 <sup>9</sup> /L)	281	118-406	342	178-524	P=0,1341
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /L)	12,1	4,8-22,4	9,7	5,1-19,2	P=0,2118
Monociti (%)	1	0-8	2	0-6	P=0,5905
Eozinofili (%)	3	0-37	5	0-16	P=0,4860
Nesegmentirani granulociti (%)	0	0-5	0	0-2	P=0,7237

**Tabela 7.** Vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u serumu pasa invadiranih različitim genskim tipovima giardije (vrijednosti s normalnom razdiobom)

	Genska skupina	n	SV	SD	95% interval povjerenja	T-TEST
Kreatinin (μmol/L)	C	10	92,1	17,71	79,43	0,1565
	D	15	103,06	18,73	92,69	
Bilirubin (μmol/L)	C	2	3,65	0,49	-0,79	0,1893
	D	2	1,85	1,20	-8,95	
Glukoza (mmol/L)	C	4	5,05	0,82	3,73	0,9257
	D	7	5,08	0,43	4,68	

invadiranih s *G. duodenalis*. Opažene razlike vrijednosti hematoloških i većine biokemijskih pokazatelja (tabele 3 i 4) u pasa invadiranih i neinvadiranih s *G. duodenalis* u ovom istraživanju nisu statistički značajne. Bordeau (1993.) navodi kako je u pasa u kojih je utvrđena invazija *G. duodenalis* prisutna tendencija nastanka eozinofilije, ali ovim istraživanjem to nije dokazano. Jain (1986.) je ustvrdio da je broj eozinofila u cirkulaciji proporcionalan stupnju antigene stimulacije pa tako i stupnju antigene stimulacije parazita. Iz toga se i iz činjenice da ovim istraživanjem nije utvrđena pojava eozinofilije u pasa invadiranih giardijama može zaključiti da postoji opravdana sumnja kako antigena stimulacija od strane *G. duodenalis* nije dovoljno intenzivna da bi prouzročila opsežnu eozinofiliju te se eozinofilija ili izostanak iste u svakodnevnoj kliničkoj praksi ne može koristiti kao prediktor invazije s *G. duodenalis*.

Rosa i sur. (2007.) su proveli istraživanje biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih s *G. duodenalis*. U

navedenom istraživanju nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji ukupnih proteina, albumina, ALT, AST, GGT, ureje i kreatinina u serumu. Ovim istraživanjem utvrđene su statistički značajne razlike u koncentraciji ureje te aktivnosti ALT, lipaze i CPK između pasa u kojih je izolirana *G. duodenalis* i pasa u kojih nije izolirana *G. duodenalis*.

Ustvrdili smo statistički značajno nižu aktivnost ALT u pasa invadiranih s *G. duodenalis*. Međutim, aktivnost ALT nalazi se unutar referentnih vrijednosti i u invadiranih i u neinvadiranih pasa. Snižena aktivnost ALT nema nikakvo značenje u veterinarskoj medicini (Bush, 1991., Willard i Twedt, 2004.) te se rezultat dobiven ovim istraživanjem ne može interpretirati.

Snižena koncentracija ureje zabilježena je kod zatajenja jetre, portosistemskog shunta, diabetesa insipidusa i psihogene polidipsije, primarne hiperamonijemije, uporabe anaboličkih steroida i hranidbe s niskim udjelom proteina. Međutim, u našem istraživanju je statistički značajno niža

**Tabela 8.** Vrijednosti istraživanih biokemijskih pokazatelja u serumu pasa invadiranih različitim genskim tipovima giardija (vrijednosti s nenormalnom razdiobom)

	Genska skupina C (n=10)		Genska skupina D (n=15)		MANN-WHITNEY TEST
	Median	Raspon	Median	Raspon	
Ureja (mmol/L)	4,9	2,6-8,1	5,3	3,6-9,2	P=0,4527
Albumini (g/L)	30,5	27-37	31	12-34	P=0,2649
Ukupni proteini (g/L)	64	83-83	61	29-74	P=0,1262
ALT (U/L)	38	20-280	35	23-68	P=0,1323
AST (U/L)	35,5	12-70	34	21-52	P=0,6772
AP (U/L)	43	22-604	48	24-113	P=0,9337
<b>Amilaza (U/L)</b>	<b>838</b>	<b>706-1303</b>	<b>719</b>	<b>470-1167</b>	<b>P=0,0401</b>
Lipaza (U/L)	342,5	144-630	386	134-700	P=0,9117
<b>CPK (U/L)</b>	<b>103</b>	<b>62-312</b>	<b>166</b>	<b>83-244</b>	<b>P=0,0458</b>
Kolesterol (mmol/L)	5,7	3,1-12,4	5,5	2,7-8,3	P=0,9779
Trigliceridi (mmol/L)	0,85	0,4-11,8	0,8	0,4-2	P=0,9777



koncentracija ureje u pasa invadiranih s giardijama još uvijek unutar referentnih vrijednosti koncentracije ureje za pse, dok se gore navedeni uzroci odnose na koncentraciju ureje ispod referentnih vrijednosti. Sva gore navedena stanja očituju se i ozbiljnim kliničkim simptomima (neurološki simptomi, poliurija, polidipsija, epileptički napadi) koji u pasa obuhvaćenim ovim istraživanjem nisu zabilježeni (Bush, 1991., Suchodolski, 2008.). Uzevši u obzir sve navedeno, dobiveni rezultati se ne mogu okarakterizirati patološkim.

U našem istraživanju utvrđene su statistički značajne povišene aktivnosti lipaze i CPK u pasa u kojih je utvrđena *G. duodenalis*. Aktivnost lipaze bila je statistički značajno viša u pasa invadiranih giardijama u odnosu na neinvadirane pse, ali i u invadiranih i u neinvadiranih pasa aktivnost lipaze bila je povišena u odnosu na referentne vrijednosti. Dio pasa obuhvaćenih ovim istraživanjem imao je proljev. Kako je lipaza enzim koji osim iz gušterače može biti podrijetlom i iz duodenuma (Jacobs, 1989., Steiner i sur., 2006.) nije iznenađujuće da je njezina aktivnost bila povišena u pasa s proljevom. Statistički značajno viša aktivnost lipaze u pasa s utvrđenim giardijama od aktivnosti lipaze u pasa bez utvrđenih giardija najvjerojatnije su posljedica patoloških procesa koje *G. duodenalis* prouzroči u duodenumu. Kako bi sa sigurnošću tvrdili da su rezultati ovog istraživanja posljedica patoloških procesa u duodenumu potrebno je u budućim istraživanjima određenim metodama odrediti koncentraciju lipaze podrijetlom isključivo od gušterače te time gušteraču isključiti kao potencijalni uzrok povišenja ovog biokemijskog pokazatelja.

Ovim istraživanjem utvrđene su statistički značajne razlike u aktivnosti CPK u pasa u kojih su izolirane *G. duodenalis* i pasa u kojih nisu izolirane *G.*

*duodenalis*. Povišena koncentracija CPK u pasa javlja se kod oštećenja skeletnog mišićja, ekstremnih tjelesnih napora, hipotireoze i bolesti središnjeg živčanog sustava, ali i laboratorijskih grešaka (hemoliza, povišena koncentracija bilirubina) (Bush, 1991.). Međutim, gore navedene bolesti očituju se povišenjem aktivnosti CPK iznad referentnih vrijednosti što u našem istraživanju nije slučaj. Ipak, u istraživanjima koja su se osvrta na patogenetske mehanizme giardijoze navodi se i eventualna produkcija toksina te oštećenje ne samo epitela već i dubljih slojeva sluznice crijeva (Tangtrongsup i Scorza, 2010.). Graeber i sur. (1984.) navode oštećenje seromuskularnog sloja tankih crijeva kao uzrok povišenja aktivnosti CPK u serumu. Keller (1981.) kao tkiva s najintenzivnijom aktivnosti CPK navodi skeletnu muskulaturu, ali i srčanu muskulaturu, dijafragmu, glatku muskulaturu probavnog sustava te mozak. Uzevši u obzir sve navedeno moglo bi se zaključiti da je statistički značajno viša aktivnost CPK posljedica mikrooštećenja koje *G. duodenalis* prouzroči prihvaćanjem trofozoita za epitel tankih crijeva.

Vrijednosti hematoloških pokazatelja i većine biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih genskim C i D skupinama nisu statistički značajne (tabele 5, 6, 7 i 8). Ovim istraživanjem utvrđena je statistički značajno viša aktivnost amilaze u pasa invadiranih giardijama genske skupine C te statistički značajno viša aktivnost CPK u pasa invadiranih s giardijama genske skupine D (tabela 8). Aktivnost amilaze je u i pasa invadiranih s giardijama genske skupine C i u pasa invadiranih giardijama genske skupine D u granicama referentnih vrijednosti dok je aktivnost CPK u pasa invadiranih s giardijama genske skupine D blago iznad referentnih vrijednosti. Kako je određivanje aktivnosti CPK jedna od najosjetljivijih laboratorijskih pretraga



i vrlo često njena aktivnost može biti lažno pozitivna zbog laboratorijskih grešaka ili minimalno invazivnih zahvata (vađenje krvi, injekcije) preporuka je kod povišenih vrijednosti ponavljati pretragu te se tek perzistentno povišena aktivnost CPK smije interpretirati. Kako se u našem istraživanju radi o minimalnom povišenju aktivnosti CPK u pasa invadiranih giardijama genske skupine D (3%) ovaj rezultat s oprezom treba interpretirati. Interpretacija ovih rezultata bez dodatnih istraživanja u ovom trenutku bila bi nepouzdana.

Uzevši u obzir sve rezultate dobivene ovim istraživanjem može se zaključiti da bi u pasa u okviru gastroenterološke obrade i/ili sistematskog pregleda obvezno trebalo provesti i pretragu na giardije, ali i ostale parazite/patogene. Rezultati našeg istraživanja demantiraju neka uvriježena mišljenja u svakodnevnoj kliničkoj praksi u Hrvatskoj kao što je obvezno prisustvo eozinofilije u parazitarnih invazija pa izostanak eozinofilije ne smije biti argument za isključivanje parazitarnih invazija, osobito invazije s *G. duodenalis*.

## Sažetak

U kliničkoj praksi s domaćim mesožderima, poglavito psima, veterinari su često suočeni sa zdravstvenim problemima kao što su kronični, intermitentni, odnosno povratni probavni poremećaji. Najčešći uzroci koji dovode do manifestacije probavnih simptoma u pasa su invazije parazitima, infekcije bakterijama ili virusima, idiopatska upala (upalna bolest crijeva), intoksikacije i pogreške pri hranjenju. U ovo istraživanje su bila uključena 82 psa koji su zaprimljeni u Kliniku za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu zbog probavnih simptoma kao i psi koji su klinički obrađivani u svrhu sistematskih pregleda, a nisu imali probavne simptome. Istraživanjem su obuhvaćeni psi neovisno

o spolu i pasmini, stariji od godinu dana te samo psi koji su redovito cijepljeni protiv parvovirusne infekcije pasa i koronavirusne infekcije pasa. Uzorci stolice pasa pretraženi su na postojanje parazita metodom flotacije te neposrednom imunofluorescencijom, a tipizacija svih giardija provedena je izdvajanjem ukupne DNK, umnažanjem specifičnog odsječka DNK i određivanjem nukleotidnog slijeda pročišćenog proizvoda za svaki pojedini izolat. Svim psima uzeta je krv iz *venae cephalicae antebrachii* za hematološke pretrage i biokemijske pretrage. Opažene razlike vrijednosti hematoloških i većine biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih i neinvadiranih s *G. duodenalis* u ovom istraživanju nisu statistički značajne. Ovim istraživanjem utvrđene su statistički značajne razlike u koncentraciji ureje te aktivnosti ALT, lipaze i CPK između pasa u kojih je izolirana *G. duodenalis* i pasa u kojih nije izolirana *G. duodenalis*. Vrijednosti hematoloških pokazatelja i većine biokemijskih pokazatelja u pasa invadiranih genskim C i D skupinama nisu statistički značajne. Ovim istraživanjem utvrđena je statistički značajno viša aktivnost amilaze u pasa invadiranih giardijama genske skupine C te statistički značajno viša aktivnost CPK u pasa invadiranih s giardijama genske skupine D. Rezultati našeg istraživanja demantiraju neka uvriježena mišljenja u svakodnevnoj kliničkoj praksi u Hrvatskoj kao što je obvezno prisustvo eozinofilije u parazitarnih invazija pa izostanak eozinofilije ne smije biti argument za isključivanje parazitarnih invazija, osobito invazije s *G. duodenalis*.

**Gljučne riječi:** *G. duodenalis*, pas, hematološki i biokemijski pokazatelji

## Literatura

1. BECK, R., H. SPRONG, S. LUCINGER, E. POZIO and S. M. CACCIÒ (2011): A large survey of Croatian wild mammals for *Giardia duodenalis* reveals a low prevalence and limited zoonotic potential. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11, 1049-1055.
2. BECK, R., H. SPRONG, E. POZIO and S. M. CACCIÒ (2012): Genotyping *Giardia duodenalis* isolates from dogs: lessons from a multilocus sequence typing study. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12, 206-213.

3. BORDEAU, P. (1993): Les giardiases des carnivores. *Rec. Med. Vet.* 5-6, 393-400.
4. BUSH, B. M. (1991): *Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians*. Blackwell Science LTD, Oxford, London, Edinburg.
5. GASCHEN, F. (2010): The principal syndromes in gastroenterology. In: *Canine and feline gastroenterology*. (Lecoindre P., F. Gaschen, E. Monet, eds.), Wolters Kluwer, France, pp. 1-44.
6. GRAEBER, G. M., P. J. CAFFERTY, R. E. WOLF and J. W. HARMON (1984): An analysis of creatine phosphokinase in the mucosa and the muscularis of the gastrointestinal tract. *J. Surg. Res.* 5, 376-382.
7. ECKMANN, L. (2003): Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunol.* 25, 259-270.
8. FARTHING, M. J. (1997): The molecular pathogenesis of giardiasis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 24, 79-88.
9. HERNOT, D. C., V. C. BIOURGE, L. J. MARTIN, H. J. DUMON and P. G. NQUJEN (2005): Relationship between total transit time and faecal quality in adult dogs differing in body size. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 89, 189-193.
10. JACOBS, R. M. (1989): The Origins of Canine Serum Amylases and Lipase. *Vet. Pathol.* 26, 525-527.
11. JAIN, N. C. (1986): *Schalms' Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
12. KELLER, P. (1981): Enzyme activities in the dog: tissue analysis, plasma values, and intracellular distribution. *Am. J. Vet. Res.* 42, 575-582.
13. OWENS, S. R. and J. K. GREENSON (2007): The pathology of malabsorption: current concepts. *Histopathology* 50, 64-82.
14. ROSA, L. A., M. A. GOMES, A. V. MUNDIM, M. J. MUNDIM, E. L. POZZER, E. S. FARIA, J. C. VIANA and M. C. CURY (2007): Infection of dogs by experimental inoculation with human isolates of *Giardia duodenalis*: clinical and laboratory manifestations. *Vet. Parasitol.* 1-2, 37-44.
15. SMITH, A. F., S. J. SEMENIUK, S. J. KUTZ and A. MASSOLO (2014): Dog-walking behaviours affect gastrointestinal parasitism in park-attending dogs. *Parasit. Vectors.* 7, 429-439.
16. STEINER, J. M., G. RUTZ and D. A. WILLIAMS (2006): Serum lipase activities and pancreatic lipase immunoreactivity concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *Am. J. Vet. Res.* 67, 84-87.
17. SUCHODOLSKI, L. E. (2008): *Gastric physiology*. In: *Small animal gastroenterology*. (Steiner, J. M. ed.), Schlutersche Verlagsgesellschaft, Hannover, pp. 155-158.
18. ŠMIT, I., R. BECK, I. JOVIĆ, I. MAYER, M. CRNOGAJ i D. POTOČNJAK (2016): Najčešći gastrointestinalni simptomi u pasa i njihovo značenje u svakodnevnoj kliničkoj praksi. *Vet. stn.* 47, 139-149.
19. ŠMIT, I., D. POTOČNJAK, M. TORTI, I. KIŠ, N. KUČER, M. BRKLJAČIĆ, M. CRNOGAJ, J. GOTIĆ i R. BECK (2017): *Giardijozna pasa: od molekule do klinike*. *Vet. stn.* 48, 125-135.
20. TAMS, T. R. (2003): *Gastrointestinal symptoms*. In: *Handbook of small animal gastroenterology*. (Tams, T. R. ed.) 2<sup>nd</sup> edition, Saunders, St. Louis, Missouri. Pp. 1-50.
21. TANGTRONGSUP, S. and V. SCORZA (2010): Update on the diagnosis and management of *Giardia spp* infections in dogs and cats. *Top. Companion Anim. Med.* 25, 155-162.
22. WILLARD, M. D. and D. C. TWEDT (2004): *Gastrointestinal, pancreatic and hepatic disorders*. In: *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods* (Michael D. Willard, H. Tvedten, G. H. Turnwald, eds.) 4<sup>th</sup> ed, W. B. Saunders, St Louis, pp. 208-246.

## Impact of *Giardia duodenalis* infection on haematological and biochemical parameters in dogs

Iva ŠMIT, DVM, PhD, Senior Assistant, Dalibor POTOČNJAK, DVM, PhD, Full Professor, Vesna MATIJATKO, DVM, PhD, Full Professor, Ines JOVIĆ, DVM, Assistant, Filip KAJIN, DVM, Expert Associate, Mirna BRKLJAČIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Relja BECK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

In small animal practice, chronic digestive disorders are the most commonly reported disorders. The most common chronic digestive symptom is diarrhoea, which may be caused by a large number of digestive disorders (bacterial, viral, fungal or protozoan infection), inflammatory bowel disease, intoxication, or can be food

induced. In this study, we retrospectively collected data from 82 dogs of both sexes, regardless of breed, older than one year and fully vaccinated, that were presented to the Clinic for Internal Diseases of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Dogs were presented to the clinic for a variety of reasons, including gastrointestinal

symptoms, routine examination or general health examination. Diagnostic tests were performed, including CBC and serum biochemical analysis, to exclude underlying disorders and to evaluate potential changes in laboratory findings. All faecal samples were examined for intestinal parasites by direct microscopic examination after the flotation technique and by immunofluorescence, and giardia positive samples were subjected to further genetic characterization by using PCR of small subunit ribosomal DNA (Ssu rRNA gene) genes. Blood was collected from the venae cephalicae antibrachii for haematology and biochemistry analysis as a part of the routine examination. Haematology results and most biochemistry results showed no statistically significant differences between dogs with or without *G. duodenalis* infections. Statistically significant differences were found in *Giardia* positive dogs for

the concentrations of BUN and activity of lipase, CPK and ALT. Haematology results and most biochemistry results showed no statistically significant differences between dogs infected with different strains of *G. duodenalis* (C or D). A statistically significant increase in amylase activity was found in dogs infected with *G. duodenalis* assemblage C and a statistically significant decrease in CPK activity was found in dogs infected with *G. duodenalis* assemblage D. The results of this study contradict some of traditionally accepted "knowledge" in small animal practice in Croatia, such as the expectation of eosinophilia in dogs infected with gastrointestinal parasites. A lack of eosinophilia should not be an argument for exclusion of parasite invasions in dogs, especially *G. duodenalis* invasion.

**Key words:** *G. duodenalis*, dog, hematological and biochemical parameters