

# Štalska epizootija giardioze goveda u Dalmaciji

## Epizootic Giardiasis in Barn-housed Cattle in Dalmatia



Lukačević, D.\*, Z. Vidić, S. Katić, J. Galić, E. Listeš

### Sažetak

U radu je opisana epizootija giardioze kao uzroka pojave proljeva u mlade teladi. Tijekom trajanja bolesti, parazitološkim i bakteriološkim pretragama pretraženi su uzorci izmeta 21 goveda. Uzročnik je dokazan u izmetu klinički bolesnog teleta te u izmetu 4 odrasla klinički zdrava goveda. Brzo ozdravljenje nakon primjene albendazola potvrđuje nametničku osnovu bolesti. Klinički očitovana giardioza u teladi i supklinička invadiranost odraslih goveda očito su prisutne na području Dalmacije, ali zasigurno nisu dovoljno prepoznate. Cilj je ovoga rada skrenuti pozornost veterinaru praktičara na ovu parazitozu kako bi pravodobnim prepoznavanjem i adekvatnom terapijom umanjili štete nastale zbog bolesti i uginuća te posredno sprečavali kontaminacije pašnjaka i nastambi cistama uzročnika.

**Ključne riječi:** giardioza, goveda, Dalmacija

### Abstract

The paper describes epizootic giardiasis as the cause of diarrhoea in young calves. During the time of the disease outbreak 21 cattle stool samples were examined, using parasitological and bacteriological tests. The pathogen was detected in the stool samples of a clinically sick calf and in four clinically healthy adult cattle. The parasitic basis of the disease was confirmed by the cessation of clinical signs of disease after the administration of albendazole. Clinically manifested calf giardiasis and subclinical infestation of adult cattle are obviously present in Dalmatia, but certainly not sufficiently recognized. The aim of this paper is to draw the attention of veterinarian practitioners to this parasitism for timely detection and early treatment to reduce the damage caused by disease and death, and indirectly prevent the contamination of pastures and dwellings by pathogens.

**Key words:** giardiasis, cattle, Dalmatia

### Uvod

Giardioza je nametnička bolest ljudi i brojnih vrsta domaćih i divljih životinja uzrokovana bičasičima iz roda *Giardia*. Prenosi se neposredno te vodom i kontaminiranom hranom. Članovi roda *Giardia* pripadaju porodici Hexamitidae, red Diplomonadida, razred Zoomastigophorea, koljeno Metamonada. Ovaj rod sadržava šest vrsta od kojih je *G. duodenalis* (sin. *G. intestinalis*, *G. Lamblia*) jedina vrsta dokazana u ljudi i drugih sisavaca, uključujući kućne ljubimce i domaće životinje (Thompson, 2004.). Giardioza u goveda na

terenu Dalmacije prema našim spoznajama dosad nije bila laboratorijski utvrđena. S obzirom na nespecifične kliničke simptome enteritisa i razmjerno oskudne podatke o bolesti kod goveda u našoj zemlji, ne iznenađuje činjenica da veterinari praktičari obično teško prepoznaju nametničku osnovu bolesti i propuste provesti adekvatno liječenje. To rezultira velikim brojem supklinički invadiranih životinja i trajnom kontaminacijom okoliša cistama giardija. Stoga smo smatrali zanimljivim opisati ovaj slučaj, napose zbog toga što može biti koristan terenskim veterinarima.

Dr. sc. Damir LUKAČEVIĆ, dr. med. vet., postdoktorand, dr. sc. Zdravka VIDIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, postdoktorand, Sanda KATIĆ, dr. med. vet. univ. mag. spec., stručna suradnica, dr. sc. Eddy LISTEŠ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb – Veterinarski zavod Split, Josip GALIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Omiš; \*e-mail: d.lukacevic.vzs@veinst.hr

## Sistematizacija giardija

Temeljem genskih analiza vrsta *G. duodenalis* podijeljena je u sedam različitih skupina (A do G). Prema dosadašnjim spoznajama, čovjek se može invadirati samo izolatima zoonotskih skupina A i B koje su osim u ljudi izdvojene i iz različitih vrsta domaćih i divljih životinja (Monis i sur., 1996.; Adam, 2001.; Caccio i sur., 2005.). Preostale skupine (C do G) vršno su specifične za određene nositelje. Skupine C i D dokazane su u pasa, mačaka, kojota i vukova. Skupina E dokazana je u goveda, ovaca, koza, svinja, vodenih bivola i muflona. Skupina F dokazana je samo u mačaka, dok je skupina G specifična za štakore (Caccio i sur., 2005.).

Studije provedene u Australiji i Kanadi pokazale su da telad mliječnih i tovnih krava može biti invadirana dvjema skupinama *G. duodenalis*, i to vršno specifičnom E te zoonotskom skupinom A (O'Handley i sur. 2000.; Appelbee i sur. 2003.). Navedeni su autori zaključili da je mogućnost prijenosa na ljude mala, što su obrazložili rjeđim nalazom skupine A.

Prvo istraživanje u Republici Hrvatskoj, kojim su genski razlikovali izolate vrste *G. duodenalis* izdvojene iz pasa, proveli su Beck i suradnici (2009.). U istraživanju je načinjena prva genska karakterizacija ove vrste protozoona u Hrvatskoj.

## Epizootiologija giardioze

Invadirane životinje izmetom izlučuju velik broj invazivnih cista koje su vrlo otporne i pri povoljnoj temperaturi i vlazi u okolišu mogu preživjeti najmanje dva mjeseca (Meyer i Jaroll, 1980.). Najviša prevalencija invazije je u teladi stare 1 – 6 mjeseci, nakon čega opada (Xiao i sur., 1994.; Nydam i sur., 2001.; Ralston i sur., 2003.; Becher i sur., 2004.). Zbog sporog razvoja imunosti invadirana mladunčad vrlo intenzivno izlučuje ciste uzročnika, kojih može biti i do  $10^6$  u gramu izmeta (Yanke i sur., 1998.; O'Handley i sur., 2003.). Razvoj imunosti rezultira smanjenjem broja izlučenih cista ili njihovim povremenim lučenjem (Xiao i sur., 1994.; Nydam i sur., 2001.). Odrasle invadirane životinje također mogu biti izvor invazije, napose zbog činjenice da je i vrlo mali broj cista (1 – 10) dovoljan za invaziju (Schaefer i sur., 1991.; Cacció i sur., 2005.). Invazija je najčešća u nastambama gdje se zbog loših higijenskih uvjeta i velikog broja životinja na malom prostoru izmetom onečišćuju hrana i voda. Najčešće je dokazan prienos uzročnika neposredno s krava na telad, a veći broj životinja u zatvorenom prostoru ili na ograđenom pašnjaku pogoduje širenju giardioze (Xiao i sur., 1994.; O'Handley i sur., 1999.; Wade i sur., 2000.).

## Patogeneza i klinička slika

Invazija započinje peroralnim unošenjem cista. U želucu počinje ekscistacija, odnosno izlazak trofozoita iz cisti. Trofozoiti se prihvaćaju na površinu mikrovila duodenuma i jejunuma (nema intracelularnih stadija). Slijedi intenzivno umnažanje podužnim binarnim diobama i sustavno širenje po ostalim dijelovima duodenuma i jejunuma. Trofozoiti koji se ne prihvate za površinu sluznice crijeva ostaju slobodni u lumenu crijeva i peristaltikom bivaju otplavljeni prema stražnjim dijelovima crijeva gdje započinje proces encistacije. Prepatentni period traje 3 – 10 dana (Xiao i Herd, 1994.; Geurden i sur., 2006.a).

Patogeneza giardioze smatra se složenim procesom koji osim o svojstvima uzročnika ovisi i o imunom odgovoru nositelja. Toksični produkti trofozoita uzrokuju apoptozu enterocita (Cevallos i sur., 1995.; Chin i sur., 2002.) i razgrađuju čvrste bjelancevine međustanične spojeve, zbog čega se povećava propusnost crijevnog epitela. Povećanje propusnosti epitela dovodi do porasta broja intraepitelnih limfocita i aktiviranja T-limfocita. Djelovanje toksičnih produkata trofozoita i aktiviranje T-limfocita uzrokuje difuzno skraćivanje epitelnih mikrovila i smanjenje aktivnosti enzima lipaza, nekih proteaza i disaharidaza (Buret i sur., 1990.a; Scott i sur., 2000.). Bitno je naglasiti da su oštećenja mikrovila reverzibilna te da se nakon prestanka djelovanja uzročnika vraća normalna razina njihove aktivnosti (Buret i sur., 1990.a, 1991.).

Daniels i Belosevic (1992.) naznačili su da postoje i drugi patološki procesi odgovorni za maldigestiju i malapsorpciju s posljedičnim proljevom.

Kao i kod invazija drugim protozoonima (*Eimeria* spp. i *Cryptosporidium*), klinička slika ovisi o patogenosti uzročnika, imunom odgovoru nositelja i jačini invazije (Geurden i sur., 2006.c). Invazija može rezultirati proljevom koji se ne može suzbiti primjenom antibiotika ili kokcidostatika. Izlučivanje pastoznog ili tekućeg izmeta s primjesama sluzi može upućivati na giardiozu, napose ako se pojavljuje u mladih životinja. Invazija u teladi može se očitovati akutnim proljevom, iako su češći kronični oblici s povremenim proljevom (St. Jean, 1987.; Geurden i sur., 2006.a,b).

## Prikaz slučaja

Tijekom veljače 2014. g. nadležni veterinar je sa seoskog gospodarstva u Laboratorij za dijagnostiku Veterinarskoga zavod Split dostavio uzorak izmeta teleta koje je danima imalo profuzni proljev.

Uzorkovanju je prethodio telefonski razgovor tijekom kojega nas je nadležni veterinar obavijestio o pojavi tvrdokornog proljeva kod 7 od ukupno 9 teladi na istom gospodarstvu. U svrhu suzbijanja proljeva tijekom nekoliko dana višekratno je parenteralno i peroralno primjenjivao kombinacije potenciranih sulfonamida: trimetoprim plus sulfadiazin i antibiotika. Efekte dehidracije nastojao je ublažiti nadoknadom tekućine i elektrolita u obliku infuzije. Stanje bi se prolazno poboljšalo, ali bez trajnijeg učinka.

### Iz anamneze

Prema anamnezi dobivenoj od nadležnog veterinara domaćinstvo posjeduje stado od 9 krava, 10 junica, 1 bika i 9 teladi. Sva su grla pasmine buša i preko dana borave na otvorenom prostoru, a noć provode u štali. S obzirom na zimsko godišnje doba i oskudnu pašu stado se dohranjuje sijenom i koncentratom od žitarica proizvedenim na gospodarstvu.

Hranidba se u posljednje vrijeme, pa tako ni prije pojave bolesti, nije mijenjala. Životinje se napajaju iz posuda s kišnicom koje se nalaze u dvorištu te na okolnim lokvama vode. Telad je stara 10 – 30 dana i siše.

Vlasnik je i prethodne godine imao problema s proljevom u teladi zbog čega su mu, unatoč pokušajima liječenja, dva teleta uginula.

Glavni klinički simptom u lakše oboljele teladi jest profuzni, vodenasti, žut ili siv proljev bez tragova krvi. Opće stanje nije znatnije poremećeno, nije uočena pojava kolika, apetit je očuvan, a telad afebrilna. Kod tri teže oboljela teleta stanje je kritično jer se pojavljuje dehidracija.

Niti jedno od odraslih grla na gospodarstvu nema proljev niti pokazuje bilo kakve druge znakove bolesti.

### Laboratorijske pretrage

Uzorak izmeta bolesnog teleta pretražen je općom bakteriološkom pretragom na hemolitičke sojeve *E. coli* te izdvajanjem pokretljivih *Salmonella* spp., međutim te su pretrage završene negativnim rezultatom.

Kako općom parazitološkom pretragom, metodom sedimentacije i flotacije, nisu pronađene oociste kokcidija ni razvojni oblici nematoda, posumnjali smo na neki od enteropatogenih virusa čije dokazivanje rutinski ne provodimo. No, metodom neposredne imunofluorescencije u dostavljenom uzorku uočili smo brojne ciste bičaća *Giardia* spp., dok oociste kriptosporidija nismo našli.

Preporučili smo liječenje albendazolom u dozi od 20 mg/kg tjelesne mase, po., tijekom 5 dana. Nadležni je veterinar proveo preporučeno liječenje u troje tela-

di s najtežim simptomima. Kod sva tri teleta proljev je prestao dan nakon primjene prve doze antiparazitika.

Na temelju dobivenih rezultata laboratorijskih pretraga, a uzimajući u obzir vrlo brzo poboljšanje nakon peroralne primjene albendazola, nedvojbeno smo zaključili da je uzrok proljevu bila jaka invazija giardijama. Ista je terapija učinkovito primijenjena i na preostala četiri bolesna teleta.

U svrhu otkrivanja izvora invazije vlasniku je preporučeno uzimanje pojedinačnih uzoraka izmeta od odraslih goveda na gospodarstvu. Ciste *Giardia* spp. pronađene su kod tri junice stare godinu dana i kod novonabavljenog bika starog oko pet godina. Važno je napomenuti da su spomenute junice lanjska telad među kojom je bio prisutan proljev i uginuća.

### Materijal i metode

Uzorci izmeta prikupljeni su od jednog bolesnog teleta i dvadeset odraslih, naizgled zdravih goveda. Svi su uzorci pretraženi parazitološki na giardije, kriptosporidije, razvojne oblike nematoda i kokcidije. Uzorci su bakteriološki pretraženi na salmonele i hemolitičke sojeve *E. coli*.

### Izvođenje neposredne imunofluorescencije kitom MERIFLUOR® Cryptosporidium/Giardia testom

Test je korišten prema uputi proizvođača. Temelji se na neposrednom vezanju specifičnih monoklonskih protutijela obilježenih fluorescein-izotiocijanatom (FITC) na površinske proteine cista giardija i oocista kriptosporidija. Preparati se pretražuju fluorescentnim mikroskopom pod povećanjem od 200 i 400 x. Vezanje obilježenih protutijela uočava se fluoresciranjem cista i oocista uzročnika. Kontrastna boja, sadržana u kitu, podlozi daje blagu narančastocrvenu boju koja pospješuje otkrivanje cista i oocista. Pri svakom pretraživanju uzoraka korištena je pozitivna i negativna kontrola.

Uzorci izmeta pripremaju se flotacijom s 1M otopinom sukroze te potom ispiru s fosfatnim puferom, pH 7,2 (PBS).

### Pretraga izmeta na parazitske elemente (koprološka pretraga)

#### Metoda sedimentacije

Temelji se na nalazu parazitskih jajašaca koja su se zbog svoje specifične mase istaložila na dno tekućine. Komadić izmeta veličine oraha se, miješajući staklenim štapićem, razrijedi u jednakoj količini vode. Na dobivenu rijetku masu dolije se oko 200

mL vode, promiješa i procijedi kroz metalno sito s rupicama promjera oko 0,3 mm u stakleni cilindar. Nakon 20 min odlije se gornje  $\frac{3}{4}$  tekućine te se ponovno dolije voda do vrha cilindra. Nakon daljnjih 10 min ponovno se odlijeva najveći dio tekućine, dolije se voda do vrha i ostavi se taložiti tijekom sljedećih 5 min. Nakon odlijevanja vode talog se prelije u Petrijeve zdjelice ili na predmetna stakalca i promatra pod svjetlosnim mikroskopom (povećanje 100 x).

### Metoda flotacije

Flotacijska tekućina (zasićena otopina natrijeva klorida, magnezijeva sulfata, cinkova sulfata šećera i sl.) zbog svoje veće specifične mase podigne jajašca parazita na površinu. Komadić izmeta veličine lješnjaka pomiješa se s 10 – 20 x više flotacijske tekućine, procijedi kroz metalno sito u epruvetu i centrifugira 5 min/1500 rpm.

Većina jaja ispliva na površinu odakle se mikrobiološkom ušicom uzima nekoliko kapi tekućine i prenosi na predmetno stakalce. Preparat se pokrije pokrovnim stakalcem i promatra pod svjetlosnim mikroskopom (povećanje 100 x).

### Salmonella spp.

Bakteriološka pretraga na salmonele izvođena je prema standardnoj metodi ISO 6579:2007 Amendment 1, Annex D. Za predobogaćenje je korištena pufferirana peptonska voda (Buffered Peptone Water, Biolife, Italija), modificirana polumeka Rappaport Vassiliadis podloga (Modified Semi-solid Rappaport Vassiliadis, Biolife, Italija) te selektivne hranjive podloge: XLD (Xylose Lysine Deoxycholate Agar, Biolife, Italija) i CSA (Chromogenic Salmonella Agar Base, Biolife, Italija).

### Hemolitička *Escherichia coli*

Za bakteriološku pretragu na hemolitičke sojeve *E. coli* korištene su sljedeće hranjive podloge: krvni agar s eskulinom (Aesculin, Merck, Njemačka) i Blood Agar Base no. 2, Biolife; defibrinirana ovčja krv, VZS, Hrvatska) i Eozin Metilen Blue agar (EMB) (Biolife, Italija).

Kolonije koje su kulturelno, tinktorijelno i morfološki odgovarale vrsti, precijepili smo radi dobivanja čiste kulture i ujedno ustanovili tvorbu hemolizina.

### Rezultati

Metodom neposredne imunofluorescencije utvrđene su ciste giardija u izmetu jedinog pretraženog teleta te u četiri odrasla grla.

Oociste kriptosporidija nisu pronađene ni u jednom od pretraženih uzoraka.

Općom parazitološkom pretragom uočeni su malobrojni razvojni oblici različitih vrsta nematoda u 13 uzoraka izmeta odraslih goveda. Samo u uzorku izmeta krave pod red. br. 2 uočena su nešto brojnija jajašca buražnog metilja *Paramphistomum* spp.

Samo u jednom uzorku izmeta goveda uočene su malobrojne oociste kokcidija.

Hemolitički sojevi *E. coli* izdvojeni su iz pet uzoraka izmeta u kojima su porasli kao jedina bakterijska vrsta ili u kombinaciji s drugim bakterijama.

Bakteriološka pretraga na *Salmonella* spp kod svih je uzoraka završena negativnim rezultatom.

Rezultati svih primijenjenih dijagnostičkih metoda prikazani su u tablici br. 1.

### Rasprava

U opisanom slučaju proljeva u teladi etiološka dijagnoza nije dvojbena. Klinička je slika u skladu s onom opisanom u literaturi. Brzo ozdravljenje nakon primjene albendazola potvrđuje nametničku osnovu bolesti te isključuje enteropatogene viruse kao mogući uzrok enteritisa u teladi. Obavljene bakteriološke pretrage i pretrage na razvojne oblike ostalih endoparazita završene su negativnim rezultatom.

S obzirom na dostupne anamnestičke podatke o pojavama proljeva u teladi tijekom proteklih godina, od kojih su neki završili uginućem, možemo zaključiti da je giardioza konstantan problem na predmetnom gospodarstvu. Nalaz četiri supklinički invadirana odrasla goveda potvrđuje stalne prisutnosti izvora kontaminacije okoliša parazitima. Bolest se pojavila tijekom dugotrajnog kišnog razdoblja koje je pogodilo preživljavanju cista uzročnika. Perzistiranju uzročnika na gospodarstvu zacijelo pridonosi i higijenski upitan način napajanja stoke.

Klinički očitovana giardioza u teladi i supklinička invadiranost odraslih goveda očito su prisutne na području Dalmacije, ali zasigurno nisu dovoljno prepoznate. Uzimanje uzoraka izmeta u slučajevima tvrdokornog proljeva u teladi i njihova dostava u dijagnostički laboratorij od strane terenskih veterinarara u pravilu su rijetkost. Cilj je ovoga rada skrenuti pozornost veterinarara praktičara na ovu parazitozu kako bi pravodobnim prepoznavanjem i adekvatnom terapijom umanjili štete nastale zbog bolesti i uginuća te posredno sprečavali kontaminacije pašnjaka i nastambi cistama uzročnika. Iznimno je važno pravodobno otkrivanje i liječenje supklinički invadiranih životinja.

Tablica 1. Rezultati primijenjenih dijagnostičkih metoda.

Red. br.	Dob	Hemolit. <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Sedimentacija/ flotacija	Giardija	Kriptosporidija	Kokcidija
1 (Tele)	1 mj.	N	N	-	P	N	N
2	3 g.	N	N	Ostertagia, Cooperia	N	N	N
3	24 g.	P	N	Paramphistomum	N	N	N
4	4 g.	N	N	Toxocara	N	N	N
5	5 g.	N	N	Cooperia	N	N	N
6	3 g.	N	N	Dicrocoelium	N	N	N
7	6 g.	N	N	Toxocara	N	N	N
8	13 g.	P	N	Toxocara, Dicrocoelium	N	N	N
9	5 g.	P	N	Ostertagia, Cooperia	N	N	N
10	4 g.	N	N	-	N	N	P
11	1 g.	N	N	Dicrocoelium, Dictyocaulus	N	N	N
12	3 g.	N	N	Toxocara	N	N	N
13	2 g.	N	N	Toxocara, Strongyloides	N	N	N
14	1 g.	N	N	-	N	N	N
15	5 g.	N	N	Toxocara	N	N	N
16	3 g.	N	N	Strongyloides	N	N	N
17	1 g.	N	N	-	P	N	N
18	1 g.	P	N	-	N	N	N
19	1 g.	P	N	-	P	N	N
20	1 g.	N	N	Toxocara	P	N	N
21 (Bik)	5 g.	N	N	-	P	N	N

N - negativno; P - pozitivno

Antiparazitike treba primjenjivati temeljem laboratorijskog nalaza. Njihovom racionalnom upotrebom znatno se smanjuje mogućnost stvaranje genetske rezistencije.

## Literatura

- ADAM, R. D. A. (2001): The *Giardia lamblia* genome. *Int. J. Parasitol.* 30, 475-84.
- APPELBEE, A. J., L. M. FREDERICK, T. L. HEITMAN, M. E. OLSON (2003): Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada, *Vet. Parasitol.* 112, 289-294.
- BECHER, K. A., I. D. ROBERTSON, D. M. FRASER, D. G. PALMER, R. C. THOMPSON (2004): Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Vet. Parasitol.* 123, 1-9.
- BECK, R. (2009): Genska raznolikost bičaša *Giardia duodenalis* izdvojenih iz pasa. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- BURET, A., D.G. GALL, P.N. NATION, M.E. OLSON (1990a): Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol. Today* 6, 375-380.
- BURET, A., D. G. GALL, M. E. OLSON (1991): Growth activities of enzymes in the small intestine, and ultrastructure of microvillous border in gerbils infected with *Giardia duodenalis*. *Parasitol. Res.* 77, 109-114.

- CACCIO, S. M., R. C. THOMPSON, J. MCLAUCHLIN, H. V. SMITH (2005): Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol.* 21, 430-437.
- CEVALLOS, A., S. CARNABY, M. JAMES, J. G. FARTHING (1995): Small intestinal injury in a neonatal rat model of giardiasis is strain dependent. *Gastroenterology* 109, 766-773.
- CHIN, A. C., D. A. TEOH, K. G. SCOTT, J. B. MEDDINGS, W. K. MACNAUGHTON, A. G. BURET (2002): Strain-dependent induction of enterocyte apoptosis by *Giardia lamblia* disrupts epithelial barrier function in a caspase-3-dependent manner. *Infect. Immun.* 70, 3673-3680.
- DANIELS, C.W., M. BELOSEVIC (1992): Disaccharidase activity in the small intestine of susceptible and resistant mice after primary and challenge infections with *Giardia muris*. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 46, 382-90.
- GEURDEN, T., E. CLAEREBOUT, L. DURSIN, A. DEFLENDRE, F. BERNAY, V. KALTSATOS, J. VERCRUYSE (2006a): The efficacy of an oral treatment with paromomycin against an experimental infection with *Giardia* in calves. *Vet. Parasitol.* 135, 241-247.
- GEURDEN, T., J. VERCRUYSE, E. CLAEREBOUT (2006b): Field testing of a fenbendazole treatment combined with hygienic and management measures against a natural *Giardia* infection in calves. *Vet. Parasitol.* 142, 367-371.
- GEURDEN, T., F. Y. GOMA, J. SIWILA, I. G. K. PHIRI, A. M. MWANZA, S. GABRIEL, E. CLAEREBOUT, J. VERCRUYSE (2006c): Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* in three cattle husbandry systems in Zambia. *Vet. Parasitol.* 138, 217-222.
- ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. AMENDMENT 1: Annex D: Detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage.
- MEYER, E. A., E. J. JARROLL (1980): Giardiasis. *American Journal of Epidemiology* 111, 1-12.
- MIKAČIĆ, D. (1956): Osnovna parasitološka tehnika za veterinarski laboratorij. Poljoprivredni nakladni zavod Zagreb.
- MONIS, P. T., G. MAYRHOFER, R. H. ANDREWS, W. L. HOMAN, L. LEMPER, P. L. EY (1996): Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitology* 112, 1-12.
- NYDAM, D. V., S. E. WADE, S. L. SCHAAF, H. O. MOHAMMED (2001): Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* spp. cysts shed by dairy calves after natural infection. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1612-1615.
- O'HANDLEY, R. M., C. COCKWILL, T. A. MCALLISTER, M. JELINSKI, D. W. MORCK, M. E. OLSON (1999): Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 391-6.
- O'HANDLEY, R. M., M. E. OLSON, D. FRASER, P. ADAMS, R. C. THOMPSON (2000): Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Vet. Parasitol.* 90, 193-200.
- O'HANDLEY, R. M., H. CERI, C. ANETTE, M. E. OLSON (2003): Passive immunity and serological immune response in dairy calves associated with natural *Giardia duodenalis* infections. *Vet. Parasitol.* 113, 89-98.
- RALSTON, B. J., C. COCKWILL, N. GUSELLE, F. H. VAN HERK, T. A. MCALLISTER, M. E. OLSON (2003): Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium andersoni* and their effect on performance in feedlot beef calves. *Can. J. Anim. Sci.* 83, 153-159.
- SCOTT, K. G., M. R. LOGAN, G. M. KLAMMER, D. A. TEOH, A. G. BURET (2000): Jejunal brush border microvillous alterations in *Giardia muris*-infected mice: role of T lymphocytes and interleukin-6. *Infect. Immun.* 68, 3412-3418.
- SCHAEFER 3rd, F. W., C. H. JOHNSON, C. H. HSU, E. W. RICE (1991): Determination of *Giardia lamblia* cyst infective dose for the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Appl. Environ. Microb.* 57, 2408-2409.
- St. JEAN, G. (1987): Diagnosis of *Giardia* infection in 14 calves. *J. Am. Vet. Med. As. Soc.* 191, 831-832.
- THOMPSON, R. C. (2004): The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet Parasitol* 126, 15-35.
- WADE, S. E., H. O. MOHAMMED, S. L. SCHAAF (2000): Epidemiologic study of *Giardia* sp. infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol.* 89, 11-21.
- XIAO L. (1994): *Giardia* infection in farm animals. *Parasitol. Today.* 11, 436-8.
- XIAO, L., R. P. HERD (1994): Infection pattern of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. *Vet. Parasitol.* 55, 257-262. YANKE, S. J., H. CERI, T. A. MCALLISTER, D. W. MORCK, M. E. OLSON (1998): Serum immune response to *Giardia duodenalis* in experimentally infected lambs. *Vet. Parasitol.* 75, 9-19.