

# Zarażenia *Cryptosporidium* spp. i *Giardia* spp. u psów zaprzęgowych\*)

ANNA BAJER, MAŁGORZATA BEDNARSKA

Zakład Parazytologii Instytutu Zoologii Wydziału Biologii UW, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

Bajer A., Bednarska M.

## *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infections in sled dogs

### Summary

The aim of this study was to evaluate the distribution of intestinal protozoa *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. among the sled dogs taking part in an international competition during the Dryland World Championship IFSS, in Lubliniec, Poland, April 2005. Fecal samples (n = 80) were collected during the race and during two time periods: 2-4 weeks and 6-8 weeks after the race. The immunofluorescent assay (IFA) MerIFluor *Cryptosporidium*/*Giardia* was used for the detection of parasite dispersal stages in condensed samples. The influence of a range of factors on the prevalence and the intensity of cyst/oocyst production was estimated.

*Giardia* spp. infections were identified in four studied countries with overall prevalence of 36%. *Cryptosporidium* oocysts were detected in samples from 2 of 4 countries with an overall prevalence of 12.5%. For both intestinal protozoa an identical dynamics of infection was noted, with the peak in prevalence and cyst/ oocyst production 2-4 weeks after WC, which supports the hypothesis of the enhanced risk of parasite transmission during the race. The number of dogs in kennels, dog sex, and age affected the *Giardia* infections in sled dogs. The prevalence or intensity of cyst production were higher in kennels with more than 10 dogs, in males compared to females, and in young (<2 years old) dogs. *Cryptosporidium* infections were more common among males and young dogs, and the prevalence was low among Husky breeds. The co-infections with both parasites were common and the presence of *Giardia* or *Cryptosporidium* infection was significantly connected with the presence of diarrhea in dogs. Consequently, it seems that protozoan infections may affect the physical condition and performance of sled dogs and contribute to zoonotic diseases in dog owners.

**Keywords:** *Cryptosporidium*, *Giardia*, sled dogs

Pierwotniaki z rodzajów *Cryptosporidium* i *Giardia* to kosmopolityczne pasożyty przewodu pokarmowego wielu gatunków zwierząt i ludzi (2). Są przyczyną wyniszczających biegunek u osób z niedoborami odporności, np. u chorych na AIDS czy po leczeniu immunosupresyjnym, a także u osób z naturalnie obniżoną odpornością – dzieci i osób starszych (24, 29). Zarażeni ludzie i zwierzęta wydalają z kałem liczne postacie dyspersyjne pasożytów – cysty i oocysty – prowadząc do skażenia środowiska. Pozostają one inwazyjne od kilku tygodni do 6 miesięcy i stanowią źródło skażenia wód powierzchniowych. Wodnopochoodne epidemie giardiozy i kryptosporidiozy są istotnym problemem zdrowia publicznego w krajach rozwiniętych i rozwijających się. W obrębie rodzajów *Cryptosporidium* i *Giardia* występuje kilka gatunków i genotypów stanowiących zagrożenie dla ludzi, dla których naturalnymi żywicielami jest wiele gatunków zwierząt (8, 22). U ludzi stwierdzono, między innymi,

zarażenie specyficznym dla psów gatunkiem *C. canis* (7, 26), a także szczepem *G. intestinalis* Assemblage B, identycznym ze szczepem stwierdzanym u psów. Istnieje więc potrzeba monitorowania zarażeń u psów, które mogą stanowić bezpośrednie źródło zarażenia człowieka, a także źródło skażenia środowiska człowieka. W Polsce badania dotyczące zarażenia pierwotniakami u psów są nadal nieliczne (15).

Uznanie sportów psich zaprzęgów za oficjalną dyscyplinę sportu w Polsce w roku 2004 doprowadziło do wzrostu zainteresowania, rozwoju hodowli i zwiększenia liczby zawodów psich zaprzęgów w Polsce. Na terenie naszego kraju odbywają się coraz częściej znaczące międzynarodowe imprezy, które gromadzą od kilkudziesięciu do 200 zawodników. Oznacza to zebranie w jednym miejscu, na okres kilku dni do 1000 zwierząt z różnych stron kraju i zagranicy. Wysokie zagęszczenie zwierząt sprzyjać może rozprzestrzenianiu pasożytów jelitowych. Weekendowe imprezy przyciągają zazwyczaj liczną publiczność, rośnie więc też prawdopodobieństwo transmisji chorób zoonotycz-

\*) Badania częściowo sfinansowane z grantu KBN Nr 2PO4C09827.

nych. Psy zaprzęgowe biorące udział w wyścigach pozostają często pod wpływem silnego stresu związanego z samym wyścigiem czy podróżą, przez co bywają szczególnie podatne na „nowe” dla ich organizmów szczepy patogenów. W czasie kilkudniowych, wieloetapowych wyścigów, infekcje i inwazje doprowadzić mogą do zachorowań uniemożliwiających start zwierzęcia, a więc wpływają bezpośrednio na wyniki zawodników.

Badania przeprowadzone w czasie MŚ IFSS Dryland i w dwóch odstępach czasowych po nich miały na celu określenie rozprzestrzenienia zarażeń pierwotniakami jelitowymi u psów zaprzęgowych, a także próbę oceny wpływu różnych czynników, takich jak rasa, wiek czy płeć zwierząt na podatność na inwazje pasożytnicze.

### Materiał i metody

Przebadano ogółem 80 prób kałowych pochodzących od 76 osobników. Cztery osobniki były przebadane dwukrotnie. Z wyjątkiem dwóch, wszystkie próby pochodziły od psów zaprzęgowych lub zamieszkujących w hodowlach, w których zamieszkiwały psy zaprzęgowe. Dwie dodatkowe próby pochodziły od zwierząt z przewlekłą biegunką (jeden 0,5-letni labrador i jeden 2-letni mieszaniec). Próby pobrano w trakcie międzynarodowych wyścigów psów zaprzęgowych, w randze Mistrzostw Świata IFSS Dryland, które odbyły się w dniach 16-17 kwietnia 2005 roku w lasach Nadleśnictwa Lubliniec (n = 30; w tym 8 z Norwegii, 14 z Polski, 5 ze Szkocji i 3 z Węgier) oraz w odstępie 2-4 i 6-8 tyg. po mistrzostwach od zwierząt z Polski (n = 50), które albo same brały udział w wyścigach, albo przebywały w kojcach ze zwierzętami, które uczestniczyły w wyścigach. Próby przechowywano w buforze fosforanowym o pH 7,2 w temp. +4°C. W grupie 80 przebadanych zwierząt było 46 psów i 34 suki.

**Potencjalne czynniki wpływające na zarażenie pierwotniakami.** Do analiz statystycznych czynników wpływających na ekstensywność i intensywność zarażenia badanymi pierwotniakami wykorzystano dane z ankiety wypełnianej przez właścicieli zwierząt. W ankiecie zamieszczono cztery pytania. Pierwsze dotyczyło miejsca zamieszkania (miasto lub poza miastem). Drugie – źródła wody pitnej (woda wodociągowa lub ujęcie własne). Trzecie pytanie dotyczyło wielkości hodowli (małe – mniej niż 10 psów; duże – 10 lub więcej psów). Kolejne pytanie dotyczyło posiadania innych zwierząt niż psy – z miejscem na wpisanie gatunku zwierzęcia.

Dodatkowo w ankiecie do każdej próby poproszono o dane zwierzęcia – rasę, płeć i wiek oraz o określenie stanu zdrowia – zdrowe lub z biegunką. Wyznaczono trzy grupy wiekowe: zwierzęta w wieku dwóch lat i młodsze (n = 23); zwierzęta w wieku pomiędzy 2 a 8 lat (n = 39) oraz zwierzęta w wieku lat ośmiu lub starsze (n = 18). Jako czynnik w analizach uwzględniono czas pobrania próby; próby pobrane w czasie MS określono jako „zerowe”; próby zebrane w maju i czerwcu oznaczono odpowiednio cyfrą 1 lub 2.

**Analiza statystyczna.** Ekstensywność zarażenia (odsetek zwierząt zarażonych) analizowano przy użyciu technik najwyższej wiarygodności, opierając się na analizie log-liniowej tablic kontyngencji w programie Statgraphics Version 7, w sposób poprzednio opisany (4).

Dane ilościowe (n – liczba oocyst/cyst na studzienkę), które charakteryzował bardzo duży rozrzut (od 0 do kilku tysięcy), przedstawiono w postaci średnich geometrycznych. Korzystając z wieloczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z normalnym rozkładem błędów, na danych przekształconych wg wzoru  $x = \log_{10}(n+1)$  konstruowano minimalne wystarczające modele, tłumaczące zmienność danych. Obliczenia prowadzono korzystając z programu GLIM4 (4).

**Diagnostyka laboratoryjna zarażeń.** Do wykrywania oocyst i cyst stosowano test immunofluorescencyjny (IFA) MerIFluor *Cryptosporidium/Giardia* (Meridian Diagnostics Inc., Cincinnati, Ohio, USA) na próbach zagęszczonych wstępnie techniką sedymentacji.

### Wyniki

Przebadano 80 prób od psów, w tym 78 od psów związanych ze sportem psich zaprzęgów (psy zaprzęgowe lub pochodzące z hodowli, w których przebywały psy zaprzęgowe). Listę przebadanych ras zamieszczono w tabeli 1. W dwóch dodatkowych próbach pochodzących od zwierząt z przewlekłą biegunką (labrador i mieszaniec), nie związanych z psami zaprzęgowymi, nie wykryto cyst ani oocyst pasożytów. Obie próby uwzględniono w analizach statystycznych.

Oba gatunki pasożytów stwierdzono u psów zaprzęgowych. Ogółem oocysty *Cryptosporidium* spp. wykryto w 10 próbach (12,5%) a cysty *Giardia* spp. w 29 próbach (36,3%) (tab. 2). Intensywność wydalania cyst/oocyst była niska, przy czym średnia liczba wydalanych cyst była niemal 10 razy wyższa od średniej liczby wydalanych oocyst (tab. 2).

Analizę statystyczną przeprowadzono dla dwóch grup czynników oddzielnie. W pierwszej grupie znalazły się tzw. czynniki zewnętrzne, takie jak: kraj pochodzenia, środowisko życia, źródło wody pitnej, wielkość hodowli czy obecność w hodowli innych zwierząt. W drugiej grupie wzięto pod uwagę tzw. czynniki wewnętrzne, czyli rasę, płeć i wiek zwierzęcia, jego stan zdrowia i czas pobrania próby. Dla każdego z pasożytów przeprowadzono odrębne analizy.

**Ekstensywność zarażeń *Giardia* spp.** Z pierwszej grupy czynników nieznaczny wpływ na ekstensywność zarażenia *Giardia* spp. miała jedynie wielkość hodowli ( $\chi^2 = 3,10$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,0784$ ; dopasowanie modelu:  $\chi^2 = 4,94$ ,  $df = 40$ ,  $P = 1,000$ ). Prawie dwukrotnie wyższy odsetek zarażonych zwierząt stwierdzono w hodowlach liczących 10 lub więcej psów (42%) w porównaniu do małych hodowli (21,7%).

Cysty pasożyta stwierdzono w próbach od zwierząt z wszystkich czterech krajów (tab. 2), ekstensywność mieściła się w zakresie od 12,5% dla zwierząt z Norwegii do 67% u zwierząt z Węgier, jednak ze względu na niewielką liczbę prób różnice te nie były istotne statystycznie i zapewne nie odzwierciedlają rzeczywistej prewalencji pasożyta u psów w danym kraju. Ani środowisko życia, ani źródło wody pitnej, ani obecność innych zwierząt nie wpływały istotnie na zarażenie *Giardia* spp.

Rasy psów *	Liczba prób	Kod rasy**
Psy zaprzęgowe		
I. Rasy użytkowe		
Alaskan husky	20	1
European Sled Dog (ESD)	22	2
Greyster	6	2
II. Psy ras północnych i krzyżówki tych ras		
Alaskan malamute	1	3
Alaskan malamute mix	5	3
Siberian husky	10	3
Siberian husky/Grenland dog	2	3
Wyżły (użytkowane jako psy zaprzęgowe)		
Wyżeł niemiecki krótkowłosey	1	2
Wyżeł weimarski	1	2
Pointer	1	2
Inne psy		
Chart polski	5	4
Labrador retriever	1	4
Mieszaniec	5	4

Tab. 1. Rasy psów włączone do badań

Objaśnienia:

\* – rasa wg orzeczenia właściciela; rasy użytkowe nie są uznawane przez FCI ani inne organizacje kynologiczne;

\*\* – kody przyznane na bazie pokrewieństwa ras i podobieństwa fenotypowego; stosowane do analiz statystycznych;

**Alaskan husky** – pierwotna rasa użytkowa z Alaski. Średniej wielkości psy, fenotypowo podobne do huskich syberyjskich, częsta błękitna barwa oczu, psy obdarzone bardzo silnym instynktem do pracy w zaprzęgu i zdolne do długotrwałego wysiłku. Wykorzystywane najczęściej w dużych zaprzęgach, w wyścigach na średnich i długich dystansach.

**Greyster** – rasa użytkowa wyhodowana w Norwegii przez Lenę Boysen poprzez skrzyżowanie pracującej w zaprzęgu suki rasy wyżeł niemiecki krótkowłosey z angielskim chartem greyhound (pies Arrow – mistrz Norwegii w wyścigach torowych). Nazwa pochodzi od słów greyhound i vorsther. Obecnie greystery mają znaczną przewagę krwi wyżłów z niewielką jedynie domieszką krwi charta (np. 1/8 lub 1/16), co zapewnia im szybkość przy dobrej wytrzymałości. Są to duże psy w typie wyżła (30-40 kg), najszybsze sprinterskie psy świata, często wykorzystywane w konkurencjach skandynawskich (Nordic), np. w skijoringu, pulce oraz w bikejoringu, podobnie jak wyżły czystej rasy.

**European Sled Dog (ESD)** – średnie i duże psy, wykorzystywane do zaprzęgów sprinterskich i średniodystansowych; wyhodowane z krzyżówek alaskan husky i psów ras myśliwskich (hounds), np. z greysterami, wyżłami różnych ras (pointery, wyżły węgierskie, wyżły niemieckie krótkowłose) czy z psami gończymi (np. angielski foxhound). Najczęściej w typie wyżła, obdarzone silnym instynktem do pracy w zaprzęgu i wytrzymałością alaskan husky oraz szybkością greysterów

Tab. 2. Porównanie ekstensywności i intensywności zarażenia *Cryptosporidium* i *Giardia* u badanych psów

Kraj pochodzenia	Czas pobrania	N	<i>Cryptosporidium</i>		<i>Giardia</i>	
			Ekst. (% zaraż.)	Int. (śr. geom. ± SE)	Ekst. (% zaraż.)	Int. (śr. geom. ± SE)
Norwegia	Kwie 2005	8	0	nd	12,5	0,28 ± 0,28
Polska	Kwie 2005	14	7,1	0,22 ± 0,22	14,3	0,47 ± 0,40
	Maj 2005	19	26,3	0,53 ± 0,20	47,4	12,0 ± 1,11
	Czer 2005	31	9,7	0,25 ± 0,18	38,7	1,02 ± 0,33
	Ogółem	64	12,5	0,32 ± 0,11	35,9	2,27 ± 0,34
Szkocja	Kwie 2005	5	40,0	1,35 ± 0,71	60,0	3,82 ± 1,30
Węgry	Kwie 2005	3	0	nd	66,7	23,1 ± 8,80
Ogółem	2005	80	12,5	0,32 ± 0,10	36,3	2,29 ± 0,29

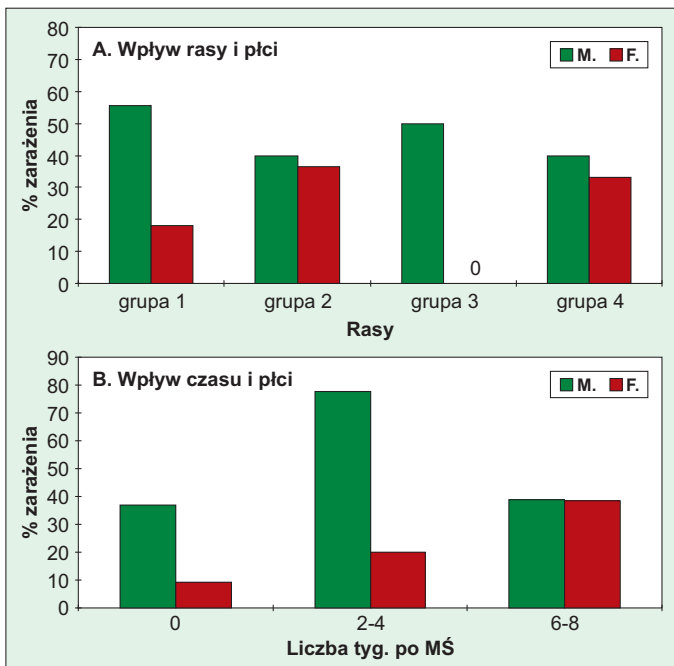
W trakcie analizy wpływu czynników wewnętrznych otrzymano dwie istotne interakcje czynników, które przedstawiono na rycinie 1A i 1B. Dopasowanie uzyskanego minimalnego modelu wyniosło  $\chi^2 = 83,2$ ,  $df = 241$ ,  $P = 1,000$ . Rycina 1a przedstawia wpływ rasy i płci zwierzęcia na zarażenie *Giardia*. We wszystkich czterech grupach ras wykazano wyższy odsetek zarażeń u samców niż samic, różnice te są największe u alaskan huskich i w grupie psów ras północnych, mniej wyraźne w grupie 2 (wyżły i rasy pokrewne) i u pozostałych psów (grupa 4). Rasa psa jako wyodrębniony czynnik nie miała istotnego wpływu na ekstensywność zarażeń *Giardia* spp. (grupa 1 – 35%; grupa 2 – 38,7%; grupa 3 – 33,3%; grupa 4 – 36,4%). Natomiast płeć psa miała istotny wpływ na prevalencję pasożyta ( $\chi^2 = 4,25$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,0392$ ), stwierdzono prawie dwukrotnie wyższy odsetek zarażonych samców niż samic (45,7% versus 23,5%).

Na rycinie 1b przedstawiono współdziałanie czasu pobrania prób i płci zwierzęcia na prevalencję zarażeń *Giardia* spp. Najwyższy odsetek zarażeń stwierdzono w kilka tygodni po wyścigach MŚ, u prawie 80% samców wykryto w tym czasie cysty pierwotniaka. Interakcja czynników przejawia się w znacznie wyższej ekstensywności zarażenia u samców niż u samic w czasie „0” (w czasie wyścigu) i w kilka tygodni po nim, natomiast w odstępie 6-8 tygodni od

mistrzostw zarażenie samic i samców osiąga podobne wartości (ryc. 1B). Ogółem ekstensywność była najniższa na początku badań, u zwierząt badanych w czasie MŚ (27%), następnie osiągnęła maksimum po 2-4 tygodniach od wyścigu (47%) i ponownie obniżyła się do 39% po 6-8 tygodniach od zawodów.

W tym samym modelu otrzymano też istotną zależność częstości zarażenia *Giardia* spp. od występowania biegunki ( $\chi^2 = 4,45$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,0349$ ). Cysty pasożyta wykryto u 66,7% zwierząt z objawami w porównaniu do 32,4% u zwierząt bez objawów.

**Ekstensywność zarażeń *Cryptosporidium* spp.** W pierwszym modelu testującym wpływ czynników zewnętrznych na ekstensywność zarażenia *Cryptosporidium* spp. nie otrzymano żadnych istotnych interakcji. Oocysty pasożyta stwierdzono w próbach od psów z dwóch na cztery badane kraje (Polska i Szkocja) (tab. 2), jednak ze względu na niewielką liczbę prób



Ryc. 1. Współdziałanie czynników wewnętrznych na ekstensywność zarażeń *Giardia* spp.

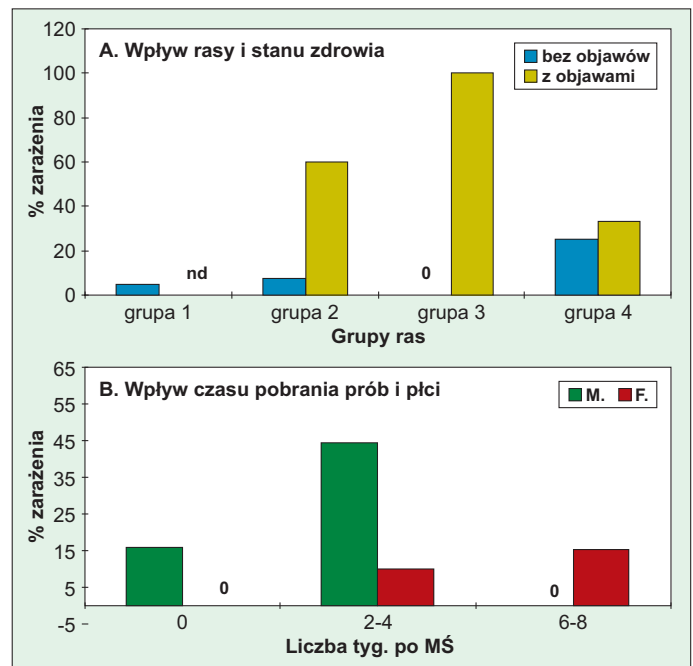
1a. Rasa × płć × *Giardia*:  $\chi^2 = 8,02$ ,  $df = 3$ ,  $P = 0,0455$

1b. Czas pobrania prób × płć × *Giardia*:  $\chi^2 = 7,88$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,0195$

wpływ kraju pochodzenia zwierząt nie był istotny statystycznie. Z tej samej przyczyny ekstensywność policzona dla prób ze Szkocji jest zapewne zawyżona. Ani środowisko życia, ani źródło wody pitnej, ani obecność innych zwierząt nie wpływały istotnie na zarażenie tym pierwotniakiem.

W trakcie analizy wpływu czynników wewnętrznych otrzymano dwie istotne interakcje czynników, które przedstawiono na rycinie 2A i 2B. Dopasowanie uzyskanego minimalnego modelu wyniosło  $\chi^2 = 65,4$ ,  $df = 244$ ,  $P = 1,000$ . Rycina 1a przedstawia wpływ rasy i występowania objawów na zarażenie *Cryptosporidium*. Interakcja wynikała z silnego wpływu obecności objawów na prevalencję ( $\chi^2 = 11,75$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,0006$ ), gdyż oocysty pasożyta wykryto u 56% psów z biegunką w porównaniu do 7% u psów bez objawów. Największe różnice w odsetku zarażeń między zwierzętami z objawami i bez nich stwierdzono w grupach 2 i 3, lecz wynikają one ze stwierdzenia zarażenia u 1 osobnika z biegunką. Ogółem niski odsetek zarażeń wykazano w grupie alaskan huskich i u psów ras północnych (odpowiednio 5 i 6%), znacznie wyższy u wyżłów i ras pokrewnych (16%), a także u pozostałych psów (27%).

Na rycinie 2B przedstawiono współdziałanie czasu pobrania prób i płci zwierzęcia na prevalencję zarażeń *Cryptosporidium* spp. Najwyższy odsetek zarażeń stwierdzono, podobnie jak dla *Giardia*, w kilka tygodni po wyścigach MŚ, u 44% samców wykryto w tym czasie oocysty pierwotniaka. Interakcja czynników przejawia się w znacznie wyższej ekstensywności zarażenia u samców niż u samic w czasie wyści-



Ryc. 2. Współdziałanie czynników wewnętrznych na ekstensywność zarażeń *Cryptosporidium* spp.

1a. Rasa × objawy × *Cryptosporidium*:  $\chi^2 = 7,64$ ,  $df = 3$ ,  $P = 0,0541$

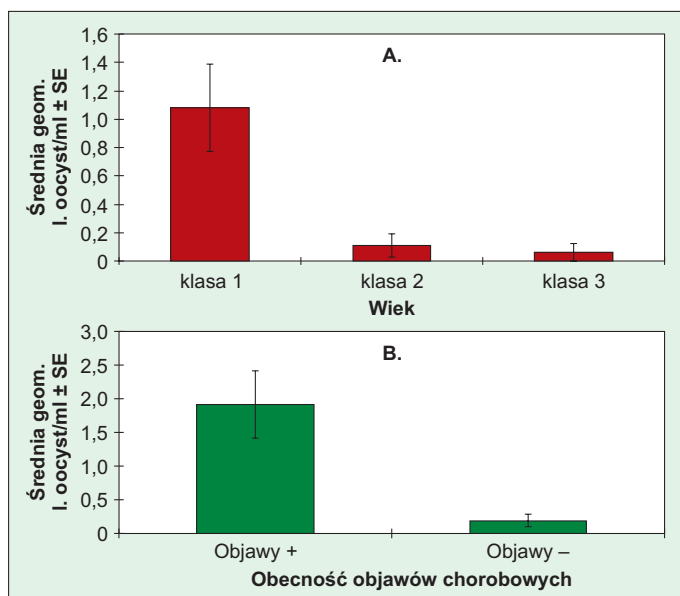
1b. Czas pobrania prób × płć × *Cryptosporidium*:  $\chi^2 = 8,44$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,0147$

gu i w kilka tygodni po nim, natomiast w odstępie 6-8 tygodni od mistrzostw nie stwierdzono pasożyta u 18 przebadanych samców, a oocysty wykryto u 2 z 13 samic (15,4%) (ryc. 2b). Ogółem ekstensywność wyniosła 10% na początku badań, u zwierząt badanych w czasie MŚ, następnie osiągnęła maksimum po 2-4 tygodniach od wyścigu (26%) i spadła do 6,5% po 6-8 tygodniach od zawodów. Także w przypadku tego pierwotniaka prevalencja była niemal dwukrotnie wyższa u samców niż u samic (15,2% versus 8,8%).

Wysoki odsetek zarażeń *Cryptosporidium* spp. stwierdzono u młodych psów (30,4%), w porównaniu do 5,1% w drugiej i 5,6% w trzeciej grupie wieku, jednak różnice te nie były istotne statystycznie, zapewne z powodu niewielkich różnic między dwiema ostatnimi grupami.

**Koinwazje.** Przeprowadzono analizę współwystępowania obu pasożytów przy pomocy log-liniowej analizy kontyngencji dla modelu zawierającego oprócz danych o ekstensywności występowania obu pasożytów także czynniki, które we wcześniejszych analizach miały istotny wpływ na ekstensywność zarażeń. W minimalnym wystarczającym modelu otrzymano silną interakcję występowania obu pasożytów (*Cryptosporidium* × *Giardia*:  $\chi^2 = 14,52$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,0001$ ). Prevalencja zarażenia *Cryptosporidium* spp. wyniosła 31% u psów zarażonych *Giardia* spp. i zaledwie 2% u zwierząt nie zarażonych *Giardia*.

**Intensywność zarażeń *Giardia* spp.** W testowanych modelach otrzymano dwie istotne interakcje czynników wpływające na intensywność wydalania cyst *Giardia* spp. Pierwsza interakcja, czas pobrania prób ×



Ryc. 3. Wpływ wieku zwierzęcia (A) i obecności objawów chorobowych (B) na intensywność zarażenia *Cryptosporidium* spp.

miejsce zamieszkania × *Giardia* ( $F_{1,80} = 4,43$ ,  $0,025 < P < 0,05$ ) powstała w wyniku silnego wpływu czasu pobrania prób na intensywność (czas pobrania prób × *Giardia*:  $F_{1,80} = 5,04$ ,  $0,005 < P < 0,01$ ). W przedziale 2-4 tygodni po MŚ zwierzęta wydalają do 10 × więcej cyst niż w czasie mistrzostw i w 6-8 tygodni po nich (czas „0” =  $1,28 \pm 0,39$ ; czas „1” =  $12,0 \pm 1,11$ ; czas „2” =  $1,02 \pm 0,46$ ). Interakcja z miejscem zamieszkania związana była z tym, że dla zwierząt spoza miasta otrzymano opisany wyżej wzrost intensywności zarażenia w kilka tygodni po zawodach, natomiast u psów z miasta ( $n = 3$ ) nie wykryto w ogóle cyst *Giardia* w kilka tygodni po zawodach, co wynika zapewne z małej liczby przebadanych prób.

Podobnie jak w przypadku ekstensywności, intensywność wydalania cyst była wyższa u samców niż u samic ( $3,63 \pm 0,43$  versus  $1,07 \pm 0,40$ ). Zaobserwowano też tendencję do spadku intensywności zarażenia wraz ze wzrostem wieku – średnia geometryczna liczba wydalanych cyst była najwyższa w grupie najmłodszych psów ( $8,86 \pm 0,92$ ), wynosiła  $1,28 \pm 0,35$  w grupie drugiej i  $0,78 \pm 0,29$  u zwierząt najstarszych. Zwierzęta z objawami biegunki wydalają kilkanaście razy więcej cyst niż psy zdrowe ( $42,51 \pm 1,88$  versus  $1,37 \pm 0,26$ ).

**Intensywność zarażeń *Cryptosporidium* spp.** Na intensywność wydalania oocyst miał wpływ wiek zwierzęcia (ryc. 3A); jako czynnik samodzielny i w dwóch interakcjach z rasą i obecnością biegunki.

Najwyższą średnią liczbę wydalanych oocyst stwierdzono u psów w wieku do dwóch lat, w kolejnych grupach wiekowych była ona około 10 × niższa, potwierdzając tendencję zaobserwowaną przy analizie ekstensywności (wiek × int. *Cryptosporidium*:  $F_{2,79} = 2,36$ ,  $0,05 < P < 0,1$ ). Interakcja czynnika wieku z rasą była skutkiem niskiej ekstensywności zarażenia *Cryptosporidium*

*ridium* w grupie alaskan huskich – jedyny zarażony osobnik należał do grupy najstarszych psów (wiek × rasa × int. *Cryptosporidium*:  $F_{5,79} = 4,70$ ,  $P < 0,001$ ). W pozostałych trzech grupach ras najwyższą intensywność stwierdzano u psów najmłodszych (grupa 2 –  $0,52 \pm 0,23$ ; grupa 3 –  $3,00 \pm 3,00$ ; grupa 4 –  $4,77 \pm 2,03$ ), mniejszą w grupie 2-8 lat (od 0 do  $0,49 \pm 0,49$ ) i brak zarażeń u najstarszych zwierząt.

W drugą interakcję czynników wpływających na intensywność zarażenia *Cryptosporidium* był włączony wiek i obecność objawów chorobowych (wiek × objawy × int. *Cryptosporidium*:  $F_{1,79} = 4,36$ ,  $0,025 < P < 0,05$ ). Sama obecność objawów nie wpływała istotnie na liczbę wydalanych oocyst (objawy × int. *Cryptosporidium*:  $F_{1,79} = 2,00$ , NS), co wynika zapewne z niewielkiej liczby osobników z objawami biegunki ( $n = 5$ ), pomimo dziesięciokrotnie wyższej średniej w grupie zwierząt z objawami (ryc. 3B). W grupie zwierząt bez objawów intensywność malała stopniowo z wiekiem (klasa 1 wieku –  $0,83 \pm 0,42$ ; klasa 2 –  $0,07 \pm 0,07$ ; klasa 3 –  $0,06 \pm 0,06$ ), w grupie zwierząt z objawami nie stwierdzono osobników z klasy trzeciej wieku, natomiast w dwóch pierwszych klasach wieku intensywność zarażenia była wysoka, przy czym nieznacznie wyższa wśród psów w wieku 2-8 lat.

W trzecią interakcję włączone były rasa psa i obecność objawów (rasa × objawy × int. *Cryptosporidium*:  $F_{2,79} = 11,47$ ,  $P < 0,001$ ). W obrębie ras najwyższą intensywność wydalania oocyst stwierdzono w czwartej grupie ( $1,35 \pm 0,61$ ), najniższą w grupie pierwszej ( $0,06 \pm 0,06$ ), zgodnie z analizą ekstensywności, jednak wpływ rasy jako samodzielnego czynnika nie był istotny statystycznie. Istota interakcji polegała na typowym obrazie w grupie psów ras północnych i grupie wyżłów, z kilkakrotnie wyższą średnią liczbą wydalanych oocyst u zwierząt z objawami biegunki, natomiast w grupie alaskan husky jedyny zarażony osobnik nie wykazywał objawów chorobowych, a w grupie psów pozostałych intensywność wydalania oocyst była wysoka i zbliżona u zwierząt z objawami i bez nich.

### Omówienie wyników

Badania przeprowadzone w czasie MŚ IFSS Dryland i w dwóch odstępach czasowych po nich (zawodach) wykazały szerokie rozprzestrzenienie zarażeń pierwotniakami jelitowymi u psów zaprzęgowych z czterech krajów Europy. Cysty *Giardia* spp. stwierdzono ogółem w 36% zbadanych prób, a oocysty *Cryptosporidium* spp. u blisko 13% zbadanych zwierząt. Podobnie wysoki odsetek zarażeń *Giardia* spp. był notowany u psów z różnych krajów całego świata i wahał się w przedziale 11-21% w Europie (Szkocja, Niemcy, Włochy) (5, 9, 14), poprzez 15-20% w Azji (Japonia, Indie) (18, 30), 22-63% w Australii (6, 10) i 9-12% w Ameryce Południowej (Argentyna, Brazylia) (12, 25) oraz 8-36% w USA (16, 19, 23, 28). W badaniach Bugga i wsp. (6) to właśnie *Giardia* była

najczęstszym z całego spektrum wykrywanych u psów pasożytów. Jedną z ostatnio propagowanych teorii wskazuje na przyczynę tak szerokiego rozpowszechnienia tego pierwotniaka (27). Powszechne i systematyczne stosowanie leków przeciwko robakom płaskim i obłym spowodowało stopniowy, znaczny spadek zarażeń nicieniami i tasiemcami wśród psów. Te same leki nie są skuteczne przeciwko pierwotniakom jelitowym, zarówno *Giardia*, jak i *Cryptosporidium*, co w konsekwencji doprowadziło do zasiedlenia przez pierwotniaki niszy „zwolnionej” przez helminty. Z drugiej strony, wydaje się, że u większości zwierząt inwazje pierwotniakami przebiegają bezobjawowo, a więc nie są leczone, co skutkuje znacznym skażeniem środowiska inwazyjnymi cystami/oocystami.

W czasie badań z zastosowaniem technik molekularnych do oznaczenia genotypu *Giardia* wykazano zarażenie tymi samymi genotypami u ludzi i psów zamieszkujących w tych samych domostwach (30). W świetle tych badań wydaje się więc, że wysoki odsetek zarażeń *Giardia* spp. u psów zaprzęgowych może stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi.

W przeprowadzonych badaniach wykazano wysoki (12,5%) odsetek zarażeń *Cryptosporidium* spp. w porównaniu do innych krajów. W badaniach prowadzonych w Ameryce Północnej oocysty pasożyta nie wykryto u 102 psów wizytujących szpitale w Kanadzie (26). Oocysty stwierdzono zaledwie u 2% bezdomnych psów z USA (3) i w 0-2,4% prób kałowych od psów zebranych w parkach w Szkocji (14). W Ameryce Południowej (Argentyna, Brazylia) odsetek zarażeń *Cryptosporidium* spp. wahał się od 0,3% do 9,5% (12, 20), w Japonii wyniósł 9% (1), a w Australii 2 z 8 zbadanych zwierząt wydalają oocysty pasożyta (10). Badania dotyczące zarażeń *Cryptosporidium* u psów są nadal nieliczne, do tej pory określono genotypy zaledwie 27 izolatów, z czego 19 oznaczono jako *C. canis* (gatunek rzadko inwazyjny dla ludzi), a 8 jako *C. parvum* genotyp 2 (cielęcy) rozpowszechniony wśród ludzi i zwierząt (1, 13, 17). Podobnie jak w przypadku *Giardia*, należy zwrócić więc uwagę na możliwość transmisji tego pasożyta pomiędzy psami zaprzęgowymi a ludźmi.

Z przeprowadzonych analiz statystycznych wynika, że z czynników zewnętrznych wpływających na zarażenie zwierząt pierwotniakami, największy wpływ miał czas pobrania prób. Dla obydwu patogenów odnotowano identyczny schemat dynamiki inwazji, zarówno pod względem zmian ekstensywności, jak i intensywności zarażenia. Najwyższy odsetek zarażeń i największą intensywność wydalania cyst/oocyst stwierdzono w próbach pobranych 2-4 tygodnie po MŚ w Lublińcu. Wyniki te potwierdzają hipotezę o zwiększonym ryzyku transmisji pierwotniaków pomiędzy psami w czasie zawodów. Zawodnicy biorący udział w wyścigach psich zaprzęgów muszą więc liczyć się z możliwością pogorszenia kondycji zwierząt po każdej imprezie, a także zwrócić uwagę na możliwość przenie-

sienia zarażenia na siebie i na członków swoich rodzin.

Spośród innych testowanych czynników, na zarażenie *Giardia* spp. miały wpływ wielkość hodowli, płeć i wiek zwierząt oraz obecność objawów chorobowych (biegunki). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono dwukrotnie wyższy odsetek zarażeń pierwotniakiem w dużych hodowlach, liczących co najmniej 10 zwierząt. Podobną zależność wykazano w innych pracach (6, 9, 18), a w pracy przeglądowej Robertsona i wsp. (27) giardioza została określona chorobą „kojcową”. Taka zależność wynika niewątpliwie ze znacznego zagęszczenia zwierząt na stosunkowo niewielkiej powierzchni, co stwarza dogodne warunki do bezpośredniej (kontakt pies–pies) i pośredniej (poprzez zanieczyszczoną trawę, wodę i glebę) transmisji cyst pasożyta. Psy zaprzęgowe, które najczęściej trzymane są w kojcach, są zatem szczególnie narażone na inwazje *Giardia*. Należy więc jak najczęściej uprzątać odchody z terenu kojców i wybiegów, aby zminimalizować ryzyko transmisji.

W naszych badaniach wykazano istotny wpływ płci na ekstensywność i intensywność zarażenia *Giardia* spp. Prawie dwa razy więcej samców niż samic było zarażonych pierwotniakiem (45,7% versus 23,5%), a średnia liczba wydalanych cyst była dwukrotnie wyższa u samców. W innych badaniach prowadzonych w Brazylii także stwierdzono wyższy odsetek zarażeń u samców niż samic (25), w większości prac jednak czynnik płci nie odgrywał znaczącej roli, w przeciwieństwie do wieku psów. Różnice w zarażeniu pasożytami pomiędzy płciami, często przejawiające się wyższą ekstensywnością i intensywnością zarażeń u samców, najczęściej tłumaczy się immunosupresyjnym działaniem testosteronu, co potwierdzone jest poprzez niższy odsetek zarażeń *Giardia* u kastratów (25).

Zaobserwowaliśmy też tendencję do spadku intensywności zarażenia wraz ze wzrostem wieku – średnia geometryczna liczba wydalanych cyst była 10 × wyższa w grupie najmłodszych psów niż u zwierząt najstarszych. Wyniki takie są zgodne z danymi literaturowymi, w których stwierdzono, że to psy w wieku poniżej 1 roku są częściej zarażone i wydalają więcej cyst pasożyta (9, 18).

Większość badaczy uważa, że zarażenie *Giardia* spp. przebiega najczęściej bezobjawowo i nie wpływa znacząco na kondycję zwierząt (27). Z przeprowadzonych badań wynika, że występowanie objawów chorobowych było znacząco powiązane z zarażeniem pierwotniakiem. U prawie 70% zwierząt z biegunką wykryto cysty pasożyta, a średnia liczba wydalanych cyst była kilkanaście razy wyższa u chorych zwierząt. Inwazja ulegała najczęściej samowyleczeniu po upływie 2 tygodni. Podobne obserwacje opisali Capelli i wsp. (9). Widać więc jednak, że zarażenie pasożytem może w sposób znaczący obniżać kondycję zwierząt, a przez to wpływać na ich osiągnięcia na wyścigach. W celu złagodzenia objawów zarażenia i zmniejszenia liczby

wydalanych cyst, a przez to zmniejszenia skażenia środowiska, można zastosować szczepionki, które nie zabezpieczają przed zarażeniem, ale łagodzą przebieg choroby (27).

Na zarażenie *Cryptosporidium* spp. u psów zaprzęgowych miały wpływ rasa, płeć i wiek psa, obecność objawów chorobowych oraz koinwazja z *Giardia* spp. Spośród czterech grup ras, najmniej podatne na inwazje pierwotniaka okazały się alaskan husky oraz psy ras północnych, u których stwierdzono najniższy odsetek zarażeń (około 6%) i najniższą średnią liczbę wydalanych oocyst. Być może, wskazuje to na ogólną lepszą odporność na naturalne patogeny u pierwotnych ras pociągowych, wynikającą z ostrej selekcji, którą przechodziły tylko najlepiej dostosowane osobniki pracujące w trudnych warunkach dalekiej północy.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, podobnie jak dla *Giardia* spp., istotny wpływ płci na ekstenywność zarażenia *Cryptosporidium* spp. Także w przypadku tego patogenu prawie dwa razy więcej samców niż samic było zarażonych pierwotniakiem (15,2% versus 8,8%). W Brazylii natomiast odsetek zarażeń tym pierwotniakiem był jednakowy u suk i psów (20). Różnice pomiędzy płciami mogą wynikać z przyczyn omówionych dla inwazji *Giardia* spp.

Najwyższy odsetek zarażeń (30%) i najwyższą średnią liczbę wydalanych oocyst wykazano w grupie psów najmłodszych, w wieku poniżej dwóch lat. Wyniki takie potwierdzają wcześniejsze obserwacje dotyczące psów oraz zwierząt hodowlanych i wolno żyjących, że kryptosporidioza jest chorobą zwierząt młodych, u których może wywoływać poważne objawy (4, 11, 27). Przy tak szerokim rozprzestrzenieniu zarażenie tym pierwotniakiem może więc być jedną z istotnych przyczyn biegunk u szczeniąt i stanowić realne zagrożenie dla właścicieli zwierząt.

Podobnie jak w przypadku *Giardia*, kilkakrotnie wyższy odsetek zarażeń *Cryptosporidium* spp. oraz znacznie większą liczbę wydalanych oocyst stwierdzono u psów z biegunką, co nie pozostaje bez wpływu na kondycję i osiągnięcia psów zaprzęgowych. Co więcej, wykazaliśmy bardzo wysoki odsetek inwazji mieszanych – *Giardia* spp. i *Cryptosporidium* spp., co może być powiązane z nasileniem objawów chorobowych, a przez to pogłębiać negatywne oddziaływanie na zarażone zwierzęta i utrudniać ich wyleczenie.

Zarażenia pierwotniakami jelitowymi powinny być prawidłowo diagnozowane i leczone, w celu zapewnienia dobrych warunków do rozwoju młodych zwierząt i ochrony właścicieli przed chorobami odzwierzęcymi. W przypadku psów zaprzęgowych, w warunkach wyścigów może dojść do zarażenia pierwotniakami, co może spowodować spadek kondycji zwierząt i wpływać na osiągnięte przez nie wyniki.

## Piśmiennictwo

1. Abe N., Sawano Y., Yamada K., Kimata I., Iseki M.: Cryptosporidium infection in dogs in Osaka, Japan. *Vet. Parasitol.* 2002, 108, 185-193.

2. Appelbee A. J., Thompson A. R. C., Olson M. E.: Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends Parasitol.* 2005, 21, 370-376.
3. el-Ahruf A., Tacal J. V. Jr., Sobih M., Amin M., Lawrence W., Wilcke B. W.: Prevalence of cryptosporidiosis in dogs and human beings in San Bernardino County, California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991, 198, 631-634.
4. Bajer A., Bednarska M., Pawełczyk A., Behnke J. M., Gilbert F. S., Siński E.: Prevalence and abundance of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia* spp. in wild rural rodents from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitol.* 2002, 125, 21-34.
5. Barutzi D., Schaper R.: Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitol. Res.* 2003, 90, S148-150.
6. Bugg R. J., Robertson I. D., Elliot A. D., Thompson R. C. A.: Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *Vet. J.* 1999, 157, 295-301.
7. Caccio S. M.: Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parassitologia* 2005, 47, 185-192.
8. Caccio S. M., Thompson R. C., McLauchlin J., Smith H. V.: Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol.* 2005, 21, 430-437.
9. Capelli G., Paoletti B., Iorio R., Frangipane Di Regalbono A., Pietrobello M., Bianciardi P., Giangaspero A.: Prevalence of *Giardia* spp. in dogs and humans in Northern and Central Italy. *Parasitol. Res.* 2003, 90, S154-155.
10. Cox P., Griffith M., Angles M., Deere D., Ferguson C.: Concentrations of pathogens and indicators in animal feces in the Sydney Watershed. *App. Environ. Microbiol.* 2005, 71, 5929-5934.
11. De Graaf D. C., Vanopdenbosch E., Ortega-Mora L. M., Abbassi H., Peeters J. E.: A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.* 1999, 29, 1269-1287.
12. Fontanarrosa M. F., Vezzani D., Basabe J., Eiras D. F.: An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Vet. Parasitol.* 2006, 136, 283-295.
13. Giangaspero A., Iorio R., Paoletti B., Traversa D., Capelli G.: Molecular evidence for *Cryptosporidium* infection in dogs in Central Italy. *Parasitol. Res.* 2006, in press, epub: ISSN 0932-0113 (Paper), 1432-1955 (Online).
14. Grimason A. M., Smith H. V., Parker J. F., Jackson M. H., Smith P. G., Girdwood R. W.: Occurrence of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium* sp. oocysts in faeces from public parks in the west of Scotland. *Epidemiol. Infect.* 1993, 110, 641-645.
15. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B., Stepien-Rukasz H., Studzińska M. B., Tomczuk K.: Comparison of some serological methods and coproscopic examinations for diagnosis of *Giardia* spp. invasion in dogs. *Pol. J. Vet. Sci.* 2005, 8, 137-140.
16. Hahn N. E., Glaser C. A., Hird D. W., Hirsh D. C.: Prevalence of *Giardia* in the feces of pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1988, 192, 1428-1429.
17. Hajdusek O., Ditrich O., Slapeta J.: Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in animal and human hosts from the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 2004, 122, 183-192.
18. Itoh N., Muraoka N., Aoki M., Itagaki T.: Prevalence of *Giardia lamblia* infection in household dogs. *Kansenshogaku Zasshi* 2001, 75, 671-677.
19. Kirkpatrick C. E.: Enteric protozoan infections, [in:] Greene C. E. (ed), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders W. B. Philadelphia 1990, 804-814.
20. Lallo M. A., Bondan E. F.: Prevalence of *Cryptosporidium* sp. in institutionalized dogs in the city of Sao Paulo, Brazil. *Rev. Saude Publica* 2006, 40, 120-125.
21. Lefebvre S. L., Waltner-Toews D., Peregrine A. S., Reid-Smith R., Hodge L., Arroyo L. G., Weese J. S.: Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. *J. Hosp. Infect.* 2005, 62, 458-466.
22. Monis P. T., Thompson R. C. A.: *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? *Infect. Gen. Evol.* 2003, 3, 233-244.
23. Nolan T. J., Smith G.: Time series analysis of the prevalence of endoparasitic infections in cats and dogs presented to a veterinary teaching hospital. *Vet. Parasitol.* 1995, 59, 87-96.
24. O'Donoghue P. J.: *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol.* 1995, 25, 139-195.
25. Oliveira-Sequeira T. C. G., Amarante A. F. T., Ferrari T. B., Nunes L. C.: Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 2002, 103, 19-27.
26. Pieniazek N. J., Bornay-Llinares F. J., Slemenda S. B., Da Silva A. J., Moura I. N. S., Arrowood M. J., Ditrich O., Addiss D. G.: New *Cryptosporidium* genotypes in HIV-infected persons. *Emerg. Infect. Dis.* 1999, 5, 1-6.
27. Robertson I. D., Irwin P. J., Lymbery A. J., Thompson R. C. A.: The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30, 1369-1377.
28. Stehr-Green J. K., Murray G., Schanz P. M., Wahlquist S. P.: Intestinal parasites in pet store puppies in Atlanta. *Am. J. Pub. Health* 1987, 77, 345-346.
29. Thompson R. C. A.: *Giardiasis* as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30, 1259-1267.
30. Traub R. J., Monis P. T., Robertson I., Irwin P., Mencke N., Thompson R. C. A.: Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitol.* 2004, 128, 253-262.

Adres autora: dr Anna Bajer, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa;  
e-mail: anabena@biol.uw.edu.pl