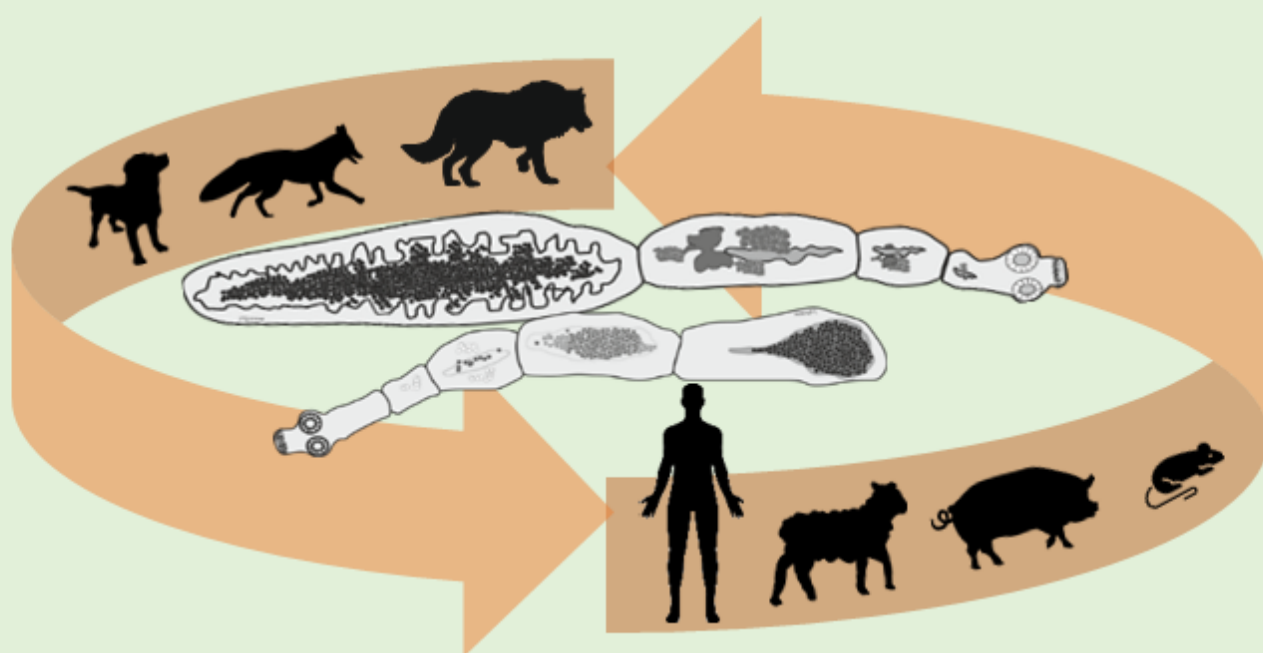


Epidemiologia i diagnostyka echinokokozy



Jacek Karamon

Dział Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Chorób Pszczół i Chorób Zwierząt Wodnych
Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

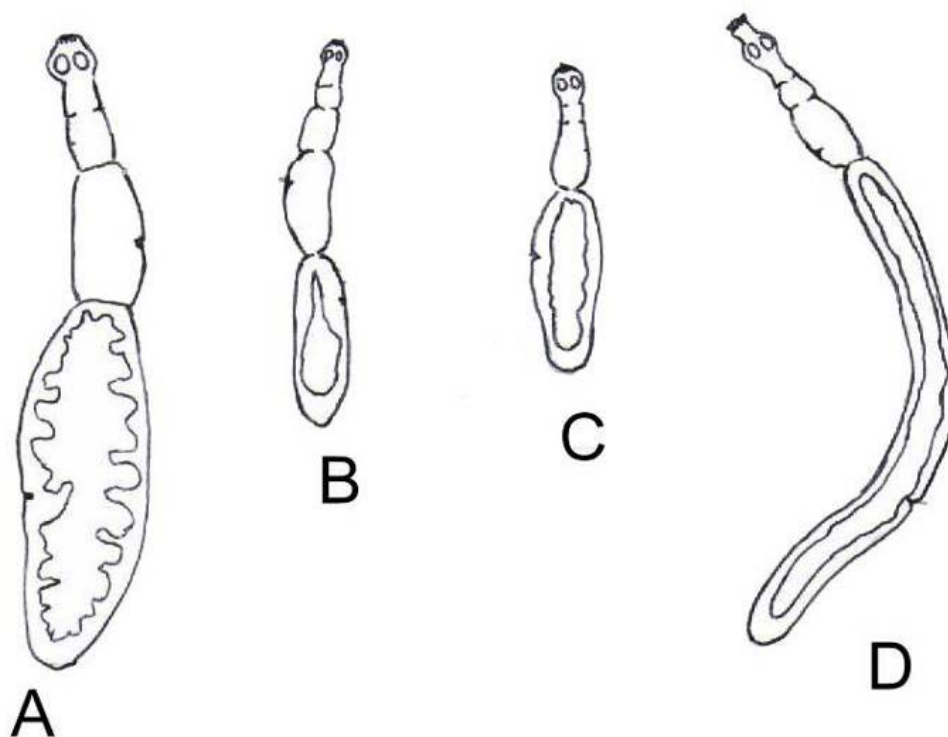


Inwazje *Echinococcus* spp.

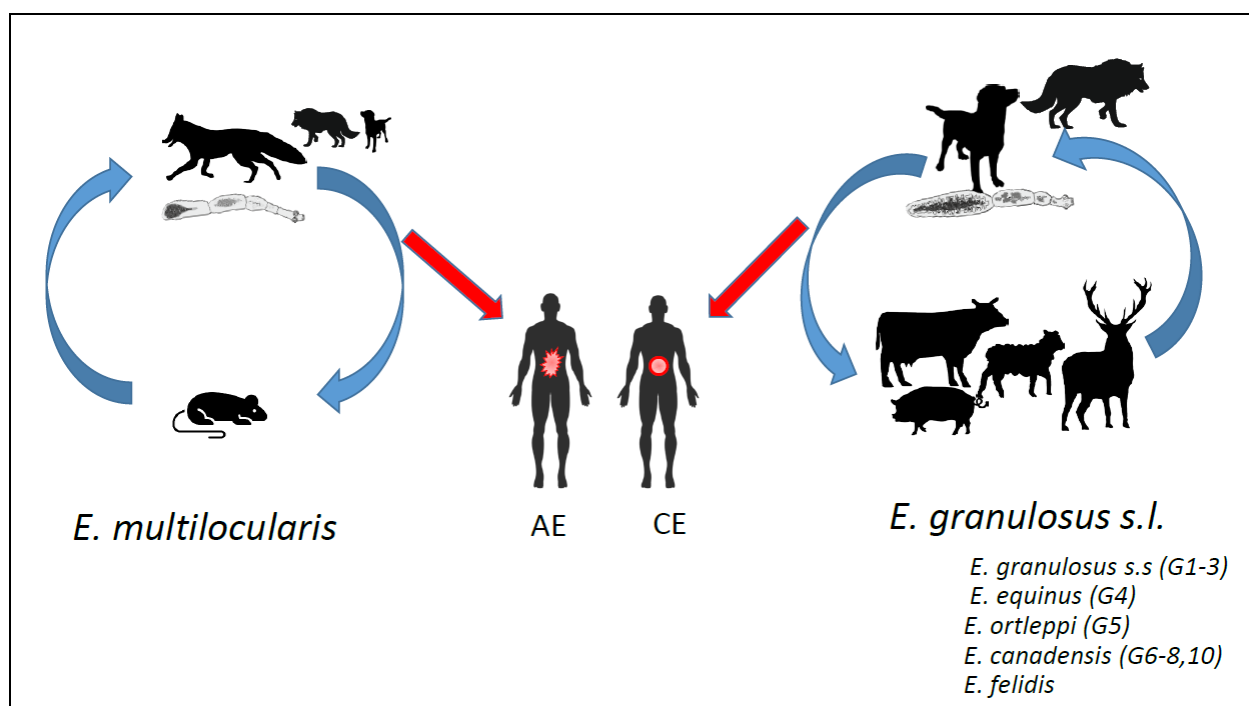
Tasiemce należące do rodzaju *Echinococcus* (rodzina *Taeniidae*) obok zarodźca malarii są zaliczane do najgroźniejszych pasożytniczych czynników zoonotycznych. W ostatnich latach problem echinokokozy stał się jednym z najważniejszych zagadnień dotyczących chorób odzwierzęcych. Wzrost zagrożenia ze strony tych pasożytów w Europie dotyczy głównie gatunku *E. multilocularis* występującego u wolno-żyjących lisów. Ekstensywność inwazji tych pasożytów u lisów na przestrzeni 10- 20 lat wzrosła w wielu krajach kilkukrotnie - np. w Polsce w niektórych województwach z kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu procent. Należy jednocześnie zauważyć, że stale rosnąca liczebność populacji lisów – spowodowana między innymi profilaktyką wścieklizny – wpływa na zmianę zachowań lisów, które coraz częściej zbliżają się do siedlisk ludzkich. Zwiększa to znacząco ryzyko zarażania się ludzi. W Polsce odnotowano do tej pory ok. 50 przypadków najgroźniejszej postaci echinokokozy - alweokokozy (wywołanej przez formy larwalne *E. multilocularis*). Nie należy także lekceważyć zagrożenia, jakie może stanowić dla zdrowia i życia ludzi gatunek *E. granulosus*, występujący głównie u psów. Badania przeprowadzone w województwie lubelskim testem immunoenzymatycznym wykazały obecność tego pasożyta u ok. 9 % psów (3). Liczba potwierdzonych przypadków bąblowicy u ludzi w ostatnich latach osiągała od 20 do 65 przypadków rocznie (wg. PZH).

To, co wyróżnia tasiemce z rodzaju *Echinococcus* od innych tasiemców z rodziny *Taeniidae* to ich niewielkie rozmiary. Podczas gdy tasiemce *Taenia* spp. mogą osiągać kilkumetrową długość, a ich strobilla może liczyć setki, a nawet tysiące członów to długość tasiemców *Echinococcus* spp. sięga co najwyżej kilku milimetrów, a strobilla zwykle nie liczy sobie więcej niż 6 członów.

Opisano 5 gatunków tasiemców z rodzaju *Echinococcus*: *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligartha*, *E. vogeli* i *E. shiquicus*. Tasiemiec *E. granulosus* jest gatunkiem kosmopolitycznym, *E. multilocularis* występuje głównie na Półkuli Północnej, *E. oligarthus* i *E. vogeli* występują w Ameryce Środkowej i Południowej, natomiast *E. shiquicus* stwierdzano tylko w Tybecie. Mimo wielu cech wspólnych gatunki tasiemców z rodzaju *Echinococcus* różnią się budową poszczególnych stadiów rozwojowych.



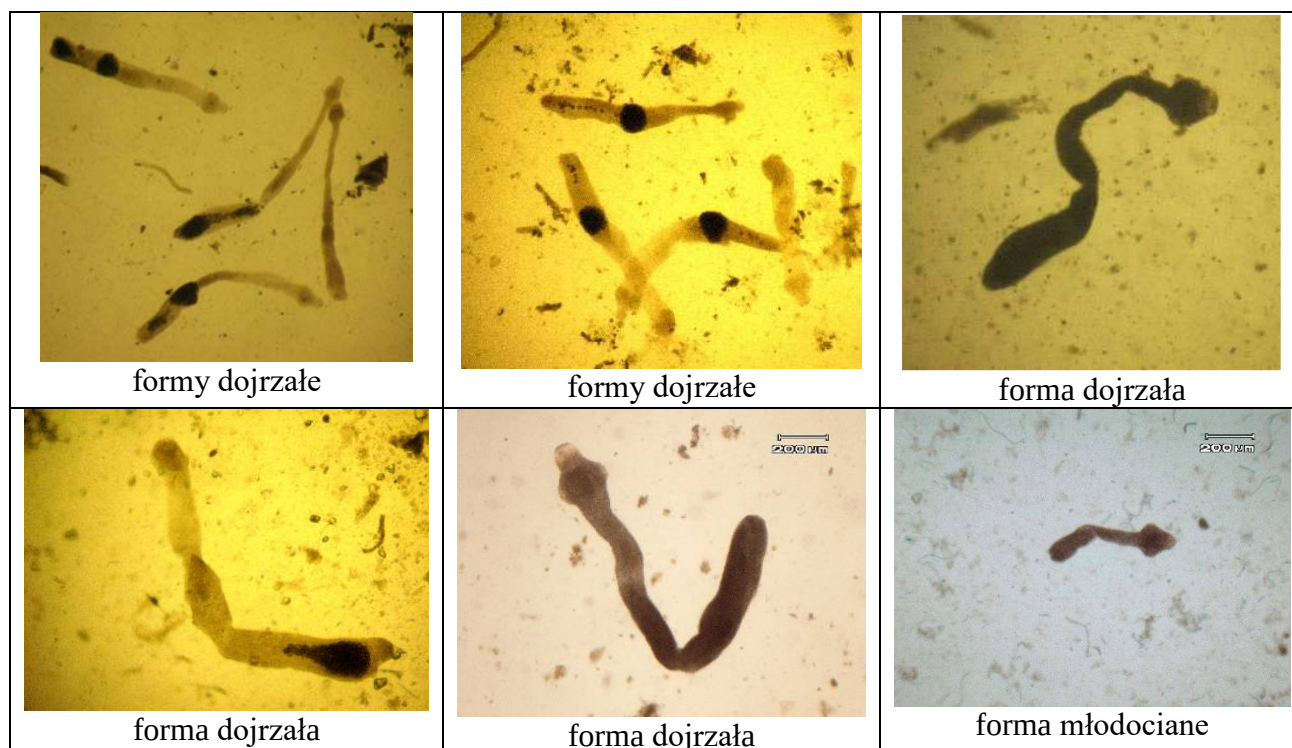
Ryc. 1. Porównanie budowy dojrzałych tasiemców z rodzaju *Echinococcus*
A: *E. granulosus*; **B:** *E. multilocularis*; **C:** *E. oligartha*; **D:** *E. vogeli*



Ryc.2. Cykle rozwojowe *Echinococcus multilocularis* i *E. granulosus s.l.* (J.Karamon)

Echinococcus multilocularis

E. multilocularis jest to tasiemiec należący do rodziny Taenidae. Oprócz niego w rodzaju *Echinococcus* wyróżnia się jeszcze cztery gatunki: *E. granulosus*, *E. vogel*, *E. oligarthus* i *E. shiquius*, z czego jednak trzy ostatnie nie występują w Europie. Cykl rozwojowy *E. multilocularis* jest złożony. W typowym cyklu rozwojowym rolę żywiciela ostatecznego, w którego organizmie zachodzi rozmnażanie płciowe tego pasożyta, pełni lis (*Vulpes vulpes*). Stosunkowo często notowany jest także u jenotów (*Nyctereus procyonoides*). W rejonach arktycznych funkcję tę pełni lis polarny (*Vulpes (Alopex) lagopus*). Tasiemiec ten notowany jest także (choć znacznie rzadziej) u wilków, kojotów oraz, co ważne z punktu widzenia epidemiologicznego: u psów i kotów. W jelitach żywiciela ostatecznego rozwija się postać dojrzała. Tasiemce te charakteryzują się stosunkowo małymi rozmiarami (długość: 1,5 - 4,5mm), ciało składa się z 4-5 segmentów, skoleks zaopatrzony jest w 4 przyssawki i podwójny wieniec haków. Dojrzałe osobniki pasożytują w jelicie cienkim przytwierdzając się za pomocą narządów czepnych pomiędzy kosmkami jelitowymi. Inwazja może być bardzo intensywna (do kilkuset tysięcy tasiemców u jednego lisa). U dojrzałych osobników ostatni człon zawierający macicę wypełnioną inwazyjnymi jajami odrywa się i zostaje wydalony wraz z kałem. Jaja są bardzo odporne na warunki zewnętrzne, uważa się że w wilgotnym podłożu mogą przetrwać żywe co najmniej przez 1 rok. Jaja pozostające w środowisku zewnętrznym stanowią źródło zarażenia dla żywicieli pośrednich, u których następuje rozwój formy larwalnej tasiemca. Za typowych żywicieli pośrednich uważa się gryzonie takie jak norniki, karczowniki, nornice, piżmaki (rodzaje: *Microtus*, *Arvicola*, *Ondatra*, *Myodes*). Są to gatunki, u których najczęściej stwierdzano larwy tego tasiemce, jednak dostępne badania są dość fragmentaryczne i lista żywicieli pośrednich na pewno jest zdecydowanie dłuższa. Żywiciel pośredni zaraża się poprzez połknięcie jaja *E. multilocularis*. Uwolniona w przewodzie pokarmowym onkosfera wędruje wraz z krwią do narządów wewnętrznych (najczęściej do wątroby) i tam przekształca się w formę larwalną. Powstaje wielopęcherzykowa forma nie ograniczona zewnętrzną ścianą (nie powstaje wyraźnie odgraniczona cysta). Poprzez podziały w pęcherzykach powstają protoskoleksy. Po zjedzeniu zarażonego żywiciela pośredniego przez żywiciela ostatecznego w jelicie tego ostatniego protoskoleksy przekształcają się w postacie dojrzałe tasiemców.



Ryc. Przykładowe zdjęcia tasiemców *Echinococcus multilocularis*

Oprócz specyficznych żywicieli pośrednich jajami tego pasożyta mogą zarazić się także inne gatunki ssaków, u których nie występuje najczęściej pełny rozwój larwy (nie powstają protokoleksy) i stanowią one zazwyczaj „ślepią uliczkę” cyklu rozwojowego. Takie organizmy określane są mianem żywicieli przypadkowych, niespecyficznych lub aberracyjnych. Do tej grupy zalicza się także człowiek. W organizmie człowieka larwa *E. multilocularis* rozwija się najczęściej w wątrobie, gdzie tworzy początkowo małe, kilkumilimetrowe ogniska, które mogą z czasem powiększać swoje rozmiary (do ok. 15-20 cm). Larwa może rozprzestrzeniać się po organizmie poprzez infiltrację narządów sąsiadujących oraz poprzez przerzuty do tkanek bardziej oddalonych za pośrednictwem krwi i limfy. Rozwój choroby (alweokokozy) u człowieka jest długotrwały i związany z powolnym rozwojem larwy – bezobjawowy okres inkubacji choroby może trwać od 5 do 15 lat. Dlatego choroba najczęściej jest późno diagnozowana, a u nieleczonych pacjentów najczęściej śmiertelna. *E. multilocularis* uznawany jest za najniebezpieczniejszy zoonotyczny pasożytniczy czynnik chorobotwórczy w naszej strefie klimatycznej.

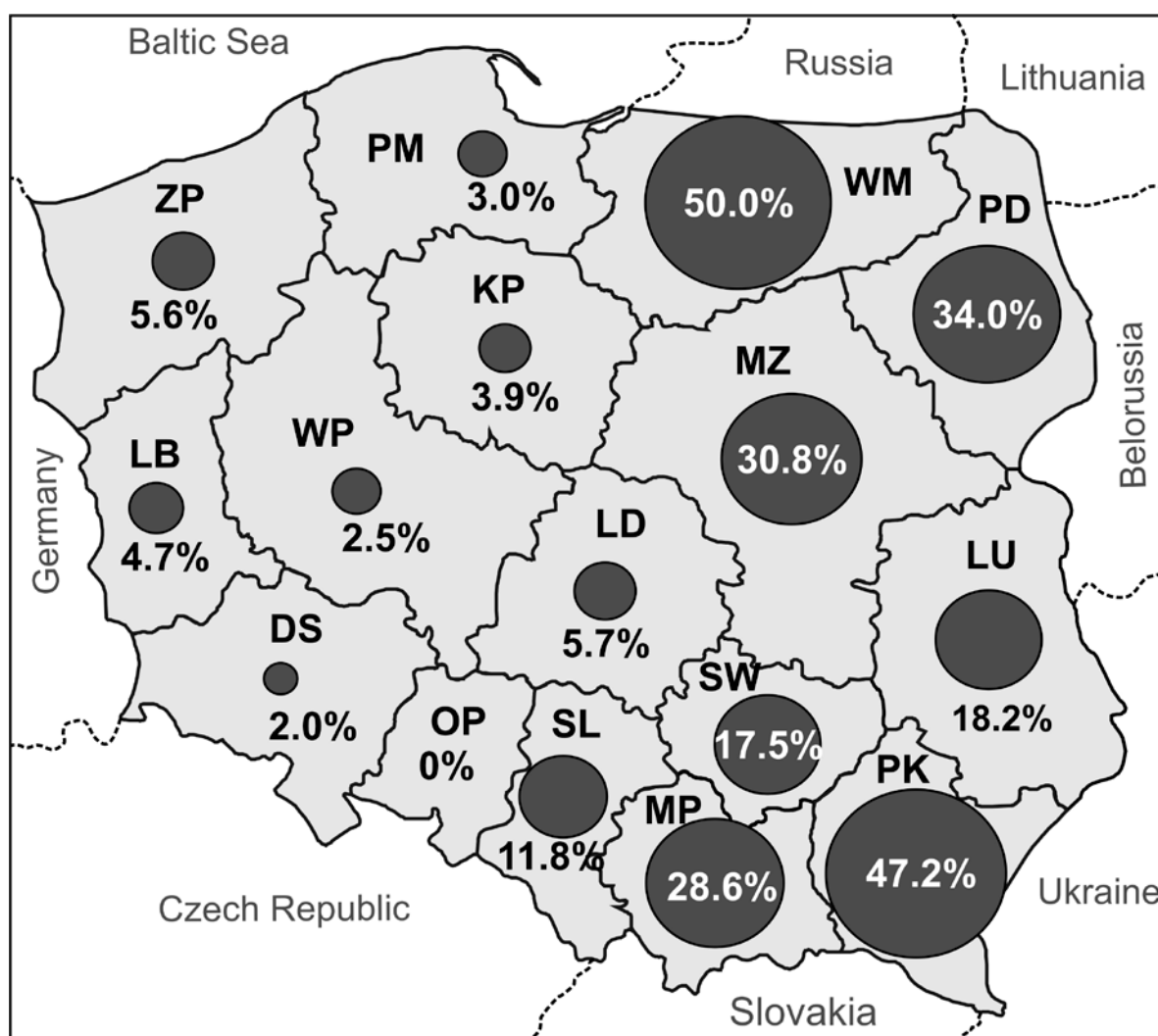
Jak wynika z cyklu rozwojowego źródłem zarażenia dla ludzi są inwazyjne jaja *E. multilocularis* obecne w środowisku zewnętrznym. Jaja tego pasożyta rozprzestrzeniane są w otoczeniu wraz z odchodami żywicieli ostatecznych. Lisy uznawane są za typowych żywicieli ostatecznych (1). Dlatego też w wielu krajach prowadzone są badania monitoringowe w

populacjach tych zwierząt, w celu oceny sytuacji epidemiologicznej. Wiedza o odsetku zarażonych lisów oraz intensywności inwazji w danym regionie pozwala wnioskować o ryzyku zarażenia dla ludzi. W Europie w ostatnich dziesięcioleciach można zaobserwować wzrost ekstensywności tej inwazji u lisów w rejonach endemicznych (2, 3). Szczególnie wyraźnie jest to widoczne w długoterminowych badaniach prowadzonych w Niemczech (1990-2009), gdzie inwazja *E. multilocularis* u lisów w centralnej części tego kraju wzrosła z 12% do 42% (4). Podobnie porównanie wyników z lat 80-tych z wynikami pierwszej dekady XXI wieku wskazuje na istotny wzrost ekstensywności tej inwazji u lisów w większości regionów wschodniej Francji.

Oprócz wzrostu odsetka zarażonych lisów na terenach endemicznych, w ostatnich dziesięcioleciach można zaobserwować także ekspansję tego pasożyta na tereny, na których dotychczas nie był stwierdzany. Mianowicie, od końca ubiegłego wieku obszar występowania tego tasiemca u zwierząt w Europie rozszerzył się z terenu obejmującego kilka krajów: Szwajcarię, część Niemiec, południowo-wschodnią Francję, Austrię (tzw. core region) na kilkanaście nowych krajów, w tym także Polskę. Z pewnością jest to związane z realną ekspansją tego pasożyta wywoływaną przez różnorodne czynniki, m.in. przez istotny wzrost liczebności populacji lisów. Jednak prawdopodobnie jest to także związane ze zwiększonym zainteresowaniem tym groźnym pasożytem ze strony naukowców, ośrodków odpowiedzialnych za zdrowie publiczne itp. Skutkiem tego było wdrożenie programów monitoringowych w krajach, gdzie wcześniej badania tego typu nie były prowadzone oraz intensyfikacja badań na terenach, gdzie prowadzone były one na małą skalę. Przykładem może być Szwecja, gdzie natychmiast po wprowadzeniu programu monitoringowego zakładającego przebadanie 10-krotnie większej liczby próbek stwierdzono pierwsze przypadki *E. multilocularis* u lisów (5).

W Polsce pierwszy przypadek *E. multilocularis* u lisa pozyskanego na terenie obecnego województwa pomorskiego został opisany w 1995 roku przez profesora Malczewskiego i wsp. (6). Od tamtego czasu przeprowadzono szereg badań w różnych regionach Polski potwierdzając szerokie rozprzestrzenienie tego pasożyta w naszym kraju (7-13). W ostatnich latach (2009-2013) Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach przeprowadził badania u lisów na obszarze całej Polski (14). Według tych badań średnia ekstensywność tej inwazji u lisów wynosi obecnie ok. 16%. Jednak wyniki wskazują na bardzo nieproporcjonalne rozmieszczenie tej inwazji na terenie kraju (ryc. 2). Widać też pewną zależność, mianowicie, tereny o wysokiej ekstensywności *E.*

multilocularis u lisów znajdują się we wschodniej połowie kraju, natomiast te o niskim odsetku zarażonych lisów - w zachodniej. Najwyższą ekstensywność notuje się w województwach warmińsko-mazurskim i podkarpackim, gdzie praktycznie co drugi przebadany lis był zarażony tym tasiemcem. Wysoki odsetek lisów pozytywnych (ok. 30%) notowany był także w województwach mazowieckim, podlaskim, małopolskim i stosunkowo wysoki w woj. świętokrzyskim i lubelskim (kilkanaście procent). Sytuacja w zachodniej połowie Polski przedstawia się zgoła inaczej – ekstensywność na tych terenach jest zdecydowanie niższa i nie przekracza kilku procent.



Ryc. Występowanie *E. multilocularis* u lisów w Polsce 2009-2013 (14) Karamon et al. 2014 (Parasitol. Res. 2014,113,317-322).

Porównanie aktualnych rezultatów z wynikami uzyskanymi w ciągu ostatnich 20 lat przez innych autorów wskazuje na dynamiczny wzrost odsetka zarażonych lisów. Jednak, wzrost ten nastąpił tylko w części terytorium Polski (wschodnia połowa). Ponadto daje się zauważyć,

że wyraźny wzrost ekstensywności rozpoczął się w pierwszych latach XXI w. – z wyjątkiem woj. świętokrzyskiego, gdzie istotną różnicę w odsetku zarażonych lisów stwierdzono dopiero pomiędzy latami 2008 i 2012 (15). W przeciwieństwie do wschodniej części kraju, w zachodniej połowie wzrost ekstensywności nie nastąpił – stosunkowo niski poziom zarażenia utrzymuje się w tych województwach przez okres ostatnich 15-20 lat .

Ponadto wyniki badań uzyskane podczas monitoringu wybranych rejonów kraju – realizowanego w ostatnich latach wskazują na dynamiczną sytuację epidemiologiczną dotyczącą tego pasożyta. Szczególnie istotny jest fakt, że w ciągu kilku lat w rejonie o bardzo niskiej ekstensywności nastąpił istotny wzrost odsetka lisów zarażonych *E. multilocularis*. Biorąc pod uwagę te dane konieczna wydaje się kontrola dynamiki zarażeń *Echinococcus* u lisów w Polsce.

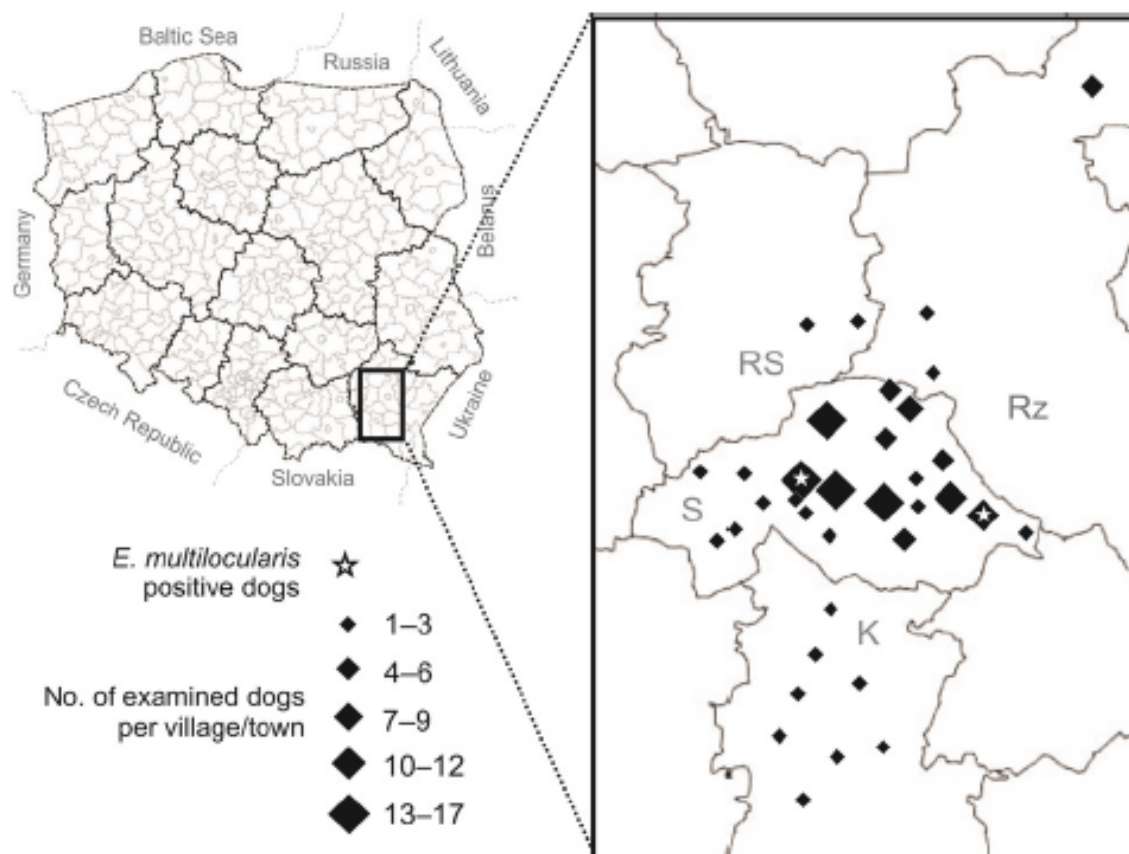
Trudno jest na tym poziomie badań wnioskować ostatecznie, co jest główną przyczyną tak nierównomiernego rozmieszczenia tej inwazji u lisów w Polsce. Wzrost w ekstensywności inwazji *E. multilocularis* u lisów, który miał miejsce w ostatnich dziesięcioleciach nie tylko w Polsce, ale także w wielu krajach europejskich, najczęściej jest tłumaczony przez gwałtowny wzrost liczebności populacji tych zwierząt, co z kolei silnie koreluje z wprowadzonymi w tym czasie szeroko-zakrojonymi programami szczepień przeciw wściekliźnie. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że pomimo że w Polsce w ciągu ostatnich kilkunastu lat populacja lisów wzrosła około czterokrotnie na obszarze całego kraju, to wzrost odsetka zarażonych tym tasiemcem lisów obserwuje się tylko we wschodniej połowie Polski – na zachodzie utrzymuje się stosunkowo niski poziom inwazji. To pokazuje, że zwiększenie liczebności populacji lisów jest z pewnością bardzo istotnym czynnikiem, jednak nie determinuje bezwzględnie wystąpienia wysokiej ekstensywności *E. multilocularis* u tych zwierząt.

W niektórych badaniach wykazano powiązanie pomiędzy odsetkiem zarażonych lisów a średnimi rocznymi temperaturami, opadami i innymi geomorfologicznymi czynnikami. Jest to głównie związane z warunkami sprzyjającymi przetrwaniu inwazyjnych jaj w środowisku. Takie zależności stwierdzono np. w Słowacji, gdzie niska średnia roczna temperatura i wysokie roczne opady okazały się czynnikiem istotnie wpływającym na rozprzestrzenienie *E. multilocularis* w tym kraju (16). Takiej ścisłej zależności nie obserwujemy w Polsce – np.: część województw z niską ekstensywnością tego pasożyta u lisów (zachodniopomorskie, dolnośląskie, pomorskie) charakteryzuje się stosunkowo wysokimi średnimi rocznymi

opadami, wyższymi niż w niektórych województwach o wysokiej ekstensywności (mazowieckie, lubelskie, podlaskie). Warunki klimatyczne zdecydowanie pełnią kluczową rolę w ograniczeniu rozpowszechnienia *E. multilocularis* w skali świata (północna półkula) lub kontynentu (w Europie południowa granica przebiega mniej więcej przez północne Włochy, Węgry i Rumunię (17-19). Jednak w skali jednego regionu lub kraju (np. Polski) zlokalizowanego w całości w rejonie endemicznym, warunki klimatyczne wydają się być jednym z wielu ważnych elementów wpływających na ekstensywność *E. multilocularis* u lisów. Kolejnym czynnikiem, który może mieć zdecydowany wpływ na nierównomierną dystrybucję inwazji jest obecność odpowiednich dla danego regionu gatunków specyficznych żywicieli pośrednich, które są niezbędnym elementem cyklu rozwojowego tego pasożyta. Na przykład, w północnych Włoszech wykazano dodatnią korelację pomiędzy występowaniem normików a stwierdzeniem inwazji *E. multilocularis* u lisów (20). Należy przypuszczać, że nie ma uniwersalnej odpowiedzi na pytanie, jaki czynnik bezpośrednio decyduje o kształtowaniu się poziomu ekstensywności tej inwazji. Jest to najprawdopodobniej zespół wielu elementów (biologicznych, geoklimatycznych) występujących i oddziałujących równocześnie w złożonych układach wzajemnych powiązań, specyficznie dla konkretnego regionu.

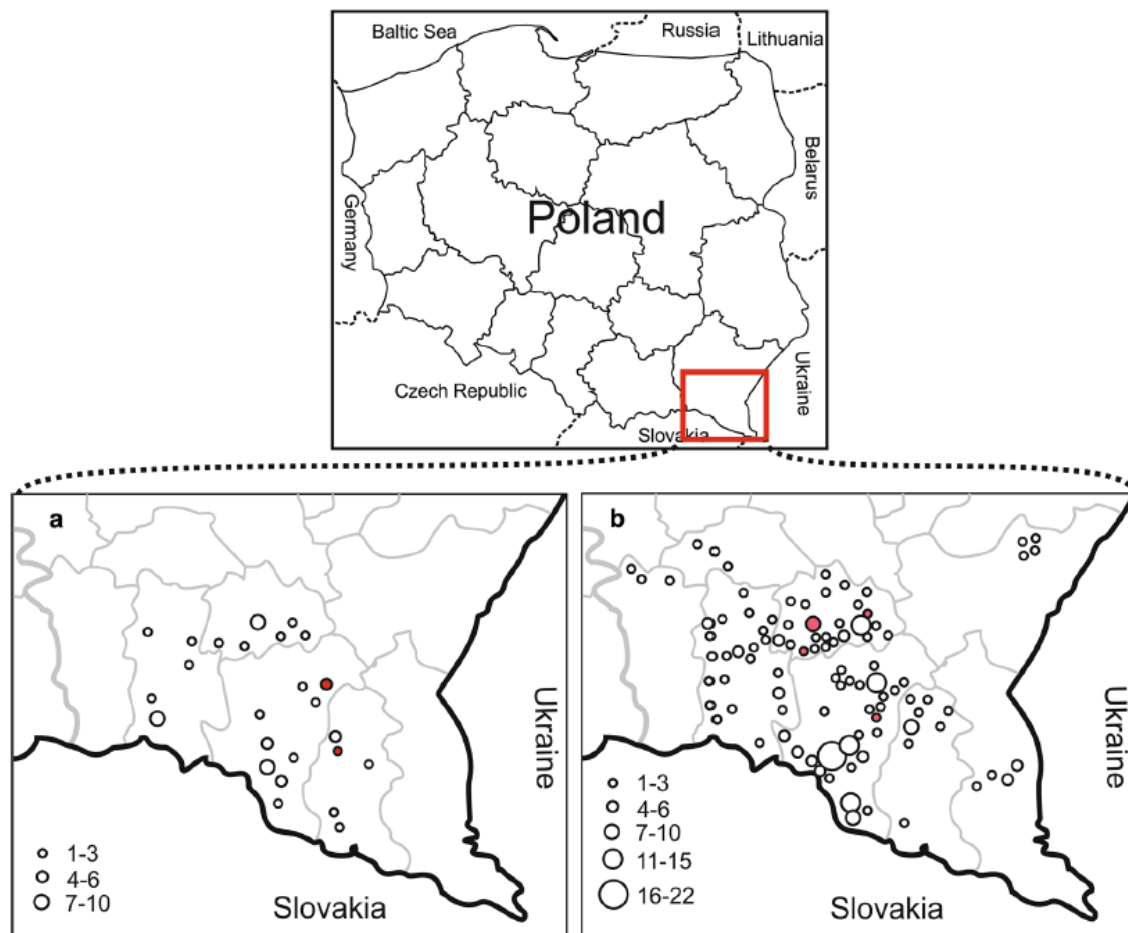
Mimo, że lis jest głównym żywicielem ostatecznym odpowiedzialnym za rozprzestrzenianie jaj stwarzających zagrożenie dla człowieka, to należy także wspomnieć o zwierzętach domowych, takich jak koty i psy. Doświadczalnie udowodniono, że w jelitach tych zwierząt zachodzi pełny rozwój tego tasiemca – powstają dojrzałe formy i wytwarzane są jaja (choć w przypadku kotów liczba wydalanych z kałem jaj i czas ich wydalania jest krótszy) (1). W niektórych krajach (np. Niemcy, Litwa, Słowacja) stwierdzano niewielki odsetek zarażonych psów lub kotów (0,3 - 3%) w zależności od rejonu badań i grupy zwierząt poddanych badaniu (21-23). Jednak ze względu na bliski i częsty bezpośredni kontakt psów i kotów z człowiekiem mogą one stanowić istotne z punktu epidemiologicznego źródło zarażenia, którego nie należy bagatelizować.

W Polsce w ostatnich latach potwierdzono obecność tej inwazji u psów – badania prowadzone w tym kierunku w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych PIWet-PIB wykazały materiał genetyczny *E. multilocularis* w kale 2 psów (spośród 148 badanych) pochodzących z rejonu endemicznego – woj. podkarpackie. Jedna z rodzin (właścicieli psów) zgodziła się na przeprowadzenie badań serologicznych w kierunku bąblowicy u osób zamieszkujących dane gospodarstwo – nie potwierdzono obecności przeciwciał specyficznych (27).



Ryc. Miejsca pobieranych próbek od psów oraz lokalizacja przypadków pozytywnych dla *E. multilocularis* [rycina z artykułu: Karamon i wsp. Folia Parasitologica 2016, 63: 018] (27)

Dalsze badania prowadzone u zwierząt towarzyszących na terenie woj. podkarpackiego (psy i koty pochodzące z gospodarstw rolnych, a także ze schroniska) potwierdziły obecność *E. multilocularis* u psów, a także po raz pierwszy w Polsce wykazały obecność tej inwazji także u kotów (28).



Ryc. Miejsca pobieranych próbek (kółka) od kotów (a) i psów (b) oraz lokalizacja przypadków pozytywnych dla *E. multilocularis* (kółka czerwone/szare). [rycina z artykułu: Karamon i wsp. *Parasites Vectors* (2019) 12:313] (28)

Obecność *E. multilocularis* u zwierząt towarzyszących człowiekowi (w dobie globalizacji i łatwości przemieszczania się na duże odległości) stwarza nowe możliwości rozprzestrzeniania się tej pasożyty na rejony, do których przeniesienie inwazji za pośrednictwem żywicieli wolnożyjących jest praktycznie niemożliwe (np. na kraje wyspiarskie). Wychodząc naprzeciw temu zagrożeniu komisja WE wydała rozporządzenie (nr 1152/2011), które reguluje zasady wwożenia psów do krajów uznanych za wolne od tej inwazji (np. uszczegóławia termin obowiązkowego odrobaczania i rodzaj środków przeciworobacznych). Rozporządzenie określa również warunki uznania kraju za wolny od tej inwazji. Na dzień dzisiejszy warunki te spełniają cztery państwa członkowskie: Irlandia, Wielka Brytania, Malta i Finlandia.

Sytuacja epizootyczna dotycząca występowania *E. multilocularis* u lisów w Polsce wskazuje na istotne ryzyko dla ludzi, szczególnie w regionach o bardzo wysokiej ekstensywności

inwazji. Należy zaznaczyć, że większość potwierdzonych przypadków alweokokozy u ludzi w Polsce zanotowano w województwie warmińsko-mazurskim (24), czyli w rejonie bardzo wysokiej ekstensywności *E. multilocularis* u lisów. Ponadto, o istotnym zanieczyszczeniu środowiska jajami tego tasienca świadczy wykrycie materiału genetycznego *E. multilocularis* w znacznym odsetku próbek gleby pobranych na terenach endemicznych (25). Co więcej, w ostatnich latach stwierdza się także w Polsce larwalne formy tego pasożyta u świń, które w tym przypadku (podobnie jak ludzie) pełnią rolę żywiciela niespecyficznego (26). Obecność form larwalnych u świń świadczy o występowaniu i dostępności inwazyjnych jaj tego pasożyta w pobliżu ludzkich siedzib.

1. Kapel C.M.O., Torgerson P.R., Thompson R.C.A., Deplazes P.: Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, raccoon dogs and cats. *Int. J. Parasitol.* 2006,36,79-86.
2. Combes B., Comte S., Raton V., Raoul F., Boue F., Umhang G., Favier S., Dunoyer C., Woronoff N., Giraudoux P.: Westward spread of *Echinococcus multilocularis* in foxes, France, 2005-2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2012,18,2059-2062.
3. Denzin N., Schliephake A., Froehlich A., Ziller M., Conraths F.J.: On the Move? *Echinococcus multilocularis* in red foxes of Saxony-Anhalt (Germany). *Transbound. Emerg. Dis.* 2014,61,239-246.
4. Staubach C., Hoffmann L., Schmid V.J., Ziller M., Tackmann K., Conraths F.J.: Bayesian space-time analysis of *Echinococcus multilocularis* infections in foxes. *Vet. Parasitol.* 2011,179,77-83.
5. Osterman Lind E., Juremalm M., Christensson D., Widgren S., Hallgren G., Agren E.O., Uhlhorn H., Lindberg A., Cedersmyg M., Wahlstrom H.: First detection of *Echinococcus multilocularis* in Sweden, February to March 2011. *Eurosurveillance* 2011,16,19836,4-6.
6. Malczewski A., Rocki B., Ramisz A., Eckert J.: *Echinococcus multilocularis* (Cestoda), the causative agent of alveolar echinococcosis in humans - first record in Poland. *J. Parasitol.* 1995,81,318-321.
7. Borecka A., Gawor J., Malczewska M., Malczewski A.: Occurrence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Poland. *Helminthologia* 2008,45,24-27.
8. Malczewski A., Gawor J., Malczewska M.: Infection of red foxes (*Vulpes vulpes*) with *Echinococcus multilocularis* during the years 2001-2004 in Poland. *Parasitol. Res.* 2008,103,501-505.
9. Ramisz A., Eckert J., Balicka-Ramisz A., Grupinski T., Pilarczyk B., Krol, Pospieszny A., Slowikowski P.: Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in foxes in the Western Poland. *Med. Weter.* 1997,53,340-342.
10. Pacon J., Soltysiak Z., Nicpon J., Janczak M.: Prevalence of internal helminths in red foxes (*Vulpes vulpes*) in selected regions of Lower Silesia. *Med. Weter.* 2006,62,67-69.
11. Machnicka-Rowinska B., Rocki B., Dziemian E., Kolodziej-Sobocinska M.: Raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*)--the new host of *Echinococcus multilocularis* in Poland. *Wiad. Parazytol.* 2002,48,65-68.
12. Borecka A., Gawor J., Malczewska M., Malczewski A.: Prevalence of *Echinococcus multilocularis* tapeworm in red foxes in central Poland. *Med. Weter.* 2007,63,1333-1335.

13. Rocki B., Malczewski A., Eckert J.: Studies on the incidence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in north-east, central and south of Poland. Wiad. Parazytol. 1999,45,391-393.
14. Karamon J., Kochanowski M., Sroka J., Cencek T., Rozycki M., Chmurzynska E., Bil ska-Zaj ąc E.: The prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in Poland-current results (2009-2013). Parasitol. Res. 2014,113,317-322.
15. Karamon J., Sroka J., Cencek T., Michalski M.M., Zieba P., Karwacki J.: Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in two eastern provinces of Poland. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2011,55,429-433.
16. Miterpakova M., Dubinsky P., Reiterova K., Stanko M.: Climate and environmental factors influencing *Echinococcus multilocularis* occurrence in the Slovak Republic. Ann. Agr. Env. Med. 2006,13,235-242.
17. Casulli A., Manfredi M.T., La Rosa G., Di Cerbo A.R., Dinkel A., Romig T., Deplazes P., Genchi C., Pozio E.: *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) of the Italian Alpine region: is there a focus of autochthonous transmission? Int. J. Parasitol. 2005,35,1079-1083.
18. Siko S.B., Deplazes P., Ceica C., Tivadar C.S., Bogolin I., Popescu S., Cozma V.: *Echinococcus multilocularis* in south-eastern Europe (Romania). Parasitol. Res. 2011,108,1093-1097.
19. Casulli A., Szell Z., Pozio E., Sreter T.: Spatial distribution and genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in Hungary. Vet. Parasitol. 2010,174,241-246.
20. Guerra D., Hegglin D., Bacciarini L., Schnyder M., Deplazes P.: Stability of the southern European border of *Echinococcus multilocularis* in the Alps: evidence that *Microtus arvalis* is a limiting factor. Parasitology 2014,141,1593-1602.
21. Dyachenko V., Pantchev N., Gawlowska S., Vrhovec M.G., Bauer C.: *Echinococcus multilocularis* infections in domestic dogs and cats from Germany and other European countries. Vet. Parasitol. 2008,157,244-253.
22. Antolova D., Reiterova K., Miterpakova M., Dinkel A., Dubinsky P.: The First Finding of *Echinococcus multilocularis* in Dogs in Slovakia: An Emerging Risk for Spreading of Infection. Zoonoses. Public. Hlth. 2009,56,53-58.
23. Bruzinskaite R., Sarkunas M., Torgerson P.R., Mathis A., Deplazes P.: Echinococcosis in pigs and intestinal infection with *Echinococcus* spp. in dogs in southwestern Lithuania. Vet. Parasitol. 2009,160,237-241.
24. Nahorski W.L., Knap J.P., Pawlowski Z.S., Krawczyk M., Polanski J., Stefaniak J., Patkowski W., Szostakowska B., Pietkiewicz H., Grzeszczuk A., Felczak-Korzybska I., Golab E., Wnukowska N., Paul M., Kacprzak E., Sokolewicz-Bobrowska E., Niscigorska-Olsen J., Czyrznikowska A., Chomicz L., Cielecka D., Myjak P.: Human Alveolar Echinococcosis in Poland: 1990-2011. Plos Neglect. Trop. D. 2013,7,e1986,
25. Szostakowska B., Lass A., Kostyra K., Pietkiewicz H., Myjak P.: First finding of *Echinococcus multilocularis* DNA in soil: Preliminary survey in Varmia-Masuria Province, northeast Poland. Vet. Parasitol. 2014,203,73-79.
26. Karamon J., Sroka J., Cencek T.: The first detection of *Echinococcus multilocularis* in slaughtered pigs in Poland. Vet. Parasitol. 2012,185,327-329.
27. Karamon i wsp. First detection of *Echinococcus multilocularis* in dogs in a highly endemic area of Poland. Folia Parasitologica 2016, 63: 018
28. Karamon i wsp. First report of *Echinococcus multilocularis* in cats in Poland: a monitoring study in cats and dogs from a rural area and animal shelter in a highly endemic region. Parasites Vectors (2019) 12:313 <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3573-x>

Echinococcus granulosus.

Echinococcus granulosus jest tasiemcem, którego formy larwalne mogą wywoływać u ludzi bąblowicę jednojamową (hydatidozę) - szeroko rozpowszechnioną zoonozę pasożytniczą, mającą medyczne i społeczno-ekonomiczne skutki u ludzi, a także zagrażającą produktywności zwierząt gospodarskich.

Cykl rozwojowy *E. granulosus* jest złożony. W typowym cyklu rolę żywiciela ostatecznego, w którego organizmie zachodzi rozmnażanie płciowe pasożyta, pełni pies (w zależności od gatunku także inne psowate lub kotowate). Dojrzałe tasiemce bytujące w jelicie cienkim żywiciela ostatecznego mają ok. 2-7 mm długości i składają się z 3 segmentów. Za pomocą narządów czepnych (podwójny wieniec haków oraz 4 przyssawki występujące na skoleksie) przytwierdzają się do błony śluzowej jelita, lokalizując się pomiędzy kosmkami. Ostatni człon zwierający rozgałęzioną macicę z jajami pasożyta odrywa się i zostaje wydalony wraz z kałem. Rozwój w jelitach (do osiągnięcia dojrzałości płciowej) trwa od 30 do 45 dni. Jaja wydane wraz z odchodami rozprzestrzeniają się w środowisku zewnętrznym, gdzie stanowią źródło zakażenia.

Inwazyjne jaja (o średnicy 30-40 μm , zawierające onkosferę wyposażoną w 3 pary haków embrionalnych oraz kilkuwarstwową ścianę) są bardzo odporne na warunki środowiskowe, co sprawia, że mogą stanowić źródło zarażenia dla żywicieli pośrednich przez bardzo długi okres. Szacuje się, że w wilgotnym środowisku oraz niskim zakresie temperatur (od +4oC do +15oC) mogą przetrwać żywe nawet do 1 roku. W niesprzyjających warunkach – przy wilgotności wynoszącej 25% giną po 4 dniach, natomiast temperatura 60-80oC zabija jaja w ciągu 5 minut. Obniżenie temperatury do -70oC powoduje, że jaja tracą inwazyjność już po upływie 96 godzin. Po połknięciu inwazyjnych jaj przez żywiciela pośredniego (którym mogą być różne gatunki zwierząt, omówione w dalszej części artykułu) następuje rozwój formy larwalnej tasiemca. Uwolniona onkosfera penetruje ścianę jelita cienkiego, następnie po dostaniu się do krwiobiegu transportowana jest do narządów wewnętrznych, najczęściej wątroby, gdzie przekształca się w larwę. Onkosfera może dotrzeć również do płuc, a także do innych organów: nerek, śledziony, mięśni czy mózgu (u różnych gatunków/szczepów występuje różna predylekcja dotycząca lokalizacji larw w organizmie żywiciela). W zaatakowanym narządzie powstaje pojedyncza cysta, wyraźnie odgraniczona ścianą zewnętrzną, która w miarę rozwoju wytwarza w swoim wnętrzu protoskoleksy, zdolne do przekształcenia się w dojrzałe tasiemce (ich liczba może dochodzić do kilku tysięcy w jednej cysty). Żywiciel ostateczny zaraża się *E. granulosus* poprzez zjedzenie tkanek lub narządów żywiciela pośredniego, zawierających rozwiniętą cystę z protoskoleksami. Człowieka zalicza

się do przypadkowych żywicieli pośrednich (niespecyficznych, aberracyjnych), gdyż nie ma znaczenia w transmisji pasożyta - stanowi „ślepą uliczkę” (47). Rozwój bąblowicy jednojamowej u człowieka jest długotrwały, związany z powolnym rozwojem larwy – okres utajenia choroby może trwać od 5 do 20 lat. Objawy choroby zależą m.in. od położenia oraz rozmiaru cysty, która rośnie bardzo powoli i przeciętnie jej średnica mieści się w zakresie 1-15 cm (35).

Szeroki zakres żywicieli pośrednich skutkuje tym, iż *E. granulosus* jest gatunkiem kosmopolitycznym. W zależności od pochodzenia żywicieli umożliwiających transmisję pasożyta wyróżnia się cykle: sylwatyyczny (leśny) i synantropijny (domowy) (47). Cykl sylwatyyczny - obejmujący wolno żyjące psowate m.in. wilka jako żywiciela ostatecznego oraz jeleniowate (jeleń, łoś, renifer) jako żywicieli pośrednich, występuje głównie w Ameryce Północnej i Eurazji. Uznaje się, że pierwotnie *E. granulosus* występował właśnie w takim cyklu rozwojowym. Zwierzęta wolno żyjące są także obecne w cyklu życiowym tego pasożyta w innych rejonach świata. W Afryce rolę żywicieli pośrednich pełnią m.in.: dzikie zwierzęta kopytne oraz zającowate, natomiast żywicielami ostatecznymi mogą być: likaon pstry, szakal, hiena, lew, ale także pies (47).

Cyklem rozwojowym *E. granulosus* mającym największe znaczenie ze względu na zagrożenie dla człowieka jest cykl domowy (synantropijny). Żywicielami pośrednimi są zwierzęta gospodarskie, tj. bydło, świnie, owce i konie, natomiast żywicielem ostatecznym jest pies. Bez wątpienia największe znaczenie dla człowieka ma cykl życiowy, w którym żywicielami pośrednimi są owce. *E. granulosus* s.s. najczęściej stwierdzany w tego rodzaju cyklu charakteryzuje się wysoką patogennością dla ludzi (34).

W Europie gatunkami najczęściej wykrywanymi u żywicieli ostatecznych (psów i wilków) są *E. granulosus* s.s. i *E. canadensis*, ponadto notowane są również *E. ortleppi* i *E. equinus* (8). Na obszarze północnej Europy, w Wielkiej Brytanii, spotykane są gatunki *E. granulosus* s.s. oraz *E. equinus*. Ich prevalencja wzrosła tam na przełomie ostatnich lat do 10,6%, co ma związek z nieodpowiednimi metodami leczenia przeciwpasożytniczego oraz domowym ubojem zwierząt (32). Na terenie Litwy stwierdzono natomiast *E. canadensis* (genotypy G6-7) u 3,8% psów (6). Nie odnotowano występowania *E. granulosus* u psów w Danii, Norwegii, Szwecji, Estonii oraz na Łotwie, mimo iż w ostatnim przypadku zarejestrowano 44 przypadki zarażenia ludzi. Na terenie Europy zachodniej zarażenia *E. granulosus* występują niezmiernie rzadko, natomiast przeciwna sytuacja panuje na wschodzie Europy, gdzie bardzo często inwazje *E. granulosus* występują wspólnie z *E. multilocularis*, jak np. w Bułgarii, Czechach i na Słowacji. W Rumunii u psów odnotowano prevalencję jedynie *E. granulosus* s.s. (genotyp

G1) na poziomie 12-22%. Dostępne dane molekularne ujawniają, że na terenie Rosji u ludzi zarejestrowano *E. granulosus* s.s. (genotyp G1) i *E. canadensis* (genotyp G6), co może wskazywać na występowanie tych gatunków u psów (wymaga to jednak potwierdzenia w dalszych badaniach) (9). Dostępne dane epidemiologiczne wskazują, że na terenie Europy południowej najczęściej występującym u psów gatunkiem jest *E. granulosus* s.s. Na terenie Hiszpanii oraz Włoch udokumentowano występowanie *E. granulosus* u wilków, co świadczy o krzyżowaniu się cyklu synantropijnego z sylwaticznym (20). Na obszarze północnych Włoch i Sycylii odnotowano przewalencję *E. granulosus* na poziomie 4-25%, natomiast w centralnej części kraju oraz na Sardynii, na poziomie 3-32% (9). W Polsce dotychczas nie prowadzono szerszych badań dotyczących ekstensywności tego pasożyta u żywicieli ostatecznych. Badania 110 jelit psów z woj. pomorskiego, małopolskiego oraz podkarpackiego przeprowadzone w 2000 r. (31) oraz badania 148 próbek kału psów z woj. podkarpackiego przeprowadzone metodą PCR w 2015 r. (26) nie dały pozytywnych rezultatów, jednak stwierdzanie form larwalnych tego pasożyta u zwierząt gospodarskich, a także u ludzi pośrednio potwierdza obecność *E. granulosus* u żywicieli ostatecznych w Polsce.

Sytuacja dotycząca występowania *E. granulosus* u żywicieli pośrednich jest dobrze udokumentowana w większości krajów europejskich. Obowiązek rutynowych badań kontrolnych zwierząt po uboju nałożony na państwa Unii Europejskiej oraz raportowanie wyników do Europejskiego Urzędu Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (dyrektywa 2003/99/EC) (15) spowodowały podjęcie działań zapobiegawczych skutkujących zdecydowanie niższą przewalencją *E. granulosus* u zwierząt gospodarskich, w porównaniu do krajów Afryki czy Azji. Najczęściej występującymi gatunkami u zwierząt gospodarskich są *E. granulosus* s.s (G1-3) oraz *E. canadensis* (G7), jednakże notowane są również *E. equinus* i *E. ortleppi*. Dostępne dane epidemiologiczne wskazują na występowanie *E. granulosus* s.s. u owiec w Grecji na poziomie 23-39%, we Włoszech 64,8% oraz Turcji 26,6%. Znacznie niższa przewalencja tego gatunku u owiec występuje na terenie Bułgarii (7%), Hiszpanii (0,5-1,2%) i Rumunii (3,4%), zaś w Niemczech i Austrii odnotowano około 1%. U bydła stwierdzono występowanie *E. granulosus* s.s. na poziomie 5,1% (Bułgaria) i 0,6% (Hiszpania) (17). Na terenie Litwy jedynym gatunkiem występującym zarówno u świń (4,1-13,2%), jak i bydła (<0,1%) okazał się *E. canadensis* (6, 17). W Polsce wg rocznych raportów Inspekcji Weterynaryjnej dotyczących chorób i innych przyczyn powodujących uznanie mięsa za niezdatne do spożycia liczba zwierząt, u których rejestrowano przypadki bąblowicy w latach od 2003 do 2013 była następująca: bydło - od 0 do 154, owce i kozy - od 0 do 6330, świny -

od ok. 56 tys. do ok. 990 tys. Analizując powyższe wyniki należy jednak brać pod uwagę fakt niskiej czułości oraz niskiej specyficzności rutynowego badania poubojowego przeprowadzanego w zakładach mięsnych. Badania molekularne przeprowadzone u świń wykazały obecność gatunku *E. canadensis* (G7) (17, 28), a inne badania, że jest to genotyp odpowiedzialny za większość inwazji u ludzi w Polsce (14).

1. Aaty H. E., Abdel-Hameed D. M., Alam-Eldin Y. H., El-Shennawy S. F., Aminou H. A., Makled S. S., Darweesh S. K.: Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* in animal and human isolates from Egypt. *Acta. Trop.* 2012, 121, 125-128.
2. Abassi I., Branzburg A., Campos-Ponce M., Abdel Hafez S.K., Raoul F., Craig P.S., Hamburger J.: Copro-diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs by amplification of a newly identified repeated DNA sequence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003, 69, 324-330.
3. Banks D. J., Copeman D. B., Skerratt L. F.: *Echinococcus granulosus* in northern Queensland. 2. Ecological determinants of infection in beef cattle. *Aust. Vet. J.* 2006, 84, 308-311.
4. Benito A., Carmena D.: Double-antibody sandwich ELISA using biotinylated antibodies for the detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in dogs. *Acta Trop.* 2005, 95, 9-15.
5. Boufana B., Umhang G., Qiu J., Chen X., Lahmar S., Boue F., Jenkins D., Craig P.: Development of three PCR assays for the differentiation between *Echinococcus shiquicus*, *E. granulosus* (G1 genotype), and *E. multilocularis* DNA in the co-endemic region of Qinghai-Tibet plateau, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013, 88, 795-802.
6. Bruzinskaite R., Sarkunas M., Torgerson P.R., Mathis A., Deplazes P.: Echinococcosis in pigs and intestinal infection with *Echinococcus* spp. in dogs in southwestern Lithuania. *Vet. Parasitol.* 2009, 160, 237-241.
7. Buishi I. E., Njoroge E. M., Boumra O., Craig P. S.: Canine echinococcosis in northwest Libya: assessment of coproantigen ELISA, and survey of infection with analysis of risk-factors. *Vet. Parasitol.* 2005, 130, 223-232.
8. Cardona G.A., Carmena D.: A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. *Vet. Parasitol.* 2013, 192, 10-32.
9. Carmena D., Cardona G.A.: Canine echinococcosis: Global and genotypic diversity. *Acta Trop.* 2013, 128, 441-460.

10. Chaabane-Banaoues R., Oudni-M'rad M., Cabaret J., M'rad S., Mezhoud H., Babba H.: Infection of dogs with *Echinococcus granulosus*: causes and consequences in a hyperendemic area. *Parasit. Vectors* 2015, 8:231. doi: 10.1186/s13071-015-0832-3.
11. Craig P., Mastin A., Kestern F., Boufana B.: *Echinococcus granulosus*: Epidemiology and state-of-the-art of diagnostics in Animals. *Vet. Parasitol.* 2015, 213, 132-148.
12. Dalimi A., Motamedi G., Hosseini M., Mohammadian B., Ghamari Z., Ghaffari Far F.: *Echinococcosis/hydatosis* in Western Iran. *Vet. Parasitol.* 2002, 105, 161-171.
13. Dinkel A., Njoroge E. M., Zimmermann A., Walz M., Zeyhle E., Elmahdi I. E., Mackenstedt U., Romig T.: A PCR system for detection of species and genotyping of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *Int. J. Parasitol.* 2004, 34, 645-653.
14. Dybicz M., Borkowski P.K., Dąbrowska J., Chomicz L.: Cases of *Echinococcus granulosus sensu stricto* isolated from Polish patients: imported or indigenous? *BioMed Res. Int.* 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/728321>.
15. Dyrektywa 2003/99/EC Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych, zmieniająca decyzję Rady 90/424/EWG i uchylająca dyrektywę Rady 92/117/EWG. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2003, L325, 31-41.
16. Eckert J., Deplazes P.: Biological, epidemiological and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, 17, 107-135.
17. EFSA: European Food Safety Authority. European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA J.* 2011, 9, 20.
18. Farias L. N., Malgor R., Cassaravilla C., Bragance C., Rue M. L. de la: *Echinococcosis* in southern Brazil: efforts toward implementation of a control program in Santana do Livramento, Rio Grande do Sul. *Revist. Instit. Medicina Trop. Sao Paulo* 2004, 46, 153-156.
19. Gołąb E., Czarkowski M.P.: *Tasiemczyce tkankowe w Polsce w 2012 roku*. *Przegl. Epidemiol.* 2014, 68, 379-381.
20. Guberti V., Bologini M., Lanfranchi P., Battelli G.: *Echinococcus granulosus* in the wolf in Italy. *Parassitologia* 2004, 46, 425-427.
21. Huttner M., Romig T.: *Echinococcus* species in African wildlife. *Parasitology* 2009, 136, 1089-1095.
22. Ibrahim K., Thomas R., Peter K., Omer R. A.: A molecular survey on cystic echinococcosis in Sinnar area, Blue Nile state (Sudan). *Chin. Med. J.* 2011, 124, 2829-2833.

23. Inangolet F.O., Biffa D., Opuda-Asibo J., Oloya J., Skjerve E.: Distribution and intensity of *Echinococcus granulosus* infection in dogs in Moroto District, Uganda. *Trop. Anim. Health. Prod.* 2010, 142, 1451-1457.
24. Jenkins D. J., Allen L., Goullet M.: Encroachment of *Echinococcus granulosus* into urban areas in eastern Queensland, Australia. *Aust. Vet. J.* 2008, 86, 294-300.
25. Jenkins D.J., Romig T., Thompson R.C.: Emergence/Re-emergence of *Echinococcus* spp. – a global update. *Int. J. Parasitol.* 2005, 35, 1205-1219.
26. Karamon J., Samorek-Pieróg M., Kochanowski M., Dąbrowska J., Sroka J., Gołąb E., Umhang G., Cencek T.: First detection of *Echinococcus multilocularis* in dogs in a highly endemic area of Poland. *Folia Parasitol.* (w druku).
27. Karamon J., Sroka J., Cencek T.: Limit of detection of sedimentation and counting technique (SCT) for *Echinococcus multilocularis* diagnosis, estimated under experimental conditions. *Exp. Parasitol.* 2010, 124, 244 – 246.
28. Karamon J., Sroka J., Cencek T.: The first detection of *Echinococcus multilocularis* in slaughtered pigs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2012, 185, 327-329.
29. Karamon J., Sroka J., Cencek T., Kochanowski M., Dąbrowska J.: Efficacy of intestinal scraping technique in the detection of *Echinococcus multilocularis* – estimation of the limit of the detection and comparison with sedimentation and counting technique. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 2012, 56, 535 – 538.
30. Larrieu E., Costa M. T., Cantoni G., Alvarez R., Cavagion L., Labanchi J. L., Bigatti R., Araya D., Herrero E., Alvarez E., Mancini S., Cabrera P.: Ovine *Echinococcus granulosus* transmission dynamics in the province of Rio Negro, Argentina, 1980-1999. *Vet. Parasitol.* 2001, 98, 263-272.
31. Machnicka-Rowińska B., Rocki B., Dziemian E., Kołodziej-Sobocińska M.: Raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) – the new host of *Echinococcus multilocularis* in Poland. *Wiad. Parazytol.* 2002, 48, 65–68.
32. Mastin A., Brouwer A., Fox M., Craig P., Guitian J., Li W., Stevens K.: Spatial and temporal investigations of *Echinococcus granulosus* coproantigen prevalence in farm dogs in South Powys, Wales. *Vet. Parasitol.* 2011, 178, 100-107.
33. Moro P., Schantz P. M.: Cystic echinococcosis in the Americas. *Parasitol. Int.* 2006, 55 (Suppl.), S181-S186.
34. Moro P., Schantz P.M.: Echinococcosis: a review. *Int. J. Infect. Dis.* 2009, 13, 125-133.

35. Nunnari G., Pinzone M.R., Gruttadauria S., Benedetto M.C., Madeddu G., Malaguarnera G., Pavone P., Capellani A., Cacopardo B.: Hepatic echinococcosis: Clinical and therapeutics aspects. *World. J. Gastroenterol.* 2012, 18, 1448-1458.
36. Omer R. A., Dinkel A., Romig T., Mackenstedt U., Elnahas A. A., Aradaib I. E., Ahmed M. E., Elmalik K. H., Adam A.: A molecular survey of cystic echinococcosis in Sudan. *Vet. Parasitol.* 2010, 169, 340-346.
37. OPS: Organization Panamericana de la Salud. Informe del Proyecto Subregional Cono Sur de Control y Vigilancia de la Hidatidosis Argentina, Brazil, Chile y Uruguay (α reunion). 2004, Montevideo, Uruguay.
38. Otero-Abad B., Torgerson P.R.: A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013, 7(6), <http://e2249.doi:10.1371/journal.pntd.0002249>
39. Parsa F., Fasihi Harandi M., Rostami S., Sharbatkhori M.: Genotyping *Echinococcus granulosus* from dogs from Western Iran. *Exp. Parasitol.* 2012, 132, 308-312.
40. Pednekar R. P., Gatne M. L., Thompson R. C., Traub R. J.: Molecular and morphological characterization of *Echinococcus* from food producing animals in India. *Vet. Parasitol.* 2009, 165, 58-65.
41. Pharo H.: New Zealand declares 'provisional freedom' from hydatids. *Surveillance* 2002, 29, 3-7.
42. Rausch R. L., Fay F. H., Williamson F. S. L.: The ecology of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda, Taeniidae) on St. Lawrence Island, Alaska .2. Helminth populations in the definitive host. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1990, 65, 131-140.
43. Romig T., Ebi D., Wassermann M.: Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Vet. Parasitol.* 2015, 213, 76-84.
44. Soriano S. V., Pierangeli N. B., Pinaciola L., Mazzeo M., Lazzarini L. E., Saiz M. S., Kossman A. V., Berggagna H. F., Chartier K., Basualdo J. A.: Molecular characterization of *Echinococcus* isolated Neuquen, Patagonia, Argentina. *Parasitol. Int.* 2010, 59, 626-628.
45. Torgerson P.R., Oguljahan B., Muminov A.E., Karaeva R.R., Kuttubaev O.T., Aminjanov M., Shaikenov B.: Present situation of cystic echinococcosis in Central Asia. *Parasitol. Int.* 2006, 55, 207-212.
46. Torgerson P.R., Shaikenov B.S., Rymukhambetova A.T., Ussanabayev A.E., Abdybekova A.M., Burtisurnov K.K.: Modelling the transmission Dynamics of *Echinococcus granulosus* in dogs in rural Kazakhstan. *Parasitology.* 2003, 126, 417-424.

47.WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. World Organisation for Animal Health and World Health Organization. 2002.

48.WHO: The control of Neglected Zoonotic Diseases: Community-based interventions for prevention and control. World Health Organization. 2010, Geneva.

49.WHO: Working to overcome the global impact of Neglected Tropical Diseases: First WHO report on Neglected Tropical Diseases. World Health Organization. 2010, Geneva.

50.Yang Y. R., McManus D. P., Huang Y., Heath D. D.: Echinococcus granulosus infection and options for control of cystic echinococcosis in Tibetan communities of Western Sichuan Province, China. PLoS Negl. Trop. Dis. 2009, 3, e426.



Inne gatunki z rodzaju *Echinococcus*

***Echinococcus oligartha*.** Żywicielem ostatecznym dla tego pasożyta najczęściej są dzikie kotowate a pośrednim – duże gryzonie. Długość dojrzałego tasiemca wynosi od 1,9 do 2,9 mm. Strobila składa się zwykle z 3 członów. Człon przedostatni zawiera gonady. Macica (bez uwypukleń, kształtu torebkowatego) umiejscowiona jest w ostatnim członie. Otwory płciowe usytuowane są nieco powyżej środka członu płciowego i około środka członu macicznego. Larwy są wielopęcherzowe, wypełnione płynem. Pojedyncza cysta może osiągać 5 cm średnicy. Najczęściej umiejscowione w narządach wewnętrznych i mięśniach. Udokumentowane są tylko 3 przypadki zachorowań u ludzi.

***Echinococcus vogeli*.** Głównym żywicielem ostatecznym jest południowo-amerykański pies leśny (*Speothus venaticus*) (rzadziej pies domowy), a pośrednim duże gryzonie. Długość dojrzałych tasiemców wynosi 3,9 do 5,6 mm. Strobila składa się zwykle z 3 członów. Człon przedostatni zawiera gonady. Macica bez bocznych uwypukleń, stosunkowo długa, umiejscowiona jest w ostatnim członie. Otwory płciowe usytuowane są poniżej środka członu płciowego i macicznego. Larwa ma budowę podobną do larwy *E. oligarthrus*. Stwierdzono ponad 40 przypadków zachorowań u ludzi.

***Echinococcus shiquicus*.** Tasiemiec ten został odkryty u lisów tybetańskich (*Vulpes ferrilata*), które pełnia rolę żywiciela ostatecznego. Żywicielem pośrednim natomiast są drobne ssaki z rzędu zajęczaków – szczekuszki (*Ochotona curzoniae*, plateau pika). Długość tego tasiemca wynosi od 1,3 do 1,7 mm. Dojrzała postać tasiemca jest najbardziej zbliżona w budowie do *E. multilocularis*, jednak występują pomiędzy nimi pewne różnice. *E. shiquicus* zbudowany jest z mniejszej liczby członów (strobilla składa się tylko z dwóch segmentów), jago haki mają mniejsze rozmiary, otwór płciowy jest umieszczony wyżej, w członie macicznym stwierdza się mniej jaj. Od *E. granulosus* odróżniają go głównie dużo mniejsze rozmiary i nie rozgałęzioną macicą. Larwa tego tasiemca lokalizuje się w wątrobie szczekuszki i występują głównie w postaci jednokomorowych cyst. Dane dotyczące zarażenia ludzi larwami tego tasiemca nie są znane.

Rozpoznawanie echinokokozy

Wykrywanie inwazji tasiemców u żywicieli ostatecznych przyżyciowo opiera się na badaniu kału, natomiast pośmiertnie polega na poszukiwaniu tasiemców zagłębionych w treści jelit. Alternatywną metodą jest wykrywanie antygenów tasiemców w kale. U żywicieli pośrednich rozpoznanie opiera się na badaniu sekcyjnym i poszukiwaniu form larwalnych (bąblowców). Badania serologiczne polegające na wykrywaniu przeciwciał nie znalazły praktycznego zastosowania w diagnozowaniu tej inwazji.

Rozpoznawanie echinokokozy u żywicieli ostatecznych

Metody pośmiertne

Najbardziej skuteczne są metody diagnostyczne bazujące na materiale uzyskanym po sekcji zwierzęcia. Metody pośmiertnego parazytologicznego badania jelit są bardzo często stosowane w diagnostyce i monitoringu inwazji *Echinococcus* spp. u zwierząt mięsożernych, szczególnie wolno żyjących. Wiąże się to głównie z niemożnością rozróżnienia w badaniu koproskopowym jaj tasiemców z rodzaju *Echinococcus* od jaj powszechnie występujących tasiemców z rodzaju *Taenia*. Opisane poniżej metody są zalecane do diagnozowania echinokokozy u żywicieli ostatecznych przez "O.I.E. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals".

Ze względu na bezpieczeństwo badającego niezbędna jest inaktywacja pasożytów. W tym celu jelita należy przed badaniem umieścić w zamrażarce o temperaturze równej lub niższej -70°C na co najmniej tydzień w celu zredukowania możliwości zarażenia wykonujących badania. Udowodniono, że temperatura -70°C utrzymywana w każdej części materiału przez co najmniej 4 dni lub temperatura -80°C przez 2 dni inaktywuje jaja *Echinococcus*.

Ilościowa metoda sedymentacyjna (sedimentation and counting technique, SCT).

Najbardziej czułą metodą - uznawaną za „złoty standard” w diagnostyce echinokokozy żywicieli ostatecznych - jest ilościowa metoda sedymentacyjna (sedimentation and counting technique, SCT). Polega ona na wyosobnieniu tasiemców z treści całego jelita cienkiego poprzez kilkukrotną sedymentację treści w płynie fizjologicznym. Jest to jednak metoda dość praco- i czasochłonna.

Metodyka:

- Jelito cienkie przeznaczone do badania powinno być uprzednio przechowywane w temperaturze $\leq -70^{\circ}\text{C}$ przez okres, co najmniej 7-u dni (w celu inaktywacji groźnych dla człowieka jaj *Echinococcus* spp.)
- Jelito rozłożyć na tacy i rozciąć wzdłuż. Jeśli makroskopowo stwierdzone zostaną duże pasożyty lub duże części treści jelita można je na tym etapie usunąć
- Rozcięte jelito pociąć na fragmenty o długości ok. 20 cm i umieścić w butelce o pojemności ok. 1 litra wypełnionej roztworem fizjologicznym. Następnie energicznie wstrząsać zakręconą butelką przez kilka sekund
- Po wytrząsaniu wyjąć fragmenty jelit z butelki - w trakcie wyjmowania przeciskać je między ramionami pęsety lub palcami w celu zdarcia powierzchni błony śluzowej.
- Treść jelita pozostałą w butelce sedymentować przez ok. 15 minut zlewając supernatant i uzupełniając butelkę roztworem fizjologicznym. Sedymentować dwa lub więcej razy - do momentu aż supernatant będzie klarowny.
- Osad badać w małych porcjach na płytkach Petriego przy użyciu mikroskopu stereoskopowego (pow. co najmniej 15x) w kierunku obecności tasiemców z rodzaju *Echinococcus*. Należy określić liczbę tasiemców stwierdzonych w całym osadzie

Metoda zeskrobin z błony śluzowej jelit (*intestinal scraping technique, IST*). Ze względu na krótki czas wykonania metoda IST jest często stosowana w szerokich badaniach monitoringowych. Jednak w porównaniu z SCT charakteryzuje ją znacznie niższa czułość. Materiał jest przygotowywany do badania mikroskopowego poprzez sporządzenie zeskrobin z błony śluzowej jelita cienkiego.

Metodyka:

- Jelito cienkie przeznaczone do badania powinno być uprzednio przechowywane w temperaturze $\leq -70^{\circ}\text{C}$ przez okres, co najmniej 7-u dni (w celu inaktywacji groźnych dla człowieka jaj *Echinococcus* spp.)
- Jelito rozłożyć na tacy i rozciąć wzdłuż. Jeśli makroskopowo stwierdzone zostaną duże pasożyty lub duże części treści jelita należy je usunąć
- Wykonać zeskrobiny z błony śluzowej jelita za pomocą szkiełek podstawowych – 5 zeskrobin z przedniej, 5 ze środkowej i 5 z tylnej części jelita.
- Szkiełka z zeskrobinami umieścić na kwadratowej płytce Petriego lekko przyciskając do płytki. (na płytce powinno zmieścić się 5 szkiełek z jednego odcinka jelita)
- Zeskrobiny badać przy użyciu mikroskopu stereoskopowego (pow. co najmniej 15x) w kierunku obecności tasiemców z rodzaju *Echinococcus*

Obydwie w/w opisane metody zostały zwalidowane i są stosowane w Krajowym Laboratorium Referencyjnym ds. echinokokozy mieszczącym się w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Metody przyżyciowe

Metody pośmiertne wykorzystywane są z powodzeniem na dużą skalę np. w monitoringu inwazji u odstrzeliwanych przez myśliwych lisów. Natomiast badania diagnostyczne dotyczące np. psów wymagają przeważnie użycia metod przyżyciowych.

Metoda z użyciem arekoliny. Hydrobromian arekoliny jest środkiem o działaniu parasympatykomimetycznym, który min. wzmacnia napięcie i motorykę mięśni gładkich jelita oraz wydzielanie gruczołów jelitowych jednocześnie paraliżując tasiemce powoduje odczepienie się ich od ściany jelita. Skutkiem tego jest wydalenie pasożytów wraz z kałem. Metoda ta była szeroko stosowana do badań przeglądowych u psów np. na Cyprze. Jest to jednak metoda bardzo inwazyjna dla badanych zwierząt, a ponadto stwarza duże zagrożenie dla badającego. Psy powinny zostać umieszczone w boksie o betonowym podłożu lub uwiązane w miejscu badania przez 2 godziny podaniu arekoliny, ponieważ przez jakiś czas mogą jeszcze wydalać jaja i tasiemce. Należy im zapewnić dostęp do wody. Miejsce, w którym przebywały psy podczas badania należy spryskać naftą i opalić płomieniem.

Wykrywanie koproantygenów. Alternatywą dla metody arekolinowej jest metoda polegająca na wykrywaniu zawartych w kale antygenów pasożytów działająca na zasadzie „kanapkowego” immunoenzymatycznego testu ELISA. Test ten umożliwia wykrycie koproantygenów już w 10-14 dni po zarażeniu. Ponadto można poddać badaniu każde zwierzę, łącznie z ciężarnymi samicami, szczeniętami, i psami ze schorzeniami serca, których nie można poddać badaniu z użyciem arekoliny. Metoda ta charakteryzuje się wystarczającą czułością i specyficznością (odpowiednio około 70% i 98%) Czułość testu zależy od nasilenia inwazji. Przy średniej inwazji w granicach 50-100 tasiemców przypadających na zwierzę czułość testu wynosi około 100%. Niestety dotychczasowi wytwórcy takich komercyjnych zestawów ELISA kilka lat temu zaprzestali ich produkcji.

Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR). Do przyżyciowych metod diagnostyki należy także zaliczyć metodę PCR, występująca w różnych modyfikacjach, umożliwiającą wykrycie specyficznych fragmentów DNA tych pasożytów kale zwierząt. Materiał genetyczny do badań metodą PCR w kierunku *Echinococcus* izolowany może być:

- izolacja DNA z jaj tasiemców wyizolowanych wcześniej z kału metodą flotacji. Zaleta jest tutaj przede wszystkim uniknięcie niekorzystnego działania różnych substancji zawartych w kale na przebieg reakcji PCR (np. inhibitorów). Minusem jest mniejsza czułość, ponieważ wstępny etap flotacji eliminuje z badań PCR próbki w których nie stwierdzono jaj tasiemców, a te nie zawsze są wykrywane w próbkach od zwierząt zarażonych (wczesna faza inwazji, niehomogeny rozkład jaj w próbce itp.)

- bezpośrednio z próbki kału – mamy do czynienia wtedy z badaniem z tzw. copro-PCR. Zaleta tego rodzaju izolacji jest możliwość wykrycia DNA zawartego nie tylko w jajach tasiemców, ale także we fragmentach jego tkanek wydalanych z kałem. Wadą jest natomiast możliwość uzyskania reakcji niespecyficznych lub zahamowania reakcji PCR poprzez liczne inhibitory zawarte w kale – dlatego też wymagane jest użycie zestawów dedykowanych do izolacji DNA z kału, zastosowanie dodatkowych kontroli lub rozcieńczeń.

Stosowane są różne odmiany techniki PCR: klasyczny PCR, nested PCR, multiplex PCR, Real time PCR.

Badanie flotacyjne. Mikroskopowe badanie kału mające na celu wykrycie jaj *Echinococcus* spp. jest metodą mało specyficzną, gdyż jaja tasiemców z rodzaju *Echinococcus* w badaniu mikroskopowym są nie do odróżnienia od znacznie częściej występujących jaj *Taenia* spp.

Rozpoznawanie echinokokozy u żywicieli pośrednich.

Rozpoznanie u zwierząt będących żywicielami pośrednimi opiera się głównie na identyfikacji form larwalnych tasiemców w badaniu pośmiertnym. Zgodnie z przepisami weterynaryjnymi w rzeźniach zwierzęta gospodarskie są poubojowo badane (badanie makroskopowe i palpacyjne) w kierunku larw *Echinococcus* spp. Larwy występują najczęściej w wątrobie, ale także w płucach, w jamie brzusznej, nerkach, ośrodkowym układzie nerwowym, szpiku kostnym i innych narządach. Trudności w rozpoznaniu może sprawiać podobieństwo larw *Echinococcus* do larw tasiemca *Taenia hydatigena* (*Cysticercus tenuicollis*), które także występują w wątrobie świń, owiec i kóz. W celu potwierdzenia przynależności gatunkowej larwy, można pobrać próbki z bąblowcami i wykonać konwencjonalnymi technikami histologicznymi preparaty barwione. Cechami specyficznymi dla larw rodzaju *E. granulosus* jest obecność w płynie wypełniającym pęcherz protoskoleksów (tzw. „piasek”) lub komór

łęgowych z protoskoleksami oraz obecność w preparacie histologicznym (barwonym techniką PAS) złożonej z wielu blaszek błony oskórkowej z lub bez wewnętrznej błony parenchymatycznej z widocznymi wieloma jądrami komórkowymi.

Do identyfikacji form larwalnych *Echinococcus* spp. zaadaptowano, z dużym powodzeniem, technikę PCR. Połączone z sekwencjonowaniem uzyskanego produktu umożliwiają identyfikację poszczególnych szczepów tych pasożytów.

Badania serologiczne, wykorzystywane w medycynie ludzkiej, nie mają istotnego znaczenia w diagnostyce echinokokozy zwierząt.

Środki bezpieczeństwa

Ze względu na możliwość zarażenia się pracowników laboratoriów i osób związanych z badaniami w kierunku echinokokozy konieczne jest zastosowanie środków bezpieczeństwa.

Materiał przesyłany do badania (zwłoki zwierząt, narządy, próbki kału) powinien być odpowiednio zabezpieczony (szczelne foliowe torby, szczelne metalowe lub plastikowe pojemniki).

Laboratorium, w którym wykonywane są badania diagnostyczne w kierunku echinokokozy powinno być wyposażone w odpowiedni system sterylizacyjny (szczegółowe wymagania dotyczące dezynfekcji zawarte są w tabeli 1).

Wskazane jest, żeby znajdowało się tam pomieszczenie do zmiany ubrania przed wejściem do laboratorium. Powinien być dostępny sprzęt ochronny taki jak: fartuchy, rękawiczki, a w razie potrzeby jednorazowe kombinezony okrywające całe ciało, maski na twarz, czepki, rękawice, okulary ochronne lub osłony. Wstęp do laboratorium powinny mieć tylko osoby upoważnione.

Zalecana jest regularna (1 raz w roku) kontrola serologiczna pracowników laboratorium w kierunku przeciwciał anty-*Echinococcus* spp.

Tabela 1. Wymagania dotyczące przygotowania próbek do badania w kierunku echinokokozy. (wg. "WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern, 2001)

Typ materiału lub obiektu	Metoda inaktywacji	Kierunek badania
Próbki kału	Gotowanie, 5 min	Badanie w kierunku jaj i członów
	Mrożenie -70°C (-80°C) przez 1 tydzień	Badanie w kierunku jaj i członów; wykrywanie koproantygenów

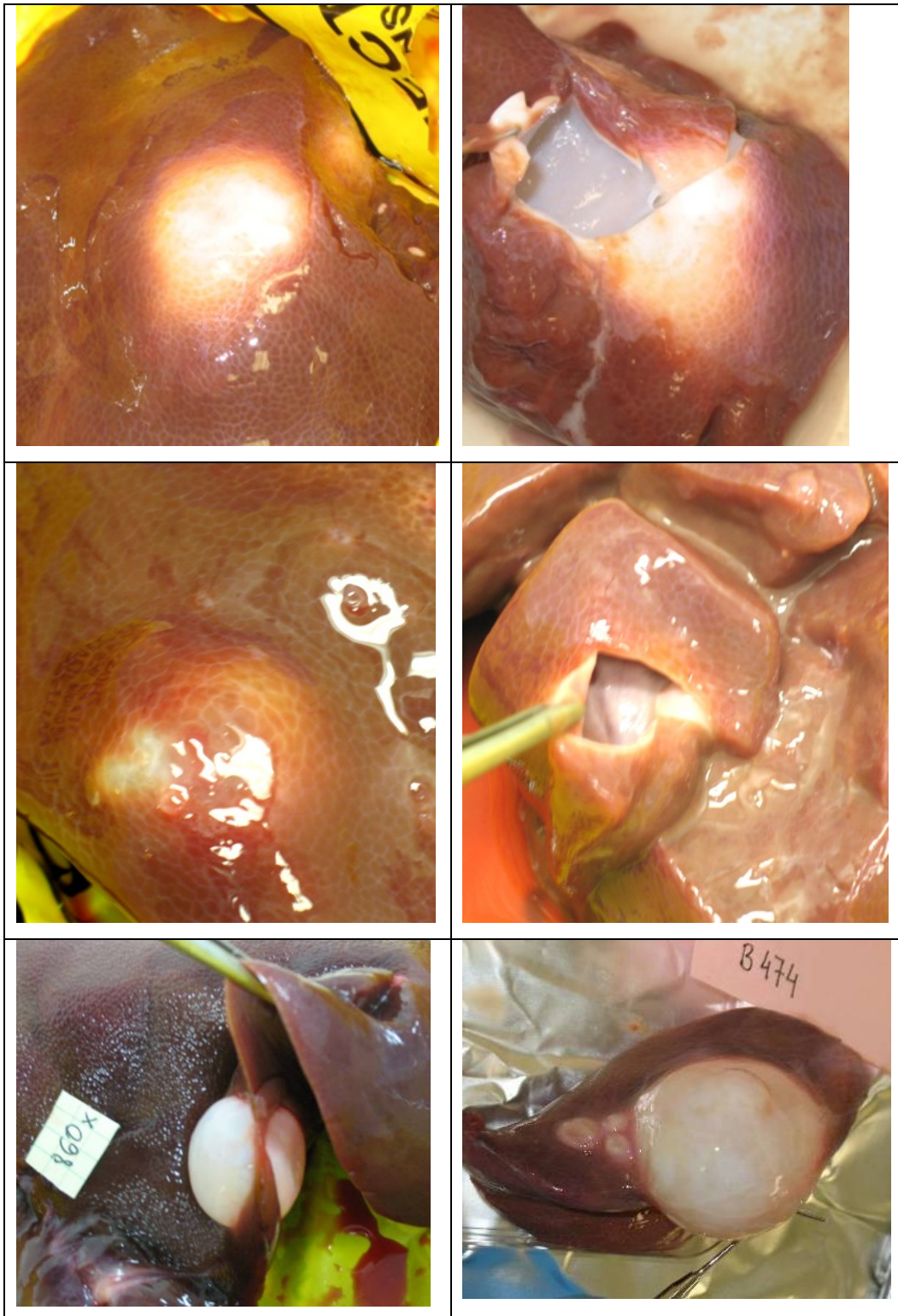
jelita lisów, psów, itd.	Mrożenie -70°C (-80°C) przez 1 tydzień	Badanie w kierunku tasiemców; Wykrywanie koproantygenów
Tkanki zawierające formy larwalne <i>Echinococcus spp.</i>	4% formalina	Badania histologiczne; usunięcie
	Mrożenie -20°C lub -70°C przez 1-2 dni	Identyfikacja form larwalnych, uzyskiwanie antygenu; Inne badania

Tabela 2. Wymagania dotyczące sprzętu zanieczyszczonego formami rozwojowymi *Echinococcus spp.* (wg. "WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern, 2001)

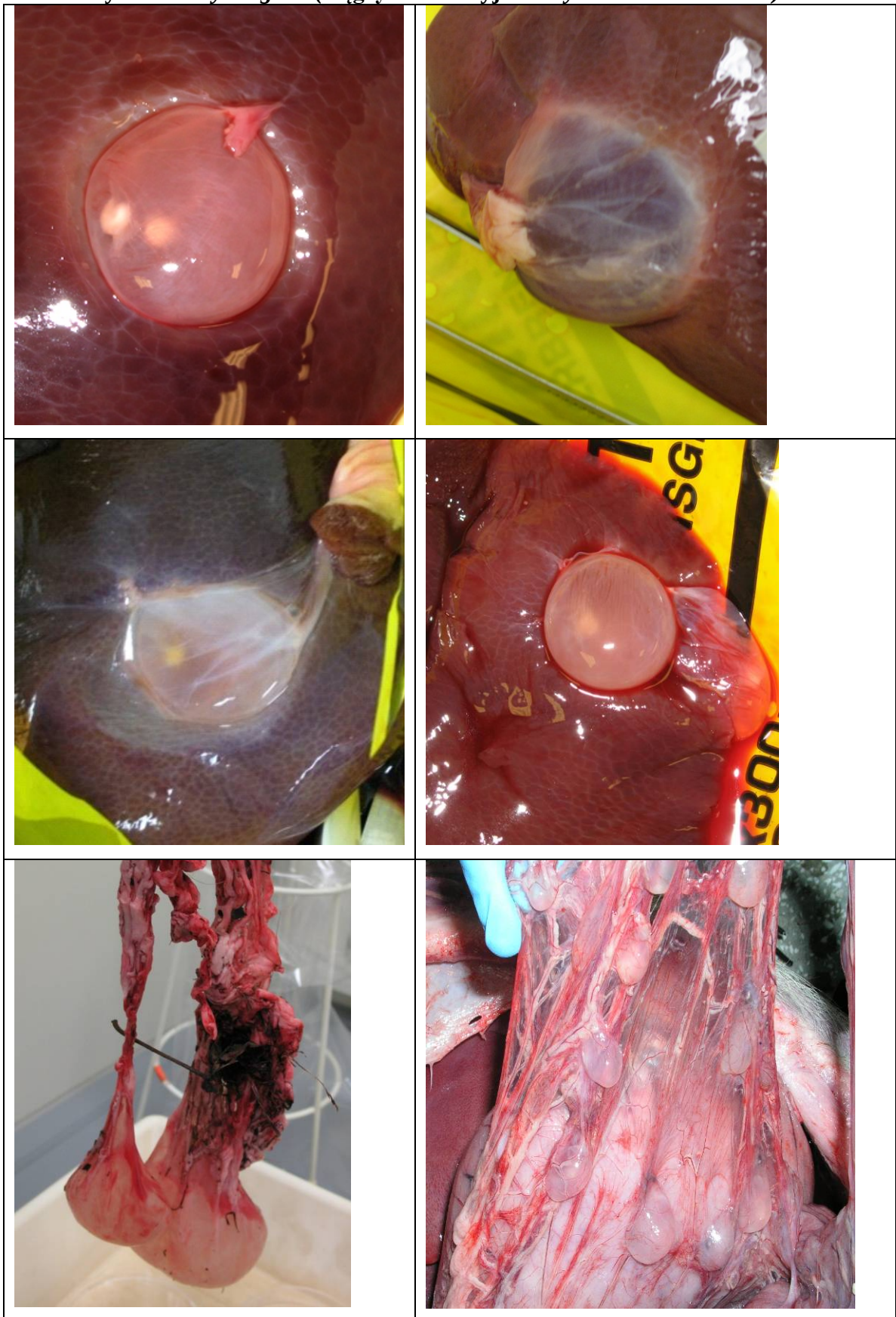
Typ materiału lub obiektu	Metoda dezynfekcji
Zanieczyszczenia jajami <i>Echinococcus spp.</i>	
Próbki kału	Gotowanie, 5 min
	Autoklawowanie
	Spalenie
Zwłoki i jelita lisów, psów itd.	Autoklawowanie
	Spalenie
Tace	Autoklawowanie
	Roztwór podchlorynu sodu (3,75%) przez 1 h
Powierzchnie robocze	Roztwór podchlorynu sodu (3,75%) przez 1 h
Metalowe narzędzia	Autoklawowanie, gotowanie
	Roztwór podchlorynu sodu (3,75%) przez 5 min
Podłoga	Wrząca woda lub gorąca mieszanina woda/ para wodna
	Roztwór podchlorynu sodu (3,75% lub wyższe) przez 2 - 3 h
Ubrania	Autoklawowanie
	Pranie w +60°C przez 1 h
Plastikowe opakowania i jednorazowa odzież ochronna	Autoklawowanie
	Spalenie
Materiał zawierający formy larwalne <i>Echinococcus spp.</i>	Autoklawowanie,
	Spalenie

Wybrane inwazje tasiemców

Larwy *Echinococcus granulosus* (w wątrobach świń)



Larwy *Taenia hydatigena* (wągry cienkoszyjne – *Cysticercus tenuicollis*)



Nietypowe formy stwierdzone w wątrobie świni zidentyfikowane metodami molekularnymi jako *Echinococcus multilocularis*.

