

Diagnostyka inwazji tasiemców u koni

JERZY LECH GUNDŁACH, ANDRZEJ BERNARD SADZIKOWSKI, KRZYSZTOF TOMCZUK

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Gundlach J. L., Sadzikowski A. B., Tomczuk K.

Diagnosis of tapeworm infestation in horses

Summary

The study compared the efficiency of a simple flotation method – acc. to Nilsson et al., 1995 and the author's own modification of this method for detecting tapeworm eggs from the Anoplocephalidae family in horse feces. Tapeworm eggs were found in 15 (11.54%) of samples in the feces of 130 horses where the flotation method was used. Tapeworm eggs were detected in all examined samples using the Nilsson et al. modified method and their total number was higher than those detected by the original method. This was a result of using samples which had a greater weight. The studies confirmed the usefulness of the sedimentation-flotation method in diagnosing tapeworm infestation in horses.

Keywords: tapeworm, horses

Informacje na temat inwazji tasiemców (rodzina *Anoplocephalidae*: *Anoplocephala magna*, *Anoplocephala perfoliata* i *Paranoplocephala mamillana*) u koni w Polsce są zaskakująco skąpe, pomimo że jak wynika ze wstępnych badań zarażonych jest nawet do kilkudziesięciu procent zwierząt w stadninach (3, 7, 16). Wydaje się, że przyczyną nie stwierdzenia tasiemczy u koni są zalecenia autorów wielu podręczników diagnozowania tej inwazji badaniem kału metodą flotacji (2, 4, 12, 18-21). W połowie lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku pojawiło się szereg doniesień o konieczności zastosowania do wykrywania jaj tasiemców w kale u koni specjalnych metod, głównie sedymentacyjno-flotacyjnych (13, 14, 17). Różnią się one między sobą szczegółami wykonania, a głównie roztworami stosowanymi do ostatniego etapu izolacji jaj – flotacji. Zaleca się między innymi nasycone roztwory sacharozy lub NaCl + sacharoza.

Celem badań było porównanie skuteczności koproscopowej diagnostyki tasiemczy u koni metodami flotacji oraz sedymentacyjno-flotacyjną metodą Nilssona i wsp. (13) i modyfikacją własną tej metody.

Materiał i metody

Materiał do doświadczenia stanowiły próbki kału 130 koni, u których badaniem koproscopowym metodą Nilssona i wsp. (13) stwierdzono naturalne inwazje tasiemców z rodziny *Anoplocephalidae*.

Badanie makroskopowe kału. Pobrane próbki rozdrabniano i dokładnie oglądano poszukując członów tasiemców.

Badanie mikroskopowe kału

Metoda Nilssona i wsp. (13). 30 g kału moczone przez 1 godzinę w 400 ml wody, następnie homogenizowano przy pomocy mieszadła elektrycznego i przecedzano przez sito

z gazy młyńskiej do zlewki. Po sedymentacji homogenatu przez 3 godziny zlewano supernatant, a osad przenoszono do probówek wirówkowych i wirowano przez 2 min. przy 800 g. Supernatant odpipetowywano, a osad zwieszano w nasyconym roztworze NaCl zawierającym 200 g sacharozy/1l roztworu. Próbkę wirowano 2 min. przy 800 g. Wierzchnią warstwę supernatantu przenoszono do komór McMastera i pod mikroskopem poszukiwano jaj tasiemców, określając ich liczbę.

Metoda flotacji. Grudkę kału o masie około 3 g zalewano w zlewce nasyconym roztworem NaCl i dokładnie rozcierano bagietką do czasu uzyskania jednorodnej zawiesiny. Zawiesinę przelewano przez sitko i lejek do kolbek Erlenmeyera o objętości 25 ml. Po 30 minutach bagietką przenoszono z powierzchni zawiesiny po 5 kropli na szkiełka podstawowe i pod mikroskopem poszukiwano jaj tasiemców, które liczono.

Modyfikacja własna metody Nilssona i wsp. (13). 50 g próbki kału zalewano 400 ml 0,0025% roztworem Tween 80, moczone przez 1 godzinę, a następnie homogenizowano mieszadłem elektrycznym i przecedzano przez sito z gazy młyńskiej do zlewki. Homogenat sedymentowano 24 godziny. Po tym czasie po odrzuceniu supernatantu osad przenoszono do probówek wirówkowych o pojemności 100 ml i wirowano 10 min przy 350 g. Po wirowaniu supernatant usuwano, a osad zawieszano w nasyconym roztworze NaCl zawierającym 500 g sacharozy/1l roztworu i ponownie wirowano. Po wirowaniu uzupełniano roztwór w probówkach do powstania menisku wypukłego i nakrywano je szkiełkami nakrywkowymi 30×40 mm. Po 30 minutach delikatnie przenoszono szkiełka nakrywkowe na szkiełka o wymiarach 45×70 mm i pod mikroskopem poszukiwano jaj tasiemców, określając ich liczbę.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej określając średnie, odchylenia standardowe oraz istotność różnic między metodami testem t-Studenta.

Wyniki omówienie

W pobranych od koni próbkach kału nie znaleziono członów tasiemców. O podobnych wynikach makroskopowych badań kału donoszą także inni autorzy (1). Poddaje to w wątpliwość możliwość diagnozowania inwazji tasiemców u koni przez znajdowanie proglotydów w kale.

Rezultaty badań koproskopowych przedstawiają tab. 1-2. Jak wynika z przedstawionych danych tradycyjna metoda flotacji okazała się mało przydatna do diagnostyki tasiemczycy u koni bowiem jaja tasiemców stwierdzono jedynie w 11,54% badanych próbek, znajdując zwykle pojedyncze jaja. Takie rezultaty są wynikiem zarówno badania małych, około 3 g próbek kału, jak też stosowania do flotacji płynów o stosunkowo niskim ciężarze właściwym – dla nasyconego roztworu NaCl wynosi on 1,2. Jak wynika z danych piśmiennictwa skuteczność metod flotacyjnych z użyciem nasyconych roztworów NaCl lub $ZnSO_4$ (o ciężarze właściwym 1,27) wynosi jedynie 2-13% i tą opinię wydają się całkowicie potwierdzać wyniki badań własnych (17).

Skuteczność metody Nilssona i wsp. i modyfikacji własnej tej metody były identyczne – jaja tasiemców stwierdzono we wszystkich badanych próbkach. Jest oczywiste, że stosując własną modyfikację metody Nilssona i wsp. (13) znaleziono średnio znacznie więcej jaj, badano bowiem 50 g próbki kału, przy 30 g w metodzie oryginalnej. Wydaje się, że także pozostałe modyfikacje metody, przedstawione w tab. 3 nie pozostawały bez wpływu na otrzymane wyniki. Modyfikacji tych dokonano uwzględniając własne wieloletnie doświadczenia w poszukiwaniu jaj pasożytów w próbkach gleby (5, 6). Stąd między innymi użycie do sedymentacji roztworu Tween 80 ułatwiającego odklejenie się jaj od stałych cząsteczek kału, wydłużenie czasu wirowania oraz wykonywanie końcowych preparatów do przeglądania pod mikroskopem jak w metodzie Willisa.

Należy jednak mieć świadomość, że według danych piśmiennictwa w warunkach terenowych skuteczność koproskopowych metod sedymentacyjno-flotacyjnych w wykrywaniu jaj tasiemców *Anoplocephala perfoliata* u koni wynosi 22-74% w porównaniu do wyników badań sekcyjnych (14, 17). Wiąże się to między

Tab. 1. Wyniki badań 130 próbek kału koni

Metoda	Liczba i odsetek prób dodatnich	Ogólna i średnia liczba stwierdzonych jaj	Liczba jaj min.-maks.
Flotacji	15 (11,54%)	29 0,22 ± 0,69a	0-3
Nilssona i wsp. (13)	130 (100%)	696 5,35 ± 7,46b	1-43
Modyfikacja własna	130 (100%)	1199 9,22 ± 14,73c	1-93

Objaśnienia: różnice statystycznie istotne pomiędzy średnimi a i b; a i c oraz b i c przy $p \leq 0,01$.

Tab. 2. Liczba próbek, w których stwierdzono jaja

Metoda	Liczba jaj stwierdzanych w próbce							
	0	1	2-5	6-10	11-20	21-30	31-50	pow. 50
Flotacji	115	5	10	0	0	0	0	0
Nilssona i wsp. (13)	0	46	41	25	11	5	2	0
Modyfikacja własna	0	33	44	22	9	13	6	3

Tab. 3. Różnice pomiędzy metodą Nilssona i wsp. (13) oraz modyfikacją własną

Procedura	Metoda	
	Nilssona i wsp. (13)	modyfikacja własna
Masa próbki kału	30 g	50 g
Moczenie próbki kału	woda	0,0025% roztwór Tween 80
Sedymentacja	3 godziny	24 godziny
Czas wirowania	2 minuty	10 minut
Siła odśrodkowa g	800	300
Zawartość sacharozy w 11 roztworu do flotacji	200 g	500 g
Liczenie jaj	w komorach McMastera	na szkiełkach

Tab. 4. Wielkość jaj tasiemców koni wg różnych autorów (w μm)

	<i>A. magna</i>	<i>A. perfoliata</i>	<i>P. mamillana</i>
Furmaga (2)	50-60	80	50-60
Hendrix (8)	50-60	65-80	37 × 51
Mehlhorn i wsp. (12)		60-80	
Rommel i wsp. (17)	70-80	65-80	37-51
Stefański, Żarnowski (19)	50-60	80	50-60
Thienpont i wsp. (20)	50-60	65-80	50-60
Ziomko, Cencek (21)	50-60	80	50-60

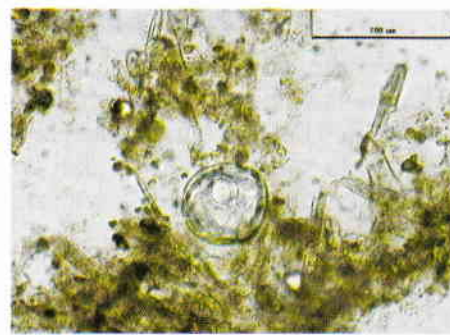
innymi z niską intensywnością inwazji i małą liczbą wydalanych z kałem jaj. Ponadto jak stwierdzili niektórzy autorzy (11,14) brak jest korelacji pomiędzy intensywnością inwazji a liczbą wydalanych z kałem jaj.



Ryc. 1. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 2. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 3. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 4. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 5. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 6. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 7. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 8. Jajo tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 9. Element kału zbliżony wyglądem do jaja tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*



Ryc. 10. Element kału zbliżony wyglądem do jaja tasiemca z rodziny *Anoplocephalidae*

Na wynik badania koproskopowego istotny wpływ może mieć również nierównomierne rozmieszczenie jaj w masach kału. Potwierdzeniem tego było wykazanie w badaniach własnych w kilkunastu procentach próbek więcej jaj w 30 g kału badanego metodą Nils-

Meana i wsp. (11) największą liczbę jaj (20/1 g kału) zanotowali w kale konia zarażonego jedynie 23 tasiemcami, podczas gdy u zwierząt opadniętych 161 lub 223 pasożytami liczba jaj w 1 g kału nie przekraczała 1.

sona i wsp. (13) niż w 50 g badanego modyfikacją tej metody.

Diagnostykę tasiemczyc u koni dodatkowo utrudnia specyficzny wygląd jaj tasiemców z rodziny *Anoplocephalidae* (ryc. 1-8). Ponadto niektóre składniki kału są do nich zbliżone wielkością, kształtem i wyglądem (ryc. 9-10). Jaja tasiemców z rodziny *Anoplocephalidae* są kształtu nieregularnego, półokrągłe, trójkątne lub czworokątne, barwy szarej lub szarobrazowej. Skorupka jaja jest trójwarstwowa. W jaju znajduje się onkosfera zaopatrzona w trzy pary haków embrjonalnych. Onkosferę otacza tzw. aparat gruszkowaty zakończony rogami, rzadko widocznymi pod mikroskopem. Rogi – ich długość i ułożenie według niektórych autorów (2, 18) pozwalają na określenie przynależności gatunkowej tasiemca, w praktyce jest to w zasadzie niemożliwe. Także podawana przez niektórych autorów wielkość jaj, jako kryterium taksonomii jest trudne do zastosowania ze względu na rozbieżności tego parametru.

tru w danych piśmiennictwa (tab. 4). Jest interesujące, że w badanych próbkach kału niejednokrotnie znajdowano jaja tasiemców o średnicy ponad 100 µm, a więc znacznie przekraczające wymiary podawane w literaturze (ryc. 8).

W ostatnich latach oceniano przydatność do diagnostyki tasiemczyc u koni metod immunologicznych. Test Elisa wykrywający przeciwciała przeciwko antygenom *A. perfoliata* był wykorzystywany w badaniach epidemiologicznych, nie znalazł jednak zastosowania do indywidualnej diagnostyki (9, 10, 15, 17). Jego specyficzność określa się na 95%, a czułość na 68%. Tak więc w przypadku tasiemczycy koni czułość testu Elisa jest zbliżona do skuteczności badania koproskopowego metodami sedymentacyjno-flotacyjnymi.

Podsumowanie

Zalecana powszechnie do badania koproskopowego metoda flotacji jest nieskuteczna w diagnozowaniu tasiemczyc u koni. Stwierdzenie jaj w kale możliwe jest po zastosowaniu metod sedymentacyjno-flotacyjnych np. metody Nilssona i wsp. lub modyfikacji własnej tej metody i badaniu dużych – kilkudziesięciogramowych próbek.

Piśmiennictwo

1. Dröbzig U., Schuster R.: Bandwurmenbefall bei Pferden – Probleme und Erfahrungen. Prakt. Tierarzt. 1997, 78, 564-567.
2. Furmaga S.: Choroby pasożytnicze zwierząt domowych. PWRiL, Warszawa 1983, s.238-240.
3. Gawor J.: Zараżenia koni wierzchowych pasożytami przewodu pokarmowego. Medycyna Wet. 2002, 58, 148-150.
4. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B.: Diagnostyka i zwalczanie inwazji pasożytów u zwierząt. Wyd. AR Lublin, Lublin 2001, s.9-11, 89-91.
5. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B., Tomczuk K.: Zanieczyszczenie jajami *Toxocara* sp. wybranych środowisk miejskich i wiejskich. Medycyna Wet. 1996, 52, 395-396.

6. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B., Tomczuk K.: Występowanie glist *Toxocara canis* u lisów oraz zanieczyszczenie środowiska gleby ferm jajami tych nicieni. Medycyna Wet. 1999, 55, 255-258.
7. Gundlach J. L., Tomczuk K., Sadzikowski A. B., Zhao L. Ch.: Występowanie tasiemców u koni pochodzących z regionu środkowo-wschodniego Polski. Annales UMCS sec. DD 2000, 55B, 294.
8. Hendrix C. M.: Diagnostic Veterinary Parasitology. Mosby Inc., St. Louis 1998, 81-83.
9. Höglund J., Ljunström B. L., Nilsson O., Uggla A.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to *Anoplocephala perfoliata* in horses sera. Vet. Parasitol. 1995, 59, 97-106.
10. Höglund J., Nilsson O., Ljunström B. L., Hellander J., Osterman Lind E., Uggla A.: Epidemiology of *Anoplocephala perfoliata* infection in foals on a stud farm in south-western Sweden. Vet. Parasitol. 1998, 75, 71-79.
11. Meana A., Luzon M., Corchero J., Gómez-Bautista M.: Reliability of coprological diagnosis of *Anoplocephala perfoliata* infection. Vet. Parasitol. 1998, 74, 79-83.
12. Mehlhorn H., Düwel D., Raether W.: Diagnose und Therapie von Haus-, Nutz- und Heimtieren. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1993, s.136.
13. Nilsson O., Ljungström B. L., Höglund J., Lundquist H., Uggla A.: *Anoplocephala perfoliata* in horses in Sweden: Prevalence, infection levels and intestinal lesions. Acta vet. Scand. 1995, 36, 319-328.
14. Proudman C. J., Edwards G. B.: Validation of centrifugation/flotation technique for the diagnosis of equine cestodiasis. Vet. Rec. 1992, 131, 71-72.
15. Proudman C. J., Holmess M. A., Sheoran A. S., Edwards S. E. R., Tress A. J.: Immunoepidemiology of the equine tapeworm *Anoplocephala perfoliata*: ageintensity profile and age-dependency of antibody subtype responses. Parasitology 1997, 114, 89-94.
16. Romaniuk K., Jaworski Z., Snarska A.: Występowanie pasożytów wewnętrznych u koników polskich z chowu leśnego. Medycyna Wet. 2001, 57, 204-206.
17. Rommel M., Eckert J., Kutzer E., Körting W., Schnieder T.: Veterinärmedizinische Parasitologie. Parey Buchverlag, Berlin 2000, s.356-362.
18. Stefański W.: Parazytologia weterynaryjna. PWRiL, Warszawa 1968, s.314-317.
19. Stefański W., Żarnowski E.: Rozpoznawanie inwazji pasożytniczych u zwierząt. PWRiL, Warszawa 1971, s.105-141.
20. Thienpont D., Rochette F., Vanparijs O. F. J.: Diagnose von Helminthosen durch Koproskopische Untersuchung. Janssen Reearch Foundation, Beerse 1979, s.76-77.
21. Ziomko I., Cencek T.: Inwazje pasożytnicze zwierząt gospodarskich. Wybrane metody diagnostyczne. Drukarnia Piotra Włodarskiego, Warszawa 1999, s.46.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Lech Gundlach, ul. Sowińskiego 8/37, 20-044 Lublin

GRAHAM D. A., CALVERT V., MC LAREN I. E.: Retrospektywna analiza surowicy i śluzu jamy nosowej bydła z Północnej Irlandii w celu ustalenia zakażenia wirusem grypy A. (Retrospective analysis of serum and nasal mucus from cattle in North Ireland for evidence of infection with influenza A virus). Vet. Rec. 150, 201-204, 2002 (7)

W badaniach użyto 84 pary surowic pochodzących od bydła z ostrych przypadków i od ozdrowieńców z 17 ognisk chorób układu oddechowego, syndromu zahamowania mleczności i biegunki w Irlandii Północnej w 1998 i 1999 r. Surowice badano testem ELISA w kierunku obecności przeciwciał dla szczepów A Eng/333/80 (H1N1) i A Eng/427/88 (H3N2) wirusa grypy ludzkiej. Przeciwciała dla szczepu A Eng/333/80 stwierdzono u 56,5% i dla A Eng/427/88 u 58,9% zwierząt, przy czym u 56% zwierząt wystąpiła serokonwersja w stosunku do jednego lub obydwu badanych szczepów wirusa. Niższe miano przeciwciał występowało w surowicach dla A Eng/427/88. Badanie 21 par z 84 par surowic na obecność przeciwciał dla szczepów ludzkich i szczepów wywołujących zachorowanie u świń wykazało wyższy odsetek surowic reagujących przy tym w wyższych mianach dla szczepów ludzkich H3N2. Miana przeciwciał dla szczepów ludzkich H1N1 i dla szczepów świńskich były bardzo niskie lub nie stwierdzano zupełnie serokonwersji. W żadnym przypadku nie wyizolowano wirusa grypy A ze śluzu lub z wymazów jamy nosowej 142 chorych zwierząt.

G.

PEDERSEN K., HANSEN H. C., JØRGENSEN J. C., BORCK B.: Typy serologiczne *Salmonella* izolowane od indyków w Danii w okresie 1995-2000 i ich oporność na leki przeciwbakteryjne. (Serovars of *Salmonella* isolated from Danish turkeys between 1995-2000 and their antimicrobial resistance). Vet. Rec. 150, 471-474, 2002 (15)

W Danii w okresie 1995-2000 badano bakteriologicznie na 14 dni przed ubojem kał indyków na obecność drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella*. W obrębie stad częstotliwość występowania salmonelli wahała się od 7,1 do 25%, przy czym stwierdzono 24 serotypy pałeczek *Salmonella*. Spośród 5 serotypów, które występowały najczęściej bo wynosiły 58,5% wszystkich izolatów *S. Heidelberg* stanowiła 16,2%, *S. Agona* 15,8%, *S. Derby* 12,4%, *S. Muenster* 7,3% i *S. Anatum* 6,8%. Ponadto kilka izolatów występowało w fazie R lub miało niepełną formułę 6,7:- i 4,12:-. Największy odsetek izolatów był oporny na ampicylinę (13,7%), 9% była oporna na streptomycynę, 8,5% na tetracyklinę, 7,7% na sulfonamidy i 4,7% na spektomycynę. Tylko 4 izolaty były odporne na kwas nalidyksowy, a 1 na enrofloksacynę. Nie występowała oporność na kolistynę, apromycynę i ceftiofur, florfenikol, amoksyicylinę z kwasem klawulanowym. Tylko 24 izolaty były odporne na 2, a maksymalnie na 6 leków przeciwbakteryjnych. Do serotypu *S. Typhimurium* należało 6 izolatów, ale żaden nie należał do typu DT 104.

G.