Echinococcus granulosus – globalny problem zoonotyczny oraz możliwości diagnostyki inwazji u zwierząt

MAŁGORZATA SAMOREK-PIERÓG, JACEK KARAMON, TOMASZ CENCEK

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 17.03.2016

Zaakceptowano 24.05.2016

Samorek-Pieróg M., Karamon J., Cencek T.

Echinococcus granulosus – a global zoonotic problem and diagnostic possibilities in animals

Summary

Echinococcus granulosus is a tapeworm, the larval forms of which are causative agents of cystic echinococcosis: a dangerous, widespread zoonotic disease. It is a cosmopolitan species, found in many countries on all continents, thus threatening the productivity of livestock and the health of the people around the world. With the development of molecular methods, several distinct species were separated from *E. granulosus* s.l., differing in host range, geographical distribution, morphology of mature and larval forms, time of maturation and location of the larvae in individual organs. The purpose of the present review is to summarize current knowledge about the epidemiology and geographical distribution within the species *E. granulosus* s.l. in definitive hosts (dogs) as well as intermediate hosts (livestock). The paper also indicates the most epidemiological relevant genotypes of *E. granulosus* in a particular area. Moreover, methods of diagnosis of the parasite and the risk factors favorable to its spread and infection are described in this article.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, cystic echinococcosis, zoonotic disease

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. Tasiemce te należą do rodziny *Taeniidae* oraz rodzaju *Echinococcus*, do którego zaliczane są także: *E. multilocularis*, *E. oligarthus*, *E. shiquiquis* oraz *E. vogeli*. W przeciwieństwie do pozostałych gatunków tego rodzaju *E. granulosus* jest zróżnicowany pod względem fenotypowym oraz genotypowym. Od czasu pierwszego opisanego go jako *Hydatigena granulosa* przez Batscha w 1786 r. oraz przyjęcia w 1805 r. funkcjonującej do dziś nazwy *E. granulosus* (Rudolphi) mianownictwo i podział taksonomiczny ulegał wielokrotnym zmianom. Początkowo duże różnice w obrębie tego gatunku dotyczące spektrum żywicieli, rozmieszczenia geograficznego, morfologii postaci dojrzałych i larwalnych, czasu dojrzewania i lokalizacji larw w poszczególnych narządach spowodowały powstanie licznych nowych nazw gatunkowych. W 1963 r. zostały one połączone w jeden gatunek – *E. granulosus*, w którym z kolei wyodrębniono szczepy. Wraz z rozwojem metod mo-

lekularnych na bazie analizy sekwencji DNA wyodrębniono genotypy, które w większości przypadków pokrywały się z wcześniejszym podziałem na szczepy, jednak ostatnie badania genetyczne zaowocowały koncepcją wydzielenia spośród szczepów/genotypów kilku odrębnych gatunków. Obecnie promuje się podział *E. granulosus sensu lato* (tj. w szerszym rozumieniu) na: *E. granulosus sensu stricto* (obejmujący szczep owczy, genotypy G1-3), *E. equinus* (obejmujący szczep koński, genotyp G4), *E. ortleppi* (obejmujący szczep bydłowy, genotyp G5), *E. canadensis* (obejmujący szczepy: świński (G7), wielbłądzi (G6), szczepy dotyczące zwierząt jeleniowatych (G8 i G10) oraz *E. felidis* (obejmujący szczep lwi) (10, 43). Na potrzeby tego opracowania wymienione gatunki (szczepy) będą omawiane w niektórych miejscach wspólnie, a nazwa *E. granulosus* będzie używana w odniesieniu do całej grupy *E. granulosus sensu lato*.

Biologia i cykl rozwojowy

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 tasie mce 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 zawierający 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 wydalone 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 +4°C do +15°C) mogą przetrwać żywe nawet do 1 roku. W niesprzyjających warunkach – przy wilgotności wynoszącej 25% giną po 4 dniach, natomiast temperatura 60-80°C zabija jaja w ciągu 5 minut. Obniżenie temperatury do -70°C 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 tasie mca. 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 tasie mce (ich liczba może dochodzić do kilku tysięcy w jednej cyście). 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 (jeleni, łos, 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, szkał, 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).

Występowanie

Europa. 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 odmienna 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 południowej Europy 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 sylwatycznym (20). Na obszarze północnych Włoch i Sycylii odnotowano prevalencję *E. granulosus* na poziomie 4-25%, na-

tomiast 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 prevalencją *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 prevalencja 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, świnię – 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).

Afryka. *E. granulosus* jest szeroko rozpowszechniony we wszystkich krajach północnej Afryki (m.in.: Tunezji, Maroku, Algierii, Egipcie i Libii), a także w większości krajów subsaharyjskich, począwszy od Sudanu do Afryki Południowej. Obecnie brak dostępnych danych epidemiologicznych z terenów Afryki zachodniej, centralnej oraz południowej. Problem

zarażenia *E. granulosus* wynika głównie z bliskiego kontaktu pasterzy z psami, braku higieny, domowego uboju zwierząt pozbawionego nadzoru weterynaryjnego, karmienia psów surowymi resztkami, dużej liczby bezpańskich psów i przede wszystkim braku świadomości na temat powiązania wyżej wymienionych czynników z bąblowicą oraz ograniczonym dostępem do usług medycznych (8, 9, 43). W roli żywicieli ostatecznych w Afryce występują: psy, szakale, hieny, dzikie psowate, lisy oraz lwy. Żywicielami pośrednimi mogą być: owce, kozy, bydło, wielbłądy, świnię i koniowate. Dostępne dane molekularne wskazują na występowanie w Afryce: *E. granulosus* s.s. (G1-3), *E. ortleppi* (G5), *E. equinus* (G4), *E. canadensis* (G6-10) oraz *E. felidis* (21). Opublikowane dane epidemiologiczne na temat prevalencji *E. granulosus* u żywicieli ostatecznych w krajach afrykańskich wskazują na wysoki odsetek zarażenia psów, m.in. w Ugandzie (66%), Maroku (55-58%), Kenii (26-33%), Libii (20-26%), Etiopii (17-62%), Egipcie (5-16%) i Tunezji (3-21%) (7, 23).

Dostępne dane molekularne na temat prevalencji *E. granulosus* w Afryce u zwierząt gospodarskich, pełniących funkcję żywicieli pośrednich, wskazują na występowanie wszystkich wspomnianych szczepów, z wyjątkiem *E. felidis*. W większości krajów afrykańskich, gdzie odnotowano występowanie bąblowicy u owiec (Algieria, Etiopia czy Tunezja), czynnikiem sprawczym okazał się *E. granulosus* s.s., poza Sudanem, gdzie występuje jedynie *E. canadensis* (G6-7) na poziomie 11,3% (8, 22). Dostępne dane epidemiologiczne wskazują na występowanie u bydła 3 gatunków: *E. granulosus* s.s., *E. ortleppi* oraz *E. canadensis*. Szczep G1 dominuje w większości zarażeń w Algierii (13,9%), Etiopii (16,8%) i Tunezji, natomiast w Sudanie dominują szczepy G6 i G7 (2,7%) (22). W krajach takich jak: Algieria, Etiopia, Libia oraz Tunezja za zarażenia wielbłądów odpowiedzialny jest zarówno *E. granulosus* s.s., jak i *E. canadensis*, zaś w Egipcie i Sudanie u wielbłądów występują jedynie genotypy G6 i G7 (22, 36). Dane molekularne na temat prevalencji *E. granulosus* u świń wskazują na występowanie jedynie genotypu G6 w Egipcie (na poziomie 0,7%), natomiast w Kenii genotypów G1, G5 oraz G6-7 (1, 13).

Azja. *E. granulosus* występuje endemicznie w większej części Azji, w tym w północnych i zachodnich Chinach oraz północno-wschodniej Syberii. Transmisja pasożyta odbywa się tutaj głównie za pośrednictwem cyklu synantropijnego, gdzie żywicielem ostatecznym jest pies, a żywicielami pośrednimi mogą być: owce, kozy, bydło, bawoły, wielbłądy, jaki, renifery, łosie oraz świnię. Na obszarze Chin, Iranu oraz Kazachstanu odnotowano występowanie dzikich zwierząt mięsożernych, w tym: szakali, lisów i wilków, jako żywicieli ostatecznych, co wskazuje na krzyżowanie się cyklu domowego z sylwaticznym (8, 12). Dostępne dane molekularne wskazują na występowanie u psów

w Azji: *E. granulosus* s.s., *E. ortleppi* oraz *E. canadensis*. Odsetek zarażenia psów plasuje się na poziomie: 6-28% w Kazachstanie, 11-19% w Kirgistanie, 15% w Tadżykistanie oraz 8-20% w Uzbekistanie. Na wspomnianych wyżej obszarach najczęściej występującym gatunkiem okazał się *E. granulosus* s.s. (33-57%) (8, 45, 46). Na obszarze zachodniej Azji, m.in. w Iraku prewalencja *E. granulosus* s.l. u bezpiecznych psów wynosiła 17-50%, natomiast w Iranie i Jordanii, odpowiednio, 13-48% oraz 14-30%, w tym najczęściej stwierdzany był *E. granulosus* s.s. (75-100%) (8, 39). Na terenie Chin wskaźnik prewalencji *E. granulosus* s.l. wynosi 8-67%, zależy od regionu oraz populacji badanych psów. W niektórych populacjach psów stwierdzono zarażenia mieszane *E. granulosus* oraz *E. multilocularis*. Dostępne dane molekularne dowodzą, że najczęściej występującym genotypem jest G1 (*E. granulosus* s.s.), który ponadto jest odpowiedzialny nie tylko za większość zarażeń psów i zwierząt gospodarskich, ale także ludzi.

Na podstawie dostępnych danych epidemiologicznych wnioskuje się, że najczęściej występującym u żywicieli pośrednich na terenie Azji gatunkiem jest *E. granulosus* s.s. – jedyny gatunek odnotowany na obszarze Chin, Japonii i Pakistanu. Jego prewalencja u owiec wynosi 52,6% w Chinach oraz 7,5% w Pakistanie (45, 50). W Indiach i Iranie gatunek ten jest odpowiedzialny za 25-100% zarażeń u owiec, natomiast za pozostałą część – *E. canadensis* G6-7 (8). Dostępne dane epidemiologiczne dotyczące zarażeń u świń wskazują na prewalencję *E. granulosus* na poziomie 0,9% (Indie), 4,9% (Turkmenistan) oraz 6-8% (Uzbekistan) (45). Dane molekularne ograniczają się dotychczas jedynie do Indii i wskazują na występowanie genotypu G1 oraz *E. ortleppi* (40).

Ameryka Południowa i Północna. Na obszarze Ameryki Południowej zarażenia *E. granulosus* stanowią bardzo poważny problem i związane są przede wszystkim z wypasem owiec, np. w Argentynie, Boliwii, Brazylii, Chile. Transmisja pasożyta jest możliwa poprzez cykl synantropijny, gdzie psy są żywicielami ostatecznymi, natomiast owce, kozy, bydło, koniowate i świny – żywicielami pośrednimi. Na terenie Ameryki Północnej oraz Kanady i Alaski *E. granulosus* rozprzestrzeniła się również dzięki wolno żyjącym zwierzętom, tj. wilkom (żywiele ostateczni) oraz łosiom i karibiu (żywiele pośredni) (30). Dostępne dane molekularne wskazują na występowanie równocześnie kilku gatunków *E. granulosus* s.l. na tym samym obszarze, z tym że najwyższą frekwencją odznacza się *E. granulosus* s.s. (G1), co podkreśla dominację cyklu domowego (pies – owca) w transmisji pasożyta. W Ameryce Południowej odnotowano występowanie *E. granulosus* s.s. (G1-3), *E. ortleppi* i *E. canadensis* (G6-7) (8), natomiast w Ameryce Północnej stwierdza się *E. granulosus* s.s. (G1) oraz *E. canadensis* (G7, G8 i G10) (24). Dostępne dane epidemiologiczne na temat występowania *E. granulosus* s.l. u żywicieli

ostatecznych w Ameryce Północnej wskazują na występowanie *E. canadensis* (G8) u wolno żyjących psów oraz wilków na terenie Alaski, natomiast na obszarze Kanady dodatkowo genotypu G10 (u 4-6% populacji wolno żyjących psów) (33). Na obszarze Ameryki Południowej najczęściej notowanym gatunkiem okazał się *E. granulosus* s.s. (genotyp G1) (44). Na terenie Argentyny jego prewalencja wynosi 3-19% w zależności od metody badania oraz populacji badanych psów (psy domowe 3%, psy dzikie 19%) (30). W Brazylii oraz Peru odsetek zarażenia jest zdecydowanie wyższy, odpowiednio, 12-38% (psy domowe) oraz 6-79% (6% psy dzikie, 79% psy domowe) (18).

W przypadku żywicieli pośrednich, dostępne dane epidemiologiczne dowodzą, że jedynym gatunkiem występującym u owiec na obszarze Ameryki Południowej jest *E. granulosus* s.s. (genotypy G1-3). W Argentynie zarażonych jest średnio 12% populacji owiec, w Peru 75%, w Brazylii 14%, a w Chile 7,2%. *E. granulosus* s.s. odpowiedzialny jest również w większości za zarażenia bydła (56-100% zarażeń), pozostała część zarażeń jest wynikiem obecności *E. ortleppi*. W Brazylii prewalencja *E. granulosus* s.s. u bydła wynosi 12-25%, w Peru 80%, w Argentynie 7%, natomiast w Chile 13-24% (37). Za zarażenia u kóz odpowiedzialny jest głównie *E. canadensis* (83-100% zarażeń), natomiast u świń *E. canadensis* (G7) (67-100%) oraz *E. granulosus* s.s. (14-100%) (8). Z dostępnych danych epidemiologicznych wynika prewalencja *E. granulosus* u świń na poziomie 9,8% w Argentynie oraz 4,2-14,3% w Chile (37).

Australia i Oceania. W Australii i Oceanii echinokokoza rozprzestrzeniła się w XVIII w. wraz z zarażonymi importowanymi owcami i wkrótce potem stała się poważnym problemem. Z czasem inwazja zaczęła dotyczyć także zwierząt wolno żyjących, gdzie żywicielami ostatecznymi są dingo, dzikie psy i lisy, a pośrednimi kangury i inne torbacze. Prewalencja *E. granulosus* wśród populacji dzikich psów w Australii wynosi 22-100%, natomiast u psów domowych do 24% (3, 25). Dostępne dane molekularne wskazują na występowanie na tym obszarze jedynie *E. granulosus* s.s. (G1), zarówno u żywicieli ostatecznych, jak i pośrednich (jednakże w przypadku tych ostatnich dane na temat prewalencji są bardzo skąpe) (9). W wyniku wdrożenia skutecznego programu kontroli (trwającego ponad 30 lat) Nowa Zelandia oraz Tasmania zostały uznane za kraje wolne od echinokokozy (odpowiednio, od 2000 i 1996 r.) (41).

Wykrywanie *E. granulosus* u zwierząt

Podstawą diagnostyki echinokokozy u zwierząt pełniących funkcję żywicieli pośrednich są badania pośmiertne (sekcyjne lub poubojowe), w których formy larwalne tego pasożyta rozpoznawane są makroskopowo. Badania takie, a szczególnie rutynowe badanie poubojowe, obarczone są możliwością uzyskania wyników fałszywie ujemnych (przy niewielkich bądź

nietypowych zmianach lub we wczesnym etapie inwazji), a także fałszywie dodatnich (poprzez omyłkowe zakwalifikowanie form larwalnych innych pasożytów, np. *Taenia hydatigena*). Badania te mogą być wspomagane identyfikacją laboratoryjną wyizolowanych zmian za pomocą technik mikroskopowych, histopatologicznych oraz molekularnych. Testy serologiczne mające na celu wykrycie przeciwciał w surowicy krwi nie odgrywają większej roli w diagnostyce echinokokozy u żywicieli pośrednich ze względu na stosunkowo niską czułość oraz możliwe reakcje krzyżowe z innymi inwazjami (47).

Diagnostyka zarażeń *E. granulosus* u żywicieli ostatecznych opiera się na bezpośredniej identyfikacji pasożyta dzięki technikom mikroskopowym, immunologicznym bądź molekularnym, które mogą być przeprowadzane przyżyciowo lub pośmiertnie.

Rutynowe parazytologiczne badanie przyżyciowe polegające na wykryciu jaj pasożytów w kale (flotacja) nie jest zalecane do diagnozowania echinokokozy u żywicieli ostatecznych ze względu na podobną budowę jaj wszystkich tasiemców z rodziny Taenidae (do której należą tasiemce zarówno z rodzaju *Echinococcus*, jak i *Taenia*).

Metodą, która pozwala na przyżyciowe wykrycie i określenie gatunku bąblowca u zarażonego zwierzęcia jest badanie koproskopowe po kontrolnym odrobaczaniu – z użyciem bromowodorku arekoliny. Technika polega na doustnym podaniu roztworu, co skutkuje wydaleniem całej zawartości jelit wraz ze śluzem w krótkim czasie po aplikacji (30-60 minut). Otrzymany materiał poddaje się sedymentacji, a następnie obserwacji mikroskopowej bądź bezpośrednio obserwacji przy użyciu lupy w celu wykrycia tasiemców. Metoda cechuje się wysoką specyficznością (99-100%) – niegdyś uważana była za złoty standard wśród technik przyżyciowych i stosowana w programach monitoringowych *E. granulosus*. Jednakże skutki uboczne występujące u psów oraz prącochłonność i duże ryzyko zarażenia badających spowodowały, iż praktycznie zaprzestano jej stosowania (11).

Testy serologiczne służące do wykrywania specyficznych przeciwciał w surowicy krwi zwierząt były pierwotnie rozważane jako metoda, która ma zastąpić stosowanie arekoliny. Ich specyficzność była wysoka (ponad 90%), jednak czułość stanowiła poważny problem, bowiem wynosiła ok. 35-40% (11).

Znacznie większą czułość uzyskiwano stosując metodę ELISA do wykrywania antygenów w próbkach kału (koproantygeny). W różnych odmianach tej techniki stosowane są zarówno monoklonalne, jak i poliklonalne przeciwciała, skierowane przeciwko antygenom *Echinococcus* spp. Większość tych testów nie daje możliwości określenia gatunku bąblowca – jedynie rodzaj. Opracowano jednak testy ELISA dla *E. granulosus* o stosunkowo wysokiej specyficzności 85-95% oraz czułości 78-100% (4, 7).

Podczas gdy testy ELISA umożliwiają screening na szeroką skalę wśród żywicieli ostatecznych, potrzeba poprawienia czułości i specyficzności gatunkowej metod diagnostycznych doprowadziła do rozwoju reakcji PCR, polegającej na amplifikacji wybranego fragmentu DNA, charakterystycznego dla konkretnego gatunku bąblowca (11). W celu identyfikacji *E. granulosus* powszechnie stosuje się startery skierowane na mitochondrialny gen *cox 1*, nad 2 bądź sekwencje tandemowe DNA, które umożliwiają identyfikację pasożyta na podstawie analizy DNA izolowanego z próbek kału oraz odróżnienie tego gatunku od pozostałych pasożytów z rodziny Taenidae. Zastosowanie reakcji PCR umożliwia wykrycie zarówno infekcji patentnych, jak i prepatentnych. Ponadto w tych przypadkach można uzyskać czułość i specyficzność sięgającą 100% (2, 5).

Powszechnie stosowaną metodą pośmiertnego badania w kierunku wykrycia inwazji *Echinococcus* spp. u żywicieli ostatecznych jest ilościowa metoda sedymentacyjna (sedimentation and counting technique, SCT) (42, 47). Materiał przygotowywany jest do badania poprzez proces sedymentacji treści jelita cienkiego w roztworze soli fizjologicznej. Poszukiwanie tasiemców w treści jelit odbywa się przy użyciu mikroskopu stereoskopowego. Jest to najczulsza metoda używana do wykrywania tasiemców z rodzaju *Echinococcus* u zwierząt mięsożernych i w tym zakresie uważana jest za złoty standard. Granica wykrywalności dla tej metody określona eksperymentalnie to 10 dojrzałych tasiemców w jelicie (27).

Metoda zeszkrobin z błony śluzowej jelit (intestinal scraping technique, IST) (47) jest czasem stosowana w badaniach monitoringowych na szeroką skalę ze względu na krótki czas wykonania, jednak w porównaniu z SCT charakteryzuje się znacznie niższą czułością (29). Materiał do badań przygotowywany jest poprzez sporządzenie zeszkrobin z błony śluzowej jelita cienkiego, które są następnie obserwowane pod mikroskopem stereoskopowym w poszukiwaniu tasiemców.

Kontrola inwazji i czynniki ryzyka

E. granulosus jest gatunkiem kosmopolitycznym, występuje na wszystkich kontynentach, w ponad 100 krajach, jednakże w wyniku braku aktualnych danych epidemiologicznych z wielu krajów sytuacja dotycząca występowania tego pasożyta nie jest jasna. Dlatego też echinokokoza została włączona przez Światową Organizację Zdrowia do grupy „Lekceważonych Chorób Odzwierzęcych” (Neglected Zoonotic Diseases, NZDs) oraz „Lekceważonych Chorób Tropikalnych” (Neglected Tropical Diseases, NTDs) i uwzględniona w planie kontroli na lata 2008-2020. W 2006 r. oszacowano występowanie około 2-3 milionów przypadków bąblowicy u ludzi na świecie (48, 49). Największy odsetek ludzi zarażonych *E. granulosus* występuje w krajach basenu Morza Śródziemnego, Ameryki Południowej i Afryki Północnej. Związane jest to przede wszystkim z pasterstwem, występowaniem dużej

liczby bezpańskich psów zarażonych *E. granulosus*, domowym ubojem bez nadzoru, niekontrolowanym handlem oraz przemieszczaniem się zwierząt pomiędzy państwami. Brak odpowiedniej opieki medycznej oraz funduszy na programy ochronne także sprzyjają zarażeniom (16).

W Polsce wg danych PZH w ostatnim 20-leciu rejestruje się od 20 do 60 przypadków bąblowicy u ludzi rocznie (w oficjalnych rejestrach nie są jednak wyróżniane poszczególne gatunki bąblowca, dlatego część stanowią także przypadki bąblowicy wielojamowej). Na obszarach wiejskich współczynnik zapadalności na echinokokozę był w 2012 r. ponad 3-krotnie wyższy od współczynnika zapadalności na obszarach miejskich. Zapadalność kobiet na bąblowicę była ponad 2-krotnie wyższa niż zapadalność mężczyzn (dane z 2012 r.) (19).

Podsumowanie

E. granulosus, jako czynnik etiologiczny bąblowicy jednojamowej, stwarza poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi oraz zwierząt gospodarskich, co ma swoje skutki ekonomiczne na całym świecie (rocznie straty wynoszą ok. 2 miliardów dolarów) (38). Nadzwyczajną cechą tego pasożyta jest umiejętność adaptacji do różnych warunków środowiskowych, a w konsekwencji zdolność do skutecznego zarażania szerokiego grona żywicieli ostatecznych i pośrednich. Najbardziej rozpowszechniony na wszystkich kontynentach jest gatunek *E. granulosus* s.s. (G1), czynnik etiologiczny większości zarażeń u ludzi.

Rozwój efektywniejszych technik diagnostyki pasożytów (m.in. PCR) w ostatnich latach umożliwił zobrazowanie różnorodności w obrębie gatunku *Echinococcus* spp. oraz jego rozmieszczenia geograficznego. Z weterynaryjnego punktu widzenia, zintegrowane podejście do kontroli bąblowicy powinno być ukierunkowane na wzmożoną kontrolę domowego uboju zwierząt, badanie mięsa po uboju, prawidłową utylizację zakażonych tkanek oraz padłych zwierząt, a także kontrolę populacji bezpańskich psów, jak również rutynowe odrobaczanie psów domowych z zastosowaniem odpowiednich leków. Prace związane z tym problemem podejmowane są również w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach. Aktualnie prowadzone są badania monitoringowe dotyczące występowania *E. granulosus* u psów, a także molekularnej identyfikacji gatunkowej form larwalnych u żywicieli pośrednich.

Piśmiennictwo

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.: *Echinococcus* 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.: *Echinococcus*/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. *Dz. U. Unii Europejskiej* 2003, L325, s. 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., Bragança 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. Golqb 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., Golqb 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 (° reunion). 2004, Montevideo, Uruguay.
38. Otero-Abad B., Torgerson P. R.: A systematic review if 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 Zeland 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., Kossmann 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., Abydybekova 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.

Adres autora: mgr Małgorzata Samorek-Pieróg, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: malgorzata.samorek-pierog@piwet.pulawy.pl