Prewalencja inwazji *Uncinaria stenocephala* i *Ancylostoma caninum* u psów na terenie Polski, ze szczególnym uwzględnieniem województwa lubelskiego¹⁾

MARTA DEMKOWSKA-KUTRZEPA, KLAUDIUSZ SZCZEPANIAK,
PAULINA DUDKO*, MONIKA ROCZEŃ-KARCZMARZ, MARIA STUDZIŃSKA,
SZYMON ŻYŁA**, KRZYSZTOF TOMCZUK

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

*Zakład Hodowli Małych Przeżuwaczy i Stacja Badawcza im. prof. T. Efnera,
Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

**Student Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Otrzymano 14.05.2018

Zaakceptowano 08.06.2018

Demkowska-Kutrzepa M., Szczepaniak K., Dudko P.,
Roczeń-Karczmarz M., Studzińska M., Żyła S., Tomczuk K.

Determining the occurrence of the *Uncinaria stenocephala* and *Ancylostoma caninum* nematode invasion in dogs in Poland, with special emphasis on the Lublin region

Summary

Apart from roundworms, Ancylostomatidae nematodes are presently the most frequently observed nematodes in dogs in Poland, with two species described so far: *Uncinaria stenocephala* and *Ancylostoma caninum*. The study aimed to determine the hookworm species found in dogs in Poland, with special emphasis on the Lublin region. The study material consisted of fecal samples collected from 500 dogs from the area of the Lublin voivodeship. With the use of microscope methods, parasite eggs were found in 56.4% of the samples, dominated by the Ancylostomidae nematode (26.8%). The isolated hookworm eggs were subject to morphometric measurements, giving a mean length of 77.60 µm and width of 44.25 µm (±SD ±6.01 and ±4.54 respectively) within the range 67-91 × 36-56 µm. The hookworm larvae that hatched from the samples were subject to molecular analysis (72 samples) and all were identified as *U. stenocephala*. In the area of the Lublin voivodeship *U. stenocephala* is the dominant hookworm species in dogs.

Keywords: hookworms, *Uncinaria stenocephala*, *Ancylostoma caninum*, PCR

W obrębie rodziny Ancylostomatidae, zwyczajowo nazywanej tęgoryjcami, wyróżnia się dwie podrodziny: Ancylostomatinae i Bunostominae. Do pierwszej z nich, obejmującej gatunki pasożytujące u zwierząt mięsożernych oraz wszystkożernych należą rodzaje: *Ancylostoma*, *Globocephalus*, *Placoconus* oraz *Uncinaria*. W obrębie drugiej podrodziny wyróżnia się rodzaj *Bunostomum* (tęgoryjce przeżuwaczy) oraz *Necator* (tęgoryjce Nowego Świata człowieka

i zwierząt mięsożernych). Gatunkami tęgoryjców wywołującymi inwazje u zwierząt mięsożernych są: *U. stenocephala*, *A. braziliense*, *A. caninum*, *A. ceylanicum*, *A. duodenale*, *A. tubaeforme* i *N. americanus* (15, 24, 47). Najbardziej powszechnymi tęgoryjcami psów w Europie są gatunki *U. stenocephala* (Railliet, 1884) i *A. caninum* (Ercolani, 1859), występujące także u innych przedstawicieli rodziny psowatych (lis, wilk, kojot) (13, 54).

Analiza składu gatunkowego parazytofauny psów przeprowadzona w ostatnich latach w Polsce wykazała powszechne występowanie nicieni z rodziny Ancylostomatidae z prewalencją 2-75% (4, 7, 9, 10, 17, 19, 20, 23, 25, 30, 36, 41, 42, 49, 62).

¹⁾ Praca wykonana w ramach projektu „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

Jak wynika z piśmiennictwa, w diagnostyce parazytologicznej inwazji tęgoryjców u zwierząt psowatych rutynowo stosuje się metodę flotacji, a następnie oznacza się gatunek nicienia na podstawie cech morfometrycznych ich jaj (7, 9, 20, 30, 33, 36, 42, 51, 53, 62). Metoda ta nie pozwala na pewne zróżnicowanie gatunków *U. stenocephala* i *A. caninum*, dlatego często są one opisywane łącznie, bez określenia przynależności gatunkowej (33). Najczęściej w opisanych badaniach oznacza się jedynie rodzinę Ancylostomatidae (7-9, 23, 30, 59) lub używa określenia Ancylostoma/Uncinaria (5, 6, 11, 19, 33, 38), traktując oba gatunki nicieni jako jedną inwazję, nie przesądzając, który gatunek z tej rodziny został zdiagnozowany. Zjawisko to wynika z dużego morfologicznego podobieństwa jaj *U. stenocephala* i *A. caninum*. O ile odróżnienie osobników dorosłych tych gatunków nie stwarza trudności (różnice w budowie torebki gębowej i kopulacyjnej), to ich jaja w momencie wydalania są do siebie łudząco podobne: owalne, cienkościennie, nieznacznie różniące się wymiarami i liczbą blastomerów (*U. stenocephala* 8-16 i *A. caninum* 4-16) (2, 18, 52). Według niektórych autorów, pomimo tych trudności, różnicowanie jaj wymienionych nicieni do gatunku jest możliwe na podstawie ich cech morfometrycznych (35, 45). W dostępnym piśmiennictwie dane na temat wymiarów jaj tęgoryjców różnią się czasami dość istotnie (2, 12, 18, 29, 35, 37, 52). Rozbieżności w wymiarach jaj mogą różnić się zależnie od stopnia dojrzałości, zapłodnienia czy też ułożenia w preparacie w czasie pomiaru. Z tego powodu zaleca się różnicowanie tych form rozwojowych tęgoryjców za pomocą metod molekularnych (22, 58). Badania tego typu, podejmujące temat inwazji opisywanych gatunków tęgoryjców u zwierząt psowatych prowadzono w Polsce tylko w przypadku lisów (26). Badając przynależność gatunkową analizowano sekwencje wewnętrznych transkrybowanych segmentów rozdzielaających (ITS1 i ITS2) w rDNA. Metoda ta z powodzeniem wykorzystywana jest do klasyfikacji taksonomicznej poszczególnych gatunków tęgoryjców (22, 26).

Pomimo częstego pomijania określenia przynależności gatunkowej nicieni w diagnostyce tęgoryjczy, znaczenie medyczne i weterynaryjne *A. caninum* i *U. stenocephala* jest różne. Gatunki te charakteryzują się zróżnicowaną inwazyjnością, wynikającą z ich biologii. Inwazja typowych hematofagów, pobierających średnio 100-200 µl krwi na dobę jak *A. caninum*, szczególnie przy wysokiej intensywności inwazji objawiać się może ciężkim krwotocznym zapaleniem jelita oraz ostrą anemią z niedoborami żelaza (13, 16, 18, 47, 55). Natomiast w przebiegu inwazji *U. stenocephala*, gatunku odżywiającego się zarówno krwią jak i tkankami, ubytek krwi nie jest tak duży i wynosi około 0,3 µl krwi na dobę (2, 14, 39).

Różnice w patogenności obydwu gatunków są także konsekwencją drogi inwazji oraz rodzaju wędrowki odbywającej się w organizmie żywiciela. Larwy *A. cani-*

num oraz *U. stenocephala* mogą wnikać zarówno drogą *per os*, jak i *per cutis*. Gatunek *U. stenocephala*, u którego dominuje droga alimentarna, charakteryzuje się niższym poziomem patogenności (18, 24, 54). W tym przypadku larwy docierają do gruczołów Liberkuhna w dwunastnicy i dojrzewają płciowo, prowadząc do podostrego lub chronicznego nieżytowego zapalenia jelita (2, 18, 54). Natomiast larwy *A. caninum* mogą także penetrować do głębiej położonych błon jelita oraz innych narządów, a z powodu silnej aktywności proteolitycznej dominuje tu droga zarażenia *per cutis* (2, 15, 31, 62). Po pokonaniu bariery skórnej larwy docierają do żylnych lub limfatycznych naczyń włosowatych i przemieszczają się do serca, a następnie drogą krążenia do płuc i drogą drzewa oskrzelowego do tchawicy i krtani. Ruchy rzęsek nabłonka migawkowego i odruch kaszlu powodują przemieszczanie się larw do gardła, skąd połknięte trafiają do jelita cienkiego, gdzie dojrzewają (29, 54). Wynikiem przenikania przez skórę mogą być zmiany zapalne w obrębie naskórka, a także miejscowa reakcja alergiczna oraz procesy martwicze w obrębie skóry (18, 47). W konsekwencji wędrowki trachealnej larwy tęgoryjców mogą wywoływać mikrokrowawienia, kaszel, duszność i zmiany zapalne w płucach (18, 54).

Zarówno w wyniku wnikięcia przez skórę, jak i drogą pokarmową część larw odbywa w organizmie żywiciela rozwój z wędrowką somatyczną, kończącą się przede wszystkim w mięśniach i tkance tłuszczowej, jako larwy drzemiące (hypobiotyczne) (2, 18). W przypadku *A. caninum* w konsekwencji tej wędrowki może dojść także do inwazji drogą laktogenną. Nierozstrzygnięta pozostaje kwestia inwazji prenatalnej u ciężarnych suk. Według niektórych autorów, uwolnione z tkanek larwy przenikając przez barierę łożyskową, zarażają płody (2, 24, 29). Według innych autorów zarażenie prenatalne nie jest jednak możliwe (46).

Inwazja *A. caninum* drogą śródmaciczną i laktogenną stwarza utrudnienia w diagnostyce postaci nadostrej u bardzo młodych psów. Tęgoryjce w jelicie szceniąt nie wydalają jaj wcześniej niż 16. dnia inwazji, więc rozpoznanie przy takim przebiegu opiera się jedynie na objawach klinicznych (13, 29).

W przeciwieństwie do *U. stenocephala*, *A. caninum* stanowi także zagrożenie zoonotyczne. Pomimo że tęgoryjce uważane są za pasożyty o wąskiej specyficzności (monokseniczne), znane są przypadki inwazji *A. caninum*, mające miejsce u ludzi (22, 47, 48). Stwierdzane tu osobniki były dojrzałymi przedstawicielami obu płci, chociaż samice nigdy nie były zapłodnione (13, 47, 48). Zarażenie ludzi inwazyjnymi larwami tych pasożytów prowadzi zwykle do wystąpienia syndromu wędrującej larwy skórnej CLM (*cutaneous larva migrans*) lub eozynofilowego zapalenia jelita cienkiego (15, 46, 47). Rzadziej dochodzi do takich schorzeń, jak: eozynofilowe zapalenie płuc, miejscowe zapalenie mięśni, mieszków włosowych

lub patologiczne stany okulistyczne – syndrom *ocular larva migrans* (OLM), a także *visceral larva migrans* (VLM) (1, 15, 21, 34, 50).

Prowadzone do tej pory badania dotyczące rozprzestrzenienia gatunkowego inwazji tęgoryjców u psów na terenie Polski mają przeważnie charakter fragmentaryczny. Dla właściwej oceny stanu faktycznego konieczne stało się wypełnienie tej luki. W związku z tym głównym celem pracy była ocena prewalencji inwazji *A. caninum* i *U. stenocephala* w populacji psów na terenie Polski, ze szczególnym uwzględnieniem Lubelszczyzny.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły próbki kału pobrane od 500 psów w okresie od kwietnia do września. Psy w wieku od 2 miesięcy do 10 lat pochodziły z terenów miejskich, wiejskich oraz ze schronisk leżących w obrębie województwa lubelskiego. Każdą próbkę poddano badaniu metodą flotacyjną wg Fülleborna w modyfikacji Willisa (28). Na podstawie wyników badań koproskopowych określano ekstensywność inwazji obu gatunków nicieni. W przypadku próbek, w których stwierdzono jaja tęgoryjców, zastosowano metodę flotacyjno-dekantacyjną w modyfikacji własnej, w celu izolacji jaj do dalszych badań.

Metoda flotacyjno-dekantacyjna do izolacji jaj w modyfikacji własnej. Próbkę kału, w której stwierdzono jaja tęgoryjców, umieszczano w zlewce i zalewano nasyconym roztworem NaCl. Następnie dokładnie rozcierano bagietką, do uzyskania jednolitej zawiesiny. Zawiesinę przelewano przez sitko na kwadratową płytkę o wymiarach 9×9 cm, do uzyskania menisku wypukłego i przykrywano folią celofanową. Po 20 minutach zdejmowano celofan i splukiwano przylegające do niego jaja na czystą płytkę. Po 10 minutach, za pomocą pipety zbierano płyn znad osadu, pozostawiając jaja w osadzie.

Analizę morfometryczną stwierdzonych jaj przeprowadzono z wykorzystaniem mikroskopu świetlnego Olympus BX51 z kontrastem interferencyjnym Nomarskiego (DIC) ze zintegrowanym oprogramowaniem Cell firmy Olympus. Dokonano pomiaru długości i szerokości losowo wybranych 52 jaj tęgoryjców, pochodzących od różnych psów. Wyniki badania poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu statystycznego Dell Statistica (2016) ver. 13.1. Następnie jaja zawieszano w wodzie destylowanej i pozostawiano na tydzień w temperaturze pokojowej, w celu wyklucia larw pierwszego stadium. Larwy L1 przeznaczone do analizy molekularnej były konserwowane w 70% roztworze alkoholu etylowego.

Badania molekularne (PCR). Materiał do badań stanowiło DNA wyizolowane z larw L1 tęgoryjców, pochodzących od 72 psów (od 80 do 100 osobników z jednego żywiciela). Do analizy porównawczej użyto dorosłych osobników *U. stenocephala*, otrzymanych z Katedry Higieny Zwierząt i Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Wszystkie analizy zostały wykonane przez laboratorium A&A

Biotechnology w Gdyni. Do izolacji DNA użyto zestawu Sherlock AX firmy A&A Biotechnology. Aby określić rodzaj, do którego należą larwy tęgoryjców (*Uncinaria* lub *Ancylostoma*), przeprowadzono reakcję PCR ze starterami ITS1 5'-TACCTGATGGTGGTAACGC-3' i ITS2 5'-ATCACGTCAGCTGGCATTAC-3'. Do amplifikacji DNA użyto 100 ng DNA izolowanego z tkanki tęgoryjców. Produkt PCR uzyskano dla następującego profilu temperaturowo czasowego: wstępna denaturacja: 94°C – 2 min, 35 cykli: 94°C – 30 s, 55°C – 30 s, 72°C – 30 s, końcowe wydłużanie 72°C – 5 min. Następnie produkty PCR powstałe na matrycach DNA izolowanych z tkanki dorosłych tęgoryjców, jak również produkty PCR z wyklutych larw przeznaczono do sekwencjonowania. Na podstawie porównania uzyskanych sekwencji regionu ITS DNA badanych próbek w programie BLAST, określano stopień podobieństwa sekwencji DNA regionu ITS z sekwencją *U. stenocephala* AF194145.1.

Wyniki i omówienie

Nicienie z rodziny Ancylostomatidae są obecnie najczęściej stwierdzanymi obok glist nicieniami psów w Polsce (4-7, 20, 25, 51, 61, 62). Stan taki może być spowodowany stosowaniem niewłaściwej profilaktyki przeciw pasożytniczej w populacji tych zwierząt, opierającej się na rutynowej terapii, bez okresowych badań parazytologicznych.

Po przebadaniu 500 próbek od psów z terenu Lubelszczyzny, 218 (43,6%) oceniono jako ujemne, natomiast 282 (56,4%) jako dodatnie (zawierające oocysty pierwotniaków i jaja nicieni). Wśród próbek dodatnich najwyższą prewalencję inwazji odnotowano w przypadku tęgoryjców ($n = 134$, 26,8%).

Na terenie Lubelszczyzny prowadzono badania dotyczące inwazji tęgoryjców u psów oraz zanieczyszczenia gleby jajami tych pasożytów, jednak opisywane były one łącznie, bez różnicowania gatunkowego (6, 30, 59). Analizę morfometryczną jaj tęgoryjców z terenu Lubelszczyzny przedstawiono w tab. 1. Według różnych autorów, wymiary jaj *U. stenocephala* mieszczą się w przedziale $63-92 \times 32-58$ μm (2, 12, 18, 29, 37, 52). Wymiary jaj *A. caninum* wynoszą $52-84 \times 25-58$ μm (12, 18, 29, 35, 37, 52). Analiza statystyczna wskazuje na średnią wielkość tych jaj $63,92 \times 39,21$ μm , w zakresie $58,2-76,09 \times 36,04-41,2$ μm (35). Analiza przedstawionych pomiarów wskazuje na częściowo zbieżne wielkości rozmiarów dla obu gatunków, co uniemożliwia ich pewne zróżnicowanie.

W celu genetycznego określenia przynależności gatunkowej wykrytych larw tęgoryjców analizie poddano 72 próbki, porównując uzyskane sekwencje regionu ITS izolowanego DNA. W wyniku sekwencjonowa-

Tab. 1. Wyniki badań własnych w zakresie pomiarów morfometrycznych jaj *U. stenocephala*

Parametry morfometryczne jaj	n	$\bar{x}$	CI $\pm 95\%$		Min	Max	$\pm SD$	SEM
Długość	52	77,60	75,92	79,27	67,00	91,00	6,01	0,83
Szerokość	52	44,25	42,99	45,51	36,00	56,00	4,54	0,63

nia produktu PCR powstałego na matrycy DNA izolowanego z tkanki dorosłych osobników *U. stenocephala*, jak również produktu PCR larw tęgoryjców, uzyskano identyczne sekwencje DNA. Na podstawie porównania uzyskanych sekwencji regionu ITS1 i ITS2 DNA w programie BLAST stwierdzono, że sekwencja DNA tego regionu jest w 99% identyczna z sekwencją *U. stenocephala* AF194145.1.

Obszar występowania nicieni z rodzaju *Ancylostoma* obejmuje kraje o łagodnym klimacie i względnie wysokich temperaturach (2, 49, 54, 57), stąd też powszechnie stwierdzana jest wyższa ekstensywność inwazji *A. caninum* w południowej części kontynentu niż w jego części północnej (57). Oporność jaj i larw inwazyjnych na niskie temperatury powoduje, że *U. stenocephala* występuje w Polsce znacznie częściej niż *A. caninum* (42, 43). Tempo rozwoju larw tęgoryjców w środowisku jest zależne od temperatury otoczenia, rosnąc wprost proporcjonalnie w zakresie określonym wymaganiami gatunkowymi. W przypadku *U. stenocephala* zakres temperaturowy rozwoju larw mieści się w granicach 7-30°C (optimum 20°C) (2). *A. caninum* wymaga temperatury wyższej 15-37°C (optimum 30°C) (2, 54). Strukturą zwiększającą odporność larw tęgoryjców na niekorzystne warunki środowiska jest osłonka zachowywana z drugiego linienia. W przypadku *U. stenocephala*, przy sprzyjającej temperaturze oraz wilgotności otoczenia, larwy L3 mogą zachować inwazyjność przez 3-4 miesiące. W wodzie o temperaturze 5°C pozostają one inwazyjne przez 10 miesięcy (2, 18). W łagodniejszym klimacie część larw może przeżyć w środowisku od jesieni do wiosny następnego roku (54). Fakt ten warunkuje możliwość zarażenia tym gatunkiem w cyklu całorocznym, z obniżoną intensywnością inwazji w okresie zimowym (54, 62).

Na terenie Polski, gdzie panuje klimat umiarkowany, prewalencja inwazji najczęściej spotykanych pasożytów wewnętrznych psów jest sezonowo zmienna, z powodu różnic temperatury i wilgotności powietrza (62). Nawet przedstawiciele gatunku *U. stenocephala*, mimo względnej oporności na niskie temperatury, wykazują zmienną dynamikę inwazji w zależności od terminu pobrania próbki. U psów z terenu Lubelszczyzny w okresie wiosenno-jesiennym najwyższą ekstensywność inwazji *U. stenocephala* odnotowano od maja do

Ryc. 1. Geograficzne rozmieszczenie gatunków *A. caninum* i *U. stenocephala* na terenie Polski, na podstawie rozpoznania jaj nicieni w próbkach kału i w próbkach gleby

sierpnia (25,9-37,3%). W chłodniejszych miesiącach obserwowano niższy odsetek zwierząt zarażonych, w kwietniu 12,5% i we wrześniu 16,9%. Podobne wyniki uzyskano na terenie północno-zachodniej Polski, obserwując w analogicznym okresie najwyższą liczbę zarażeń tęgoryjcami w maju 24,07%, a najniższą w kwietniu (5,56%) i wrześniu (14,81%) (62).

Klimat Polski charakteryzuje się dużą zmiennością pogody. Wartości średniej rocznej temperatury powietrza wahają się od 5°C do 9°C. Najcieplejszym rejonem Polski jest część południowo-zachodnia (<http://klimada.mos.gov.pl/zmiany-klimatu-w-polsce>). Klimat wschodniej części kraju charakteryzuje się niższymi średnimi rocznymi temperaturami, jednak, jak można wywnioskować z ryc. 1, wśród inwazji tęgoryjców u psów, zarówno na wschodzie, jak i zachodzie Polski dominuje gatunek *U. stenocephala*. Wprawdzie w badaniach przeprowadzonych w Szczecinie (62) i Olsztynie (20) u psów odnotowano jedynie inwazję *A. caninum*, podobnie jak w Elblągu w przypadku badań gleby zanieczyszczonej jajami nicieni (30), jednak żadne z tych danych nie zostały potwierdzone metodami molekularnymi. Podobnie jak inne przypadki inwazji tego gatunku, opisane u psów w Polsce z odsetkiem inwazji w granicach od 0,8% do 18%, ale

trudno jest tutaj dokonać równorzędnego porównania (4, 20, 36, 42, 49, 51, 53, 62).

Jak już wcześniej wspomniano, cechy morfometryczne jaj mogą być niejednoznaczne w przypadku określania gatunku omawianych tęgoryjców. Dokładniejsze wyniki rozpoznania otrzymuje się, prowadząc hodowlę kultur kałowych i stwierdzając gatunek na podstawie cech morfometrycznych wyklutych larw. Badania takie prowadzono w okolicach Warszawy, która z punktu widzenia cech atmosferycznych charakteryzuje się cieplejszym klimatem (<http://klimada.mos.gov.pl/zmiany-klimatu-w-polsce>), a gdzie gatunek *U. stenocephala* odnotowano u 39,2% psów, nie obserwując *A. caninum* (61). Podobne wyniki uzyskano, tym razem przy użyciu technik molekularnych, w przypadku badań własnych parazytofauny psów z terenu województwa lubelskiego, jak i innych autorów u psów z okolic Białowieży (27). W cytowanych badaniach odnotowano obecność inwazji *U. stenocephala* z ekstensywnością, odpowiednio, 26,8% i 12,5% oraz ponownie nie stwierdzono inwazji *A. caninum*. Podobny skład gatunkowy tęgoryjców obserwowano także w przypadku badania parazytofauny innych przedstawicieli rodziny psowatych – wilków (*Canis lupus*), pochodzących z tych terenów (27, 56). Natomiast gatunek *A. caninum* stwierdzono u tych zwierząt na terenie wschodnich Beskidów, jednak z trzykrotnie niższą prevalencją (12,3%) niż *U. stenocephala* (37%) (45). Z kolei w badaniach przeprowadzonych na terenie Bydgoszczy (województwo kujawsko-pomorskie), Wrocławia (województwo dolnośląskie), Krakowa (województwo małopolskie) i Stobnicy (województwo wielkopolskie), gdzie *A. caninum* zdiagnozowano u 35,9% zwierząt, nie odnotowano gatunku *U. stenocephala* (60).

U lisów (*Vulpes vulpes*), które według piśmiennictwa na terenie całej Polski, jak i innych krajów strefy umiarkowanej, wśród dzikich psowatych stanowią rezerwar tęgoryjców, za pomocą technik molekularnych również potwierdzono występowanie tylko gatunku *U. stenocephala* (26). Badania innych autorów, przeprowadzone u lisów na terenie Polski północno-zachodniej wykazały ekstensywność inwazji *A. caninum* 6,7-18,2%, natomiast *U. stenocephala* 25,5-45,5% (3, 40, 44).

Znając cykl rozwojowy obu gatunków tęgoryjców oraz biorąc pod uwagę opisane wyżej trudności w prawidłowym rozpoznawaniu gatunku na podstawie parametrów morfometrycznych ich jaj, można przypuszczać, że część rozpoznanych przypadków zarażenia *A. caninum* na terenie kraju, była faktycznie przypadkami zarażenia gatunkiem *U. stenocephala*. Pośrednio potwierdzają to także przeprowadzone w kraju dotychczasowe badania molekularne prowadzone nad tęgoryjczyką zwierząt mięsożernych (26). Na podstawie przedstawionych wyników badań własnych można stwierdzić, że tradycyjne metody badań koproskopowych nie są właściwe do prawidłowej

oceny stanu zarażenia psów jednym z gatunków rodziny Ancylostomatidae. Można przypuszczać, że coraz powszechniejsze zastosowanie metod molekularnych w diagnostyce parazytologicznej pozwoli stopniowo uaktualnić informacje dotyczące przebiegu inwazji obu gatunków tęgoryjców u psów na terenie kraju. Nowe metody diagnostyczne pozwolą także na ocenę zagrożenia zoonotycznego ze strony *A. caninum*, jako jednego z elementów parazytofauny psów.

Piśmiennictwo

1. Ambrus J. L., Klein E.: Löffler syndrome and ancylostomiasis brasiliensis. NY State J. Med. 1988, 88, 498-499.
2. Anderson R. C.: Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission. CABI Publishing, Wallingford, Oxon (UK) 2000.
3. Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pilarczyk B., Bieńko R.: Parazytofauna przewodu pokarmowego lisów wolno żyjących na terenie Polski Zachodniej. Med. Weter. 2003, 59, 845-948.
4. Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pilarczyk B., Cisek A., Rolicz B.: Alimentary tract parasite occurrence in dogs in the area of north-western Poland. EJPAJU 2004, 7, 01.
5. Blaszkowska J., Wójcik A., Kurnatowski P., Szwaab K.: Geohelminth egg contamination of children's play areas in the city of Lodz (Poland). Vet. Parasitol. 2013, 192, 228-233.
6. Bojar H., Kłapeć T.: Contamination of soil with eggs of geohelminths in recreational areas in the Lublin region of Poland. Ann. Agric. Environ. Med. 2012, 19, 267-270.
7. Borecka A.: Helmintofauna psów oraz stopień zanieczyszczenia gleby geohelminthami na terenie Warszawy i okolic. Wiad. Parazytol. 2003, 49, 307-309.
8. Borecka A.: Poziom zarażenia psów i stopień zanieczyszczenia piaskownic jajami geohelminthów na terenie Warszawy i okolic. Wiad. Parazytol. 2001, 47, supl. 2, 7.
9. Borecka A.: Prevalence of intestinal nematodes of dogs in the Warsaw area, Poland. Helminthologia 2005, 42, 35-39.
10. Borecka A., Gawor J., Malczewska M.: Badania parazytologiczne psów na terenie Warszawy i okolic. Życie Wet. 1999, 74, 393-396.
11. Borecka A., Gawor J., Zięba F.: A survey of intestinal helminths in wild carnivores from the Tatra National Park, southern Poland. Ann. Parasitol. 2013, 59, 169-172.
12. Bowman D. D.: Georgi's Parasitology for Veterinarians. W.B. Saunders Co. 1980.
13. Bowman D. D.: Parazytologia weterynaryjna. Elsevier 2012.
14. Bowman D. D., Hendrix C. M., Lindsay D. S., Barr S. C.: Feline clinical parasitology. Iowa State University Press, A Blackwell Science Company 2002.
15. Bowman D. D., Montgomery S. P., Zajac A. M., Eberhard M. L., Kazacos K. R.: Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. Trends Parasitol. 2010, 26, 162-167.
16. Brailsford T. J., Behnke J. M.: The dynamics of trickle infections with Ancylostoma ceylanicum in inbred hamsters. Parasitology 1992, 105-248.
17. Demkowska-Kutrzepa M.: Wpływ wybranych środków przeciwpasożytniczych i dezynfekcyjnych na rozwój jaj i przeżywalność larw tęgoryjców występujących u psów. Praca dokt., Wydz. Med. Wet. UP, Lublin 2016.
18. Eckert J., Friedhof K. T., Zahner H., Deplazes P.: Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 2., vollständig überarbeitete Auflage, Enke, Stuttgart 2008.
19. Felsmann M. Z., Michalski M. M., Felsmann M., Sokół R., Szarek J., Strzyżewska-Worotyńska E.: Invasive forms of canine endoparasites as a potential threat to public health – A review and own studies. Ann. Agric. Environ. Med. 2017, 24, 245-249.
20. Gaca K., Michalski M. M., Szelągiewicz M., Sokół R., Siemionek J.: Inwazje nicieni u psów-pacjentów lecznic weterynaryjnych. Med. Weter. 1998, 54, 407-408.
21. Garcia C. A., Sabrosa N. A., Gomes A. B., Segundo P. S. de, Garcia Filho C. A., Sabrosa A. S.: Diffuse unilateral subacute neuroretinitis – DUSN, Int. Ophthalmol. Clin. 2008, 48, 119-129.
22. Gasser R. B., Louise E. S., Speare R.: Genetic markers in ribosomal DNA for hookworm identification. Acta Trop. 1996, 62, 15-21.
23. Golińska Z., Bany J., Palec S., Zdanowska D.: Występowanie pasożytów jelitowych u psów wojskowych. Med. Weter. 2002, 58, 227-229.
24. Górski P.: Inwazje tęgoryjców u mięsożernych – patogeniza i reakcje obronne żywicieli. Med. Weter. 1994, 50, 591-593.
25. Górski P., Badowska M., Wędrzychowicz H.: Występowanie nicieni Uncinaria stenocephala u psów w okolicach Warszawy. Wiad. Parazytol. 1996, 42, 221-227.

26. Górski P., Radowańska A., Jaros D., Wiśniewski M.: Morfologiczne i molekularne porównanie nicieni z rodzaju *Uncinaria* pasożytujących u lisa (*Vulpes vulpes*) i psa (*Canis familiaris*). *Wiad. Parazytol.* 2006, 52, 317-320.
27. Górski P., Zalewski A., Łakomy M.: Parasites of carnivorous mammals in Białowieża Primeval Forest. *Wiad. Parazytol.* 2006, 52, 49-53.
28. Gundlach L. G., Sadzikowski A. B.: Diagnostyka i zwalczanie inwazji pasożytów u zwierząt. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin 1992.
29. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B.: Parazytologia i parazytozy zwierząt. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 2004.
30. Gundlach J. L., Sadzikowski A. B., Tomczuk K., Studzińska M.: Zarobaczenie psów, kotów i lisów hodowlanych Lublina i okolic w świetle badań koproskopowych. *Annales UMCS* 2004, 59, 29-135.
31. Hotez P. J., Narasimhan S., Haggerty J., Millstone L., Bhople V., Schad G. A., Richards F. F.: Hyaluronidase from infective *Ancylostoma* hookworm larvae and its possible function as a virulence factor in tissue invasion and in cutaneous larva migrans. *IAI* 1992, 60, 1018.
32. Jarosz W.: Soil contamination with *Toxocara* spp. eggs in the Elbląg area. *Wiad. Parazytol.* 2001, 47, 143-149.
33. Kloch A., Bajer A.: Helminty jelitowe wilków (*Canis lupus*) z południowej części Pojezierza Mazurskiego: Badanie koproskopowe. *Wiad. Parazytol.* 2003, 49, 301-305.
34. Little M. D., Halsey N. A., Cline B. L., Katz S. P.: *Ancylostoma* larva in a muscle fiber of man following cutaneous larva migrans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1983, 32, 1285-1288.
35. Lucio-Forster A., Liotta J. L., Yaros J. P., Briggs K. R., Mohammed H. O., Bowman D. D.: Morphological Differentiation of Eggs of *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*, and *Ancylostoma braziliense* From Dogs and Cats in the United States. *J. Parasitol.* 2012, 98, 1041-1044.
36. Luty T., Mizgajska H.: Występowanie *Toxocara* spp. oraz innych pasożytów jelitowych u psów i kotów. *Med. Weter.* 1999, 55, 759-761.
37. Melhorn H., Duwel D., Raether W.: Diagnose und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1993.
38. Michalczyk M., Sokół R.: Ocena zależności zakażenia pasożytami wewnętrznymi psów i kotów od przygotowania hodowlano-weterynaryjnego właścicieli. *Wiad. Parazytol.* 2008, 54, 245-247.
39. Miller T. A.: Vaccination against the canine hookworm diseases. *Adv. Parasitol.* 1971, 9, 153-183.
40. Mizgajska-Wiktor H., Jarosz W.: Potential risk of zoonotic infections in recreational areas visited by *Sus scrofa* and *Vulpes vulpes*. Case study – Wolin Island, Poland. *Wiad. Parazytol.* 2010, 56, 243-251.
41. Okulewicz A., Złotorzycka J.: *Toxocara canis* (Nematoda) oraz toksokarozy zwierząt i człowieka. *Wiad. Parazytol.* 1997, 43, 3-25.
42. Okulewicz A., Złotorzycka J., Czulowska A.: Wpływ warunków środowiskowych na zarobaczenie psów. *Wiad. Parazytol.* 1994, 40, 293-298.
43. Perec-Matysiak A., Hildebrand J., Zaleśny G., Okulewicz A., Fatula A.: The evaluation of soil contamination with geohelminth eggs in the area of Wrocław, Poland. *Wiad. Parazytol.* 2008, 54, 319-323.
44. Pilarczyk B.: The occurrence of intestinal nematodes in red foxes in the Western Pomerania. *Wiad. Parazytol.* 2005, 51, 249-251.
45. Popiołek M., Szczesna J., Nowak S., Mysłajek R. W.: Helminth infections in faecal samples of wolves *Canis lupus* L. from the western Beskidy Mountains in southern Poland. *J. Helminthol.* 2007, 81, 339-344.
46. Prociw P.: Zoonotic hookworm infections (*Ancylostomosis*), [w:] Palmer S. R., Soulsby L., Simpson D. I. (red.): *Zoonoses*. Oxford Medical Publications 1998, s. 803-822.
47. Prociw P., Croese J.: Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a “new” zoonosis. *Acta Trop.* 1996, 62, 23-44.
48. Prociw P., Croese J.: Human eosinophilic enteritis caused by dog hookworm *Ancylostoma caninum*. *The Lancet* 1990, 2, 1299-1302.
49. Ramisz A., Martynowicz T.: Parazytofauna przewodu pokarmowego psów i kotów m. Wrocławia i okolic, ze szczególnym uwzględnieniem nicieni z rodziny *Ancylostomatidae*. *Wiad. Parazytol.* 1963, 9, 115-126.
50. Rivera-Roig V., Sánchez J. L., Hillyer G. V.: Hookworm folliculitis. *J. Dermatol.* 2008, 47, 246-248.
51. Rokicki J., Dzido J.: Contamination of playgrounds in Gdańsk city with parasite eggs. *Wiad. Parazytol.* 2007, 53, 227-230.
52. Rommel M., Eckert J., Kutzer E., Korting W., Schnieder T.: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey Buchverlag, Berlin 2000.
53. Ronkiewicz J., Karczewska D., Rokicki J.: Skażenie gleby jajami helmintów na placach zabaw Łęborka. *Wiad. Parazytol.* 2007, 53, 33-33.
54. Schnieder T.: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co.KG., Germany 2006.
55. Schwenkenbecher J. M., Kaplan R. M.: Real-time PCR assays for monitoring benzimidazole resistance-associated mutations in *Ancylostoma caninum*. *Exp. Parasitol.* 2009, 122, 6-10.
56. Soltys A.: Helmintofauna wilków (*Canis lupus* L.). *Wiad. Parazytol.* 1964, 10, 59-62.
57. Soltys A.: Przyczynek do badań robaków pasożytniczych psów powiatu puławskiego. *Med. Weter.* 1947, 3, 549-624.
58. Stewart L.: Taxonomy of hookworms of the genus *Ancylostoma* in the Townsville region. MSc Thesis, James Cook University 1994.
59. Studzińska M. B., Demkowska-Kutrzepa M., Borecka A., Meisner M., Tomczuk K., Roczeń-Karczmarz M., Kłapeć T., Abbass Z., Cholewa A.: Variations in the Rate of Infestations of Dogs with Zoonotic Nematodes and the Contamination of Soil in Different Environments. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2017, 14 pii: E1003.
60. Szafrńska E., Wasielewski O., Bereszyński A.: A faecal analysis of helminth infections in wild and captive wolves, *Canis lupus*, in Poland. *J. Helminthol.* 2010, 84, 415-419.
61. Turkowicz M., Kielecka D.: Występowanie nicieni jelitowych u psów w okolicach Warszawy. *Wiad. Parazytol.* 2002, 48, 407-411.
62. Tylkowska A., Pilarczyk B., Gregorczyk A., Templin E.: Gastrointestinal helminths of dogs in Western Pomerania, Poland. *Wiad. Parazytol.* 2010, 56, 269-276.

Adres autora: dr Marta Demkowska-Kutrzepa, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin