

Sesja III. Tasiemczyce

Alweokokoza u ludzi narastającym problemem w Polsce i w Europie

Józef Knap¹, Aleksandra Czyrznikowska²

¹Doradca Głównego Inspektora, Główny Inspektorat Sanitarny, Warszawa

²Departament Przeciwepidemiczny, Główny Inspektorat Sanitarny, Warszawa

Decyzją Komisji z dnia 22 grudnia 1999 r. w sprawie stopniowego obejmowania chorób zakaźnych siecią wspólnotową zgodnie z decyzją nr 2119/98/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w ramach sieci nadzoru i kontroli epidemiologicznej chorób zakaźnych we Wspólnocie, bąblowica jako jedna z trzech zoonoz (obok brucelozy i wścieklizny), została uznana za chorobę stanowiącą zagrożenie dla zdrowia publicznego na poziomie wspólnotowym, a więc także i w Polsce. Zbieranie i analizowanie danych na temat zachorowań na bąblowicę w kraju odbywa się w znormalizowany sposób, w oparciu o ustawę z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi.

Bąblowica wielojamowa (alweokokoza) jest wywoływana przez pasożyta *Echinococcus multilocularis*. Jest chorobą słabo rozpoznaną na poziomie krajowym, a jednocześnie w dużym stopniu zagrażającą zdrowiu ludzi, z uwagi na fakt wysokiej śmiertelności, w przypadku choroby nieleczonej. Za koniecznością ciągłego monitorowania sytuacji epidemiologicznej alweokokozy oraz wdrażaniem kolejnych działań zapobiegawczych oraz usprawniających wykrywanie i raportowanie przypadków tej choroby przemawia również fakt, iż bąblowica wielojamowa została uznana za jedną z dwóch najgroźniejszych chorób pasożytniczych na świecie o cechach „emerging disease”. Znalazło to swoje odzwierciedlenie również w polskim prawodawstwie (rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 29 listopada 2002 r. określające listę organizmów patogennych oraz ich klasyfikację). W przypadku zachorowań na bąblowicę, w dalszym ciągu często jest ona zgłaszana jako bąblowica nieokreślona

(zgodnie z Międzynarodową Klasyfikacją Chorób ICD). Rzadziej zgłaszane są do Państwowej Inspekcji Sanitarnej przypadki zachorowań poddane pełnej diagnostyce, tzn. takiej, w której określono jakim gatunkiem pasożyta (*E. granulosus* czy *E. multilocularis*) został zarażony pacjent. Dlatego też, należy sądzić, iż wiele przypadków zachorowań na alweokokozę nie zostało w ogóle rozpoznanych, a te które potwierdzono, na podstawie rozszerzonych kryteriów w ośrodkach referencyjnych zapewne stanowią nikły procent rzeczywistej liczby przypadków zachorowań w skali kraju. Do maja 2010 r. zdiagnozowano niewątpliwie ponad 70 przypadków zachorowań, z których 1/3 zakończyła się zgonem pacjenta. Z danych gromadzonych przez Państwową Inspekcję Sanitarną wynika, iż rocznie wykrywa się zaledwie po kilka przypadków zachorowań na alweokokozę. W niektórych województwach wykrywanych jest zdecydowanie więcej przypadków alweokokozy w porównaniu z innymi rejonami kraju. Może być to spowodowane zwiększonym ryzykiem zachorowań w tych obszarach. Nie można również wykluczyć, iż sytuacja taka związana jest z lepszą czułością nadzoru, a także większą świadomością lekarzy, którzy częściej kierują pacjentów na badania w kierunku alweokokozy. Podejmowanie skoordynowanych działań mających na celu zmniejszanie liczby nowych zarażeń u ludzi, jest to o tyle istotne, iż wielu przypadków zachorowań można uniknąć dzięki przestrzeganiu prostych zasad higieny. Ponadto niezbędne jest również zwiększanie odsetka osób poddawanych badaniom diagnostycznym w celu wykrywania choroby na jak najwcześniejszym jej etapie i leczenia jej w wyspecjalizowanych ośrodkach.

Bąblowica – podsumowanie 10-letniego doświadczenia z leczenia zachowawczego

Karolina Świtaj, Piotr K. Borkowski, Wojciech Basiak,
Maria Olszyńska-Krowicka

Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wojewódzki Szpital Zakaźny, Warszawa

Wstęp

W Klinice Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych WUM od wielu lat zajmujemy się leczeniem zachowawczym bąblowicy wywołanej *E. granulosus*, najczęściej lokalizacji wątrobowej.

Materiały i metody

W latach 1999–2010 diagnozowano i/lub leczono w Klinice 150 pacjentów. Mieszkańcy miast stanowili wysoki odsetek, w tym większość były to kobiety. Rozpoznanie ustalano przypadkowo po wykonaniu USG jamy brzusznej, często jako następstwo niecharakterystycznych dolegliwości bólowych, pojedyncze osoby miały reakcje typu anafilaktycznego. Rutynowo wykonywano podstawowe badania krwi, sporadycznie CT jamy brzusznej, u wszystkich badania serologiczne met. OHB (do 2002 r.) lub ELISA i Western blot. Dominująca była lokalizacja wątrobowa, pojedyncze przypadki dotyczyły lokalizacji pozawątrobowej (śledziona, nerki, OUN). W badaniu obrazowym najczęściej stwierdzano obraz torbieli typu G7 – bez torbieli potomnych (żywiciel pośredni – świnia), w 4 przypadkach obraz torbieli typu G1 – z torbielami córkami (żywiciel pośredni – owca): 2 osoby z Ukrainy, 1 Dagestańczyk oraz Polka, która 3 lata wcześniej odwiedziła Turcję. W leczeniu farmakologicznym (nie u wszystkich osób) stosowano Zentel (albendazol) oraz w pojedynczych przypadkach Cesol (praziquantel) w kursach 3–4 tygodniowych. Część pa-

cjentów po konsultacji chirurgicznej została zakwalifikowana do zabiegu operacyjnego, zaś pojedyncze osoby były leczone zachowawczo już po wcześniejszym leczeniu operacyjnym.

Wyniki

Jedynym objawem niepożądanym leczenia był wzrost aminotransferaz. Nawet po wielu latach od leczenia zachowawczego nie odnotowaliśmy powikłań typu: reakcji anafilaktycznych, pęknięcia torbieli, rozsiewu pasożyta, przebicia do dróg żółciowych ani zakażenia bakteryjnego.

Wnioski

- 1) W przypadku zdecydowanej większości torbieli leczenie zachowawcze jest wystarczające.
- 2) W przypadku dużych, położonych powierzchownie torbieli grożących pęknięciem oraz guzów o niejasnej etiologii konieczna jest współpraca z chirurgami.
- 3) W związku ze zdecydowaną przewagą torbieli typu G7 istnieje potrzeba doprecyzowania ogólnie stosowanych kryteriów żywotności pasożyta (w badaniu USG) celem redukcji liczby kursów leczenia zachowawczego.
- 4) Wysoki odsetek zachorowań w miastach jest prawdopodobnie skutkiem karmienia psów surowymi odpadami rzeźnymi i nie sprzątaniem psich odchodów (edukacja społeczeństwa, regulacje prawne).

Bąblowica u dziecka zakażonego HIV – opis przypadku

Sabina Dobosz^{1,2}, Urszula Fiodorow¹, Małgorzata Szczepańska-Putz^{1,2},
Magdalena Marczyńska^{1,2}

¹Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Wojewódzki Szpital Zakaźny, Warszawa

Wstęp

Bąblowica jest chorobą pasożytniczą wywołaną przez tasiemca *Echinococcus granulosus*. Zakażenie bąblowcem jest możliwe w każdym wieku, również u dzieci. Najczęściej wykrywane jest przypadkowo w trakcie rutynowych badań USG lub podczas diagnostyki dolegliwości wynikających z ucisku narządów przez torbiel. Zakażenie HIV u dzieci w Polsce jest rozpoznawane rzadko, mogą mu towarzyszyć inne choroby niezwiązane z zakażeniem. Celem pracy jest przedstawienie przypadku klinicznego 15-letniej dziewczynki zakażonej HIV, u której rozpoznano przypadkowo bąblowicę wątroby.

Opis przypadku

15-letnia dziewczynka urodzona siłami natury, w 37 Hbd, z ciąży bliźniaczej, okres około porodowy i niemowlęcy był niepowikłany. Brat bliźniak zmarł w pierwszym roku życia z nieustalonej przyczyny. Dziewczynka mieszka w województwie lubelskim. W wieku 13 lat była diagnozowana w kierunku zakażenia HIV z powodu rozpoznania AIDS u matki. Rozpoznano wertykalne zakażenie HIV na etapie łagodnych objawów klinicznych, bez niedoboru odporności. W momencie rozpoznania nie wymagała leczenia antyretrowirusowego (ART). Po 6 miesiącach obserwacji rozpoczęto ART – zastosowano preparat Atripla, który tolerowała dobrze. W ramach szerokiej diagnostyki w USG jamy brzusznej stwierdzono torbiel wnęki wątroby o niecharakterystycznym obrazie. W kolejnych bada-

niach obserwowano pogrubienie ściany torbieli – wysunięto podejrzenie torbieli pasożytniczej. W badaniu serologicznym ELISA IgG w kierunku zakażenia *Echinococcus granulosus* uzyskano wynik ujemny. Ze względu na obraz kliniczny zastosowano Albendazol (600mg/dobę) przez 4 tygodnie. Po leczeniu przeciwpasożytniczym wykonano tomografię komputerową jamy brzusznej, w której stwierdzono progresję zmian. Po konsultacji chirurgicznej i ocenie lokalizacji torbieli (scyntygrafia wątroby) zdecydowano o chirurgicznym usunięciu zmiany. Zabieg operacyjny wykonano w osłonie farmakologicznej albendazolem. Dziewczynka w tym czasie była bez niedoboru odporności, z niewykrywalną wiremią HIV. W okresie okołoperacyjnym ART kontynuowano rozpuszczalnymi formami leków. Leczenie albendazolem stosowano przez 4 tyg. po zabiegu. Obecnie stan kliniczny dziewczynki jest dobry, leczenie antyretrowirusowe jest skuteczne, w USG kontrolnym jamy brzusznej nie stwierdzono odchyleń, dolegliwości bólowych nie zgłasza.

Wnioski

1. Zakażenie bąblowcem u dzieci jest rzadkie, może towarzyszyć innym ciężkim chorobom i zakażeniom.
2. Diagnostyka jest trudna, rozpoznanie często opiera się na obrazie klinicznym.
3. Leczenie operacyjne musi być uzupełnione leczeniem farmakologicznym

Bąblowica u dzieci – kiedy podejrzewać? jak rozpoznać? jak leczyć?

Ewa Talarek^{1,2}, Ewa Duszczyk^{1,2}, Magdalena Marczyńska^{1,2}

¹Klinika Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Wojewódzki Szpital Zakaźny, Warszawa

Wstęp

Bąblowica jest w Polsce rzadką chorobą. W ostatnich latach zgłaszano od 21 (2004) do 65 (2006) przypadków rocznie. W 2006 roku najwięcej przypadków zarejestrowano w województwach: mazowieckim, podlaskim i warmińsko-mazurskim. W większości przypadków choroba jest rozpoznawana u osób dorosłych, ale zdarza się również u dzieci. Torbiele bąblowcowe, powstające w wyniku zarażenia *Echinococcus granulosus*, mogą być zlokalizowane w wątrobie, śledzionie, płucach, rzadziej innych narządach.

Celem pracy było przedstawienie aspektów klinicznych, diagnostyki i leczenia bąblowicy u dzieci z uwzględnieniem pacjentów Kliniki Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego.

Materiał i metody

W latach 2003–2010 pod opieką Kliniki było 10 dzieci z rozpoznaną bąblowicą, w tym 7 chłopców i 3 dziewczynki, w wieku od 6 do 17 lat. Czwo- ro dzieci pochodziło z województwa lubelskiego, czworo – z mazowieckiego, jedno – z podlaskiego i jedno – z warmińsko-mazurskiego. Jeden chłopiec urodził się i mieszkał w Armenii, przyjechał do Polski kilka miesięcy przed rozpoznaniem bąblowicy.

Wyniki

U wszystkich dzieci podejrzenie bąblowicy zostało wysunięte w związku z obecnością torbieli: u 9

w wątrobie i u 1 w płucu. W 3 przypadkach torbiel wątroby została rozpoznana jako prosta, w pozostałych 6 obraz usg sugerował etiologię pasożytniczą, a w przypadku torbieli płuc – obraz rtg. Powodem wykonania badania usg jamy brzusznej były bóle brzucha (3), zakażenie układu moczowego (1), moczenie nocne (1), wirusowe zapalenie wątroby typu A (1), zakażenie HIV (1), gorączka z pokrzywką (1), powodem wykonania rtg klatki piersiowej – zapalenie płuc. W jednym przypadku stwierdzono eozynofilię. Badanie serologiczne wykonano u 9 dzieci, w 6 przypadkach wykryto swoiste przeciwciała, w trzech pozostałych rozpoznanie potwierdzono badaniem histopatologicznym wykonanym śród- lub pooperacyjnie. Wszystkie dzieci były leczone lekiem przeciw pasożytniczym i operowane, przy czym u 2 dzieci z wstępnym rozpoznaniem torbieli prostej, leczenie przeciwpasożytnicze włączono po zabiegu operacyjnym.

Wnioski

Przebieg bąblowicy jest bezobjawowy lub występują niespecyficzne objawy np. bóle brzucha. W przypadku wykrycia torbieli potwierdzenie lub wykluczenie etiologii bąblowcowej może być trudne ze względu na niejednoznaczność badań obrazowych i wyników badań serologicznych. Radykalnym sposobem leczenia jest chirurgiczne usunięcie torbieli, poprzedzone leczeniem przeciwpasożytniczym w celu uniknięcia powikłań w trakcie zabiegu.

Zarażenie *Taenia solium* niecodzienną przyczyną ciężkich zmian w ośrodkowym układzie nerwowym

Łukasz Pielok

Katedra i Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

Wstęp

Wągrzyca jest ciężką, przewlekłą chorobą pasożytniczą wywoływaną przez postać larwalną tasiemca *Taenia solium*, która lokalizuje się u człowieka w narządach wewnętrznych, zwłaszcza w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, rzadziej w gałce ocznej lub w mięśniach szkieletowych. Zarażenie rozpowszechnione jest w wielu krajach strefy międzyzwrotnikowej i subtropikalnej o skromnych warunkach sanitarno-ekonomicznych, zwłaszcza na obszarach hodowli trzody chlewnej w Ameryce Łacińskiej, Azji i w Afryce. W Polsce nadal obserwuje się sporadycznie rodzime przypadki zachorowań u osób z grup ryzyka, pochodzących z terenów wiejskich oraz neurocysticerkozę importowaną z krajów odmiennej strefy klimatyczno-sanitarnej przez misjonarzy i wolontariuszy akcji humanitarnych (Meksyk, Peru, Ekwador, Boliwia).

Opis przypadków

W pracy przedstawiono obraz kliniczny przypadków wągrzyca ośrodkowego układu nerwowego u pacjentów hospitalizowanych w ostatnich latach w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Zwrócono uwagę na różnorodny zespół objawów chorobowych (postacie skąpoobjawowe, zmiany zachowa-

nia, zaburzenia psychiczne, zaburzenia świadomości, bóle głowy, drgawki, objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego, objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego), często niejednoznaczne wyniki badań obrazowych (różna lokalizacja i wielopostaciowy charakter zmian ogniskowych) i immunodiagnostycznych (ujemne lub wątpliwe odczyny serologiczne), a także brak danych epidemiologicznych wskazujących na zwyczaj spożywania surowego mięsa wieprzowego i przebycie tasiemczycy w wywiadzie zarówno u pacjentów jak i osób z najbliższego otoczenia. Podkreślono trudności diagnostyczne w różnicowaniu zmian ogniskowych mózgowia w przebiegu zarażenia *T. solium* z innymi zespołami neurologicznymi o charakterze infekcyjnym i rozrostowym (gruźlica, grzybica układowa, bąblowica, alweokoza, zespół larwy wędrującej trzewnej, toksoplazmoza, nowotwory pierwotne i przerzutowe).

Wnioski

1. Wągrzyca powinna być każdorazowo uwzględniana w diagnostyce różnicowej zmian ogniskowych w ośrodkowym układzie nerwowym.
2. Leczenie neurocysticerkozy jest trudnym, złożonym problemem medycznym wymagającym współpracy interdyscyplinarnego zespołu specjalistów.

Uwagi dotyczące laboratoryjnego rozpoznawania zarażeń *Echinococcus granulosus* i *Echinococcus multilocularis*

Natalia Wnukowska¹, Elżbieta Gołąb¹, Bogdan Wojtyniak²,
Tadeusz H. Dzbeński¹

¹Zakład Parazytologii Lekarskiej, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

²Zakład – Centrum Monitorowania i Analiz Stanu Zdrowia Ludności, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Dla potwierdzenia przypadków inwazji *E. granulosus* i *E. multilocularis* wykorzystywane są badania laboratoryjne, w tym testy serologiczne. Wykrycie typowych zmian narządów w badaniu obrazowym oraz potwierdzenie ich etiologii testem serologicznym, a także wykrycie obecności swoistych przeciwciał przeciw *Echinococcus* spp. w surowicy krwi za pomocą testu serologicznego o wysokiej czułości oraz potwierdzenie ich występowania testem serologicznym o wysokiej swoistości, należą do kryteriów rozpoznawania bąblowicy. W Zakładzie Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH przeprowadza się badania przeglądowe w kierunku obecności przeciwciał klasy G dla formy larwalnej *E. granulosus* testem ELISA (Bordier). Dla potwierdzania dodatnich wyników używany jest test Western-blot (WB LDBIO Diagnostics), który umożliwia wykrywanie przeciwciał przeciwko formie larwalnej *E. granulosus* i *E. multilocularis*, jednak w części przypadków wzór reakcji przeciwciał z frakcjami antygenowymi bąblowca nie pozwala na rozróżnienie gatunków tych tasiemców. W przypadkach wątpliwych wyników testu WB oraz dla potwierdzenia zarażenia *E. multilocularis* od 2006 r. stosowany jest test ELISA Em2 plus (Bordier).

Celem prezentowanej pracy była analiza użyteczności schematu różnicowania przypadków bąblowicy jedno i wielojamowej za pomocą testów WB i Em2 plus.

W latach 2003–2009 testem WB przebadano 1030 próbek surowic pochodzących od osób wyłącznie z klinicznym podejrzeniem bąblowicy oraz od osób z dodatnimi wynikami przeprowadzonego już testu przesiewowego ELISA. Testem Em2 plus

przebadano 52 próbki w tym 19 z dodatnim wynikiem w WB. Po przeprowadzeniu analizy 211 wyników dodatnich w teście WB, odsetek których wyniósł 20,5% nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania wyników dodatnich w poszczególnych latach badanego okresu ($\chi^2=9,165$; 6 stopni swobody; $p=0,165$). Odsetek dodatnich wyników testu ELISA Em2 plus wyniósł dla ogółu zbadanych próbek 15,4%, natomiast dla próbek dodatnich w teście WB osiągnął wartość 42,1%. Za pomocą testu Em2 plus przypadki zdiagnozowane w teście WB jako zarażenie *E. multilocularis* zostały potwierdzone w 71,4%, natomiast w przypadkach, w których wzór prążków nie pozwalał na określenie gatunku *Echinococcus*, wyniki dodatnie stwierdzono w 25,0%. Przyjęto, że brak potwierdzenia zarażenia *E. multilocularis* (ujemny wynik w teście Em2 plus) przy dodatnim wyniku WB świadczy o zarażeniu *E. granulosus*.

Podsumowując wyniki badań przeprowadzonych za pomocą testów referencyjnych WB i Em2 plus należy stwierdzić, że oba testy są ogromnie użyteczne w rozpoznawaniu przypadków bąblowicy, umożliwiły bowiem rozpoznanie 58,3% zarażeń *E. granulosus* oraz 13,7% zarażeń *E. multilocularis* u diagnozowanych osób. W pozostałej grupie przypadków, tj. u 28,0% zbadanych osób wzór prążków nie pozwalał na określenie gatunku *Echinococcus*, a test ELISA Em2 plus nie został wykonany. Wyniki analizy statystycznej uzasadniły podział okresu badania na dwa podokresy, tj. 2003–2005 i 2006–2009. Częstość występowania zarażeń *E. granulosus* w latach 2006–2009 (67,4%) była istotnie wyższa niż w latach 2003–2005 (38,8%),

[$\text{Chi}^2=15,281$; $p<0,001$]. Natomiast między poszczególnymi latami w obu tych podokresach różnice nie były istotne. Wzrostowi częstości diagnozowania *E. granulosus* towarzyszył istotny spadek odsetka wyników dodatnich (z 49,3 na 18,1) w grupie bez określenia gatunku ($\text{Chi}^2=22,094$; $p<0,001$),

do czego przyczynić się mogło pośrednio, choć w niewielkim stopniu, wprowadzenie testu ELISA Em2 plus. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między częstością wykrywania zarażeń *E. multilocularis* w latach 2003–2005 (11,9%) i 2006–2009 (14,6%) [$p=0,604$].

Diagnostyka molekularna przypadków bąblowicy wątroby

Monika Dybicz¹, Danuta Cielecka¹, Anna Gierczak¹, Łukasz Rdzanek²,
Bogdan Michałowicz²

¹Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

²Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Bąblowica wątroby jest ważną medycznie zoonozą wywołaną formami larwalnymi głównie *Echinococcus granulosus*. W Polsce bąblowica nie należy do częstych chorób, a liczba zgłaszanych przypadków waha się pomiędzy 20 a 60 rocznie (wg danych PZH). Zidentyfikowano kilka wariantów genetycznych *E. granulosus*, większość z nich okazała się być inwazyjna dla człowieka. Różnorodność genotypów jest ważna epidemiologicznie, ponieważ determinuje lokalny sposób transmisji echinokokozy. W Polsce u świń wykryto szczep G7 (tzw. świński), natomiast u ludzi opisano blisko spokrewniony szczep G9 o nieznanym rezerwuarze zwierzęcym (Scott i wsp. 1997). W 1999 roku Kędra i wsp. wykazali również obecność G7 u ludzi (na podstawie 4 prób). Celem pracy była identyfikacja molekularna szczepów *E. granulosus* występujących w Polsce centralnej.

Przeanalizowano dotychczas 40 prób zawierających fragmenty torbieli, pozyskanych od pacjentów drogą hepatektomii od grudnia 1999 do lipca

2008 roku. DNA izolowano przy użyciu kitu ekstrakcyjnego NucleoSpin (Macherey-Nagel). Namnażanym regionem był fragment genu mitochondrialnego podjednostki pierwszej dehydrogenazy NADH (ND1). Produkty PCR poddano sekwencjonowaniu. Metodą PCR potwierdzono obecność fragmentu genu ND1 odpowiadającego wielkością dla *Echinococcus* w 24 próbach. W wyniku sekwencjonowania tych produktów PCR wykazano 100% identyczność ze szczepem G7 – świńskim (obecnie zwanym *Echinococcus canadensis*). Z 40 torbieli zdiagnozowanych metodami obrazowymi jako torbiele bąblowcowe w wątrobie, tylko 24 z nich zostały potwierdzone na podstawie analizy molekularnej jednego z genów wykorzystywanych w diagnostyce echinokokozy. W pracy wykazano obecność świńskiego szczepu G7 (*E. canadensis*) we wszystkich próbach, co potwierdza jego rolę jako głównego czynnika etiologicznego bąblowicy wątroby człowieka w Polsce centralnej.

Metody molekularne wykorzystywane w identyfikacji pasożytów

Dariusz Kamola, Adam Prostek

Zakład Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa, Wydział Nauk o Żywnieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

Standardowe techniki diagnostyki pasożytów często są czasochłonne, trudne i niedokładne. Badania biologii molekularnej są w parazytologii uzupełnieniem badań serologicznych krwi oraz mikroskopowej obserwacji cech morfologicznych pasożytów.

Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR), służąca do powielania łańcuchów DNA w warunkach laboratoryjnych, polega na sekwencji wielokrotnego podgrzewania i oziębiania badanej próbki. Technika PCR pozwala na namnażanie łańcuchów DNA o maksymalnej długości ok. 10 kpz. Do tej pory opracowano wiele modyfikacji techniki PCR a w Real Time PCR – do środowiska reakcji wprowadzono barwniki fluorescencyjne (np. SYBR Green, EVA Green) bądź sondy (np. TaqMan czy Hyb-Probes) łączące się z DNA. Pod wpływem światła o określonej długości fali barwniki ulegają wzbudzeniu i emitują światło o innej określonej długości fali, którego natężenie odczytywane jest przez fluorometr sprzężony z termocyklerem. Odczyty fluorescencji w kolejnych cyklach reakcji pozwalają na bieżąco śledzić ilość powstającego produktu, jak również określić ilość matrycy użytej do reakcji. Istotną zaletą zastosowania techniki Real Time PCR

jest możliwość wykorzystania znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond czy starterów, co znacznie podnosi czułość reakcji w porównaniu do klasycznej metody PCR. Zostało opracowanych kilka metod do analizy przyrostu ilości produktów w reakcji PCR, wszystkie oparte są na związkach fluorescencyjnych. SYBR Green jest fluorochromem emitującym światło tylko w przypadku związania do dwuniciowego DNA. Ścisła zależność intensywności fluorescencji, wzrastającej w miarę zachodzenia reakcji PCR, jest skorelowana z ilością powstającego produktu. Umożliwia to przeprowadzenie pomiarów ilościowych i określenie przybliżonej liczby organizmów. Do przewidywanych kierunków rozwoju metody można zaliczyć z pewnością doskonalenie techniki HRM (wysokorozdzielczościowa krzywa topnienia), projektowanie układów multipleksowych a także opracowywanie nowych typów sond i starterów.

Zastosowanie metody Real time PCR w parazytologii będzie się skupiało głównie na coraz doskonalszej, szybszej i tańszej identyfikacji pasożytów zarówno w materiale biologicznym pochodzącym od człowieka i zwierząt, jak i w próbkach środowiskowych.

Występowanie tasiemców *Echinococcus multilocularis* u lisów w zachodniej części Polski

Jacek Karamon, Jacek Sroka, Tomasz Cencek

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

Wstęp

Celem badań było uzyskanie aktualnych danych dotyczących ekstensywności i intensywności inwazji *E. multilocularis* u lisów (*Vulpes vulpes*) w zachodniej części Polski (na terenie województw: zachodniopomorskiego, lubuskiego i dolnośląskiego).

Material i metody

Material do badań stanowiły jelita cienkie lisów (250 sztuk) wolnych od wścieklizny odstrzelonych w roku 2009 na terenie woj. zachodniopomorskiego (90 próbek), woj. lubuskiego (107 próbek) i woj. dolnośląskiego (53 próbki). Próbki pochodziły z 10 (na 19) powiatów woj. zachodniopomorskiego, z wszystkich 12 powiatów woj. lubuskiego oraz z 20 (na 26) powiatów woj. dolnośląskiego. Przed badaniem jelita umieszczano w szczelnie zamykanych podwójnych workach, które przechowywano w zamrażarce w temperaturze 80°C przez okres co najmniej 7 dni w celu inaktywacji jaj tasiemców. Wszystkie próbki jelit (250) badano ilościową metodą sedymentacyjną (SCT).

Wyniki

Łącznie tasiemce z gatunku *Echinococcus multilocularis* stwierdzono w 10 próbkach jelit, co stanowi 4% wszystkich badanych lisów z rejonu. Pięć próbek dodatnich stwierdzono w woj. zachodniopomorskim (5,6%) (w powiecie łobeskim dwie próbki dodatnie, a w powiatach goleniowskim, pyrzyckim i stargardzkim po jednej) oraz 5 próbek dodatnich w woj. lubuskim (4,7%) (w powiecie sulęcińskim 3 próbki dodatnie, a w powiatach międzyrzeckim i świebodzińskim po jednej). W woj. dolnośląskim nie stwierdzono próbek dodatnich. Średnia intensywność zarażenia lisów wynosiła 933 tasiemce z rodzaju *Echinococcus* na zwierzę. Obserwowano duże zróżnicowanie w intensywności zarażenia u poszczególnych zarażonych lisów: od 1 do 6000 tasiemców (SD=1888,83).

Wnioski

Uzyskane wyniki wskazują na wzrost częstości występowania *E. multilocularis* u lisów w zachodniej części Polski w stosunku do wyników sprzed kilku i kilkunastu lat (1% i 1,2%). Około 4-krotny wzrost odsetka lisów zarażonych tasiemcem *E. multilocularis* znacznie zwiększa możliwość zarażenia się ludzi tym pasożytem w badanym rejonie Polski.