

BRONISŁAW KOZAKIEWICZ

Wartość diagnostyczna metody badania wymazów z odbytu przy echinokokozie psów*)

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu

Echinokokoza wywołana przez *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) stanowi nadal istotny problem sanitarny i ekonomiczny w wielu krajach świata (2, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23). Fakt ten zmusza do stalego poszukiwania różnych rozwiązań maksymalnie skutecznych w zwalczaniu tej parazytozy. Spośród wielu elementów w tym zakresie dość istotną rolę odgrywa przyżyciowa diagnoza echinokokozy psów. Do tej pory w badaniach laboratoryjnych korzystano w tym celu z ogólnie dostępnych metod koproskopowych, w tym głównie z metody flotacyjnej, która jednak nie gwarantuje optymalnej wykrywalności jaj tego pasożyta w kale zarażonych psów.

Celem badań było opracowanie dla praktyki weterynaryjnej skutecznej metody przyżyciowego wykrywania u psów tasiemców z rodziny *Taeniidae*, w tym również *E. granulosus*, przy równoczesnym uwzględnieniu bezpieczeństwa osób pobierających próby, przed zarażeniem się jajami tego tasiemca.

Materiał i metody

Do badań użyto dwie grupy psów. Pierwsza grupa obejmowała 49 psów bezrasowych, różnej płci, w wieku od 2 miesięcy do około 1,5 roku, pochodzących z zagród wiejskich. Wymienione psy zarażono eksperymentalnie protoskoleksami *E. granulosus*, które podawano codziennie przez okres 7 dni. Pochodziły one z bąblowców znalezionych w wątrobach świń. Żywotność protoskoleksów była każdorazowo sprawdzana pod mikroskopem. Inwazyjne protoskoleksy były dokładnie mieszane z karmą, którą równomiernie dzielono pomiędzy poszczególne psy. Dawka inwazyjna na 1 psa wynosiła w przybliżeniu 6500 protoskoleksów *E. granulosus* dziennie, to jest około 45 500 w ciągu 7 dni. Średnia liczba stwierdzonych sekcyjnie *E. granulosus* u jednego psa z tej grupy, po upływie 10–12 tygodni od doświadczalnego zarażenia — wynosiła 3893 egzemplarze, a intensywność inwazji wahała się w granicach od 325 do 8113 tasiemców. Wymienione psy zarażone eksperymentalnie w różnych okresach, były jednocześnie wykorzystywane również do innych doświadczeń, przy prowadzonych badaniach kompleksowych nad echinokokoza m: in. w ramach polsko-amerykańskiej współpracy naukowej z Center for Disease Control, Atlanta.

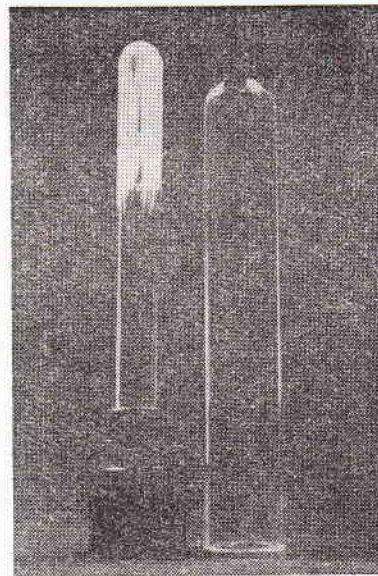
Druga grupa obejmowała 1554 psy w rejonie wiejskim, w którym stosunkowo duża ekstensywność inwazji *E. granulosus* miała charakter enzootyczny. U wybranych losowo 16 psów, u których na podstawie badania wymazów z odbytu stwierdzono obecność jaj tasiemców z rodziny *Taeniidae* — w wyniku przeprowadzonych sekcji wykryto średnio u jednego psa 2772

E. granulosus, a intensywność inwazji wahała się w granicach od 17 do 5993 egzemplarzy.

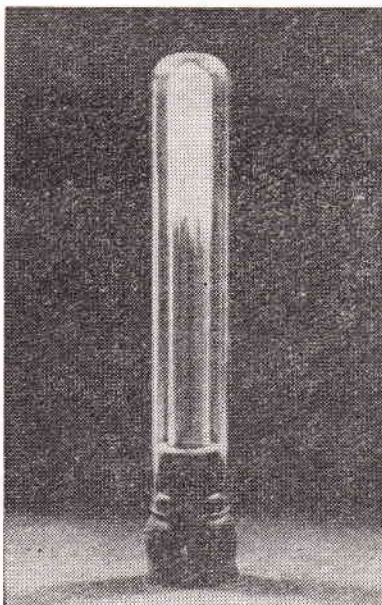
Liczbę *E. granulosus* u poszczególnych psów ustalono na podstawie badania specjalnego jelita cienkiego — wykonanego według metody własnej (9).

Materiałem do badań parazytologicznych był kał, który pobierano od każdego psa bezpośrednio z prostnicy oraz wymazy z odbytu wymienionej liczby psów z grupy I i II. Próby do badań pobierano od każdego psa równocześnie, z tym jednak, że najpierw pobierano wymaz z odbytu, a następnie kał z prostnicy. Materiał do badań od 49 psów z I grupy pobierano po upływie 6, 8 i 10 tygodnia po ich eksperymentalnym zarażeniu. Wymazy z odbytu były pobierane przy użyciu specjalnego zestawu, według własnego opracowania (ryc. 1, 2, 3), składającego się z dwóch probówek o wymiarach: 16 mm × 100 mm i 10 mm × 85 mm. Część górna probówki mniejszej była umieszczona w otworze korka gumowego z kołnierzem. Korek ten z probówką stanowił uchwyt przy pobieraniu wymazu z odbytu (ryc. 1). W celu zwiększenia przyczepności, zewnętrzną dolną część powierzchni mniejszej probówki przetarto wielokrotnie papierem ściernym drobnoziarnistym. Tę część probówki mniejszej wprowadzano do odbytu w celu pobrania wymazu. Ze względu na zagrożenie dla ludzi, materiał do badań pobrany przy użyciu probówki mniejszej, umieszczano bezpośrednio w probówce większej (ryc. 2), zamykając ją szczelnie wymienionym powyżej korkiem gumowym z kołnierzem (ryc. 3). Tak zabezpieczony materiał do badań parazytologicznych był następnie przewożony do Pracowni ZHW.

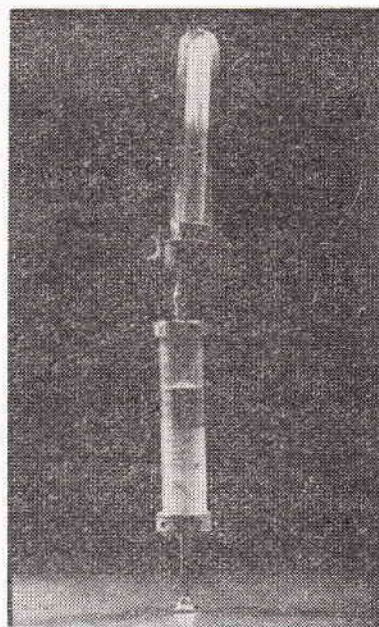
Technika przygotowania wymienionych prób do badań przedstawiała się następująco. Bezpośrednio przez



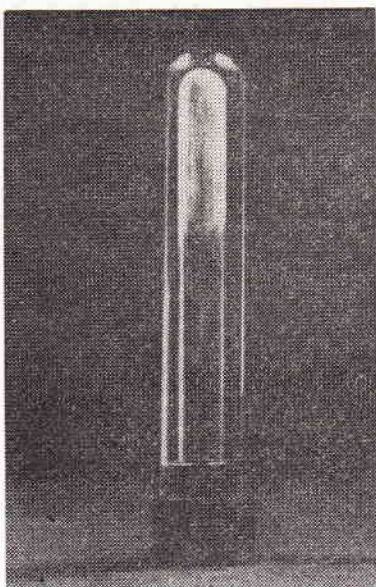
Ryc. 1. Kompletny zestaw przygotowany do pobierania wymazów



Ryc. 2. Probówka mniejsza z wymazem, umieszczona bezpośrednio w probówce większej



Ryc. 4. Bezpośrednio przez korek gumowy przy użyciu strzykawki i igły wprowadzenie do przestrzeni między tymi probówkami 10% KOH



Ryc. 3. Po szczelnym zamknięciu korkiem gumowym z kółkiem — zestaw przygotowany jest do przesylki

korek gumowy przy użyciu igły i strzykawki (ryc. 4) wprowadzano do przestrzeni między tymi probówkami 10% roztwór KOH w takiej ilości, aby uzyskać całkowite zanurzenie dolnej, pokrytej wymazem powierzchni probówki mniejszej. Wymazy do badań w 10% roztworze KOH były przygotowane do badań zawsze z jednodniowym wyprzedzeniem. Materiał badano dnia następnego na małych płytkach Petriego, pod mikroskopem stereoskopowym przy powiększeniu 40-krotnym. Można również wymienione próby badać na szkiełkach zegarkowych.

Przeprowadzone wstępne próby w tym zakresie wykazały, że jaja *E. granulosus* przetrzymywane przez okres 10 dni w 10% roztworze KOH lub NaOH były łatwo rozpoznawane w owoskopii.

Z kolei kał pobrany od psów badano ogólnie stosowaną metodą flotacyjną Willis-Schlaaf'a uzupełnioną badaniem osadu z dna probówki. Osad ten bezpośrednio po skończonym badaniu wyżej wymienioną metodą flotacyjną, umieszczano na szkiełku przedmiotowym, a następnie odwróconą do góry dnem probówką dokonywano rozmazu przy użyciu górnej krawędzi probówki.

W związku z tym, że jaja *E. granulosus* w owoskopii nie różnią się niczym szczególnym od jaj innych taeniocystów z rodziny *Taeniidae*, określano je ogólnie jako jaja *Taeniidae*.

Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawione są wyniki badań diagnostycznych prób kału oraz wymazów z odbytu od 49 psów, z grupy I zarażonych eksperymentalnie protoskoleksami *E. granulosus*. Poczynając od 6 tygodnia po zarażeniu, kolejne badania przeprowadzone w dwutygodniowych odstępach czasu wykazały znaczne zróżnicowanie w liczbach prób z wykrytymi jajami *E. granulosus*, w zależności od stosowanej metody badań. Ogólnie wyraźny wzrost liczby wykrytych prób dodatnich stwierdza się w badaniach przeprowadzanych po 8 tygodniach trwania doświadczalnej inwazji *E. granulosus* u psów w grupie I.

Z kolei w tab. 2 zestawione są wyniki badań 1554 psów, które znajdowały się w zagrodach chłopskich — w rejonie, gdzie dość duża ekstensywność inwazji *E. granulosus* występowała enzootycznie od wielu lat. W tabeli tej stwierdza się również istotną różnicę w odsetkach wykrytych prób dodatnich metodą badania wymazów z odbytu psów — w porównaniu z wynikami uzyskanymi w tym zakresie przy zastosowaniu metody flotacyjnej Willis-Schlaaf'a oraz metody badania rozmazu z dna probówki.

Szczególnie mało przydatna do tego celu okazała się metoda flotacyjna, która jest powszechnie stosowana do rutynowych badań koproskopowych, do wykrywania jaj tasiemców z rodziny *Taeniidae*.

Porównawcza analiza wyników badania materiałów pochodzących od psów zarażonych eksperymentalnie oraz od psów, które uległy zarażeniu naturalnemu w zagrodach chłopskich — w znacznym stopniu ułatwia przeprowadzenie prawidłowej oceny skuteczności zastosowanych metod diagnostycznych echinokokozy.

u pojedynczych psów w odpowiednio przygotowanej lecznicy dla zwierząt, przy zachowaniu maksymalnej ostrożności. Należy nadmienić, że jaja *E. granulosus* są w znacznym stopniu odporne na działanie stosowanych środków dezynfekcyjnych i czynników zewnętrznych, co wynika z badań wielu autorów, w tym również Yomashita, znanego specjalisty z tego zakresu (23).

Jak z powyższego wynika arekolina z wielu istotnych względów nie nadaje się do tego celu, a tym bardziej lek ten nie może być wyko-

Tab. 1. Zestawienie wyników badania psów zarażonych eksperymentalnie protoskoleksami *E. granulosus* przy zastosowaniu wybranych metod diagnostycznych na obecność jaj tasiemców z rodziny *Taeniidae*

Liczba psów zarażonych protoskoleksami <i>E. granulosus</i>	Terminy pobierania prób do badań od psów, od daty ich zarażenia	Liczba stwierdzonych prób z jajami <i>Taeniidae</i> (<i>E. granulosus</i>)					
		Metoda flotacyjna Willis-Schlaafa		Metoda badania osadu z dna próbówki		Metoda badania wymazu z odbytu	
		liczba prób	%	liczba prób	%	liczba prób	%
49	w 6 tyg.	0	0	1	2,0	11	22,4
49	w 8 tyg.	2	4,0	9	18,3	47	95,9
49	w 10 tyg.	3	6,1	12	24,4	49	100,0

Objaśnienie: Średnia liczba *E. granulosus* stwierdzonych sekcynie u 1 psa po upływie 10–12 tyg. od daty ich zarażenia wynosiła 3893 egzemplarze.

Tab. 2. Zestawienie wyników badania psów w rejonie wiejskim przy zastosowaniu wybranych metod diagnostycznych na obecność jaj tasiemców z rodziny *Taeniidae*

Liczba psów objętych badaniami	Średnia liczba <i>E. granulosus</i> stwierdzonych sekcynie u 1 psa	Liczba stwierdzonych prób z jajami <i>Taeniidae</i>					
		Metoda flotacyjna Willis-Schlaafa		Metoda badania osadu z dna próbówki		Metoda badania wymazu z odbytu	
		liczba prób	%	liczba prób	%	liczba prób	%
1534	2722	9	0,6	45	2,9	181	11,6

Do wykrywania *E. granulosus* u psów stosowana jest powszechnie również arekolina (*Arcolinum hydrobromicum*) jako remedium taenifuga (3, 5, 6, 17). Arekolina jest alkaloidem o gwałtownym działaniu i bardzo silnym środkiem parasympatykotonicznym. Lek ten podany doustnie — nie zabija, lecz tylko częściowo poraża, a przy tym działa jednocześnie przeciwszczająco. Fakt ten powinien być zawsze uwzględniany przy wykorzystywaniu arekoliny do pobierania materiału od psów do badań parazytologicznych na obecność *E. granulosus*. Arekolina zastosowana doustnie powoduje usunięcie z jelit cienkich psa dość znacznego odsetka *E. granulosus* (1, 3, 4, 5, 6, 17), zakażając tym samym w dużym stopniu środowisko zewnętrzne, które automatycznie staje się potencjalnym źródłem zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt, żywicieli pośrednich tego tasiemca.

W ramach realizowanego programu badań kompleksowych nad echinokokożą — przeprowadzono również próby zastosowania w warunkach terenowych arekoliny do pobierania materiału od psów do diagnostyki parazytologicznej w tym zakresie. Wykorzystanie arekoliny do tego celu okazało się całkowicie nieprzydatne w warunkach terenowych, w zagrodach posiadaczy psów. Zabieg ten można wykonywać

rzystany do masowych badań diagnostycznych w terenie.

W przeciwieństwie do ww. metody przy zastosowaniu arekoliny — pobieranie materiału do badań w kierunku echinokokozy psów przy użyciu opisanego zestawu własnego, może być przeprowadzane w różnych warunkach, nawet jednocześnie przy masowym szczepieniu psów p-wścieklicznie w terenie wiejskim, gdzie głównie występuje ta parazytoza.

Przedstawiony zestaw (ryc. 1, 2, 3) do pobierania wymazów z odbytu od psów jest bardzo prosty, a przy tym odpowiada wymogom bezpieczeństwa i higieny pracy w tym zakresie, co nie jest obojętne dla osób narażonych bezpośrednio lub pośrednio na zarażenie się jajami *E. granulosus*. Opisana w niniejszej pracy metodyka badań może być wykonywana w każdym laboratorium terenowym, ponieważ nie wymaga żadnego specjalnego wyposażenia, poza znajdującym się normalnie tego typu sprzętem, który jest używany w diagnostyce laboratoryjnej.

Wniosek

1. Użytkane wyniki badań przy zastosowaniu własnej metody badania wymazów z odbytu od psów — upoważniają do zalecenia tej metody w

rutynowej diagnostyce tasieńczy z rodziny *Taeniidae*, w tym również *E. granulosus*. W porównaniu do stosowanej dotychczas metody flotacyjnej Willis-Schlaafa uzupełnionej kontrolną osadą badanej próby — metoda badania wymazów z odbytu zapewnia znacznie większy procent wykrywalności jaj *Taeniidae*.

Piśmiennictwo

1. Aminzhanov M., Geldiev M.: Veterinarija, Moskwa 49, 66, 1972.
2. Arundel J. H.: Aust. Vet. J. 48, 140, 1972.
3. Beard T. C.: Med. J. Aust. 56, 456, 1969.
4. Blood B. D., Moja V., Lelijveld J. L.: Bull. Wld. Hlth Org. 39, 67, 1968.
5. Cook B. R., Clarkson M. J.: Ann. trop. Med. Parasit. 65, 71, 1971.
6. Gemmell A. M.: Bull. Wld Hlth Org. 48, 649, 1973.
7. Eckert J.: Schweizer Arch. Tierheilk. 112, 443, 1970.
8. Kozakiewicz B.: Medycyna Wet. 31, 41, 1975.
9. Kazakiewicz B., Pawłowski Z., Zatoński J.: Medycyna Wet. 31, 460, 1975.
10. Lübke R.: Tierärztl. Umsch. 27, 23, 1972.
11. Murray H. M. L.: Med. J. Aust. 58, 779, 1971.
12. Neghme A., Silva R.: Revta Ass. méd. bras. 16, 279, 1970.
13. Patel D. C.: Med. J. Zambia 3, 83, 1969.
14. Pegreff G.: Vet. ital. 21, 377, 1970.
15. Pöysti H., Pöysti E.: Suom. Eläinlääk 75, 135, 1969.
16. Rycke P. H.: Vlaams Diergeneesk. Zijdschr. 39, 635, 1970.
17. Schantz P. M.: Bol. Chil. Parasit. 28, 81, 1973.
18. Tarazona J. M., Garcia M. V.: Revta ibér. Parasit. 31, 299, 1971.
19. Troncy P., Graber M.: Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 22, 69, 1969.
20. Tzamouranis N.: Iatriki 15, 475, 1969.
21. Vaccaro A., Martone F.: Acta med. vet. Neapol 15, 115, 1969.
22. Višnjakov J., Dimitrov D.: Veterinaria, Saraj. 18, 415, 1969.
23. Yamashita J.: Prog. Med. Parasit. Jap. 5, 65, 1973.

Adres autora: dr habil. Bronisław Kozakiewicz, ul. Lazurowa 16/100, 60-655 Poznań.

Kozakiewicz B. — **Диагностическое значение метода исследования мазков из заднего прохода при эхинококкозе собак.**

Для прижизненного обнаруживания солитеров из семейства *Taeniidae*, в том также *E. granulosus*, у со-

бак, зараженных экспериментально и в натуральных условиях, были использованы метод исследования мазков из заднего прохода с применением специального комплекта и флотационный метод Willis-Schlaafa, дополненный исследованием осадка с дна пробирки. У 49 экспериментально зараженных собак (в среднем у 1 собаки 3893 *E. granulosus*) был получен при исследовании мазков из заднего прохода положительный результат у всех собак (100%), у 3 собак (6,1%) методом Willis-Schlaafa и у 12 собак (24,5%) — в результате исследования осадка с дна пробирки. В сельском районе, эхинококкоз в котором появлялся энзоотически, из исследованных в общем 1554 собак яички *Taeniidae* были обнаружены у 181 собак (11,6%) методом исследования мазков из заднего прохода, у 9 собак (0,6%) — методом Willis-Schlaafa и у 45 собак (2,9%) — методом исследования осадка с дна пробирки.

Kozakiewicz B. — **Diagnostic value of the method based on the examination of the smears taken from the anus in case of echinococcosis in dogs.**

For supravital discovery of tapeworms of the *Taeniidae* family including *E. granulosus* in dogs, infested experimentally and under natural conditions, there were used the technique of smears examinations and Willis-Schlaaf's method accomplished with the examination of the pellet. In 49 dogs infested experimentally (approx. 3893 *E. granulosus* per animal) the positive result by the use of smears was obtained in the all dogs examined (100%), and in three dogs by means of Willis-Schlaaf's method (6.1%), and in 12 animals (24.5%) by the use of the pellet for examination. In the field out of 1554 dogs under study the eggs of tapeworms were stated in 181 dogs (11.6%) by means of smears examination, in 9 (0.6%) with Willis-Schlaaf's technique and in 45 animals (2.9%) with the method of pellet examination.

CUNNINGHAM B. **Działanie ochronne przeciwciał siarowych dla *Brucella abortus* u zwierząt szczepionych S19 i zwierząt zakażonych na drodze naturalnej. (Protective effects of colostral antibodies to *Brucella abortus* on strain 19 vaccination and field injections).** Vet. Rec. 101, 521—524, 1977 (26—27).

Badania przeprowadzono w dwóch grupach. Grupa A liczyła 69 cieląt pochodzących od krów z obór wolnych od brucellozy szczepionych S19 w wieku 1 i 198 dnia życia. 28 cieląt przed szczepieniem nie reagowało w odczynie aglutynacji, wiązania dopełniacza i testie antyglobulinowym. Grupę B stanowiły cielęta pochodzące od matek zakażonych brucellozą na drodze naturalnej. Cielęta karmiono początkowo siarą a następnie mlekiem. Badania wykazały, że cielęta, które otrzymywały siarę pozbawioną swoistych przeciwciał dla *Br. abortus*, wytwarzały po szczepieniu swoiste przeciwciała dla szczepu S19. U cieląt karmionych siarą pochodzącą od matek zakażonych zaobserwowano działanie supresyjne przeciwciał zawartych w siarze. To działanie supresyjne utrzymywało się przez okres 153 dni.

G.

SNODGRASS D. R., ANGUS K. W., GRAY E. W.: **Zakażenie jagniąt rotawirusami: patogenеза i patologia. (Rotavirus infection in lambs: pathogenesis and pathology).** Arch. Virol. 55, 263—274, 1977 (4).

Przebadano metodą immunofluorescencji oraz w mikroskopie elektronowym zmiany histologiczne w tkankach jagniąt zakażonych w wieku 2—4 dni, doustnie rotawirusami, które przepasażowano 2—4 krotnie przez gnotobiotyczne jagnięta. Badaniem immunofluorescencyjnym stwierdzono obecność antygenu wirusowego jedynie w komórkach nabłonków kosmków jelit cienkich i grubych. Zakażenie kosmków

miało miejsce już w okresie inkubacji choroby. Po 96 godzinach po zakażeniu antygen wirusowy stwierdzano w nabłonku jelita cienkiego i jelita ślepego, zaś po 144 godzinach nie stwierdzano antygenu wirusa w nabłonkach jelit. Na czło zmian histologicznych wysuwało się skrócenie kosmków i zwyródnienie komórek nabłonka. Zmiany histologiczne cofały się 6 dnia po zakażeniu.

G.

BUERGELT C. D., HALL C. E., MERKAL R. S., WHITLOCK R. H., DUNCAN J. R.: **Transformacja limfocytów: metoda pomocnicza w rozpoznawaniu gruźlicy rzekomej. (Lymphocyte transformation: an aid in the diagnosis of paratuberculosis).** Amer. J. vet. Res. 33, 1709—1715, 1977 (11).

Porównano przydatność odczynu transformacji leukocytów z odczynami stosowanymi w rutynowej diagnostyce gruźlicy rzekomej: hodowla zarazka z kału, odczyn precipitacji dyfuzyjnej w żelu. W odczynie transformacji stosowano leukocyty pełnej krwi, joninę oraz tuberkulinę PPD ssaków i ptaków. Badania przeprowadzono na 90 krowach pochodzących ze stad, w których występowała gruźlica rzekoma. Badania histopatologiczne i hodowlane wykazały, że spośród 90 badanych krów zakażenie występuje u 65, 29% wyników dodatnich i 44% wyników fałszywie ujemnych uzyskano w metodzie hodowli zarazka z kału. W odczynie wiązania dopełniacza uzyskano 12% wyników dodatnich, 2% wyników fałszywie dodatnich i 61% wyników fałszywie ujemnych, zaś w odczynie precipitacji dyfuzyjnej w żelu 13% wyników dodatnich i 60% wyników fałszywie ujemnych. W odczynie transformacji limfocytów uzyskano u 56% zakażonych krów wyniki dodatnie, 16% wyników fałszywie ujemnych i 10% wyników fałszywie dodatnich.

G