

Diagnosticul hidatidozei

S. MORARIU

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Atât la om, cât și la animale există puține semne clinice care să ateste prezența parazitului în organe sau țesuturi. La gazdele definitive ouăle pot fi uneori prezente în fecale, dar au o valoare redusă pentru diagnosticarea infestațiilor cu genul *Echinococcus*. De aceea, diagnosticul ante-mortem reprezintă o problemă încă îndeajuns rezolvată. Metodele indirecte, cum ar fi tehnicile imagistice și cele de imunodiagnostic, rămân metodele de bază pentru stabilirea diagnosticului la animalul în viață.

1. DIAGNOSTICUL HIDATIDOZEI LA OM

1.1. Diagnosticul clinic

Diagnosticul clinic al hidatidozei se bazează pe semnele clinice și pe datele anamnetice.

Faza inițială a infestației primare este, obișnuit, asimptomatică. După o perioadă de incubare variabilă, când chisturile cresc, exercitând presiune asupra țesuturilor adiacente sau când se produc complicații, infestația devine simptomatică. Se poate constata:

- hepatomegalie cu/fără coleastăză și cu/fără icter; ciroză secundară; colici biliare cu/fără colangită sau pancreatită; hipertensiune portală cu/fără ascită; fistule biliare cutanate, în sistemul respirator sau în tractul digestiv;
- tuse cronică, expectorație, dispnee;
- hemoptizie; pneumotorax; pleurită; pneumonie eozinofilică etc.

Însă, toate aceste semne clinice doar orientează diagnosticul, care trebuie confirmat prin tehnici imagistice, imunologice și puncție.

1.2. Diagnosticul imagistic

Evidențierea morfologică a chisturilor hidatice se poate face prin ultrasonografie, tomografie

computerizată (CT), rezonanță magnetică (MR) și radiografie toracică.

a) *Ultrasonografia* - s-a remarcat ca o tehnică de screening de mare sensibilitate și specificitate. În majoritatea studiilor în care screening-ul cu ultrasunete a fost comparat cu testele serologice, ultrasonografia a evidențiat o mai mare infestație, cu valori predictive pozitive ridicate (5, 53).

b) *Tomografia computerizată* – în comparație cu ultrasonografia, ea permite o mai bună stabilire a localizării, mărimii și structurii, mai ales pentru chisturile mici; monitorizarea leziunilor în timpul tratamentului și evoluția calcificării; detectarea recrudescenței leziunilor chistice postoperatorii. De asemenea, CT permite determinarea modificării volumului leziunilor parazitare. Sensibilitatea metodei este cuprinsă între 61% și 96% (5, 28).

c) *Rezonanța magnetică* – nu prezintă avantaje importante, comparativ cu CT, dar este superioară în identificarea modificărilor sistemului venos intra- și extrahepatic (30).

d) *Radiografiile toracice* – experiența acumulată de-a lungul anilor arată că doar aproximativ 10% dintre chisturile hidatice au localizare toracică și pot fi detectate prin radiografiere (52).

1.3. Puncția

Prezintă riscul apariției reacțiilor anafilactice sau al răspândirii protoscolecșilor cu producerea echinococozii secundare. Se justifică doar în cazul în care titrurile anticorpilor serici anti-*Echinococcus* nu sunt detectabile și al leziunilor pentru care tehnicile imagistice nu permit o discriminare între chistul hidatic, abcesele hepatice sau neoplasme. Această tehnică se utilizează, obișnuit, sub acoperire chemoterapeutică (5, 58).

Alte tehnici care pot fi utilizate în detectarea chisturilor hidatice sunt: colangiografia endoscopică retrogradă, angiografia, scintigrafia.

1.4. Diagnosticul imunologic

Detectarea anticorpilor

În pofida tuturor anilor de cercetare și dezvoltare, nu există încă o metodă standard, cu un înalt grad de sensibilitate și specificitate pentru detectarea anticorpilor serici în hidatidoză.

Hemaglutinarea indirectă (IHAT) și ELISA sunt cele mai utilizate metode pentru evidențierea anticorpilor anti-*Echinococcus* (IgG).

Studii ale subclaselor IgG la pacienții cu hidatidoză au arătat o creștere semnificativă a tuturor IgG, mai ales IgG1 și IgG4 (40). *Wen* și *Craig* (76) au confirmat că IgG1 și IgG4 sunt predominante în serul pacienților cu hidatidoză avansată. Interesant este faptul că la cazurile asimptomatice, depistate prin ultrasonografie, răspunsul IgG1 a fost mai mare decât IgG4. Pentru practica medicală trebuie menționat că, în funcție de testele efectuate, dar și de alți factori, aproximativ 10% din pacienții cu hidatide hepatice și aproximativ 40% din cei cu chisturi hidatice pulmonare nu produc anticorpi serici detectabili (IgG) și prezintă rezultate fals negative care pot fi interpretate greșit (5, 6).

Un test specific este cel de precipitare arc 5. Reactivitatea încrucișată apare doar pentru cazurile cu alveococoză sau hidatidoză polichistică (*E. vogeli*) și la 15-20% din pacienții cu cisticercoză (60).

Confirmarea serologică trebuie realizată prin combinarea a două sau mai multe teste, incluzând o metodă sensibilă cum este ELISA (sau IHAT) ca test de bază și arc 5 pentru confirmare.

Caracterizarea antigenelor și testele imunoblot.

Purificarea biochimică a celor două antigene lipoproteice ale lichidului hidatic – antigenul 5 și antigenul B – s-a realizat prin combinarea mai multor tehnici de precipitare, dializă, centrifugare, cromatografie și HPLC (29, 50, 64). Antigenele au fost caracterizate prin SDS-PAGE și imunoblotting (Western blotting) (48, 69).

SDS-PAGE a identificat principalele subunități componente ale antigenelor 5 și B:

subunitățile labile termic: de 38 – 39 și 25 kDa pentru antigenul 5;

subunitățile stabile termic: de 8-12, 16 și 20-24 kDa pentru antigenul B.

Wen și *Craig* (76) au arătat că subunitățile antigenului B leagă mai ales anticorpii IgG4, pe când cele ale antigenului 5 reacționează mai intens cu IgG4.

Prin Western immunoblotting, subunitățile cu greutate moleculară mai mică ale antigenului B au fost recunoscute mult mai specific (54). Subunitatea de 8 kDa leagă anticorpii în 91% din cazuri, cu reacții fals pozitive doar la pacienții cu alveococoză, hidatidoză polichistică (*E. vogeli*) și în foarte mică proporție la cei infestați cu *Taenia solium* (55). *Siracusano* și *col.* (69) au stabilit că subunitățile predominante ale antigenului B sunt cele de 12-16 kDa, observând o sensibilitate de 61% și o seropozitivitate de 90% pentru subunitatea de 39 kDa a antigenului 5.

Antigenele protoscolecșilor, cu o greutate moleculară de 43-45 kDa sunt recunoscute atât de serul provenit de la pacienți cu hidatidoză, cât și de serul maimuțelor infestate experimental (17, 67). ADN-ul provenit din protoscolecși și de la stadiul adult poate fi utilizat la identificarea și producerea unor noi antigene pentru diagnostic (31, 32, 35).

Antigenele circulante (CAG) și complexe imune (CI)

Tehnicile de detectare a antigenelor circulante din ser sau urină pot fi folosite pentru diagnosticarea infestațiilor curente.

Detectarea antigenelor depinde, în principal, de legarea anticorpilor policlonali sau monoclonali la antigenul parazitar prezent în ser (sau orice alt lichid).

Standardizarea ELISA pentru detectarea CAG nu este foarte clară, deoarece unii pacienți cu hidatidoză au prezentat antigenemie (17, 23) și/sau complexe imune circulante (17). Nivelurile serice ale antigenelor au variat între 100 și 700 ng/ml.

Tratarea cu acid a serurilor provenite de la pacienții cu hidatidoză, pentru disocierea complexelor imune circulante și pentru reducerea efectelor de fond (autoanticorpi), a fost considerată utilă. Până acum, pentru caracterizarea antigenelor au fost efectuate doar studii preliminare, prin SDS-PAGE (17) și FPLC (9).

S-a evidențiat un antigen de 60-67 kDa în ser, dar care este prezent și în lichidul hidatic. Alte studii sugerează că există steroizi eliberați de parazit (asemănători hormonului de năpârlire) care se găsesc în serul pacienților cu hidatidoză (46), dar și în lichidul hidatic (57). Acești *hormoni* cu greutate moleculară mică ce sunt implicați, probabil, în procesul de strobilare și apoliză, este puțin probabil să fie detectați prin ELISA utilizând antiser uman și de iepure.

Nu toate complexele imune sunt antigen specifice, iar o creștere a celor nespecifice poate apare în hidatidoza umană, în urma unor infecții cronice.

Dozarea imuno-radiometrică utilizează anticorpi marcați cu un marker radioactiv, de obicei I^{125} . Acest test este comparabil ca sensibilitate și specificitate cu celelalte metode serologice, dar nu oferă avantaje față de acestea.

Testul imunoelectroforetic (IEP) se folosește mai frecvent pentru supravegherea post-operatorie a pacienților. El devine negativ la 12 luni după îndepărtarea chirurgicală reușită a chistului, chiar dacă *Rickard* (65) a observat o reacție pozitivă la 2 ani pentru mai mulți pacienți.

2. DIAGNOSTICUL HIDATIDOZEI LA ANIMALELE GAZDE INTERMEDIARE

2.1. Diagnosticul clinic

Evoluția clinică a hidatidozei la gazdele intermediare (ovine, bovine, suine, cabaline, caprine, cămile etc.) face imposibilă stabilirea diagnosticului, deoarece, de regulă, aceasta este asimptomatică.

În schimb, examinarea morfopatologică este suficient de caracteristică pentru identificarea hidatidelor mature; totuși, leziunile de dimensiuni mici, în special cele hepatice, necesită o confirmare histologică pentru a le putea diferenția față de cele produse de larvele de

Taenia hydatigena sau ale altor helminți migratori (51, 71).

Datele cu referire la prevalența în funcție de vârstă, dacă sunt disponibile, reprezintă o parte importantă a programelor de control ale hidatidozei (37). Unele țări, mai ales din Orientul Mijlociu, importă un număr mare de animale (în special ovine), cel mai adesea din țări în care hidatidoza are o evoluție endemică (Australia, Spania, Uruguay etc.). De aceea, stabilirea diagnosticului de hidatidoză încă din timpul vieții animalului ar fi benefică atât pentru programele de control, cât și pentru verificarea turmelor înainte de a fi mutate într-o altă regiune.

2.2. Diagnosticul imagistic

Pentru depistarea oilor infestate se poate utiliza diagnosticul radiologic (77).

O metodă mult mai practică o reprezintă ultrasonografia, cu ajutorul unui echipament portabil, chiar dacă nu există referiri numeroase, doar pentru medicina veterinară din țările dezvoltate (18).

2.3. Diagnosticul imunologic

Oile sunt principalele gazde intermediare pentru *E. granulosus* în majoritatea regiunilor endemice ale lumii și, de aceea, cercetările imunologice au fost realizate mai ales la această specie.

Cu toate eforturile depuse în anii 1980 pentru dezvoltarea tehnicilor imunologice, nu există deocamdată un test serologic adaptat pentru ovine sau alte specii (47). Prin utilizarea aceluși metode de detectare a anticorpilor serici folosite în medicina umană, au fost înregistrate niveluri scăzute de sensibilitate și specificitate prin IHA, arc 5-IEP, DD5 și ELISA (20, 78, 79).

Se pare că anticorpilor sunt mai ușor de detectat în cadrul infestațiilor experimentale comparativ cu cele naturale (49, 79). Anticorpilor serici ai oilor infestate experimental au putut fi puși în evidență la patru săptămâni post infestație prin ELISA și la 16 săptămâni prin arc 5-IEP (79). Chiar și atunci când poartă hidatide mature de dimensiuni mari, oile nu prezintă răspuns imunologic sau acesta are o slabă intensitate atunci când este prezent (47).

Pot apare și reacții fals pozitive datorită reactivității încrucișate cu antigenele altor metacestode, cum ar fi cele de *T. hydatigena*, *T. ovis*, *Multiceps multiceps* sau *Fasciola hepatica* (20, 79).

Încercările de a realiza teste competitive prin utilizarea anticorpilor monoclonali nu s-au soldat cu succese pentru diagnosticarea infestației la ovine (20, 22). Rezultate încurajatoare s-au obținut prin utilizarea anticorpilor monoclonali anti-*Echinococcus* din protoscolecși, cu o reducere semnificativă a reactivității încrucișate pentru *T. hydatigena*, *T. ovis* și *F. hepatica*, dar cu păstrarea sensibilității (20).

Detectarea antigenelor circulante la ovine nu este atât de sensibilă ca în hidatidoza umană (44). La suine și în cisticercoza bovină, antigenele circulante au putut fi puse în evidență prin ELISA cu anticorpi monoclonali (66).

La alte specii (cămile, bovine, iak) infestate natural, testarea serologică prin IHA a arătat o sensibilitate de 43% și o specificitate de 69-72% (24, 68).

3. DIAGNOSTICUL HIDATIDOZEI LA GAZDELE DEFINITIVE

Identificarea câinilor infestați cu *E. granulosus* este foarte importantă, atât pentru studiile epidemiologice, cât și pentru programele de control. Spre deosebire de alte helmintoze gastrointestinale la câine, echinococoza este greu de depistat. Chiar și atunci când intensitatea parazitismului este mare, diagnosticul ante-mortem nu poate fi stabilit cu ușurință.

3.1. Necropsiile

Diagnosticul infestațiilor cu *E. granulosus* la câini (și alte gazde definitive) se stabilește cel mai ușor la necropsie, prin examinarea atentă a intestinului subțire. De multe ori, această examinare este dificil de realizat, mai ales atunci când încărcătura parazitară este mică (<50 de cestode) sau viermii sunt imaturi. Deoarece ei sunt atașați între vilozități, doar porțiunea lor posterioară este vizibilă. De aceea se impune studierea suprafeței mucoasei intestinale cu ajutorul unei lupe. De obicei, colorarea nu este necesară.

În general, examinarea post-mortem a câinilor se realizează în teren, din motive practice. Intestinul subțire, ligaturat și fixat în formalină, poate fi însă transportat în laborator. Examinarea probelor proaspete de intestin se face după o incubare a segmentelor de 20-30 cm în ser fiziologic la 37°C timp de 30 de minute, cu agitare periodică. Astfel, cestodele genului *Echinococcus* au tendința de a se detașa de intestin și de a sedimenta, putând fi numărate mai ușor după îndepărtarea intestinului și a supernatantului (în care se găsește conținut intestinal și mucus). În timpul manipulării probelor trebuie luate măsuri de prevenire a infestării personalului.

De obicei, intensitatea parazitismului este repartizată inegal (de exemplu, doar câțiva câini dintr-o populație dată poartă cea mai mare parte a biomasei cestodelor). În funcție de numărul total al cestodelor infestația poate fi slabă sau moderată (până la 1.000 de viermi) și puternică (peste 1.000 de viermi). În infestațiile masive, estimarea numărului total de *E. granulosus* se face prin numărarea viermilor din eșantioane obținute din fragmente intestinale cu lungime cunoscută.

Probele colectate pot fi păstrate în etanol 70% sau în formalină, pentru examinarea morfologică sau pentru stabilirea profilului ADN, în scopul identificării sușelor.

3.2. Examinarea coproparazitologică

Identificarea ouălor teniidelor în probele de fecale, în crustele perianale sau în eșantioanele concentrate de fecale este nespecifică și lipsită de sensibilitate.

Pentru identificare se folosesc tehnicile coproparazitologice tradiționale. Există mai multe specii de teniide ce pot infesta câinii (ex.: *T. hydatigena*, *T. pisiformis*, *Multiceps multiceps*, *Echinococcus*), cestode ale căror ouă sunt identice morfologic, astfel că singurul diagnostic posibil este cel de *infestație cu cestode*.

Chiar și la teniile de talie mare, care au o fecunditate și un potențial biotic mai mare decât *E. granulosus*, ouăle nu pot fi identificate decât în proporție de 13-17% (2). Eliminarea neregulată a ouălor a fost raportată, de asemenea, în infestațiile experimentale cu *T. hydatigena* (27). Evidențierea proglotelor ovigere de *E.*

granulosus în fecale are valoare de diagnostic, dar, adesea, este greu de realizat, chiar și în infestațiile masive. *Deplazes* și *Eckert* (25) au pus în evidență aceste proglote doar în 36% din cazuri în urma infestațiilor experimentale.

Ouăle de *Echinococcus*, *T. hydatigena* și *T. pisiformis* pot fi identificate prin imunofluorescență indirectă (IFAT). În cazul ouălor activate specificitatea a fost de 100%, iar sensibilitatea de 73% pentru *E. granulosus* (21). Chiar dacă este foarte specific, acest test nu poate fi utilizat pentru un număr mare de câini.

3.3. Purgația cu arecolină

Arecolinizarea rămâne principala metodă de diagnosticare ante-mortem a câinilor infestați cu *E. granulosus*. Dar, această metodă prezintă serioase neajunsuri, în primul rând prin biohazardul pe care îl implică, prin problemele logistice și practice, prin sensibilitatea scăzută (până la 25% din câini nu răspund purgației) și prin efectele secundare ce pot să apară în urma administrării. *Wachira și col.* (75) au efectuat necropsii după purgația cu arecolină la câini infestați natural și au constatat o subestimare a infestației de 10 ori în urma purgației. Examinarea amănunțită a probelor eliminate poate crește sensibilitatea detectării proglotelor în cazul infestațiilor slabe, însă este foarte laborioasă. Specificitatea purgației este de 100% și, de aceea, reprezintă un instrument util în studiile epidemiologice sau pentru supravegherea controlului. Aspectul educațional asociat înființării unei stații pilot de purgație cu arecolină într-o comunitate endemică este important, de asemenea, deoarece evidențiază în mod dramatic potențialul risc pentru sănătatea publică.

Arecolina bromhidrică (2mg/kg) sau arecolina acetarsolică (3mg/kg) se administrează per os, sub formă de soluție sau tablete. Câinii se înregistrează și se leagă într-o zonă bine delimitată, cât mai departe de locurile publice. Purgarea apare la 30 de minute până la o oră (ideală ar fi înfometarea câinilor timp de 12 ore înainte de testare). Se recoltează doar lichidul purgat și se fixează în soluție formol – salină 5-10%. Operatorul poate examina probele în teren, cu ajutorul unei lupe sau în laborator, la microscop. Zona de purgație se sterilizează prin flambare, iar ustensilele folosite se fierb la sfârșitul operațiunii. La câinii care nu au răspuns

purgației se poate administra o a doua doză (3/4 din cea inițială). Animalele pozitive pentru *E. granulosus* trebuie tratate cu praziquantel sau se eutanasiază.

3.4. Detectarea anticorpilor

Contactul intim dintre scolexul cestodului și suprafața mucoasei intestinului subțire al câinelui a fost studiat de *Smyth* (72). *Movsesijan* și *Mladenovic* (61) au evidențiat existența unui răspuns imun prin formarea imunoprecipitatelor în jurul adulților de *E. granulosus* incubăți în serul obținut de la câinii infestați.

Prezența anticorpilor antiechinococici în serul câinilor a fost elocvent demonstrată pentru prima dată în 1985 de către *Jenkins* și *Rickard* (43), prin ELISA. Anticorpilor au putut fi evidențiați folosind antigene brute din produșii de secreție-excreție sau din extractele somatice ale protoscolecșilor de *E. granulosus*, la 2 săptămâni postinfestație. Prin aceeași metodă, *Gasser și col.* (33) observă o sensibilitate de 72,7% și o specificitate de 91,8% la câinii infestați natural în Australia. Nu a putut fi stabilită nici o corelație între intensitatea parazitismului (care a variat între 300 și 300.000 de exemplare) și calitatea răspunsului imun. S-a stabilit însă că după tratamentul antihelmintic, anticorpilor persistă în ser mai multe săptămâni (39, 43, 59).

Anticorpilor împotriva antigenelor din oncosfere au fost evidențiați la câinii infestați natural doar în proporție de 52% (33). S-a sugerat că acești anticorpilor pot fi utilizați pentru a diferenția infestația anterioară de cea curentă. De asemenea, s-a demonstrat că unele ouă de teniide pot ecloziona spontan și se pot activa în intestinul subțire al gazdei definitive, putând penetra mucoasa (16). IgA și IgG au fost puse în evidență, de asemenea, și în saliva câinilor infestați experimental cu *T. pisiformis* (45). Anticorpilor IgA împotriva oncosferelor apar și în echinococoză, putând fi detectați în fecale.

Îmbunătățirea testelor serologice pentru depistarea anticorpilor împotriva stadiului adult se poate realiza prin identificarea antigenelor native obținute din scolecși, protoscolecși sau proglote sau prin selecționarea și prepararea antigenelor recombinante (36). Combinația dintre antigenelor brute și cele recombinante ar putea mări sensibilitatea și specificitatea metodelor, așa

cum s-a întâmplat în cazul alveococozii la om (38).

Experimentele efectuate prin SDS-PAGE și imunoprecipitare au arătat că antigenele din protoscolecși cu o greutate moleculară de 27, 35 și 94 kDa au fost recunoscute specific de serul câinilor infestați (34, 35).

3.5. Detectarea coproantigenelor

O metodă de diagnostic care să înlocuiască purgăția cu arecolină ar avea un potențial imens. Detectarea anticorpilor serici nu este chiar cea mai bună metodă, datorită capacității reziduale a acestora (pot produce reacții fals pozitive) și uneori a răspunsurilor slabe sau chiar absente.

Detectarea antigenelor specifice în probele de fecale (coproantigenele) ale gazdelor definitive are avantajul unei mai mari posibilități de a putea fi corelată cu o infestație curentă, deoarece antigenele nu sunt prezente în absența infestației. Sursa antigenelor este reprezentată de scolex, produșii de excreție – secreție ai cestodului, de tegument, de produșii rezultați din degradarea proglotelor desprinse și, posibil, de ouă (3, 4). Pentru a putea fi detectate antigenele trebuie să fie suficient de stabile pentru a supraviețui mediului proteolitic din fecale.

Prima evidențiere a antigenelor din fecale a fost realizată de Babos (7) în 1962. Este, totodată, și prima înregistrare a detectării coproantigenelor pentru paraziții intestinali. De atunci tehnica a evoluat, utilizând teste mult mai sensibile, cum ar fi ELISA, pentru foarte multe organisme: virusuri, bacterii, protozoare și helminți (1, 2, 4, 26, 63, 70, 80).

În cazul unui parazitism intens, cu peste 10.000 de cestode, probele devin pozitive la 10 zile post-infestație (26). În infestațiile cu *E. multilocularis* probele au fost pozitive după 5 zile de la infestație (26), pe când în cazul *T. hydatigena* și *T. pisiformis*, coproantigenele au fost evidențiate după 20 – 30 de zile post-infestație (4). În studiile noastre efectuate prin contraimmunoelectroforeză la sușa suină de *E. granulosus* probele au fost pozitive la 5 săptămâni p.i. (59).

Chiar dacă tehnica ELISA este specifică genului, ea nu poate evidenția coproantigenele la o intensitate a parazitismului mai mică de 70 de

cestode (26), deși Craig și col. (19) au obținut rezultate pozitive la un parazitism cu numai 9 adulți de *E. granulosus*. Titrarea experimentală a antigenelor somatice de *E. granulosus* din fecale arată o sensibilitate echivalentă mai mică de 14 ng antigen/ml supernatant de fecale (4).

Cel mai mare avantaj al metodei este reprezentat de faptul că nu necesită prezența gazdei definitive, probele de fecale putând fi recoltate de pe sol, chiar la 24 de ore de la eliminarea lor; acest avantaj este evident mai ales atunci când se testează probele de la carnivorele sălbatice (dingo, lup, vulpe, leu) (26, 62). Stocarea probelor în formalină 5% nu influențează sensibilitatea metodei (4, 8).

Identificarea și purificarea coproantigenelor de *Echinococcus* poate permite producerea anticorpilor monoclonali pentru standardizarea testului. Utilizarea unor bețișoare colorate (pentru vizualizarea reacției) impregnate cu anticorpi monoclonali conjugați, care se introduc în probele de fecale sau direct în rectul animalelor testate, ar putea revoluționa diagnosticul echinococozii (73).

3.6. Tehnicile de biologie moleculară

Diagnosticul diferențial între infestațiile cu *E. granulosus* și *E. multilocularis* la gazdele definitive se poate stabili prin hibridizarea specifică a ADN-ului prin PCR.

Studiul asupra a doi markeri genetici ai genomului mitocondrial – *citocrom c-oxidaza I* (10, 11) și *NADH dehidrogenaza I* (12) – au evidențiat șapte genotipuri distincte (G1 – G7) la *E. granulosus*, cu structuri genotipice bine stabilite, în concordanță cu sușele recunoscute biologic și morfologic. Mai mult, metoda PCR – RFLP a permis diferențierea rapidă și ușoară a izolatelor de *E. granulosus*, prin utilizarea regiunii ITS1 a ADN_r nuclear ca marker genetic (13).

Aplicarea acestei tehnici în studiile epidemiologice din Kenya a confirmat prezența sușelor ovină și camelidă (74); în Australia s-a stabilit că doar o singură sușă de *E. granulosus* este implicată în ciclurile domestic și silvatic (41, 42) și că sușa bovină este infestantă pentru om (14).

Primele date privind utilitatea metodei în diagnosticarea infestațiilor cu *E. multilocularis* datează din 1991 (38). Autorii au raportat o specificitate de 95% și o sensibilitate echivalentă cu 1 ou/4g de fecale de vulpe. *Mathis și col.* (56) îmbunătățesc metoda prin creșterea purificării ouălor recoltate din fecale, obținând o specificitate de 100% și o sensibilitate de 94%.

SUMMARY

Diagnosis of hydatidosis

The establishing of hydatidosis/echinococcosis diagnosis is not always an easy task. Frequently, the clinical signs are absent and that is why the diagnosis is based on other investigation methods. In this paper there are presented data regarding the diagnosis of disease in men and other intermediate hosts and in definitive hosts, respectively. It is insisted upon the immunodiagnosis methods in the above related categories, and upon coproantigens detection and some molecular biology techniques for definitive hosts.

Bibliografie

AHMAD, G.; NIZAMI, W.A., 1998 – Coproantigens: Early detection and suitability of an immunodiagnostic method for echinococcosis in dogs. *Vet. Parasitol.*, 77, 237 – 244.

ALLAN, J.C.; AVILA, G.; GARCIA NOVAL, J.; FLISSER, A.; CRAIG, P.S., 1990 – Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigens detection. *Parasitol.*, 101, 473 – 477.

ALLAN, J.C.; CRAIG, P.S., 1994 – Partial characterisation of *Hymenolepis diminuta* coproantigens. *J. Helminthol.*, 68, 97 – 103.

ALLAN, J.C.; CRAIG, P.S.; GARCIA NOVAL, J.; MENCOS, F.; LIU, D.; WANG, Y.; WEN, H.; ZHOU, P.; STRINGER, R.; ROGAN, M.; ZEYHLE, E., 1992 – Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitol.*, 104, 347 – 356.

AMMANN, R.V.; ECKERT, J., 1996 – Cestodes. *Echinococcus*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 25, 3, 655 – 689.

AUER, H.; PICHER, O.; ASPÖCK, H., 1988 – Combined application of enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) and indirect haemagglutination test (IHA) as a useful tool for the diagnosis and cystic echinococcosis. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr Hyg.*, 270, 313.

BABOS, S., 1962 – Untersuchungen über die Serodiagnostik der Echinokokkose. *Angewdte Parasitol.*, 3, 2 – 4.

BARONET, D.; WALTNER-TOEWS, D.; CRAIG, P.S.; JOSHI, D.D., 1994 – *Echinococcus*

infecitons in the dogs of Kathmandu, Nepal. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 88, 485 – 492.

BONIFACINO, R.; CRAIG, P.S.; CARTER, S.; MALGOR, R.; DIXON, J.B., 1993 – Partial characterisation of antigens in circulating immune complexes in cystic hydatid patients treated with albendazole. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87, 97 – 102.

BOWLES, J.; BLAIR, D.; MCMANUS, D.P., 1992 – Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial sequencing. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 54, 165 – 174.

BOWLES, J.; BLAIR, D.; MCMANUS, D.P., 1994 – Molecular genetic characterization of the cervid strain („northern form”) of *Echinococcus*. *Parasitol.*, 109, 215 – 221.

BOWLES, J.; MCMANUS, D.P., 1993 a – NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol.*, 23, 969 – 972.

BOWLES, J.; MCMANUS, D.P., 1993 b – Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a PCR – based method. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 57, 231 – 239.

BOWLES, J.; VAN KNAPEN, F.; MCMANUS, D.P., 1992 – Cattle strain of *Echinococcus granulosus* and human infection. *Lancet*, 339, 1358.

BRETAGNE, S.; ROBERT, R.; VIDAUD, D.; GOOSSENS, M.; HOUIN, R., 1991 – Structure of

the *Echinococcus multilocularis* U1 snRNA gene repet. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 46, 285 – 292.

COMAN, B.J.; RICKARD, M.D., 1975 – The location of *Taenia pisiformis*, *Taenia ovis* and *Taenia hydatigena* in the gut of the dog and its effect on the net environmental contamination with ova, *Z. Parasitkde.*, 47, 237 – 248.

CRAIG, P.S., 1986 – Detection of specific circulating antigen. Immune complexes and antibodies in human hydatidosis from Turkana (Kenya) and Great Britain, by enzyme – immunoassay. *Parasite Immunol.*, 8, 171 – 188.

CRAIG, P.S., 1997 – Immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* and a comparison of techniques for diagnosis of canine echinococcosis. In: Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern countries with special reference to Morocco, Brigham Young University Prs Services, Provo.

CRAIG, P.S.; GASSER, R.B.; CABRERA, P.; PARADA, L.; PAOLLILO, E., 1995 – Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody detection with arecoline purgation in Uruguay. *Vet. Parasitol.*, 56, 293 – 301.

CRAIG, P.S.; HOCKING, R.E.; MITCHELL, G.F.; RICKARD, M.D., 1981 – Murine hybridoma derived antibodies in the processing of antigens for the immunodiagnosis of hydatid *Echinococcus granulosus* infection in sheep. *Parasitol.*, 83, 303 – 317.

CRAIG, P.S.; MACPHERSON, C.N.L.; WATSON-JONES, D.L.; NELSON, G.S., 1988 – Immunodetection of *Echinococcus* eggs from naturally infected dogs and from environmental contamination sites in settlements in Turkana, Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82, 268 – 274.

CRAIG, P.S.; MITCHELL, G.F.; CRUISE, K.M.; RICKARD, M.D., 1980 – Hybridoma antibody immunoassays for the detection of parasite infection: attempts to produce an immunodiagnostic reagent for a larval taeniid cestode infection. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 58, 339 – 350.

CRAIG, P.S.; NELSON, G.S., 1984 – The detection of circulating antigen in human hydatid disease. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 78, 219 – 227.

DADA, B.J.O.; ADEGBOYE, D.S.; MOHAMMED, A.N., 1981 – Experience in northern Nigeria with counter current immunoelectrophoresis, double diffusion and indirect haemagglutination test for diagnosis of hydatid cyst in camels. *J. Helminthol.*, 55, 197 – 202.

DEPLAZES, P.; ECKERT, J., 1988 – Untersuchungen für Infektion des Hundes mit *Taenia hydatigena*. *Schw. Arch. Tierheilk.*, 128, 307 – 320.

DEPLAZES, P.; GOTTSTEIN, B.; ECKERT, J.; JENKINS, D.J.; EWALD, D.; JIMENEZ PALACIOS, S., 1992 – Detection of *Echinococcus coproantigen* by enzyme-linked immunoabsorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitol. Res.*, 78, 303 – 308.

DEPLAZES, P.; GOTTSTEIN, B.; STINGELIN, Y.; ECKERT, J. 1990 – Detection of *Taenia hydatigena* coproantigen by ELISA in dogs. *Vet. Parasitol.*, 36, 91 – 103.

DI PALMA, A.; ETTORE, G.C.; SCAPATI, C., 1991 – The role of computerized tomography in the diagnosis of hydatid disease. *Radiol. Med.*, 82, 430.

DIFELICE, G.; PINI, C.; AFFERNI, C.; VICARI, G., 1986 – Purification and partial characterization of the major antigen of *E. granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 20, 133 – 142.

DUEWELL, S.; MARINCEK, B.; VON SCHULTHESS, G.K., 1990 – MRT und CT bei alveolärer Echinokokkose der Leber. *Fortschr. Geb. Röntgenstr. Nuclearmed.*, 152, 441.

ERSFELD, K.; CRAIG, P.S., 1995 – Cloning and immunological characterization of *Echinococcus granulosus* ferritin. *Parasitol. Res.*, 81, 382 – 387.

FACON, B.; CHAMEKH, M.; DISSOUS, C.; CAPRON, A., 1991 – Molecular cloning of an *Echinococcus granulosus* protein expressing an immunogenic epitope of antigen 5. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 45, 233 – 240.

GASSER, R.B.; LIGHTOWLERS, M.W.; OBENDORF, D.L.; JENKINS, D.J.; RICKARD, M.D., 1988 – Evaluation of a serological test system for the diagnosis of natural *Echinococcus granulosus* infection in dogs using *E. granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Aust. Vet. J.*, 65, 369 – 373.

GASSER, R.B.; LIGHTOWLERS, M.W.; RICKARD, M.D., 1989 – Identification of protein components of *Echinococcus granulosus* protoscolex antigens for specific serodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *Parasitic Immunol.*, 11, 279 – 291.

GASSER, R.B.; LIGHTOWLERS, M.W.; RICKARD, M.D., 1990 – A recombinant antigen with potential for serodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *Int. J. Parasitol.*, 20, 943 – 950.

GASSER, R.B.; LIGHTOWLERS, M.W.; RICKARD, M.D., 1991 – Echinococcus granulosus: antigenic proteins in oncospheres and on the surface of protoscoleces identified by serum antibodies from infected dogs. *Res. Vet. Sci.*, 50, 340 – 345.

GEMMELL, M.A.; LAWSON, J.R., 1986 – Epidemiology and control of hydatid disease. In: *Biology of echinococcosis and hydatid disease*, George Allen & Unwin, London, 189 – 216.

GOTTSTEIN, B.; JACQUIER, P., 1991 – Evaluation of affinity purified and recombinant immunodiagnostic antigens of Echinococcus multilocularis. In XVth Extraordinary Congress for the Celebration of the 50 years of AIH, Rome, 831 – 834.

HEATH, D.D.; LAWRENCE, S.B.; OUDEMANS, G., 1988 – A blind test of the serological response of dogs to infection with Taenia ovis. *New Zealand Vet. J.*, 36, 143 – 145.

HIRA, P.R.; BAHR, G.M., SHWEIKI, H.M.; BEHBEHANI, K., 1990 – Diagnostic value of anti-arc 5 IgG antibody and analysis of the IgG subclasses in sera of patients with cystic hydatid disease. *Serodiagn. Immunoth. Inf. Dis.*, 4, 285 – 293.

HOPE, M.; BOWLES, J.; MCMANUS, D.P., 1991 – A reconsideration of The Echinococcus granulosus strain situation in Australia following RFLP analysis of cystic material. *Int. J. Parasitol.*, 21, 471 – 475.

HOPE, M.; BOWLES, J.; PROCIV, P.; MCMANUS, D.P., 1992 – A genetic comparison of human and wildlife isolates of Echinococcus granulosus in Queensland and the public health implications. *Med. J. Aust.*, 156, 27 – 30.

JENKINS, D.J.; RICKARD, M.D., 1985 – Specific antibody responses to Taenia hydatigena, Taenia pisiformis and Echinococcus granulosus infection in dogs. *Aust. Vet. J.*, 62, 72 – 78.

JUDSON, D.G.; DIXON, J.B.; CLARKSON, M.J.; PRITCHARD, J., 1985 – Ovine hydatidosis: some immunological characteristics of the seronegative host. *Parasitol.*, 91, 349 – 357.

KINDER, A.; CARTER, S.D.; ALLAN, J.; MARSHALL-CLARKE, S.; CRAIG, P.S., 1992 – Salivary and serum antibodies in experimental canine taeniasis. *Vet. Parasitol.*, 41, 321 – 327.

KOOLMAN, J.; MOELLER, H., 1986 – Diagnosis of major helminth infections by RIA detection of ecdysteroids in urine and serum. *Insect Biochem.*, 16, 287 – 291.

LIGHTOWLERS, M.W., 1990 – Cestode infections in animals: immunological diagnosis and vaccination. *Rev. Sci. Techn. O.I.E.*, 9, 463 – 487.

LIGHTOWLERS, M.W.; LIU, D.; HARALAMBOUS, A.; RICKARD, M.D., 1989 – Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of Echinococcus granulosus. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 37, 171 – 182.

LIGHTOWLERS, M.W.; RICKARD, M.D.; HONEY, R.D.; OBENDORF, D.L.; MITCHELL, G.F., 1984 – Serological diagnosis of Echinococcus granulosus infection in sheep using cyst fluid antigen processed by antibody affinity chromatography. *Aust. Vet. j.*, 61, 101 – 108.

LIU, D.; RICKARD, M.D.; LIGHTOWLERS, M.W., 1992 – Further characterization of monoclonal antibodies to Echinococcus granulosus antigen 5 and antigen B. *Int. J. Parasitol.*, 22, 391 – 394.

LLOYD, S.; MARTIN, S.C.; WALTERS, T.M.H.; SOULSBY, E.J.L., 1991 – Use of santinel lambs for early monitoring of the South Powys hydatidosis control scheme: prevalence of Echinococcus granulosus and some other helminths. *Vet. Rec.*, 129, 73 – 76.

MACPHERSON, C.; ROMIG, T.; ZEYHLE, E.; REES, P.; WERE, J., 1987 – Portable ultrasound scanner versus serology in screening for hydatid cysts in a nomadic population. *Lancet*, 2, 259 – 261.

MACPHERSON, C.N.L.; SPOERRY, A.; ZEHLE, E.; ROMING, T.; GORFE, M., 1989 – Pastoralists and hydatid disease: an ultrasound scanning prevalence survey in East Africa. *A. J. Trop. Med. Hyg.*, 83, 243 – 247.

MADDISON, S.E., 1989 – A specific diagnostic antigen of Echinococcus granulosus with an apparent molecular wt of 8Kda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 40, 377 – 383.

MARTIN, P.J., 1997 – Modes of Action of Anthelmintic Drugs. *Vet.J.*, 154, 11 – 34.

MATHIS, A.; DEPLAZES, P.; ECKERT, J., 1996 – An improved test system for PCR-based specific detection of Echinococcus multilocularis eggs. *J. Helminthol.*, 70, 219 – 222.

MERCER, J.G.; MUNN, A.E.; REES, H.H., 1987 – Echinococcus granulosus: occurrence of ecdysteroids in protoscoleces and hydatid cyst fluid. *Biochem. Parasitol.*, 24, 203 – 214.

MEYENBERGER, C., 1990 – Strategie bei sonographischem Verdacht auf eine Parasitose der Leber (Echinokokkose und Amöbenabszesse). *Schweiz Rundsch. Med. Prax.*, 79, 1399.

MORARIU, S.; SUCIU, A.; COSOROABĂ, I.; ŢEPELEA, G.; DĂRĂBUŞ, GH.; OPRESCU, I.;

FLORICA MORARIU, 2001 - Detectarea coproantigenelor la câinii infestați cu *Echinococcus granulosus*. Cercetări preliminare. *Rev. Sci. Parasitol.*, 2, 1, 53 - 58.

MORO, P.L., 1992 - Immunoblot (Western blot) and double diffusion (DD5) tests for hydatid disease cross-react with sera from patients with cysticercosis. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86, 422 - 423.

MOVSESIJAN, M.; MLADENOVIC, Z., 1971 - The possibility of using different developmental stages of *E. granulosus* for detection of specific antibodies against this parasite. *Vet. Glasnik*, 25, 159 - 163.

MULLER-GRAF, C.D.M., 1995 - Coprological survey of the intestinal parasites of wild lions (*Panthera leo*) in the Serengeti and the Ngorangoro Crater, Tanzania, East Africa. *J. Parasitol.*, 8, 812 - 814.

NAGESWARAN, C.; DEVANEY, E.; CRAIG, P.S., 1992 - Coproantigen detection in rats experimentally infected with *Strongyloides ratti*. *Parasitol.*, 108, 335 - 342.

ORIOLO, C.; ORIOLO, R., 1975 - Physicochemical properties of lipoprotein antigen of *Echinococcus granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 20, 133 - 142.

RICKARD, M.D., 1984 - Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. 1. latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen. *Pathology*, 16, 207 - 210.

RODRIGUEZ-DEL-ROSAL, E.; CORREA, D.; FLISSER, A., 1989 - Swine cysticercosis: detection of parasite products in serum. *Vet. Rec.*, 124, 41 - 44.

ROGAN, M.T.; MARSHALL, I.; REID, G.D.F.; MACPHERSON, C.N.L.; CRAIG, P.S., 1992 - The potential of vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) and baboons (*Papio anubis*) as non-human primate models for immunological studies on *Echinococcus granulosus* infections. *Parasitol.*, 106, 511 - 517.

SAAD, M.B.; HASSAN, A.K.M., 1989 - Indirect haemagglutination (IHA) and immunoelectrophoresis in the diagnosis of hydatidosis in Sudanese camels. *Rev. d'Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 42, 41 - 44.

SIRACUSANO, A.; IPPOLO, S.; NOTARGIACOMO, S.; ORTONA, E.; RIGANO, R.; TEGGI, A.; DE ROSA, F.; VICARI, G., 1991 -

Detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* major antigens and their subunits by immunoblotting. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85, 239 - 243.

SIRISINHA, S.; CHAWENGKIRTIKUL, R.; SERMSWAN, R.; MONKOLSUK, S.; PANYIM, S., 1991 - Detection of *Opisthoschis viverrini* by monoclonal antibody based ELISA and DNA hybridization. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 44, 140 - 145.

SLAIS, J.; VANEK, M., 1980 - Differential diagnose der Cysticerci von *Taenia hydatigena* und Hydatiden von *Echinococcus granulosus*. *Angew. Parasitol.*, 21, 16 - 20.

SMYTH, J.D., 1964 - Observations on the scolex of *Echinococcus granulosus* with special reference to the occurrence and cytochemistry of secretory cells in the rostellum. *Parasitol.*, 54, 514 - 526.

SNOWDEN, K.; HOMMEL, M., 1991 - Antigenic detection immunoassay using dipsticks and colloidal dyes. *J. Immunol. Meth.*, 140, 57 - 65.

WACHIRA, T.M.; BOWLES, J.; ZEYHLE, E.; MCMANUS, D.P., 1993 - Molecular examination of the sympatry and distribution of dheeep and camel strains of *Echinococcus granulosus* in Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48, 473 - 479.

WACHIRA, T.; MACPHERSON, C.N.L.; GATHUMA, J.M., 1990 - Hydatid disease in the Turkana District of Kenya. VII. Analysis of the infection pressure on definitive and intermediate hosts of *E. granulosus*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 84, 361 - 368.

WEN, H.; CRAIG, P.S., 1994 - IgG subclass responses in human cystic and alveolar echinococcosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 51, 741 - 748.

WYN-JONES, G.; CLARKSON, M.J., 1984 - Radiologic detection of ovine hydatidosis. *Vet. Radiol.*, 25, 182 - 186.

YONG, W.K.; HEATH, D.D., 1979 - Arc 5 antibodies in sera of sheep infected with *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis*. *Parasite Immunol.*, 1, 27 - 38.

YONG, W.K.; HEATH, D.D.; VAN KNAPEN, F., 1984 - Comparison of cestode antigens in an enzyme-linked immunoabsorbent assay for the diagnosis of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *T. ovis* infections of sheep. *Res. Vet. Sci.*, 36, 24 - 31.

YOUSSEF, F.G.; MANSOUR, N.S.; AZIZ, A.G., 1991 - Early diagnosis of human fascioliasis by the detection of coproantigens using

counterimmunoelectrophoresis. *Trans. R. Soc. Trop.*

Scientia Parasitologica, 2002, 2, 22-27
Med. Hyg., 85, 383 – 384.