



РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ФАКУЛТЕТ ЗА ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА - СКОПЈЕ



Љубица Божидар Рашиќ

ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА ЕХИНОКОКОЗАТА КАЈ ДОМАШНИТЕ
ПРЕЖИВАРИ ВО РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА

Докторски труд

Скопје, 2026



РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ФАКУЛТЕТ ЗА ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА - СКОПЈЕ



Љубица Божидар Рашиќ

**ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА ЕХИНОКОКОЗАТА КАЈ ДОМАШНИТЕ
ПРЕЖИВАРИ ВО РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА**

Докторски труд

Скопје, 2026

Докторанд:

ЉУБИЦА БОЖИДАР РАШИЌ

Тема:

**ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА ЕХИНОКОКОЗАТА КАЈ ДОМАШНИТЕ
ПРЕЖИВАРИ ВО РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА**

Ментор:

Проф. д-р ЈОВАНА СТЕФАНОВСКА

Факултет за ветеринарна медицина – Скопје

Комисија за одбрана:

Проф. д-р АЛЕКСАНДАР ЦВЕТКОВИЌ (претседател)

Факултет за ветеринарна медицина – Скопје

Проф. д-р ИГОР ЦАЦОВСКИ

Факултет за ветеринарна медицина – Скопје (член)

Проф. д-р КУРТЕШ ШЕРИФИ

Факултет за земјоделство и ветеринарство – Приштина, Р. Косово (член)

Проф. д-р МИРКО ПРОДАНОВ

Факултет за ветеринарна медицина – Скопје (член)

Научна област:

ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ

Датум на одбрана:

09.07.2026

ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА ЕХИНОКОКОЗАТА КАЈ ДОМАШНИТЕ ПРЕЖИВАРИ ВО РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА

-Апстракт -

Цистичната ехинококоза е значајна паразитна зооноза со ветеринарно, јавно- здравствено и економско значење. Целта на ова истражување беше епидемиолошка проценка на ехинококозата кај домашните преживари во Република Северна Македонија преку анализа на кланично-детектираната преваленца, факторите поврзани со инфекцијата, локализацијата и фертилноста на цистите и молекуларната идентификација на циркулирачките генотипови. Во периодот 2020–2022 година беа прегледани 1.344 животни (938 овци и 406 говеда) со потекло од сите осум статистички региони, заклани во регистрирани кланици. Фертилноста беше микроскопски проценета кај 294 цисти, а молекуларната карактеризација беше направена на 69 изолати со анализа на митохондрискиот ген *cox1*. Цистичната ехинококоза беше широко распространета во испитуваната кланична популација, со значително повисока преваленца кај овците (91,6%) отколку кај говедата (52,5%) и со изразена регионална и временска хетерогеност. Кај овците доминираше комбинирана локализација во црниот дроб и белите дробови, а фертилноста на цистите беше значително повисока во споредба со говедата (83,2% и 20,2%, соодветно). Молекуларната анализа покажа доминација на генотипот G1 (60,9%) во однос на G3 (39,1%) на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, при што кај овците G1 беше почест (62,3%) од G3 (37,7%), додека кај говедата двата генотипа беа подеднакво застапени. Кај генотипот G3, 82,6% од изолатите од овци беа фертилни. Комбинацијата од висока преваленца, висока фертилност кај овците и G1/G3 профил укажува на активен и одржлив домашен циклус куче–преживар со зоонозно значење. Резултатите обезбедуваат научна основа за насочен ветеринарен надзор, контролирано постапување со инфицирани органи и интегрирани контролни мерки во рамки на пристапот Едно здравје.

Клучни зборови: цистична ехинококоза, овци, говеда, *cox1*, Едно здравје

EPIDEMIOLOGY OF ECHINOCOCCOSIS IN DOMESTIC RUMINANTS IN THE REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA

-Abstract-

Cystic echinococcosis is an important parasitic zoonosis of veterinary, public health and economic significance. This study aimed to provide an epidemiological assessment of echinococcosis in domestic ruminants in the Republic of North Macedonia through analysis of abattoir-detected prevalence, factors associated with infection, cyst localization and fertility, and molecular identification of the circulating genotypes. During the period 2020–2022, a total of 1,344 animals, including 938 sheep and 406 cattle, originating from all eight statistical regions and slaughtered in registered abattoirs, were examined. Cyst fertility was assessed microscopically in 294 cysts, while molecular characterization was performed on 69 isolates by analysis of the mitochondrial *cox1* gene. Cystic echinococcosis was widely distributed in the examined abattoir population, with a significantly higher prevalence in sheep than in cattle, 91.6% and 52.5%, respectively, and with marked regional and temporal heterogeneity. In sheep, combined localization in the liver and lungs predominated, while cyst fertility was significantly higher than in cattle, 83.2% and 20.2%, respectively. Molecular analysis showed the predominance of genotype G1, 60.9%, over G3, 39.1%, within *Echinococcus granulosus sensu stricto*. In sheep, G1 was more frequent, 62.3%, than G3, 37.7%, whereas in cattle the two genotypes were equally represented. Among G3 isolates from sheep, 82.6% were fertile. The combination of high prevalence, high cyst fertility in sheep, and the G1/G3 profile indicates an active and sustainable domestic dog–ruminant cycle of zoonotic significance. The results provide a scientific basis for targeted veterinary surveillance, controlled management of infected organs, and integrated control measures within the One Health approach.

Keywords: cystic echinococcosis, sheep, cattle, *cox1*, One Health

Благодарност –

Изразувам искрена благодарност до моите ментори, проф. д-р Јована Стефановска и проф. д-р Александар Цветковиќ за стручната поддршка, насоките и посветеноста при изработката на овој докторски труд. Благодарам и на членовите на комисијата, професорите и колегите за конструктивната помош и соработка во текот на истражувањето.

Посебна благодарност упатувам до моето семејство и моите родители за нивната љубов, разбирање, трпение и постојано охрабрување, кои ми беа значајна поддршка во текот на целиот процес.

Изјавувам дека докторскиот труд го изработев самостојно, дека уредно ги цитирам сите користени извори и литература и дека трудот не е користен во рамките на други универзитетски студии или за стекнување на друго звање.

Своерачен потпис на докторандот

Изјавувам дека електронската верзија на докторскиот труд е идентична со отпечатениот докторски труд.

Потпис на авторот, с.р.

СОДРЖИНА

-Апстракт -	3
-Abstract-	4
Благодарност –	5
1. ВОВЕД	12
1.1 Научна и практична оправданост	12
1.2. Работни хипотези	13
1.3 Научен придонес на дисертацијата.....	13
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	14
2.1. Историја	14
2.2. Биологија и циклус на пренесување	14
2.3. Глобална и регионална епидемиологија	17
2.4. Фактори поврзани со преваленца.....	19
2.4.1. Вид на домаќин.....	19
2.4.3. Географска распределба.....	20
2.4.4. Локализација на цистите по органи	20
2.4.5. Фертилноста на цистите	20
2.4.6. Епидемиолошки пристап во анализа на преваленцата.....	21
2.5. Генотипска структура и молекуларна епидемиологија	21
2.5.1. <i>Echinococcus granulosus sensu lato</i> кај кучиња како дефинитивни домаќини.....	22
2.6. Контрола и превенција.....	23
2.7. Дијагностички пристапи во ветеринарно-епидемиолошки студии кај преживари	24
2.7.1. Класична инспекција (постмортем) и методолошки импликации.....	24
2.7.2. Проценка на фертилноста/виталност како епидемиолошки индикатор.....	25
2.7.3. Молекуларна потврда и генотипизација.....	25
2.7.4. Дијагностички пристап кај меѓудомаќини	25
3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	26
3.1. Цел на истражувањето	26
3.2. Истражувачки задачи	26
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	27
4.1. Дизајн на студијата	27
4.2. Испитуван материјал.....	27
4.2.1. Испитувана популација и примерок	27
4.2.2. Паразитолошка анализа и проценка на фертилноста	29
4.2.3. Примероци за молекуларна анализа	33
4.2.4. Екстракција на ДНК	34
4.2.5. PCR амплификација	34
4.2.6. Гел – електрофореза и верификација на PCR резултатите	35
4.2.7. Прочистување и секвенционирање	36

4.2.8. Биоинформатичка и филогенетска анализа.....	36
4.2.9. Генотипска идентификација и применет протокол	37
4.3. Статистичка анализа	37
4.3.1. Подготовка на податоците	38
4.3.2. Дескриптивна статистика и проценка на преваленца.....	38
4.3.3. Анализа на временски тренд	38
4.3.4. Анализа на преваленца по региони.....	38
4.3.5. Анализа на локализацијата на цистите по органи	38
4.3.6. Анализа на бројноста на цистите	38
4.3.7. Анализа на фертилноста на цистите	39
4.3.8. Анализа на распределбата на генотипови	39
4.3.9. Мултиваријабилна анализа	39
4.3.10. Ниво на значајност и софтвер.....	39
4.3.11. Репрезентативност и ограничувања на примерокот.....	39
4.3.12. Големина на примерокот и статистичко оправдување.....	39
4.3.13. Етички аспекти	40
5.1. Резултати од кланичниот преглед и паразитолошката анализа	41
5.1.1. Вкупна преваленца	41
5.1.2. Преваленца според старосни категории кај говедата.....	41
5.1.3. Преваленца по години (2020–2022)	42
5.1.4. Преваленца по региони	42
5.1.5. Локализација на цистите по органи	44
5.1.6. Бројност на цисти	44
5.1.7. Фертилност на цистите	44
5.1.8. Мултиваријабилна анализа кај говедата	45
5.2. Резултати од молекуларната анализа	46
5.2.1. Генотипска распределба (G1/G3).....	46
5.2.2. Резултати од секвенционирањето (cox1).....	47
5.2.3. Подредување на секвенците и BLAST потврда	47
5.2.4. Филогенетска анализа	47
5.2.5. Географска распределба на генотиповите.....	48
5.2.6. GenBank пристапни броеви	49
6. ДИСКУСИЈА	50
6.1. Општа епидемиолошка слика и позиционирање на наодите.....	50
6.2. Преваленца според видот на домаќинот: биолошка основа и споредливост	51
6.4. Локализација и бројност на цистите по органи: епидемиолошка интерпретација	53
6.5. Фертилност на цистите како показател за потенцијалот за одржување на циклусот.....	54
6.6. Генотипска структура и епидемиолошко значење на G1/G3 профилот кај овци и говеда	55
6.7. Мултиваријабилна анализа кај говедата: значењето на возраста, периодот и регионот.....	56

6.8. Кучињата како дефинитивни домаќини: европски искуства и локален контекст	58
6.9. Домашното колење и управувањето со органи како критична точка во одржувањето на циклусот	59
6.10. Јавно здравје и Едно здравје: значењето на G1/G3-доминацијата кај животните	59
6.11. Економско влијание во сточарството и скриени загуби	60
6.13. Синтеза на наодите и идни насоки.....	62

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

AUC – површина под ROC кривата

aOR – прилагоден odds ratio

BLAST – Basic Local Alignment Search Tool

bp – базни парови

CI – интервал на доверба

cox1 – митохондриски ген за cytochrome c oxidase subunit 1

DNA – дезоксирибонуклеинска киселина

EURL-P – European Union Reference Laboratory for Parasites

GenBank – јавна база на нуклеотидни секвенци

MAFFT – Multiple Alignment using Fast Fourier Transform

MEGA X – Molecular Evolutionary Genetics Analysis, верзија X

NCBI – National Center for Biotechnology Information

OR – odds ratio

PCR – polymerase chain reaction

ROC – receiver operating characteristic

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

WOAH – World Organisation for Animal Health

ЛИСТА НА ТАБЕЛИ И СЛИКИ

Листа на табели

Табела 1. Моментално признаени видови од родот <i>Echinococcus</i> со нивните домаќини и географска распространетост (17,23).....	15
Табела 2. Распределба на прегледаните овци и говеда според статистички региони во Република Северна Македонија	27
Табела 3. Распределба на животните вклучени во паразитолошката анализа според локализацијата на цистите и видот на животно (n = 294)	29
Табела 4. Број на примероци според општина, регион и вид на животно (молекуларни испитувања; n = 69)	34
Табела 5. Користени прајмери	35
Табела 6. Начин на идентификација на генотипот во рамки на комплексот <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. (EURL-P MI-05).....	37
Табела 7. Нуклеотиден состав на кодон 2 за разграничување на генотиповите G6 и G7 (<i>Echinococcus canadensis</i>).....	37
Табела 8. Вкупна преваленца на цистична ехинококоза кај овци и говеда (2020–2022).....	41
Табела 9. Преваленца на цистична ехинококоза кај говедата според старосни категории	41
Табела 10. Распределба на цистична ехинококоза кај овци по години (2020–2022).....	42
Табела 11. Распределба на цистична ехинококоза кај говеда по години (2020–2022).....	42
Табела 12. Распределба на цистична ехинококоза кај овци по региони (2020–2022).....	43
Табела 13. Распределба на цистична ехинококоза кај говеда по региони (2020–2022).....	43
Табела 14. Локализација на цистите по органи кај позитивни животни.....	44
Табела 15. Фертиленост на цистите кај овци и говеда	44
Табела 16. Бинарна логистичка регресија за присуство на цисти кај говеда (N = 396).....	45
Табела 17. Распределба на генотипови (G1/G3) во однос на видот на домаќинот и статусот на фертиленост (n = 69).....	47

Листа на слики

Сл. 1. Циклус на пренесување на видовите од родот <i>Echinococcus</i> (25)	17
Сл. 2. Глобална распространетост и ендемичност на ехинококозата (43)	19
Сл. 3. Преглед на органи во кланица	28
Сл. 4.Формулар за податоци на испитаните животни	28
Сл. 5. Црн дроб со детектирани цисти.....	30
Сл. 6. Бели дробови со детектирани цисти.....	30
Сл. 7. Аспирација на течност од ехинококова циста од бел дроб	31
Сл. 8. Аспирација на течност од ехинококова циста од црн дроб.....	31
Сл. 9. Протосколекси од фертилен ехинококова циста.....	32
Сл. 10. Герминативен слој на ехинококова циста.....	32
Сл. 11. Формулар за преглед на органи со ехинококови цисти	33

Сл. 12. Верификација на PCR продуктите (cox1) со агарозна гел-електрофореза (1,5%). Прикажани се тестирани примероци, позитивна контрола (C+) и негативна контрола (C–), со молекулски маркер L100.	35
Сл. 13. Шематски приказ на работниот тек на молекуларната анализа (екстракција на ДНК, PCR амплификација на cox1, верификација со гел-електрофореза, прочистување на ампликони, секвенционирање и филогенетска/генотипска анализа).....	36
Сл. 14. ROC крива за логистичкиот модел за присуство на цисти кај говедата. Прикажана е дискриминативната способност на моделот, со AUC = 0,697.....	46
Сл. 15. Филогенетско стебло на cox1 секвенци (neighbor-joining, Jukes–Cantor, 1000 bootstrap). Македонските изолати се групираат во два кластера што одговараат на генотиповите G1 и G3 на <i>Echinococcus granulosus sensu stricto</i>	48
Сл. 16. Просторна дистрибуција на примероците вклучени во молекуларното испитување според општина на потекло и вид на животно. Бројот во симболот го означува бројот на анализирани примероци од соодветната општина, при што круговите ги означуваат примероците од соодветната општина, при што круговите ги означуваат примероците од овци, а квадратите примероците од говеда.	49

1. ВОВЕД

Ехинококозата е значајна паразитарна зооноза со ветеринарно, јавно-здравствено и економско значење. Светската здравствена организација ја вбројува меѓу занемарените зоонозни заболувања, а цистичната и алвеоларната ехинококоза имаат најголемо значење за здравјето на луѓето и животните (1–4).

Цистичната ехинококоза, предизвикана главно од *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.), се одржува преку хетероксен циклус во кој кучињата и другите каниди се крајни домаќини, а домашните преживари се најважни меѓудомашкини. Човекот е случаен домаќин и не учествува во одржувањето на циклусот на пренесување (5–7).

Во ендемични сточарски средини, одржувањето и интензитетот на пренесувањето зависат од пристапот на кучињата до инфицирани органи и од степенот на контаминација на средината со паразитни јајца, на кои се изложени домашните преживари како меѓудомашкини. Во домашниот циклус на пренесување, овците имаат клучна улога не само поради честата инфекција, туку и поради поголемата веројатност за присуство на фертилни цисти. Говедата можат да покажат значајна кланична преваленца, но имаат поинаква епидемиолошка улога која треба да се проценува во контекст на локализацијата, бројноста и фертилноста на цистите.

Современата епидемиолошка проценка на цистичната ехинококоза не се заснова само на кланични наоди. Молекуларната карактеризација овозможува попрецизна идентификација на циркулирачките таксони и генотипови и подобро разбирање на циклусите на пренесување, домаќинскиот спектар и зоонозниот потенцијал на паразитот. Во таа смисла, анализата на митохондриски маркери, особено *cox1*, има важно место во современата молекуларна епидемиологија (8,9).

Балканскиот регион се смета за ендемско подрачје за цистична ехинококоза, со варијабилна преваленца кај домашните преживари и со потврдена циркулација на генотиповите G1 и G3 во повеќе соседни земји (10). Во Република Северна Македонија, податоците за болеста долго време беа ограничени. Првата систематска кланична студија покажа висока преваленца кај домашните преживари и значајна фертилност на цистите кај овците (11). Подоцнежната молекуларна анализа овозможи прва идентификација на генотиповите G1 и G3 кај преживарите во земјата, без поширока интеграција на молекуларните, паразитолошките и епидемиолошките наоди (12).

Поради тоа, потребна е интегрирана епидемиолошка проценка на цистичната ехинококоза кај домашните преживари во Република Северна Македонија, која ќе ги поврзе преваленцата, локализацијата по органи, фертилноста на цистите и генотипската структура на паразитот, со цел попрецизно разбирање на локалната динамика на пренесување и на улогата на различните домаќини во одржувањето на паразитот, во рамки на пристапот Едно здравје.

1.1 Научна и практична оправданост

Оправданоста на ова истражување произлегува од ограничените систематски податоци за епидемиологијата на цистичната ехинококоза кај домашните преживари во Република Северна Македонија. Иако болеста е одамна позната и претходно документирана, достапните локални наоди остануваат ограничени во однос на нивниот

обем, географска покриеност и можност за интегрирана интерпретација на паразитолошките и молекуларните показатели.

Во таков контекст, оваа дисертација има научна и практична оправданост затоа што ги разгледува преваленцата, локализацијата по органи, фертилноста на цистите и генотипската структура на *Echinococcus granulosus* s.l. во единствена аналитичка рамка. Со интеграција на паразитолошките, молекуларните и статистичките наоди, се создава поцврста основа за проценка на распространетоста на инфекцијата и на механизмите на нејзиното одржување кај домашните преживари.

Наодите имаат не само научно, туку и практично значење, бидејќи можат да придонесат за унапредување на надзорот, попрецизно насочување на контролните мерки и подобро поврзување на ветеринарните и јавно-здравствените аспекти на заболувањето во рамки на пристапот Едно здравје.

1.2. Работни хипотези

Во ова истражување беа поставени следните работни хипотези:

1. Преваленцата на цистичната ехинококоза се разликува меѓу испитуваните видови домашни преживари.
2. Возраста на животните е поврзана со присуството на цистична ехинококоза.
3. Постојат регионални разлики во преваленцата на цистичната ехинококоза.
4. Фертилноста на цистите е поврзана со нивната органска локализација и со видот на домаќинот.
5. Во испитуваните изолати доминира *Echinococcus granulosus* sensu stricto, со застапеност на генотиповите G1 и G3 и доминација на G1.

1.3 Научен придонес на дисертацијата

Научниот придонес на ова истражување произлегува од тоа што цистичната ехинококоза кај домашните преживари во Република Северна Македонија е анализирана во интегрирана рамка што ги поврзува преваленцата утврдена со кланичен преглед, локализацијата на цистите по органи, нивната фертилност и молекуларната идентификација на циркулирачките генотипови. За разлика од претходните локални извештаи, кои беа ограничени главно на дескриптивни кланични наоди или на мали молекуларни примероци, оваа студија овозможи заедничка епидемиолошка, паразитолошка и молекуларна интерпретација на инфекцијата. Добиените резултати придонесуваат за попрецизно разбирање на распространетоста на инфекцијата и на улогата на овците и говедата во одржувањето на домашниот циклус на пренесување на *Echinococcus granulosus* s.l. во Република Северна Македонија.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1. Историја

Првите описи на хидатидните цисти потекнуваат од античкиот период, кога тие биле препознавани како патолошки формации исполнети со течност, без јасна претстава за нивната паразитска природа (13,14). Во 17. век започнало постепено напуштање на хуморалните толкувања. Francesco Redi укажал на паразитската природа на цистичните форми, а подоцнежните набљудувања на Hartmann и Tyson дополнително придонеле за нивно препознавање како паразитски структури (13,14).

Важна пресвртница претставува 1801 година, кога Karl Rudolphi го вовел терминот *Echinococcus* и ја поставил основата на понатамошната таксономска класификација на паразитот (14). Во текот на 19. век, експерименталните истражувања овозможиле разјаснување на врската меѓу возрасната и ларвената форма на паразитот, со што бил поставен темелот за современото разбирање на неговиот животен циклус. Во истиот период започнало и разграничувањето меѓу цистичната и алвеоларната ехинококоза како различни биолошки и клинички ентитети (14).

Историскиот развој на знаењата за ехинококозата ја формирал основата за современото разбирање на таксономијата, животниот циклус и епидемиологијата на болеста. Подоцнежниот развој на паразитологијата и молекуларните методи овозможил попрецизна диференцијација на видовите и генотиповите и појасно дефинирање на циклусите на пренесување, што има директно значење за современиот епидемиолошки надзор и контрола на ехинококозата.

2.2. Биологија и циклус на пренесување

Родот *Echinococcus* припаѓа на фамилијата *Taeniidae* и опфаќа повеќе видови со различна биолошка адаптација и домаќински спектар, што се одразува во нивното епидемиолошко значење (15–17). Посебен научен интерес претставува комплексот *Echinococcus granulosus* s.l., кој вклучува повеќе генотипови и видови поврзани со цистичната ехинококоза кај животните и човекот (17–22). Современата класификација на родот *Echinococcus*, со наведените крајни и меѓудомаќини, географската распространетост и досега пријавената поврзаност со хумани случаи е прикажана во Табела 1.

Табела 1. Моментално признаени видови од родот *Echinococcus* со нивните домаќини и географска распространетост (17,23)

Вид	Крајни домаќини	Меѓудомаќини	Хумани случаи	Распространетост
<i>Echinococcus granulosus sensu stricto</i>	Домашно куче, волк, динго, чакал, други каниди	Овца, коза, говедо, свиња, камила, бивол, коњ, диви преживари, торбари итн.	Да	Космополитска
<i>Echinococcus canadensis</i>	Домашно куче, волк	Свиња, камила, елени (цервиди).	Да	Евроазија, Африка, Северна и Јужна Америка
<i>Echinococcus ortleppi</i>	Домашно куче	Говедо	Да	Евроазија, Африка
<i>Echinococcus felidis</i>	Лав	Хиена, дива свиња, зебра, гну, бивол, разни антилопи, жирафа, нилски коњ.	Не е пријавено	Африка
<i>Echinococcus equinus</i>	Домашно куче	Еквиди: коњи, магариња, зебри	Не е пријавено	Евроазија, Африка
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Сите видови лисици, волк, домашно куче, мачка	Глодари и мали тревојади цицачи, вклучувајќи зајаклики (на пр. пика); свињи, диви свињи, коњи, говеда, нутрии, примати и кучиња се случајни домаќини.	да	Евроазија, Северна Америка
<i>Echinococcus oligarthrus</i>	Диви фелиди	<i>Dasyprocta azarae</i> (агути), <i>Didelphis marsupialis</i> (опосум)	да	Централна и Јужна Америка
<i>Echinococcus vogeli</i>	Диво куче (bush dog), домашно куче	<i>Cuniculus paca</i> Linnaeus, 1766 (пака)	да	Централна и Јужна Америка
<i>Echinococcus shiquicus</i>	Тибетска лисица	<i>Ochotona curzoniae</i> (пика од Тибетската висорамнина)	Не е пријавено	Тибетска висорамнина

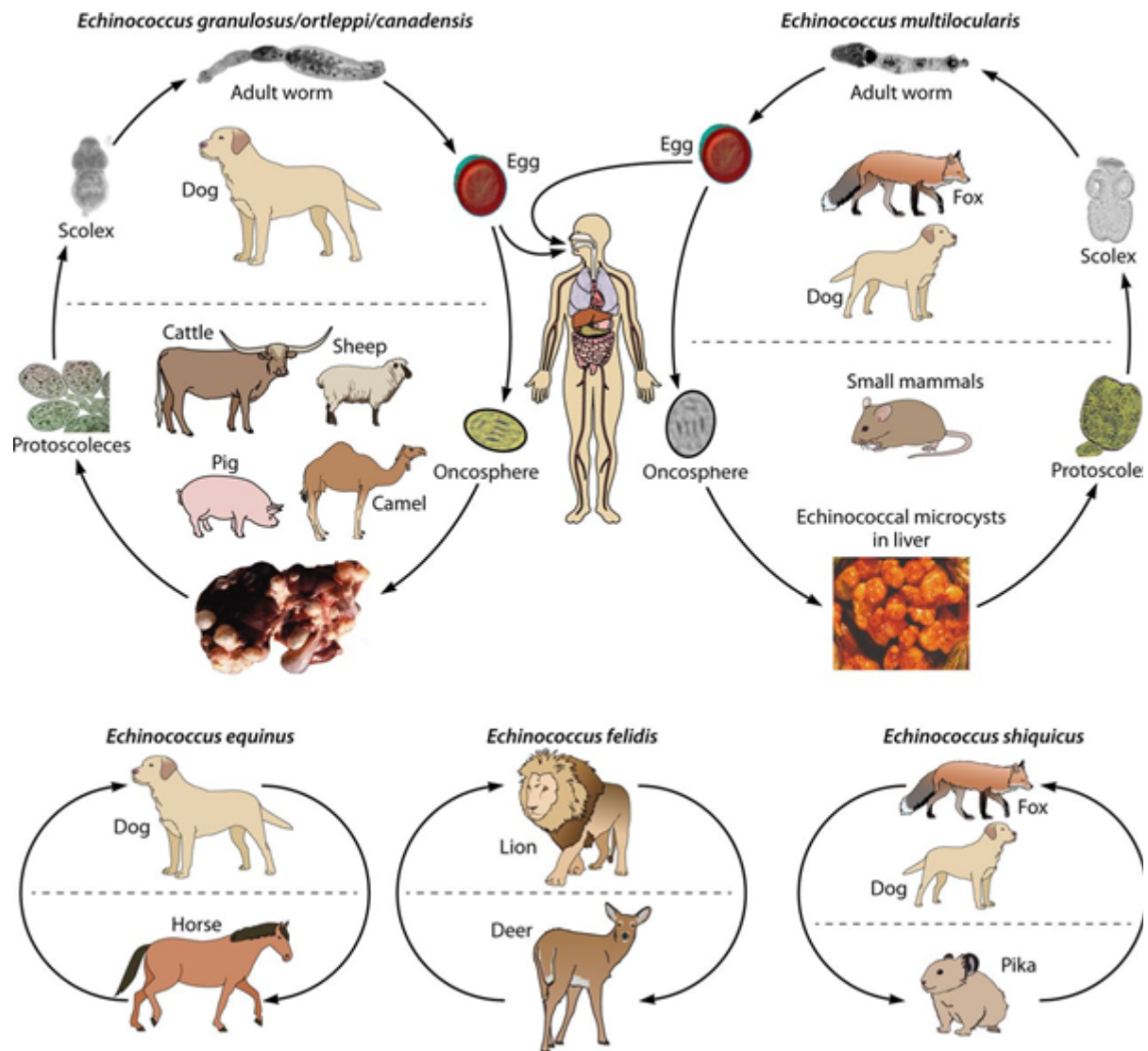
Циклусот на пренесување кај видовите од родот *Echinococcus* е хетероксен и вклучува краен домаќин и меѓудумаќин. Крајни домаќини најчесто се каниди, вклучувајќи домашни кучиња и диви месојади, во чие тенко црево се развива возрасната форма на паразитот. Меѓудумаќини се тревојадни и сештојадни животни, кај кои по ингестија на јајцата се развива ларвената, односно метацестодна форма, како хидатидна циста (24–27). Циклусот на пренесување се одржува кога крајниот домаќин внесува органи што содржат фертилни цисти, при што од протосколексите во неговото тенко црево се развиваат возрасни паразити и циклусот повторно се воспоставува. Шематскиот приказ на циклусот на пренесување е прикажан на Слика 1.

Кај *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s.s.) доминира домашниот циклус „куче–преживар“, кој има најголемо епидемиолошко значење во сточарските региони (15,28). По ослободувањето од јајцето, онкосферата ја пробива цревната мукоза и преку крвотокот најчесто се задржува во црниот дроб како прва, а во белите дробови како втора анатомска бариера. Поради тоа, токму овие два органа претставуваат најчести локализации на хидатидните цисти кај меѓудумаќините (27,29–37). Во нив постепено се развиваат цисти составени од надворешен ламиниран и внатрешен герминативен слој, при што герминативниот слој ја обезбедува биолошката активност на цистата и формирањето на капсули и протосколекси.

Фертилноста на цистите претставува клучен епидемиолошки параметар, бидејќи присуството на витални протосколекси овозможува продолжување на циклусот на пренесување по внесување на инфицирани органи од страна на крајниот домаќин. Стерилните цисти, иако патолошки и дијагностички релевантни, немаат иста улога во одржувањето на пренесувањето (27,38). Фертилноста на цистите се користи како показател при проценка на улогата на различните меѓудумаќини во циклусот на пренесување. За разлика од *Echinococcus granulosus* s.s., кај *Echinococcus multilocularis* циклусот на пренесување најчесто се одвива во диви екосистеми, најчесто во релација лисица–глодар, а метацестодната форма се карактеризира со инфилтративен раст и поинакво патобиолошко однесување (28,39,40). Видовите од родот *Echinococcus* се разликуваат не само таксономски, туку и според домаќинскиот спектар, моделот на пренесување и значењето за здравјето на животните и човекот. Овие карактеристики се релевантни за епидемиолошката интерпретација и за планирање на контролните мерки (41–44).

2.3. Глобална и регионална епидемиологија

Цистичната ехинококоза има космополитска распространетост и останува ендемска во бројни региони со традиционално сточарство, каде што е воспоставен функционален и континуиран домашен циклус на пренесување („куче–преживар“) (26,45,46). Во таков контекст, локалната епидемиолошка состојба е поврзана со одгледувачките практики, санитарно-хигиенските услови, капацитетот на ветеринарниот надзор и динамиката на популацијата на кучиња (44,47). На глобално ниво, *Echinococcus*



Сл. 1. Циклус на пренесување на видовите од родот *Echinococcus* (25)

granulosus s.s., особено генотипот G1, се опишува како доминантен причинител поврзан со човечката цистична ехинококоза во повеќе ендемични подрачја (48–50).

Интерпретацијата на глобалните податоци е ограничена од нееднаквоста во надзорот, дијагностичките капацитети и степенот на стандардизација на мониторингот кај животните. Достапните мапи и синтези документираат изразена географска

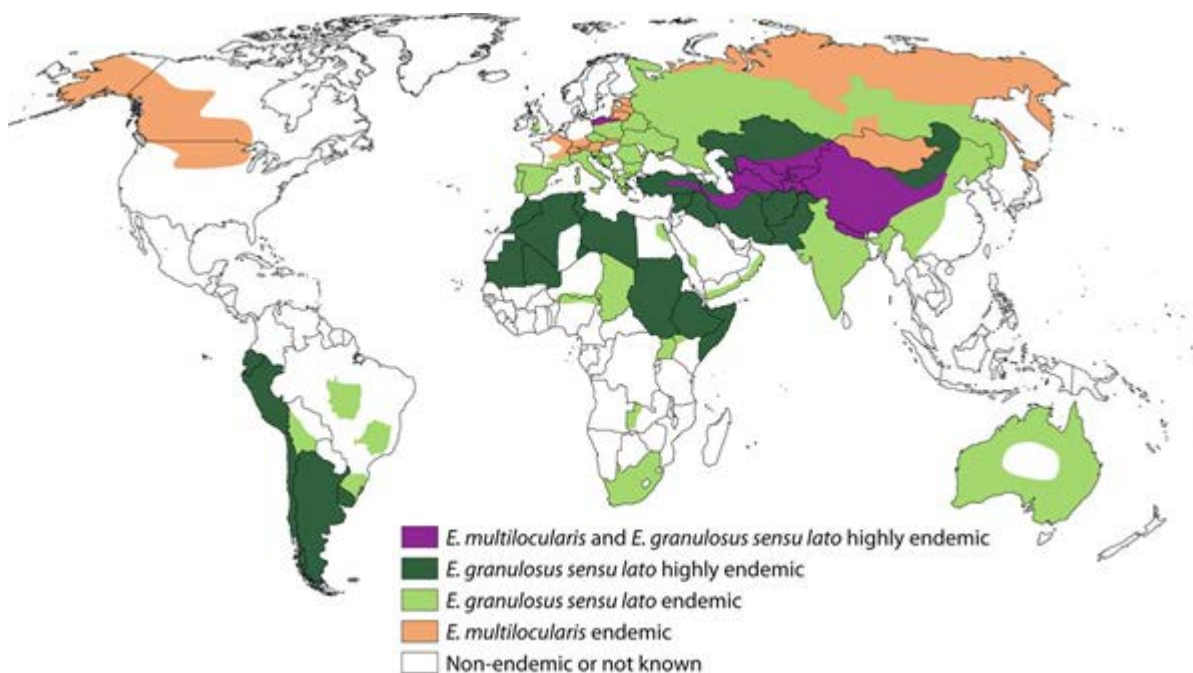
варијабилност и празнини во пријавувањето, особено во средини со ограничена инфраструктура за дијагностика и систематско собирање на податоци (Сл. 2) (43). Во литературата се опишуваат и методолошки разлики што влијаат врз пријавената преваленца, вклучително варијабилни кланични практики и интензитет на инспекција, различна возраст и структура на испитуваните популации, неусогласени дефиниции за позитивен наод и разлики во временскиот опфат и географската покриеност на примероците (38,43).

Во Европа, а особено во балканскиот и медитеранскиот регион, цистичната ехинококоза останува значаен, но просторно нерамномерно распределен проблем (23,51,52). Во литературата се пријавуваат широки варијации на преваленцата кај домашните преживари, кучињата и луѓето во поединечни земји и подрачја од регионот (53–58). Во медитеранско-балканскиот простор се опишуваат и разлики поврзани со сточарските практики, организацијата на колење, пристапот на кучињата до инфицирани органи и ветеринарно-санитарниот надзор (10,52,59).

Во европски контекст, молекуларните податоци дополнително ја документираат сложеноста на епидемиолошката слика. Систематскиот преглед за Европа за периодот 2000–2021 покажува дека човечката цистична ехинококоза најчесто е поврзана со таксони од комплексот *Echinococcus granulosus* s.l., но нивната распределба не е униформна во сите земји (17,23). Во медитеранскиот и балканскиот појас доминацијата на *Echinococcus granulosus* sensu stricto е поизразена, додека во некои други делови на Европа е регистрирано и присуство на други таксони (23,60). Различните видови и генотипови на *Echinococcus granulosus* s.l. се разликуваат според домаќинскиот спектар и моделот на пренесување (17,44).

Во сточарските системи од медитеранскиот и балканскиот регион, домашниот циклус куче–добиток останува клучен модел на пренесување (10,52,59). Податоците од ендемични подрачја ги опишуваат овците како главни меѓудомаќини во одржувањето на овој циклус, додека улогата на говедата е попроменилива и зависи од локалниот контекст (54,61–63).

Во Република Северна Македонија постојат кланични и молекуларни податоци што потврдуваат присуство на болеста кај домашните преживари и циркулација на *Echinococcus granulosus* s.s. (11,12). Сепак, достапните наоди најчесто се ограничени по обем и географска покриеност, па останува потребата од поширок и методолошки споредлив надзор кај преживарите, вклучително според возраст, локализација по органи и фертилност, како предуслов за стабилна основа за локални контролни програми и валидни регионални споредби (23,51)



Сл. 2. Глобална распространетост и ендемичност на ехинококозата (43)

2.4. Фактори поврзани со преваленца

Преваленцата на цистичната ехинококоза кај домашните преживари е поврзана со биолошките својства на паразитот, карактеристиките на домаќинот и условите на одгледување. Во литературата како најчесто анализирани фактори поврзани со варијации во преваленцата се наведуваат видот на домаќин, возраста, географскиот регион, локализацијата на цистите по органи и нивната фертилност (38,64).

2.4.1. Вид на домаќин

Разлики во преваленцата меѓу овци, говеда и други преживари се пријавени во бројни истражувања. Во литературата овците се опишуваат како најзначаен меѓудомаќин во домашниот циклус на *Echinococcus granulosus* s.l., особено за генотипот G1, поради високата подложност и повисоката фертилност на цистите (36,60,65). Кај говедата, и покрај честата детекција на цисти, во повеќе студии се пријавува поголема застапеност на стерилни цисти, поради што нивното епидемиолошко значење се смета за помало (37,66). Во литературата се наведува дека овие разлики можат да варираат зависно од возраста на животните, условите на одгледување и генотипската структура на паразитот. Во епидемиолошките анализи, видот на домаќин се разгледува како релевантен фактор при проценка на преваленцата и одржувањето на циклусот на пренесување.

2.4.2. Возраст

Возраста е еден од најдоследно пријавуваните фактори поврзани со преваленцата на цистичната ехинококоза. Поради бавниот раст на хидатидните цисти и кумулативната изложеност на инфективни јајца, постарите животни обично имаат повисока преваленца на инфекцијата (38,43). Во литературата возраста се разгледува како показател за времетраењето на изложеноста на инфекција. Таа има значење и при интерпретацијата на кланичните податоци, бидејќи животните испратени на колење често не се рамномерно распределени по возраст. Во поединечни сточарски системи, повисоката возраст при колење се наведува како можен фактор поврзан со поголема веројатност за откривање цисти и со повисока фертилност кај одделни видови домаќини.

2.4.3. Географска распределба

Разликите во преваленцата меѓу регионите најчесто се поврзуваат со сточарските практики, густината на популацијата на кучиња, контролата на бездомните животни, хигиенските услови и степенот на ветеринарен надзор. Во рурални средини, особено каде што колењето се врши во домашни услови и инфицираните органи не се отстрануваат контролирано, во литературата се пријавува повисока веројатност за одржување на циклусот на пренесување (44,47,53). Регионалните разлики во преваленцата во литературата се поврзуваат и со локалните услови на одгледување и организацијата на ветеринарно-санитарниот надзор.

Регионалните разлики во преваленцата може да бидат под влијание и на методолошки фактори, како што се различниот интензитет на кланичната инспекција, репрезентативноста на примерокот и снабдувачката структура на кланиците (26,38). Во ендемични подрачја, регионалните разлики се опишуваат во контекст на заемното дејство на биолошки, организациски и социо-економски фактори.

2.4.4. Локализација на цистите по органи

Најчеста локализација на цистите кај преживарите се црниот дроб и белите дробови, што е во согласност со патот на хематогеното ширење на онкосферата преку порталната циркулација (27,67). Локализацијата по органи претставува важен дел од паразитолошката проценка и се разгледува како релевантен показател во епидемиолошката анализа.

Во повеќе студии, одделни локализации се поврзуваат со различна веројатност за фертилност на цистите, при што белодробната локализација, особено кај овци, почесто се пријавува заедно со повисока фертилност (37,66). Комбинираната локализација и зафатеноста на повеќе органи исто така се разгледуваат во однос на изложеноста на инфекција, а нивното толкување зависи од возраста на животните и од составот на испитуваниот примерок.

2.4.5. Фертилност на цистите

Фертилноста на цистите е еден од клучните епидемиолошки показатели, бидејќи само цистите со витални протосколекси можат да учествуваат во одржувањето на циклусот на пренесување. Разлики во фертилноста се опишани меѓу различни видови

домаќини, локализации по органи и региони, што е релевантно за проценката на интензитетот на пренесување (36–38). Високата застапеност на стерилни цисти се поврзува со помал потенцијал за одржување на циклусот, дури и кога вкупната преваленца е висока (66). Фертилноста се разгледува како релевантен показател во епидемиолошката проценка на цистичната ехинококоза.

2.4.6. Епидемиолошки пристап во анализа на преваленцата

Во литературата се истакнува дека епидемиолошката анализа на цистичната ехинококоза не треба да се заснова само на прикажување на преваленцата, туку и на нејзино толкување во просторен, временски и домаќински контекст. Otero-Abad и Torgerson (2013) наведуваат дека епидемиолошките асоцијативни студии овозможуваат идентификација на факторите кои се значајно поврзани со инфекцијата кај животните, додека Tamarozzi и соработниците (2020) укажуваат на изразена хетерогеност, нерамномерна географска покриеност и недоволно пријавување на инфекцијата кај луѓето и животните во медитеранските и балканските земји (10,38). Овие наоди ја поставуваат преваленцата како епидемиолошки показател кој треба да се анализира во поширок аналитички контекст, со земање предвид на видот на домаќинот, географското потекло, системот на одгледување и достапноста на податоците од надзор и кланична инспекција.

2.5. Генотипска структура и молекуларна епидемиологија

Во литературата, молекуларната карактеризација на *Echinococcus granulosus* s.l. најчесто се заснова на PCR-базирани методи и анализа на митохондриски маркери, особено *cox1* и *nad1*. Митохондриската ДНК е погодна за вакви анализи поради повисокиот број копии во клетката и можноста за разграничување на блиски таксони и генотипови (17,22,68).

Во рамките на комплексот *Echinococcus granulosus* s.l., најголемо епидемиолошко значење има *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1–G3), кој најчесто се пријавува во рамки на домашниот циклус куче–добиток и како доминантен причинител на хумана цистична ехинококоза во светски рамки (17,60,69). Генотипот G1 е најраспространет и најчесто се поврзува со инфекции кај овци, додека G3 се пријавува како блиска варијанта во рамки на истиот таксон (65,70). G1/G3-профилот се пријавува најчесто во сточарските системи во кои овците се главен меѓудомаќин (23,69).

Во европски контекст, повеќето молекуларни студии потврдуваат доминација на G1, со варијабилно присуство на G3 и повремено детектирање на други генотипови (23,71). Во делови од централна и источна Европа, генотиповите поврзани со *Echinococcus canadensis* имаат поизразено присуство, додека во медитеранскиот и балканскиот појас доминацијата на *Echinococcus granulosus* s.s. е поизразена (72,73).

Во балкански контекст постојат молекуларни податоци за повеќе земји, но со варијабилна методологија и различна домаќинска и географска покриеност (54,57,58). Во Србија се пријавени G1 и G3 кај домашни животни, а во Босна и Херцеговина и присуство на G7 во одделни серии (54,58). Податоците од Италија кај овци, со доминација на G1 и присуство на G3, припаѓаат на истиот медитерански генотипски образец (71).

Поновите регионални и меѓународни истражувања пријавуваат циркулација на *Echinococcus granulosus* s.s., особено G1 и G3, и надвор од класичните медитерански ендемски подрачја. Податоци за G1/G3 се опишани кај животни во Романија, во Xinjiang и во САД, што укажува на широка распространетост на овој генотипски профил во домашниот циклус на цистична ехинококоза (63,74,75).

Од методолошки аспект, митохондриските маркери *cox1* и *nad1* остануваат широко користени во генотипизацијата поради можноста за разграничување на главните генотипски линии и споредливост со претходно објавени секвенци (23,74).

За Република Северна Македонија, објавената генотипизација кај преживари потврди присуство на G1 и G3, односно циркулација на *Echinococcus granulosus* s.s. (12). Достапните објавени податоци се однесуваат на ограничен број изолати и ограничена географска покриеност (51).

2.5.1. *Echinococcus granulosus sensu lato* кај кучиња како дефинитивни домаќини

Кучињата имаат централна улога во одржувањето на домашниот циклус на пренесување на *Echinococcus granulosus* s.l., бидејќи во нивното тенко црево се развива возрасната форма на паразитот, а со фецесот се исфрлаат јајца кои ја контаминираат животната средина. На тој начин тие претставуваат непосреден извор на инфекција за меѓудумаќините и за човекот. Во ендемични сточарски средини, циклусот најчесто се одржува преку релацијата куче–преживар, особено кога кучињата имаат пристап до сурови инфицирани органи по колење (1,10,26)

Во медитеранските и балканските земји, инфекцијата кај кучињата е поретко предмет на систематски истражувања отколку кланичните наоди кај преживарите. Tamarozzi и соработниците (2020) укажуваат на значителна хетерогеност во пријавената преваленца кај кучињата, што главно се должи на разлики во дијагностичките методи, типот на испитуваната кучешка популација, географската покриеност и интензитетот на надзорот (10).

Податоците од соседните и блиски балкански земји дополнително го потврдуваат значењето на кучињата како критична алка во одржувањето на домашниот циклус на пренесување, особено во средини со традиционално сточарство, домашно колење и недоволно контролирано отстранување на кланичниот отпад. Во Косово, Alishani и соработниците (2017) покажале дека традиционалното домашно колење за време на Eid al-Adha (Курбан бајрам) е поврзано со зголемена појава на тенидни инфекции кај кучињата, вклучително и *Echinococcus granulosus* s.l. Првично, тенидни јајца биле детектирани кај 6,2% од испитаните кучиња, а преваленцата по Eid al-Adha била повисока отколку во периодот пред настанот (53). Во Албанија, Xhaxhiu и соработниците (2011) спровеле испитување на интестинални паразити кај кучиња од подрачјето на Тирана, што претставува релевантен регионален показател за присуството на зоонозни хелминти кај кучешката популација (55).

За Република Северна Македонија, достапните објавени податоци за цистичната ехинококоза главно се однесуваат на меѓудумаќините, односно на кланично испитувани овци и говеда, како и на молекуларна карактеризација на изолати од преживарите (11,12).

Податоците за кучињата како дефинитивни домаќини се послабо застапени во достапната литература, што е чест проблем и во поширокиот регионален контекст. Во такви услови, систематските податоци добиени кај домашните преживари имаат значење како индиректен показател за активноста на домашниот циклус куче–преживар и како основа за насочување на идните истражувања кон дефинитивните домаќини. Вклучувањето на кучињата во понатамошни епидемиолошки студии би придонело за поцелосно разбирање на локалната трансмисија и за попрецизно планирање на контролните мерки.

2.6. Контрола и превенција

Контролата на цистичната ехинококоза претставува долгорочен процес што бара истовремени мерки насочени кон дефинитивните домаќини, меѓудумаќините и постапувањето со инфицирани органи. Во литературата, контролата на ЦЕ се опишува како интегриран ветеринарно-јавно-здравствен пристап, затоа што пренесувањето се одржува во рамки на домашниот циклус куче–преживар и е поврзано со сточарските практики, домашното колење и пристапот на кучињата до кланичен отпад (44,76).

Класичните контролни мерки вклучуваат редовна дехелминтизација на кучињата со празиквантел, спречување на пристапот на кучињата до инфицирани органи, ветеринарен надзор при колење, безбедно отстранување на кланичниот отпад и здравствена едукација на населението (1,26). Прегледите на контролните програми наведуваат дека најдобри резултати се постигнуваат кога повеќе мерки се комбинираат и се спроведуваат континуирано, додека стратегиите со висока ефикасност во островски или географски ограничени системи не се пренесуваат едноставно во континентални рурални средини, каде контролата зависи и од теренската покриеност, организацијата на колење и структурата на кучешката популација (76).

Редовниот третман на кучињата со празиквантел останува централна мерка во контролата, но неговиот ефект зависи од интервалите на третман и од степенот на опфат на кучешката популација. Во литературата се опишува дека спроведувањето на оваа мерка е организациски и логистички сложено, особено во просторно обемни ендемични подрачја и во услови на присуство на кучиња кои слободно се движат и дива каниди (26,77).

Во регионален контекст, студијата на Alishani и соработниците (2017), спроведена во Косово, има посебно значење за временското насочување на дехелминтизацијата кај кучињата во периоди поврзани со зголемено колење на животни. Авторите укажуваат дека традиционалното колење за време на Eid al-Adha може да ја зголеми изложеноста на кучињата на инфицирани органи и да придонесе за одржување на циклусот на пренесување на тенидни паразити, вклучително и *Echinococcus granulosus s.l.* Врз основа на добиените резултати, тие препорачуваат третман на кучињата 2–4 недели по Eid al-Adha, како и почеста дехелминтизација на овчарските кучиња и едукација на фармерите за правилно отстранување на кланичниот отпад (53). Оваа препорака е релевантна за поширокиот балкански контекст, каде што сезонски концентрираното колење, присуството на овчарски кучиња кои се движат слободно и неконтролираното постапување со инфицирани органи можат да претставуваат критични точки во одржувањето на домашниот циклус куче–преживар.

Податоците од Мароко покажуваат дека четиримесечниот третман на кучиња со сопственик ја намалил позитивноста кај третираните животни, но не довел до јасно намалување на пренесувањето кон овците, во услови на присуство на нетретирани кучиња без сопственик и диви каниди (78).

Во литературата конзистентно се опишува дека домашното колење, неконтролираното отстранување на инфицирани органи, хранењето на кучињата со суров кланичен отпад и нередовната дехелминтизација на кучињата се поврзани со одржување на циклусот на пренесување (64). Поради тоа, здравствената едукација и промената на ризичните практики се вклучуваат меѓу стандардните компоненти на контролните програми (52,64).

Во последните години, во литературата сè почесто се разгледуваат и вакцинални стратегии кај меѓудوماќините, особено кај овци. Вакцината EG95 се опишува како мерка со висока заштитна ефикасност против развој на цистична ехинококоза кај овци и се применува како дополнување на класичните контролни мерки (79). Во теренски услови, мароканската студија на Амагиг и соработниците (2021) пријавува околу 97% редукција на бројот на витални цисти кај вакцинирани овци, додека четиримесечниот третман на сопственички кучиња самостојно не обезбедил споредлив ефект врз пренесувањето кон овците (78,80). Прегледите за EG95 наведуваат дека вакцината има место во интегрирани програми, но бара организирана примена, повторени дози и доволна покриеност на популацијата (80).

Цистичната ехинококоза во литературата се разгледува и во рамки на концептот Едно здравје (One Health), во кој ветеринарниот надзор, контролата на кучињата, санитарното постапување со кланичниот отпад, здравствената едукација и податоците за човечката болест се третираат како меѓусебно поврзани компоненти на ист епидемиолошки процес (81).

2.7. Дијагностички пристапи во ветеринарно-епидемиолошки студии кај преживари

Во ветеринарно-епидемиолошките истражувања на цистичната ехинококоза кај домашни преживари, дијагностичкиот пристап е поврзан со проценката на преваленцата и со споредливоста на податоците меѓу различни студии. Кај меѓудوماќините, најчесто применуван метод е постмортем детекцијата во кланица, бидејќи овозможува преглед на голем број животни и увид во локализацијата на цистите по органи (27,38). Кај дефинитивните домаќини, во литературата се опишуваат копролошки, копроантигенски и молекуларни методи. Во епидемиолошките студии, дијагностичките методи се опишуваат според нивната чувствителност, специфичност и оперативна применливост.

2.7.1. Кланична инспекција (постмортем) и методолошки импликации

Кланичната инспекција кај цистичната ехинококоза најчесто се заснова на макроскопска детекција на цисти во црниот дроб и белите дробови, со палпација и инцизија кога тоа е вклучено во протоколот. Овој пристап е најчесто применуван во ветеринарно-епидемиолошките студии кај преживари поради практичната применливост при преглед на голем број животни. При споредување на резултатите од различни студии, важно е да се земат предвид дизајнот на истражувањето, возраста на

испитуваните животни и критериумите според кои е дефиниран позитивниот наод, на пример дали се бележи само присуство на циста или и нејзината фертилност (26,38,62). Покрај тоа, чувствителноста на кланичната инспекција може да варира зависно од обемот на прегледот, искуството на инспекторот и големината и развојниот стадиум на цистите, што дополнително влијае врз споредливоста на добиените резултати (82).

2.7.2. Проценка на фертилност/виталност како епидемиолошки индикатор

Во литературата, фертилноста на цистите се опишува како важен епидемиолошки показател, бидејќи само цистите со витални протосколекси можат да учествуваат во одржувањето на циклусот на пренесување доколку инфицираните органи се достапни за кучиња (36,66). Проценката на фертилноста најчесто се заснова на микроскопско докажување на протосколекси или хидатиден песок, додека стерилните и дегенеративните цисти се опишуваат со отсуство на протосколекси и со морфолошки промени, вклучително и калцификација. Во литературата се опишуваат методолошки разлики во однос на начинот на земање на материјалот, микроскопската проценка на протосколексите и критериумите за дефинирање на виталноста на цистите (27,36,37).

2.7.3. Молекуларна потврда и генотипизација

Во литературата се наведува дека морфологијата и локализацијата на цистите по органи не се доволни за прецизна идентификација на таксоните и генотиповите во рамки на *Echinococcus granulosus* s.l. Поради тоа, молекуларната потврда, најчесто со анализа на митохондриски маркери како *cox1* и *nad1*, се користи за генотипизација и за разграничување на главните генотипски линии (83). Употребата на овие маркери овозможува и споредливост со претходно објавени секвенци.

Во балкански контекст, молекуларните податоци се користат за утврдување на присутните таксони и генотипови, вклучително и доминацијата на *Echinococcus granulosus* s.s. (G1–G3) или присуството на други таксони во поединечни студии (23,54,58). Во епидемиолошките студии, генотипизацијата се применува при анализа на поврзаноста меѓу изолатите, домаќинскиот спектар и циклусот на пренесување.

2.7.4. Дијагностички пристап кај меѓудомаќини

Бидејќи анализата е насочена кон меѓудомаќините, односно домашните преживари, дијагностичкиот пристап во оваа студија се заснова на постмортем детекција на цисти, нивната распределба по органи, проценка на фертилноста и молекуларна потврда на цистичниот материјал. Методите што се применуваат кај дефинитивните домаќини, како копролошки, копроантигенски и молекуларни методи, како и некропсијата, не се разгледуваат детално во ова подпоглавје и се наведуваат главно во контекст на контролните програми и пристапот Едно здравје (27,84).

3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

3.1. Цел на истражувањето

Целта на оваа докторска дисертација беше да се изврши сеопфатна епидемиолошка проценка на цистичната ехинококоза кај домашните преживари во Република Северна Македонија, преку утврдување на преваленцата, анализа на факторите поврзани со присуството на инфекцијата, проценка на фертилноста на хидатидните цисти и молекуларна карактеризација на циркулирачките генотипови на *Echinococcus granulosus* s.l., за подобро разбирање на локалната динамика на пренесување и обезбедување научна основа за контрола и превенција на болеста.

3.2. Истражувачки задачи

Со цел реализација на поставената цел, беа дефинирани следните задачи:

1. Утврдување на преваленцата на цистичната ехинококоза кај овци и говеда во Република Северна Македонија.
2. Проценка на поврзаноста на инфекцијата со видот на домаќинот, возраста, географскиот регион и локализацијата на цистите по органи.
3. Анализа на фертилноста на хидатидните цисти и нејзината распределба според видот на домаќинот и локализацијата по органи.
4. Примена на соодветни униваријабилни и мултиваријабилни статистички методи за проценка на факторите поврзани со присуството на инфекција.
5. Молекуларна карактеризација на избрани изолати преку анализа на митохондрискиот ген *cox1* и утврдување на присутните генотипови на *Echinococcus granulosus* s.l.
6. Интеграција на паразитолошките, статистичките и молекуларните наоди во епидемиолошка рамка за разбирање на одржувањето и пренесувањето на инфекцијата во земјата.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

4.1. Дизајн на студијата

Истражувањето беше пресечна студија спроведена во периодот од јули 2020 до јули 2022 година. Дизајнот се засноваше на систематска постмортем инспекција на органи кај домашни преживари за време на Курбан бајрам (Eid al-Adha), кога зголемениот обем на колење овозможува собирање доволен материјал во кратки временски интервали. Детектираните хидатидни цисти беа вклучени во понатамошна паразитолошка и молекуларна анализа.

4.2. Испитуван материјал

4.2.1. Испитувана популација и примерок

Во рамки на истражувањето беа прегледани вкупно 1.344 животни, односно 938 овци и 406 говеда, заклани во пет регистрирани кланици во Република Северна Македонија (Џеза – Скопје, Гутас Мит ДООЕЛ – Прилеп, Серта – Кавадарци, ТД Кланица ДООЕЛ Ново Село и Шонте БС – Струмица). Животните потекнуваа од сите осум статистички региони (Табела 2), што овозможи просторна анализа на географската дистрибуција на инфекцијата. При постмортем инспекцијата беше извршен систематски макроскопски преглед на црниот дроб, белите дробови и на другите висцерални органи со цел детекција на хидатидни цисти (Сл. 3).

За секое прегледано животно беше пополнет стандарден формулар, специјално подготвен за ова истражување, во кој беа евидентирани податоци за идентификација, старост, бројот на хидатидни цисти и нивната локализација по органи (Сл. 4).

Табела 2. *Распределба на прегледаните овци и говеда според статистички региони во Република Северна Македонија*

Статистички регион	Вкупно овци	Вкупно говеда
Вардарски	40	123
Источен	228	6
Југозападен	33	12
Југоисточен	3	64
Пелагониски	200	15
Полошки	126	13
Североисточен	167	50
Скопски	141	123
Вкупно	938	406



Сл. 3. Преглед на органи во клиника

Република Северна Македонија
 Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје
 Факултет за ветеринарна медицина - Скопје



Број на ушна маркица / РБО: _____

Вид на животно: ☐ Овца ☐ Говедо

Старост: ☐ Младо ☐ Возрасно ☐ Старо

Присуство на ехинококови цисти: ☐ Бели дробови ☐ Црн дроб ☐ Друг орган:

Број на цисти: ☐ Една ☐ Повеќе од една

Вкупно земено цисти: _____

Сл. 4. Формулар за податоци на испитаните животни

4.2.2. Паразитолошка анализа и проценка на фертилноста

За паразитолошка обработка беа вклучени цисти од 294 животни, односно од 190 овци и 104 говеда, кај кои беше извршена микроскопска проценка на фертилноста. Распределбата на животните вклучени во паразитолошката анализа според локализацијата на цистите и видот на животно е прикажана во Табела 3. Обработката се изведуваше со примена на асептична техника, имајќи предвид дека истиот биолошки материјал беше наменет и за молекуларни анализи. Течноста од цистите беше аспирирана со стерилен шприц и игла и пренесувана во стерилна петриева плоча (Сл. 7 и 8). Од аспирираната течност се подготвуваше нативен препарат кој се испитуваше под светлосен микроскоп (10× и 40×) за детекција на протосколекси. Врз основа на микроскопскиот наод, цистите беа класифицирани како фертилни, при присуство на протосколекси, или стерилни, при нивно отсуство. По проценката, сидот на цистата се отвораше со стерилен скалпел и ножици, при што од фертилните цисти се изолираа протосколекси, а од стерилните цисти герминативен слој за молекуларна анализа (Сл. 9 и 10). Наодот се евидентираше во стандарден формулар за преглед на органи со ехинококови цисти (Сл. 11).

Табела 3. *Распределба на животните вклучени во паразитолошката анализа според локализацијата на цистите и видот на животно (n = 294)*

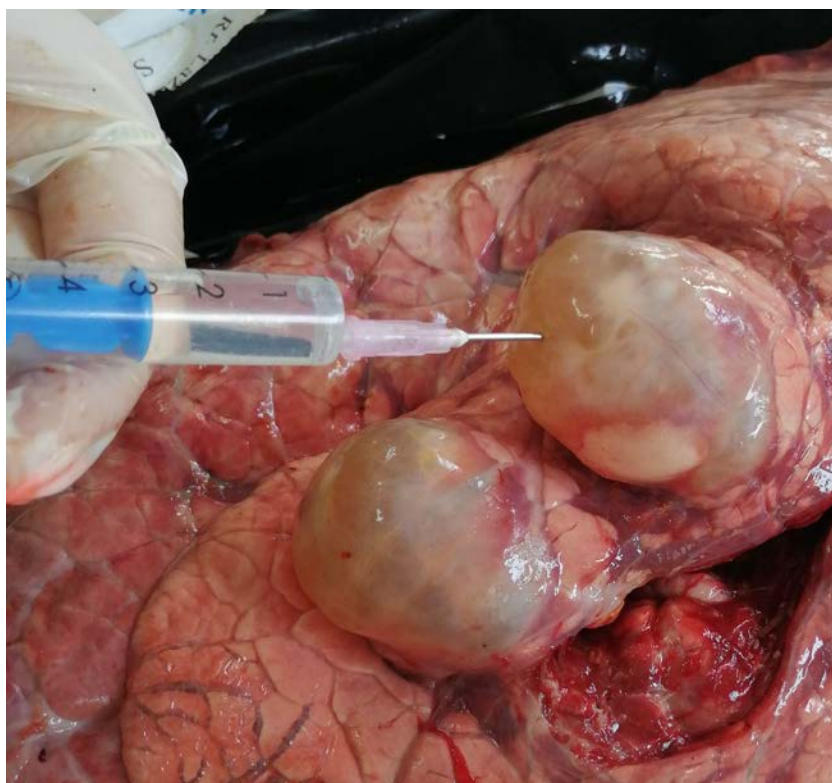
Локализација на цисти	Говеда	Овци
Само црн дроб	13	3
Само бели дробови	42	18
Комбинирано (бели дробови + црн дроб)	49	169
Други висцерални органи	0	0
Вкупно животни	104	190



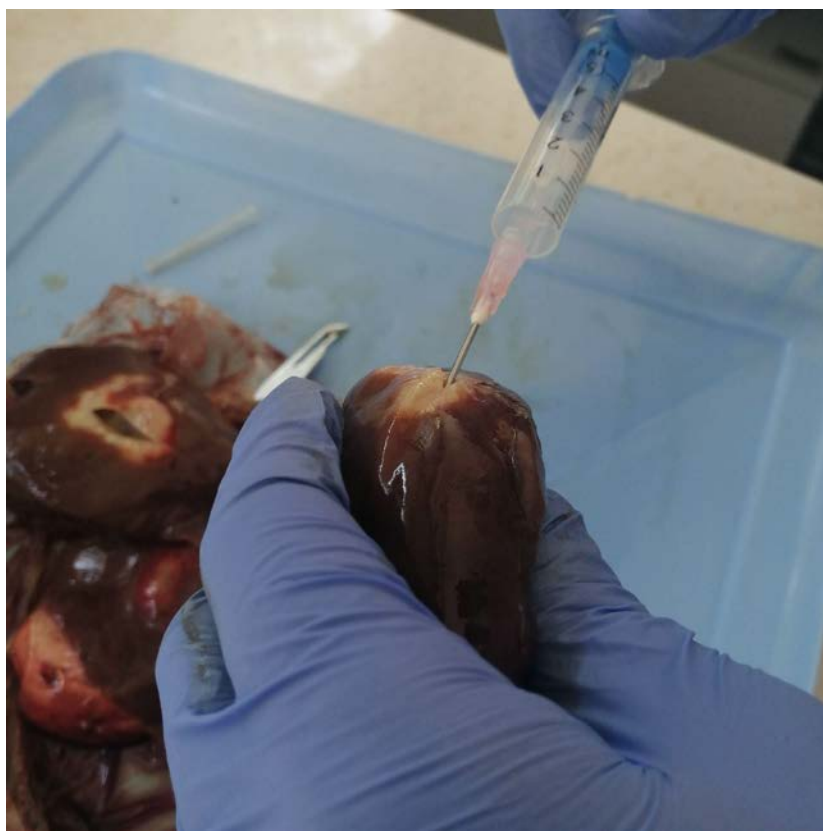
Сл. 5. Црн дроб со детектирани цисти



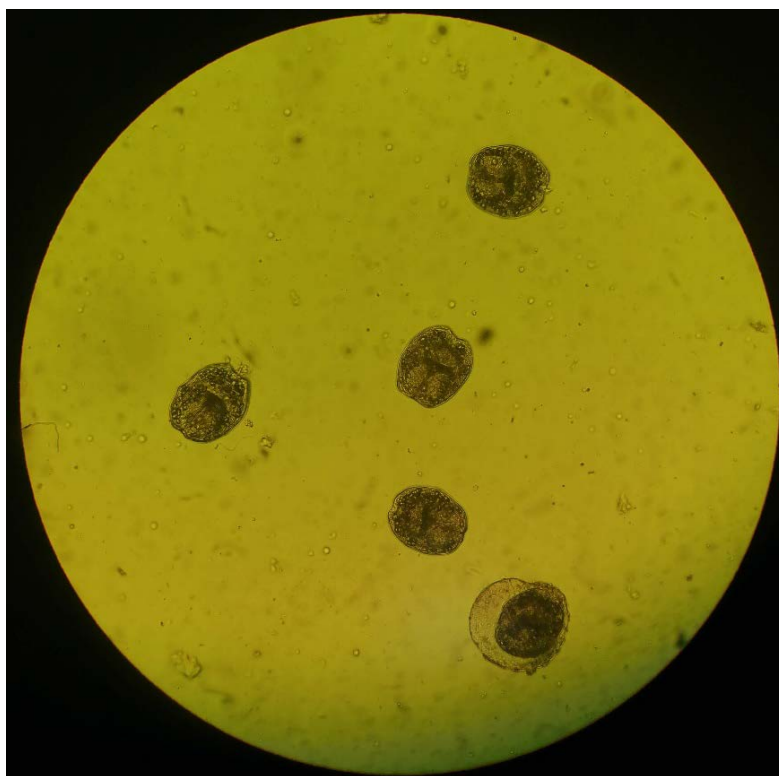
Сл. 6. Бели дробови со детектирани цисти



Сл. 7. Аспирација на течност од ехинококова циста од бел дроб



Сл. 8. Аспирација на течност од ехинококова циста од црн дроб



Сл. 9. Протосколекси од фертилна ехинококова циста



Сл. 10. Герминативен слој на ехинококова циста



Формулар за преглед на органи со ехинококови цисти

Интерен идентификациски број: _____

Вид на орган: ☐ Бели дробови ☐ Црн дроб

Вид на животно: ☐ Овца ☐ Говедо

Фертилност на цисти: ☐ Фертилни ☐ Стерилни

Присуство на паразитни елементи:

- ☐ Протосколекси
- ☐ Герминативен слој

Земен материјал за молекуларно испитување:

- ☐ Да
- ☐ Не

Забелешки:

Сл. 11. Формулар за преглед на органи со ехинококови цисти

4.2.3. Примероци за молекуларна анализа

За молекуларна генотипизација беа селектирани 69 примероци, односно по една циста од секое животно, со доволна количина биолошки материјал за екстракција и амплификација. Од нив, 61 примерок беа од овци, а 8 од говеда. Од фертилните цисти беа изолирани протосколекси, а од стерилните цисти герминативен слој. Примероците беа обработувани индивидуално со асептична техника за минимизирање на ризикот од контаминација. По перење и центрифугирање, приближно 2 mL материјал беше складиран на -20°C до екстракција на ДНК. Распределбата на примероците според општина, статистички регион и вид на животно е прикажана во Табела 4.

Табела 4. Број на примероци според општина, регион и вид на животно (молекуларни испитувања; $n = 69$)

Регион (статистички)	Општина	Вид на животно	Број на примероци
Источен	Виница	Овца	18
Источен	Штип	Овца	7
Вардарски	Свети Николе	Овца	2
Североисточен	Куманово	Овца	8
Скопски	Скопје	Овца	1
Скопски	Скопје	Говедо	7
Пелагониски	Крушево	Овца	13
Пелагониски	Прилеп	Овца	9
Југозападен	Кичево	Овца	1
Југозападен	Дебар	Овца	1
Полошки	Маврово	Говедо	1
Југоисточен	Богданци	Овца	1
Вкупно (овци)			61
Вкупно (говедо)			8
ВКУПНО			69

4.2.4. Екстракција на ДНК

Екстракцијата на нуклеинска киселина беше извршена со автоматизиран систем KingFisher™ Flex (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), користејќи MagMax™ Core Nucleic Acid Purification Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), согласно протоколот на производителот. По лизирање и автоматизирана обработка преку магнетни честички, ДНК беше елуирана во нуклеаза-слободна вода и складирана на -20°C . Концентрацијата и чистотата на изолираната ДНК беа проценети со NanoDrop™ 2000 спектрофотометар (Thermo Fisher Scientific).

4.2.5. PCR амплификација

За амплификација беше таргетиран 460 bp фрагмент од митохондрискиот ген cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1), користејќи прајмери опишани во литературата (85) (Табела 5). PCR реакцијата беше изведена во вкупен волумен од 50 μL со AmpliTaq Gold 360 Mastermix (Applied Biosystems), 0,6 μM од секој прајмер и екстрахирана ДНК. Во

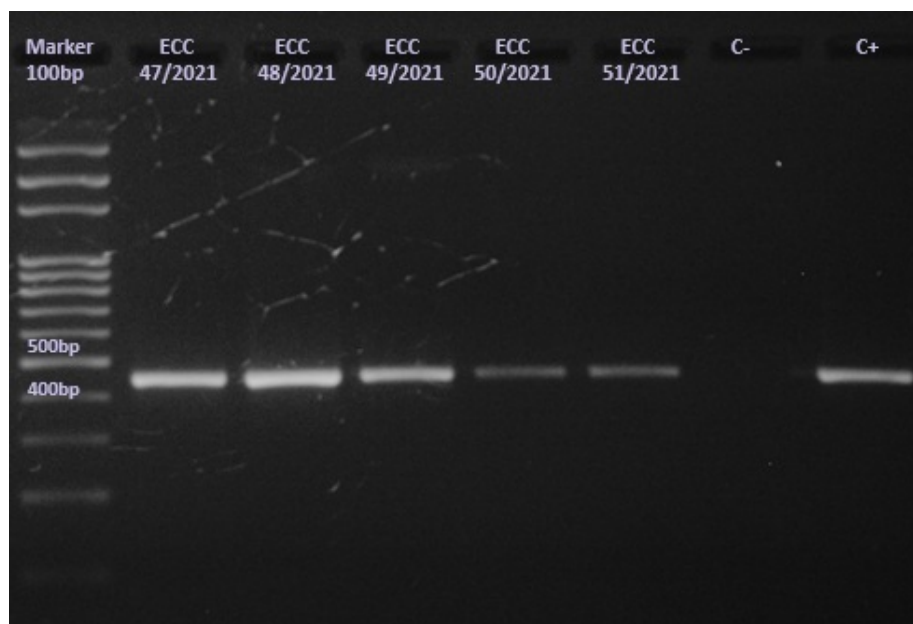
секоја серија беа вклучени позитивна контрола за екстракција, позитивна контрола за амплификација и негативна контрола (без ДНК шаблон). Амплификацијата беше изведена во SimpliAmp термоциклер (Applied Biosystems) со иницијална денатурација на 95°C/5 min, 40 циклуси (95°C/30 s; 55°C/30 s; 72°C/45 s) и завршна екстензија на 72°C/7 min.

Табела 5. Користени прајмери

Ознака	Секвенца (5'–3')
EGCO1.F	TTT TTT GGC CAT CCT GAG GTT TAT
EGCO1.R	TAA CGA CAT AAC ATA ATG AAA ATG

4.2.6. Гел – електрофореза и верификација на PCR резултатите

PCR продуктите беа визуелизирани со 1,5% агарозна гел-електрофореза за верификација на очекуваната големина од 460 bp. Големината на амплификационите ленти се проценуваше со споредба со **100 bp DNA ladder** молекуларен маркер (**GeneRuler 100 bp DNA Ladder, Thermo Scientific, USA**). Амплификацијата се сметаше за валидна доколку позитивните контроли (контрола за екстракција и контрола за амплификација) прикажуваа единечен бенд со очекувана должина (~460 bp), а негативната контрола не покажуваше амплификациски продукт, како што е прикажано на Сл. 12. Во случај на несоодветни контролни резултати, реакцијата се повторуваше со нов сет реагенси и/или со повторна подготовка на примерокот.



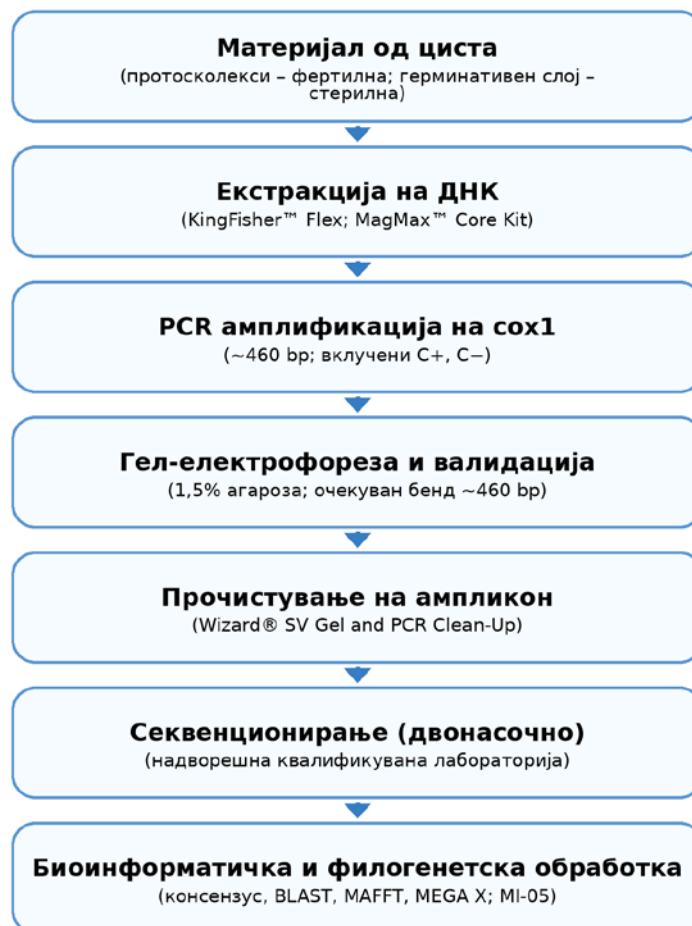
Сл. 12. Верификација на PCR продуктите (*cox1*) со агарозна гел-електрофореза (1,5%). Прикажани се тестирани примероци, позитивна контрола (C+) и негативна контрола (C-), со молекулски маркер L100.

4.2.7. Прочистување и секвенционирање

PCR продуктите беа прочистени со Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI, USA) и испратени на секвенционирање во акредитирана лабораторија (LGS Genomics, Германија). Секвенционирањето беше изведено двонасочно (forward и reverse). Репрезентативен електроферограм по двонасочно секвенционирање на *cox1* е прикажан во Прилог 1.

4.2.8. Биоинформатичка и филогенетска анализа

Консензус секвенците беа генерирани со Staden 2.0. Секвенците беа споредени со референтни секвенци од базата NCBI користејќи BLAST. Повеќекратното усогласување беше извршено со MAFFT v7, а филогенетската анализа беше спроведена со MEGA X (86) користејќи neighbor-joining метод (87) со 1000 bootstrap репликации (88). Еволутивните растојанија беа пресметани со Jukes–Cantor модел (89). Работниот тек на молекуларната анализа (од екстракција на ДНК до секвенционирање и филогенетска/генотипска обработка) е сумиран на Сл. 13.



Сл. 13. Шематски приказ на работниот тек на молекуларната анализа (екстракција на ДНК, PCR амплификација на *cox1*, верификација со гел-електрофореза, прочистување на ампликони, секвенционирање и филогенетска/генотипска анализа).

4.2.9. Генотипска идентификација и применет протокол

Генотипската идентификација беше извршена согласно EURL-P MI-05 протоколот, врз основа на анализа на дефинирани нуклеотидни позиции/кодони во *cox1* генот и споредба со референтни секвенци за генотиповите G1–G10 (Табела 6 и 7). Иако поновиот MI-15 протокол овозможува идентификација без секвенционирање, во ова истражување беше применет MI-05, за да се зачува директна споредливост со претходни европски и регионални студии и повисока резолуција во разграничувањето на генотиповите во рамки на *Echinococcus granulosus s.l.*

Табела 6. Начин на идентификација на генотипот во рамки на комплексот *Echinococcus granulosus s.l.* (EURL-P MI-05)

Генотип	Вид	Кодон 16	Кодон 18	Кодон 20	Кодон 84	Кодон 87
G1	<i>E. granulosus s.s.</i>	Ala [A]	Phe [F]	Ala [A]	Ser [S]	Val [V]
G3	<i>E. granulosus s.s.</i>	Ala [A]	Phe [F]	Ala [A]	Ser [S]	Ala [A]
G4	<i>E. equinus</i>	Ala [A]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Lys [K]
G5	<i>E. ortleppi</i>	Ala [A]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Arg [R]
G6	<i>E. canadensis</i>	Ser [S]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Ala [A]
G7	<i>E. canadensis</i>	Ser [S]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Ala [A]
G8	<i>E. canadensis</i>	Ala [A]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Gly [G]
G10	<i>E. canadensis</i>	Ser [S]	Leu [L]	Val [V]	Asn [N]	Ser [S]

Табела 7. Нуклеотиден состав на кодон 2 за разграничување на генотиповите G6 и G7 (*Echinococcus canadensis*)

Генотип	Вид	Кодон 2
G6	<i>E. canadensis</i>	CCT
G7	<i>E. canadensis</i>	CCC

4.3. Статистичка анализа

Статистичката анализа беше спроведена за проценка на преваленцата на цистичната ехинококоза, нејзината просторна и временска распределба, локализацијата на цистите по органи, бројноста и фертилноста на цистите, распределбата на генотиповите на изолатите и факторите поврзани со присуството на инфекцијата. Вредностите кои недостасуваа беа исклучени само од анализите за кои беа релевантни, без да се исклучат записите од останатите статистички постапки.

4.3.1. Подготовка на податоците

Пред статистичката анализа, базата на податоци беше проверена за конзистентност, унифицирање на категориите, отстранување на дупликати и идентификација на неконзистентни записи. Извршена беше логичка валидација помеѓу присуството на цисти и локализација по органи, како и проверка на усогласеноста меѓу паразитолошките и молекуларните податоци кај подгрупата на генотипизирани примероци. Променливата „присуство на цисти“ беше кодирана бинарно (1 = има цисти; 0 = нема цисти). За сите пропорции беа пресметани 95% интервали на доверба со Wilson метод.

4.3.2. Дескриптивна статистика и проценка на преваленца

Преваленцата беше пресметана како пропорција на позитивни животни од вкупниот број испитани животни и беше прикажана како вкупна преваленца, како и стратифицирано по вид, регион и година. Дескриптивните резултати беа прикажани преку апсолутни фреквенции, релативни удели и 95% интервали на доверба. Разликите во преваленцата меѓу категориите беа анализирани со Pearson χ^2 тест, а кога очекуваните фреквенции беа мали, беше применет Fisher's exact test. Големината на ефектот кај 2×2 споредбите беше изразена со odds ratio (OR) и 95% интервали на доверба.

4.3.3. Анализа на временски тренд

Трендот на преваленцата по години беше анализиран со Cochran–Armitage тест за тренд. Дополнително, годишните разлики беа проценети и со χ^2 тест, а големината на ефектот беше изразена со Cramér's V.

4.3.4. Анализа на преваленца по региони

Разликите во преваленцата меѓу регионите беа анализирани со χ^2 тест, односно со Fisher's exact test кога бројот на набљудувања или очекуваните фреквенции беа ниски. Големината на ефектот беше изразена со Cramér's V.

4.3.5. Анализа на локализацијата на цистите по органи

Локализацијата на цистите беше категоризирана како: само во белите дробови, само во црниот дроб или комбинирано во двата органа. Разликите во распределбата на локализацијата меѓу видовите беа анализирани со χ^2 тест. Дополнително, кај позитивните животни во рамки на секој вид, споредбата на зафатеноста на белите дробови наспроти црниот дроб беше анализирана со McNemar тест, како тест за зависни бинарни податоци во рамки на исто животно.

4.3.6. Анализа на бројноста на цистите

Бројноста на цистите беше категоризирана како една циста наспроти повеќе од една циста. Разликите меѓу видовите беа анализирани со χ^2 тест или Fisher's exact test, зависно од распределбата на податоците. Големината на ефектот беше изразена со OR и 95% интервали на доверба.

4.3.7. Анализа на фертилноста на цистите

Фертилноста на цистите беше анализирана кај цистите кај кои беше извршена микроскопска проценка. Исходот беше категоризиран бинарно како фертилна или стерилна циста. Разликите меѓу видовите беа оценети со χ^2 тест или Fisher's exact test, а асоцијацијата беше изразена преку OR со 95% интервали на доверба.

4.3.8. Анализа на распределбата на генотипови

Распределбата на генотиповите беше прикажана преку апсолутни и релативни фреквенции по вид на животно. Поради малата бројност на генотипизирани примероци, особено кај говедата, споредбата меѓу видовите беше изведена со Fisher's exact test (двострано). Големината на ефектот беше изразена како OR со 95% интервали на доверба.

4.3.9. Мултиваријабилна анализа

За проценка на факторите поврзани со присуството на цисти беше применета бинарна логистичка регресија, со зависна променлива „присуство на цисти“ (1 = има; 0 = нема). Како независни променливи беа вклучени возраст, период и регион, при што Скопскиот регион беше користен како референтна категорија. Резултатите од моделот беа прикажани како прилагодени odds ratios (aOR) со 95% интервали на доверба. Калибрацијата на моделот беше оценета со Hosmer–Lemeshow тест, а дискриминацијата со ROC анализа и пресметка на површината под кривата (AUC). Возраста беше вклучена како континуирана променлива.

4.3.10. Ниво на значајност и софтвер

Сите статистички тестови беа двострани, а нивото на статистичка значајност беше поставено на $p < 0,05$. Анализите беа извршени со IBM SPSS Statistics и Python. Microsoft Excel беше користен за организација, визуелна проверка и уредување на табеларните прикази.

4.3.11. Репрезентативност и ограничувања на примерокот

Примерокот беше базиран на кланична популација и не претставуваше строго случаен избор од целата популација на преживари во земјата. Овој пристап овозможува практична и економски изводлива проценка на преваленцата, но може да биде под влијание на селекциски фактори, како што се возраста на животните испратени на колење и регионалната концентрација на кланици.

4.3.12. Големина на примерокот и статистичко оправдување

Големината на примерокот беше проценета според формулата на Thrusfield за пресметка на минимален примерок за преваленциски студии (90):

$$n = Z^2 \times P_{exp} \times (1 - P_{exp}) / d^2$$

- каде n е минималниот потребен број животни,
- Z е вредноста за 95% ниво на доверба (1,96),
- P_{exp} е очекуваната преваленца, а
- d е саканата апсолутна прецизност.

При претпоставена преваленца од 50% и прецизност од 5%, минималната големина на примерокот изнесуваше 384 животни. Реално вклучениот примерок беше поголем од овој минимум и кај овците и кај говедата.

4.3.13. Етички аспекти

Истражувањето беше спроведено во рамки на официјалниот ветеринарно-санитарен надзор при кланичен преглед и не вклучуваше дополнителна интервенција врз животните. Сите примероци беа собрани по колење. Молекуларната анализа беше извршена врз материјал добиен од веќе заклани животни, согласно националните прописи за биосигурност и лабораториска работа и во согласност со важечките регулативи за ветеринарно-санитарен надзор и научно-истражувачка работа.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Резултати од кланичниот преглед и паразитолошката анализа

5.1.1. Вкупна преваленца

Во периодот 2020–2022 година беа испитани вкупно 1.344 животни, од кои 938 овци и 406 говеда. Преваленцата на цистична ехинококоза беше значително повисока кај овците отколку кај говедата (Табела 8). Разликата меѓу двата вида беше статистички значајна (χ^2 тест, $p < 0,001$), при што odds ratio за позитивност кај овците во однос на говедата изнесуваше 9,86 (95% CI: 7,29–13,32).

Табела 8. Вкупна преваленца на цистична ехинококоза кај овци и говеда (2020–2022)

Вид	Вкупно испитани (n)	Позитивни (n)	Негативни (n)	Преваленца (%)	95% CI (Wilson)
Овци	938	859	79	91,6	89,6–93,2
Говеда	406	213	193	52,5	47,6–57,3

5.1.2. Преваленца според старосни категории кај говедата

Старосни податоци беа достапни за 396 од 406 испитани говеда. Преваленцата на цистична ехинококоза се зголемуваше со возраста и беше најниска кај животните помлади од 2 години, а највисока кај животните постари од 5 години (Табела 9). Разликите меѓу старосните категории беа статистички значајни (χ^2 (2) = 13,33; $p = 0,001$; Cramér's V = 0,183). Старосна стратификација не беше прикажана кај овците, бидејќи испитуваните животни беа возрасни.

Табела 9. Преваленца на цистична ехинококоза кај говедата според старосни категории

Старосна категорија	Вкупно (n)	Позитивни (n)	Негативни (n)	Преваленца (%)	95% CI (Wilson)
<2 години	10	2	8	20,0	5,7–51,0
2–5 години	201	92	109	45,8	39,0–52,7
>5 години	185	113	72	61,1	53,9–67,8

*Забелешка: Старосни податоци беа достапни за 396 од 406 испитани говеда.

5.1.3. Преваленца по години (2020–2022)

Кај овците, преваленцата на цистична ехинококоза беше најниска во 2020 година, а повисока во 2021 и 2022 година (Табела 10). Разликите меѓу годините беа статистички значајни ($\chi^2(2) = 233,53$; $p < 0,001$; Cramér's $V = 0,499$), а Cochran–Armitage тестот потврди статистички значаен тренд ($Z = 14,75$; $p < 0,001$).

Кај говедата, најниска преваленца беше утврдена во 2020 година, додека во 2021 и 2022 година беа забележани повисоки вредности (Табела 11). И кај овој вид разликите меѓу годините беа статистички значајни ($\chi^2(2) = 21,13$; $p < 0,001$; Cramér's $V = 0,228$), а Cochran–Armitage тестот покажа статистички значаен тренд ($Z = 4,10$; $p < 0,001$).

Вредностите за 2022 година кај овците и за 2021–2022 година кај говедата се однесуваат на мал број испитани животни.

Табела 10. Распределба на цистична ехинококоза кај овци по години (2020–2022)

Година	Вкупно	Позитивни	Негативни	Преваленца (%)	95% CI
2020	98	50	48	51,0	41,3–60,7
2021	832	801	31	96,3	94,8–97,4
2022	8	8	0	100,0	67,6–100,0

Табела 11. Распределба на цистична ехинококоза кај говеда по години (2020–2022)

Година	Вкупно	Позитивни	Негативни	Преваленца (%)	95% CI
2020	377	186	191	49,3	44,3–54,4
2021	13	13	0	100,0	77,2–100,0
2022	16	14	2	87,5	64,0–96,5

5.1.4. Преваленца по региони

Кај овците, преваленцата на цистична ехинококоза значајно се разликуваше меѓу статистичките региони ($\chi^2(7) = 76,53$; $p < 0,001$; Cramér's $V = 0,286$). Најниска преваленца беше утврдена во Источниот регион, додека во повеќето останати региони вредностите беа многу високи (Табела 12).

Кај говедата, регионалните разлики исто така беа статистички значајни ($\chi^2(7) = 31,87$; $p < 0,001$; Cramér's $V = 0,280$). Најниска преваленца беше утврдена во Југозападниот регион, а највисока во Полошкиот регион (Табела 13).

Во одделни региони бројот на испитани животни беше мал, што треба да се има предвид при интерпретацијата на процентуалните вредности.

Табела 12. Распределба на цистична ехинококоза кај овци по региони (2020–2022)

Регион	N	Позитивни	Негативни	Преваленца (%)	95% CI
Југозападен	33	33	0	100,0	89,6–100,0
Југоисточен	3	3	0	100,0	43,8–100,0
Вардарски	40	39	1	97,5	87,1–99,6
Источен	228	178	50	78,1	72,3–83,0
Пелагониски	200	194	6	97,0	93,6–98,6
Полошки	126	123	3	97,6	93,3–99,1
Североисточен	167	160	7	95,8	91,5–98,0
Скопски	141	129	12	91,5	86,0–95,0

Табела 13. Распределба на цистична ехинококоза кај говеда по региони (2020–2022)

Регион	N	Позитивни	Негативни	Преваленца (%)	95% CI
Југозападен	12	0	12	0,0	0,0–24,2
Југоисточен	64	36	28	56,3	44,1–67,7
Вардарски	123	71	52	57,7	48,9–66,1
Источен	6	4	2	66,7	30,0–90,3
Пелагониски	15	11	4	73,3	48,1–89,1
Полошки	13	11	2	84,6	57,8–95,7
Североисточен	50	16	34	32,0	20,8–45,7
Скопски	123	64	59	52,0	43,3–60,6

5.1.5. Локализација на цистите по органи

Анализата на локализација на цистите по органи беше извршена кај позитивните животни, односно кај 859 овци и 213 говеда. Кај овците доминираше комбинираната локализација во белите дробови и црниот дроб, додека кај говедата распределбата беше порамномерна, со пониско учество на комбинираната локализација (Табела 14). Разликата во распределбата на локализациите меѓу видовите беше статистички значајна ($\chi^2(2) = 204,36$; $p < 0,001$; Cramér's $V = 0,437$). Во рамки на секој вид, споредбата на зафатеноста на белите дробови наспроти црниот дроб кај позитивните животни беше статистички значајна (McNemar тест, $p < 0,001$ кај овци и $p < 0,001$ кај говеда).

Табела 14. Локализација на цистите по органи кај позитивни животни

Вид на животно	Позитивни животни (n)	Само бели дробови n (%)	95% CI	Само црн дроб n (%)	95% CI	Комбинирано n (%)	95% CI
Овци	859	126 (14,7)	12,5–17,2	4 (0,5)	0,2–1,2	729 (84,9)	82,3–87,1
Говеда	213	80 (37,6)	31,3–44,2	36 (16,9)	12,5–22,5	97 (45,5)	39,0–52,2

5.1.6. Бројност на цисти

Кај позитивните животни, повеќе од една циста беа утврдени кај 845/859 овци (98,4%) и кај 185/213 говеда (86,9%). Разликата меѓу видовите беше статистички значајна (Fisher's exact test, $p < 0,001$; OR = 9,14; 95% CI: 4,72–17,69).

5.1.7. Фертилност на цистите

Фертилноста беше микроскопски оценета кај 294 примероци, од кои 190 потекнуваа од овци, а 104 од говеда. Фертилноста беше значително почеста кај примероците од овци отколку кај примероците од говеда (Табела 15). Разликата меѓу видовите беше статистички значајна (Fisher's exact test, $p < 0,001$; OR = 19,51; 95% CI: 10,59–35,96).

Табела 15. Фертилност на цистите кај овци и говеда

Вид на животно	Испитани примероци (n)	Фертилни (n)	Стерилни (n)	Фертилност (%)	95% CI (Wilson)
Овци	190	158	32	83,2	77,2–87,8
Говеда	104	21	83	20,2	13,6–28,9

5.1.8. Мултиваријабилна анализа кај говедата

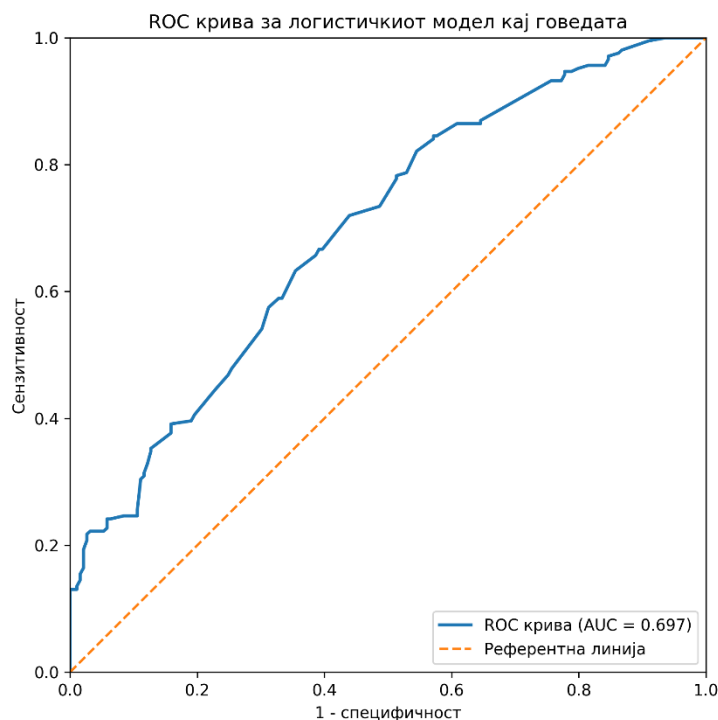
Кај говедата, бинарната логистичка регресија покажа дека возраста, периодот и регионот беа значајно поврзани со присуството на цисти (Табела 16). Со секоја дополнителна година старост се зголемуваа шансите за присуство на цисти (aOR = 1,09; 95% CI: 1,02–1,16; $p = 0,007$). Периодот 2021–2022 беше поврзан со повисоки шанси за позитивност во споредба со 2020 година (aOR = 12,30; 95% CI: 2,77–54,57; $p = 0,001$), додека Североисточниот регион имаше пониски шанси за присуство на цисти во споредба со Скопскиот регион (aOR = 0,37; 95% CI: 0,18–0,78; $p = 0,009$). Дискриминацијата на моделот беше умерена (AUC = 0,697), а калибрацијата беше задоволителна (Hosmer–Lemeshow тест, $p = 0,306$). ROC кривата на моделот е прикажана на Сл. 14.

Мултиваријабилна анализа не беше спроведена кај овците поради ограничениот број негативни животни.

Табела 16. Бинарна логистичка регресија за присуство на цисти кај говеда ($N = 396$)

Променлива	aOR	95% CI	p-вредност
Возраст (по 1 година)	1,09	1,02–1,16	0,007
Период 2021–2022 (реф.: 2020)	12,30	2,77–54,57	0,001
Североисточен регион (реф.: Скопски)	0,37	0,18–0,78	0,009

*Прикажани се прилагодени odds ratios (aOR), 95% интервали на доверба и p-вредности за значајните предиктори во моделот. Референтни категории: период 2020 и Скопски регион.



Сл. 14. ROC крива за логистичкиот модел за присуство на цисти кај говедата. Прикажана е дискриминативната способност на моделот, со $AUC = 0,697$.

5.2. Резултати од молекуларната анализа

5.2.1. Генотипска распределба (G1/G3)

За молекуларна генотипизација беа анализирани 69 изолати, од кои 61 од овци и 8 од говеда. Кај овците доминираше генотипот G1 (62,3%), додека кај говедата распределбата на G1 и G3 беше еднаква (50,0% : 50,0%) (Табела 17). Споредбата на распределбата на генотиповите меѓу видовите не покажа статистички значајна разлика (Fisher's exact test, $p = 0,702$).

Во вкупниот анализиран материјал ($n = 69$), генотипот G1 беше застапен со 42 изолати (60,9%), додека G3 со 27 изолати (39,1%).

Анализата на фертилноста покажа дека кај овците 71,1% од G1 и 82,6% од G3 изолатите беа фертилни, додека кај говедата кај двата генотипа беше утврдена еднаква распределба на стерилни и фертилни цисти (50,0% : 50,0%) (Табела 17). Fisher's exact test покажа статистички значајна поврзаност помеѓу видот на домаќинот и статусот на фертилност ($p < 0,001$), со поголем удел на фертилни цисти кај овците.

Табела 17. Распределба на генотипови (G1/G3) во однос на видот на домаќинот и статусот на фертилноста (n = 69)

Вид на животно	Генотип	Стерилни n (%)	Фертилни n (%)	Вкупно	Застапеност на генотип (%)
Овци	G1	11 (28,9%)	27 (71,1%)	38	62,3%
	G3	4 (17,4%)	19 (82,6%)	23	37,7%
Говеда	G1	2 (50,0%)	2 (50,0%)	4	50,0%
	G3	50,0%	50,0%	4	50,0%

5.2.2. Резултати од секвенционирањето (cox1)

За сите 69 анализирани изолати беа добиени валидни cox1 секвенци, при што беше анализирана по една циста од секое животно. Добиените секвенци беа соодветни за понатамошна генотипска идентификација и филогенетска анализа.

5.2.3. Подредување на секвенците и BLAST потврда

Консензус секвенците беа споредени со референтни секвенци од базата GenBank (NCBI) преку BLAST, при што сите изолати покажаа највисока нуклеотидна сличност со *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1–G3 комплекс) во рамки на анализираниот cox1 фрагмент. Повеќекратното подредување потврди усогласеност со референтните низи за G1 и G3. Во анализираниот сет не беа утврдени наоди што би упатувале на присуство на други таксони од комплексот *Echinococcus granulosus* s.l., како *Echinococcus equinus*, *Echinococcus ortleppi* или *Echinococcus canadensis*. Репрезентативен приказ на повеќекратното подредување е даден во Прилог 2.

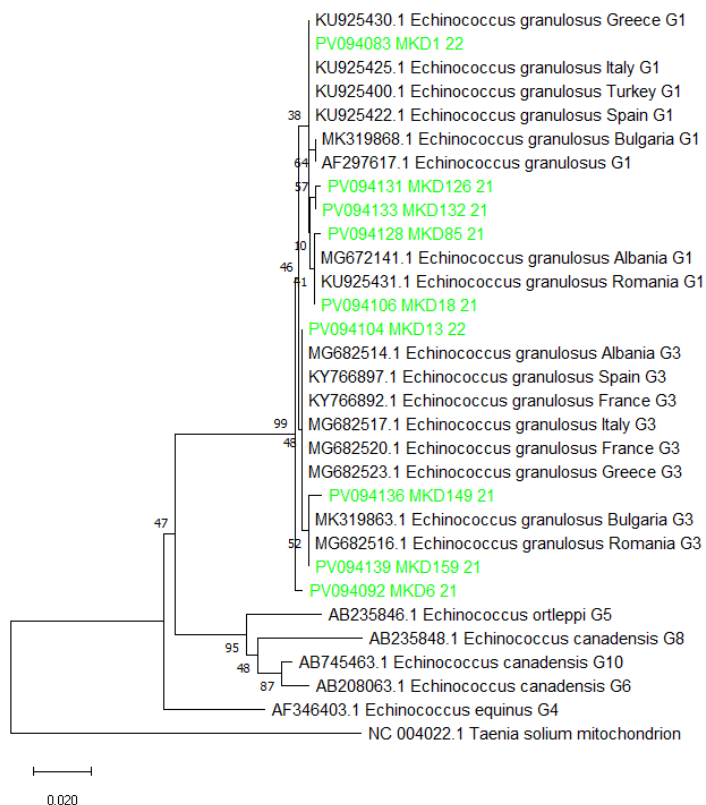
5.2.4. Филогенетска анализа

Филогенетската анализа на cox1 секвенците, изведена со neighbor-joining метод, Jukes–Santor модел и 1000 bootstrap репликации, ги групираше македонските изолати во два јасно одвоени кластера кои соодветствуваа на генотиповите G1 и G3 на *Echinococcus granulosus sensu stricto* (Сл. 14). Раздвојувањето на двата главни кластера беше поддржано со висока bootstrap вредност (99). Македонските изолати се групираа заедно со референтни секвенци од европски земји без јасна географска сегрегација.

Во рамките на G1 кластерот беше утврден интрагенотипен варијабилитет, при што изолатите MKD126, MKD132 и MKD85 формираа посебен подкластер (bootstrap 57), додека останатите изолати беа распределени меѓу референтните секвенци (bootstrap 38–64).

Во G3 кластерот, македонските изолати беа групирани со референтни секвенци од Албанија, Франција, Грција и Романија (bootstrap 52), при што изолатот MKD6 се издвојуваше со најизразена генетска дивергенција и беше позициониран на подолга

гранка во однос на останатите G3 изолати. MKD6 потекнуваше од фертилна хидатидна циста изолирана од црн дроб на овца. Кај овците, 19 од 23 G3 изолати беа фертилни, додека кај говедата беше утврдена еднаква распределба на стерилни и фертилни цисти кај двата генотипа.



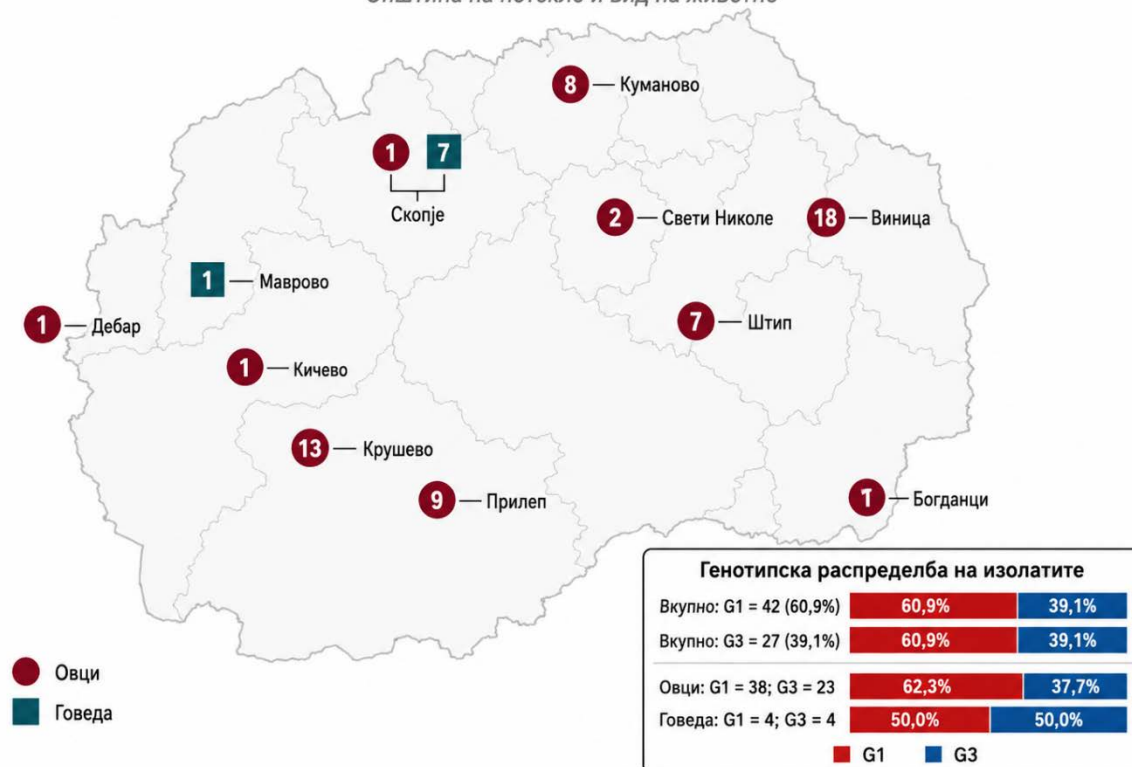
Сл. 15. Филогенетско стебло на *cox1* секвенци (neighbor-joining, Jukes-Cantor, 1000 bootstrap). Македонските изолати се групираат во два кластера што одговараат на генотиповите G1 и G3 на *Echinococcus granulosus sensu stricto*.

5.2.5. Географска распределба на генотиповите

Географскиот приказ на молекуларно типизираниите изолати потврди присуство на генотиповите G1 и G3 во анализираниот материјал од повеќе општини и статистички региони. Прикажаната распределба го одразува потеклото на примероците вклучени во молекуларната анализа и не претставува проценка на популациската распространетост на генотиповите на ниво на државата.

Просторна дистрибуција на примероците за молекуларно испитување (n = 69)

Општина на потекло и вид на животно



Бројот во симболот го означува бројот на примероци; генотипската распределба е прикажана збирно.

Сл. 16. Просторна дистрибуција на примероците вклучени во молекуларното испитување според општина на потекло и вид на животно. Бројот во симболот го означува бројот на анализирани примероци од соодветната општина, при што круговите ги означуваат примероците од соодветната општина, при што круговите ги означуваат примероците од овци, а квадратите примероците од говеда.

5.2.6. GenBank пристапни броеви

Од анализираниите секвенци, во GenBank беа депонирани 58 уникатни секвенци, со пристапни броеви PV094083–PV094140. Пристапните броеви на депонираните секвенци се прикажани во Прилог 3. При депонирањето беа вклучени само уникатните секвенци, додека целосно идентичните записи не беа повторно депонирани.

6. ДИСКУСИЈА

6.1. Општа епидемиолошка слика и позиционирање на наодите

Резултатите од ова истражување покажуваат дека цистичната ехинококоза кај домашните преживари во Република Северна Македонија претставува стабилно присутна и епидемиолошки значајна паразитоза. Вредноста на студијата не произлегува само од големината на кланичниот примерок, туку и од интегрираниот пристап, кој овозможува истовремено разгледување на кланично-детектираната преваленца, органската локализација, фертилноста на цистите и молекуларната карактеризација на изолатите. Разгледани заедно, овие показатели не упатуваат на изолирана или локално ограничена појава, туку на инфекција што е широко распространета и долготрајно одржувана кај домашните преживари.

Добиените наоди се вклопуваат во епидемиолошкиот профил на балканско-медитеранскиот простор, каде што цистичната ехинококоза и понатаму опстојува во услови на традиционално сточарство, различни практики на колење, нееднаков интензитет на ветеринарен надзор и варијабилно постапување со кланичниот отпад. Споредбата со други земји е најинформативна кога се прави со податоци од сличен ендемичен, сточарски и кланичен контекст, бидејќи пријавената преваленца зависи од структурата на примерокот, возраста на животните, дијагностичкиот пристап и организацијата на надзорот. Оттука, резултатите од ова истражување треба да се позиционираат првенствено во рамките на балканските и медитеранските искуства, а не директно да се споредуваат со податоци од значително различни производни системи.

Во локален контекст, претходно објавените податоци од Република Северна Македонија веќе укажуваат на присуство на цистична ехинококоза кај заклани овци и говеда, со доминантна зафатеност на белите дробови и црниот дроб и повисока фертилност на цистите кај овците (11). Сегашната студија ги надградува тие наоди преку поширок временски и просторен опфат, стратификација според видот на домаќинот, регионот и годината, како и преку интегрирање на паразитолошките и молекуларните резултати (11,12). Затоа, добиените резултати најсоодветно се толкуваат како поцелосна потврда на ендемичноста, а не како изолиран или радикално нов епидемиолошки наод.

Разликите во преваленцата меѓу 2020 година и последователните години 2021 и 2022 бараат внимателна интерпретација. Иако кај двата испитувани вида најниските вредности беа утврдени во 2020 година, тие не треба едноставно да се толкуваат како реално зголемување на инфекцијата во популацијата во наредните години. Поверојатно е дека пониската преваленца во 2020 година и повисоките вредности во 2021 и 2022 година го одразуваат не само епидемиолошкиот интензитет на инфекцијата, туку и различниот состав на кланичниот примерок во одделните години. На ваквата разлика можеле да влијаат бројот на испитани животни, нивното потекло, возраста, структурата на грлата испратени на колење и оперативните услови на собирање материјал.

Истовремено, интерпретацијата на наодите мора да остане критична. Бидејќи станува збор за кланично базирана студија, добиените вредности не треба автоматски да се изедначуваат со популациска преваленца кај сите домашни преживари во државата. Животните испратени на колење не претставуваат случаен примерок од целата популација, туку ја одразуваат структурата на грлата што во конкретен период биле

достапни, економски оправдани или наменети за колење. Поради тоа, добиените вредности најверојатно ја одразуваат акумулираната инфекција во кланичната популација, под влијание на возраста, времетраењето на изложеноста и селекцискиот карактер на примерокот. Ваквиот критички пристап не го намалува значењето на студијата, туку овозможува попрецизно епидемиолошко толкување на резултатите.

6.2. Преваленца според видот на домаќинот: биолошка основа и споредливост

Изразената разлика во преваленцата меѓу овците и говедата претставува еден од клучните наоди на истражувањето. Таквиот контраст има биолошка и епидемиолошка основа, бидејќи овците вообичаено се сметаат за најважни меѓудомаќини во домашниот циклус на цистичната ехинококоза, додека кај говедата, и покрај честата изложеност, почесто се развиваат стерилни, дегенеративни или калцифицирани цисти. Затоа, повисоката преваленца кај овците не претставува само нумеричка разлика меѓу двата вида, туку укажува на различна епидемиолошка улога на домаќините во одржувањето на локалниот циклус на пренесување (11,63). Сепак, високата преваленца кај овците бара внимателна интерпретација. Со оглед на кланичниот дизајн на студијата, добиената вредност не треба да се чита како строга национална популациска проценка, туку како показател за изразена акумулирана изложеност во испитуваната кланична популација. На ваквиот резултат веројатно влијаеле и биолошките својства на овците како домаќини и составот на примерокот, особено возраста, производната историја и причините за испраќање на животните на колење. Бидејќи цистичната ехинококоза е хронична инфекција, постарите животни имаат поголема веројатност да развијат видливи цисти, што ја зголемува можноста за нивна детекција при кланичен преглед.

Дополнително, високата преваленца кај овците може да се разгледува и во контекст на периодот на земање примероци, односно зголемениот обем на колење за време на Курбан Бајрам (Eid al-Adha). Во такви периоди структурата на животните испратени на колење може да се разликува од вообичаената кланична популација. Кај овците, сопствениците можат економски да се мотивираат да пласираат постари, репродуктивно искористени или продуктивно помалку вредни грла, искористувајќи ја зголемената пазарна побарувачка. Таквата возрасна и производна структура може да придонесе за повисока кланично-детектирана преваленца, без тоа нужно да значи дека добиената вредност директно ја одразува преваленцата во целата популација на овци. Овој аспект не го намалува значењето на наодот, туку ја прецизира неговата интерпретација во рамките на кланичниот дизајн на студијата.

Кај говедата, умерено високата преваленца има поинакво, но исто така важно значење. Таа покажува дека контаминацијата на средината со инфективни јајца не е ограничена само на системите во кои овците ја носат главната тежина на циклусот, туку е доволно изразена за да се регистрира и кај говедата. Сепак, кога преваленцата кај говедата се разгледува заедно со пониската фертилност на цистите, поверојатно е дека тие животни претставуваат показател за изложеност на инфекцијата, отколку подеднакво важен извор за продолжување на циклусот. Во таа смисла, говедата имаат вредност како биолошки индикатор за присуство и широчина на ендемичноста, но нивната улога во одржувањето на трансмисијата е различна од онаа на овците (11,54,63).

Споредбата со податоци од други земји треба да се прави внимателно, бидејќи преваленцата кај преживарите силно зависи од структурата на примерокот, возраста на закланите животни, кланичните практики, интензитетот на инспекцијата и локалните контролни мерки. Студиите од медитерански и балкански подрачја, вклучувајќи ги Грција, Италија, Сардинија и Босна и Херцеговина, покажуваат дека цистичната ехинококоза кај малите преживари може да остане високо застапена во системи со долготрајно одржуван домашен циклус и континуиран контакт меѓу кучињата, добитокот и потенцијално инфицираниот кланичен отпад (54,62,63,82). Вредноста на овие споредби не е во директното изедначување на процентите, туку во тоа што го потврдуваат значењето на локалниот произведен и кланичен контекст при толкување на преваленцата.

Во споредба со претходно објавените локални податоци, сегашната студија овозможува појасна проценка на разликата меѓу видовите поради поголемиот примерок, тригодишниот опфат и подеталната стратификација на наодите (11). Затоа, добиените резултати не треба да се читаат како спротивни на претходните податоци од Република Северна Македонија, туку како нивна надградба. Тие попрецизно ја истакнуваат различната улога на овците и говедата во истата ендемична средина, при што преваленцата, фертилноста и составот на кланичниот примерок мора да се разгледуваат заедно, а не како изолирани показатели.

6.3. Просторна хетерогеност и интерпретација на регионалните разлики

Регионалните разлики во преваленцата кај овците и говедата беа статистички значајни, што укажува дека инфекцијата не е рамномерно распределена низ државата. Ваквиот наод е епидемиолошки очекуван кај цистичната ехинококоза, бидејќи нејзината просторна распределба ретко е целосно хомогена. Наместо тоа, интензитетот на изложеност обично варира меѓу подрачјата, зависно од типот на сточарство, движењето на животните, организацијата на колењето, бројноста и контролата на кучешката популација и локалните практики за постапување со инфицирани органи. Во таа смисла, добиените резултати укажуваат на просторна варијабилност на инфекцијата, а не на еднолична ендемичност во сите региони.

Сепак, статистичката значајност не треба да се изедначи со прецизно рангирање на регионите според ризик. Дел од проценките, особено кај говедата, се темелат на релативно мал број животни, што ги прави почувствителни на случајна варијација и на структурата на кланичниот примерок. Поради тоа, регионалната анализа најсоодветно се толкува како доказ дека ризикот не е еднаков во сите делови од државата, но не и како дефинитивна епидемиолошка карта на жаришта. Просторниот сигнал е значаен, но неговата прецизност не е иста во сите подгрупи.

Овој тип на просторна нерамномерност е опишан и во други ендемични подрачја. Студиите на Номбо и соработниците (2020), Bosco и соработниците (2021), Dărbăuș и соработниците (2022) и El-Dakhly и соработниците (2019) покажуваат дека цистичната ехинококоза може да биде широко распространета, но истовремено да покажува локални разлики во интензитетот на појавување, групирање на позитивните животни или варијации поврзани со кланиците и снабдувачките подрачја (63,82,91,92). Вредноста на овие споредби не е во директно изедначување на регионалните проценти, туку во тоа

што потврдуваат дека просторната хетерогеност е вообичаена карактеристика на цистичната ехинококоза во различни производни и ендемични системи.

Особено важно е што просторната слика добиена преку кланични податоци не мора целосно да го одразува вистинскиот географски ризик во популацијата. Кланиците не секогаш примаат животни само од непосредната околина, а снабдувачките патишта, сезонската достапност на животни и економските причини за колење можат да влијаат врз регионалната структура на примерокот. Затоа, регионалните резултати од ова истражување треба да се интерпретираат како силен показател за просторна нерамномерност на инфекцијата, но со претпазливост при дефинитивно издвојување и рангирање на поединечни региони како жаришта.

6.4. Локализација и бројност на цистите по органи: епидемиолошка интерпретација

Разликите во локализацијата на цистите по органи меѓу овците и говедата укажуваат на различна манифестација на инфекцијата кај двата вида. Кај овците доминираше комбинирана локализација во белите дробови и црниот дроб, додека кај говедата распределбата беше порамномерна, со поголем удел на изолирани органски локализации. Ваквиот наод е во согласност со биологијата на цистичната ехинококоза, при што црниот дроб и белите дробови претставуваат главни анатомски „филтри“ за онкосферите по нивното хематогено ширење, а зафатеноста на други органи е значително поретка (27).

Доминацијата на комбинирана белодробно-хепатална локализација кај овците најверојатно ја одразува хроничната природа на инфекцијата и повторуваната изложеност на инфективни јајца во контаминирана средина. Во кланичен материјал, ваквата распределба не може да се одвои од возраста, времетраењето на изложеноста и селекцијата на животните испратени на колење. Затоа, комбинираната локализација кај овците не треба да се толкува само како анатомска последица на патот на миграција на онкосферите, туку и како индиректен показател за долготрајна изложеност и акумулирана инфекција во испитуваната кланична популација.

Кај говедата, поголемиот удел на изолирани локализации укажува на поинаква органска распределба и веројатно различна динамика на развој на цистите. Овој наод е важен бидејќи покажува дека двата вида не се разликуваат само според преваленцата и фертилноста, туку и според начинот на манифестација на инфекцијата во органите. Кај говедата, цистите почесто се опишуваат како дегенеративни, калцифицирани или со ограничена паразитска активност, што може да влијае и врз нивната детекција, бројност и биолошко значење (63).

Бројноста на цистите ја дополнува оваа интерпретација. Повеќекратните цисти и зафатеноста на повеќе органи укажуваат на хроничен процес и можност за повторена изложеност низ времето, особено кај животни што подолго остануваат во ендемична средина. Овој образец е опишан и во други ендемични подрачја, каде што зафатеноста на белите дробови и црниот дроб, комбинираната локализација и повеќекратните цисти се поврзуваат со возраста на животните, интензитетот на изложеноста и локалниот епидемиолошки контекст (11,82,92,93). Вредноста на овие споредби не е во идентичноста на органската распределба меѓу земјите, туку во тоа што потврдуваат дека

белодробно-хепаталниот профил е биолошки очекуван, но неговата конкретна изразеност може да варира според видот на домаќинот и условите на одгледување.

Практичната импликација на овие резултати е методолошки значајна. Во систем каде што комбинираната локализација и повеќекратните цисти се чести, особено кај овците, инспекција ограничена само на еден орган би можела да доведе до потценување на инфекцијата. Поради тоа, систематскиот преглед на белите дробови и црниот дроб во ова истражување претставува методолошка предност и овозможува пореална проценка на кланично-детектираната органска распределба на цистите.

6.5. Фертилноста на цистите како показател за потенцијалот за одржување на циклусот

Фертилноста на цистите има централно значење во интерпретацијата на цистичната ехинококоза, бидејќи овозможува да се разграничи самото присуство на лезии од нивната реална паразитолошка активност. Додека преваленцата покажува колку често се детектира инфекцијата, фертилноста укажува колкав дел од таа инфекција има потенцијал за продолжување на циклусот на пренесување. Во ова истражување, изразено повисоката фертилност кај овците во однос на говедата укажува дека двата вида немаат иста улога во епидемиолошкото одржување на инфекцијата. Таквиот резултат е во согласност со претходно објавените локални податоци, каде исто така беше утврден значително повисок удел на фертилни цисти кај овците отколку кај говедата (11).

Биолошката основа на оваа разлика е поврзана со различната погодност на овците и говедата како меѓудомаќини за *Echinococcus granulosus* s.s. Кај овците, цистите почесто содржат протосколекси и подолго ја задржуваат паразитолошката активност, поради што овој вид има поголемо значење во одржувањето на домашниот циклус куче–преживар. Затоа, високата преваленца кај овците добива посилено епидемиолошко значење кога се разгледува заедно со високата фертилност на цистите. Во таков контекст, овците не се само често инфицирани меѓудомаќини, туку и биолошки продуктивен извор за продолжување на циклусот доколку инфицираните органи станат достапни за кучињата.

Сепак, фертилноста не треба да се третира како фиксна и непроменлива карактеристика на инфекцијата. Таа може да варира според видот на домаќинот, возраста, органската локализација, хроничноста на процесот, стадиумот на развој на цистата и критериумите користени за нејзина класификација. Податоците од други ендемични подрачја, вклучувајќи ги Сардинија, Грција, Египет и Пакистан, покажуваат дека уделот на фертилни, стерилни, дегенеративни и калцифицирани цисти може значително да се разликува меѓу студиите и домаќините (56,92–94). Овие споредби се важни не затоа што треба директно да се изедначат со македонските резултати, туку затоа што потврдуваат дека фертилноста е варијабилен епидемиолошки параметар, зависен од биолошкиот и методолошкиот контекст.

Наодите кај говедата бараат поинаква, но внимателна интерпретација. Значително пониската фертилност не значи дека говедата се без епидемиолошко значење, туку дека нивната улога во одржувањето на циклусот е ограничена во споредба со овците. Претходно објавените локални податоци и податоците од други земји покажуваат дека фертилни цисти можат да се сретнат и кај говедата, но во значително помал удел (11,63). Оттука, говедата може да се разгледуваат како показател за изложеност на инфекцијата

и за широчината на контаминацијата на средината, додека нивниот директен придонес во продолжувањето на циклусот е веројатно помал.

Во целина, резултатите за фертилноста ја зајакнуваат интерпретацијата дека овците имаат доминантна продуктивна улога во локалниот домашен циклус на пренесување, додека говедата првенствено го одразуваат степенот на изложеност на инфекција. Ова разграничување е важно бидејќи покажува дека проценката на епидемиолошкото значење на домаќините не треба да се заснова само на преваленцата, туку на заедничко толкување на преваленцата, фертилноста, органската локализација и составот на кланичниот примерок.

6.6. Генотипска структура и епидемиолошко значење на G1/G3 профилот кај овци и говеда

Молекуларните наоди во ова истражување имаат важно епидемиолошко значење, бидејќи ја надополнуваат кланичната и паразитолошката проценка со генотипска потврда на циркулирачкиот причинител. Потврдата на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, со присуство на генотиповите G1 и G3, покажува дека во анализираниот материјал циркулира генотипски профил типичен за домашниот циклус на цистична ехинококоза во балканско-медитеранскиот простор. Во таа смисла, молекуларниот дел од студијата не претставува само лабораториска идентификација на паразитот, туку и важна потврда дека локалната епидемиолошка слика се вклопува во поширокиот регионален модел на трансмисија (12).

Присуството на G1 и G3 кај двата испитувани вида укажува дека овците и говедата најверојатно биле изложени на заеднички или преклопувачки извори на инфекција. Таквиот наод е во согласност со домашниот циклус куче–преживар, во кој кучињата како дефинитивни домаќини можат да се инфицираат преку пристап до органи од различни видови домашни животни, а потоа да ја контаминираат средината со јајца на паразитот. Затоа, детекцијата на истите генотипови кај овци и говеда не треба да се толкува како доказ за строго одвоени домаќински циклуси, туку како показател за заедничка епидемиолошка средина во која двата вида учествуваат со различна биолошка улога. Овој наод е во согласност со согледувањата на Kinkar и соработниците (2018), според кои во подрачја со активен пренос и мешан инфективен материјал може да се одржува релативно блиска популациска структура на G1 и G3 (60,69).

Разликите во фертилноста на цистите според видот на домаќинот и генотипот дополнително ја нагласуваат потребата молекуларните резултати да се толкуваат заедно со паразитолошките показатели. Особено значаен е наодот дека кај овците со G3 беше утврден висок удел на фертилни цисти, додека кај говедата кај двата генотипа доминираа стерилни цисти. Ова покажува дека генотипската идентификација сама по себе не е доволна за проценка на епидемиолошката улога на домаќинот; неопходно е да се земе предвид и дали цистите достигнуваат инфективен метацестоден стадиум. Во тој контекст, добиените резултати укажуваат дека G1 и G3 не покажуваат строга поврзаност со еден домаќински вид во испитуваниот материјал, но нивниот биолошки потенцијал се разликува зависно од домаќинот и фертилноста на цистите.

Филогенетската анализа дополнително укажува на генетска хетерогеност во рамките на идентификуваните G1 и G3 изолати. Изолатите MKD126, MKD132 и MKD85

формираа посебен подкластер во рамките на G1, додека изолатот MKD6 покажа поизразена дивергенција во рамките на G3. Ваквите микро-варијации најверојатно ја одразуваат континуираната циркулација на паразитот во ендемична средина и присуството на блиски, но неидентични варијанти во рамките на истиот таксон. Сепак, нивното биолошко значење треба да се толкува претпазливо, бидејќи анализата се заснова на ограничен број изолати и на еден митохондриски маркер. Поради тоа, забележаната варијабилност е корисна како показател за генетска разновидност, но не е доволна за изведување посложени заклучоци за популациската структура на паразитот (95).

Во европски и регионален контекст, добиениот G1/G3 профил се вклопува во пошироката слика на доминација на *Echinococcus granulosus sensu stricto* кај цистичната ехинококоза во јужна и југоисточна Европа (23). Податоците од Босна и Херцеговина и Србија, каде исто така е потврдена коциркулација на G1 и G3 кај домашни животни, ја поддржуваат интерпретацијата дека Република Северна Македонија припаѓа на истиот поширок балканско-медитерански генотипски појас (54,58). За разлика од тоа, во делови од централна и источна Европа почесто се опишува присуство на други таксони, особено *Echinococcus canadensis* G7, што ја нагласува регионалната специфичност на генотипската структура (72,73).

Сепак, интерпретацијата на генотипската структура мора да остане критична. Бројот на генотипизирани изолати е доволен за да се потврди доминантниот профил на *Echinococcus granulosus sensu stricto* во анализираниот материјал, но не и за да се исклучи присуство на поретки генотипови или да се изведуваат детални заклучоци за распределбата според домаќин, регион или субпопулација. Ова е особено важно поради ограничениот број изолати од говеда и отсуството на примероци од други потенцијални меѓудомаќини. Затоа, најсоодветно е резултатите да се толкуваат како силна потврда за циркулација на G1 и G3 во рамките на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, но не и како целосен популациско-генетски модел на паразитот во земјата (12,60).

Во целина, генотипската структура утврдена во ова истражување ја поврзува локалната кланична и паразитолошка слика со пошироката молекуларна епидемиологија на цистичната ехинококоза во регионот. Нејзиното значење е во тоа што ја потврдува циркулацијата на зоонозно релевантниот комплекс *Echinococcus granulosus sensu stricto* и покажува дека G1/G3 профилот е составен дел од домашниот циклус на пренесување во испитуваниот епидемиолошки контекст.

6.7. Мултиваријабилна анализа кај говедата: значењето на возраста, периодот и регионот

Мултиваријабилната анализа кај говедата претставува важен аналитички дел од студијата, бидејќи овозможува факторите поврзани со присуството на цисти да се разгледуваат истовремено, а не изолирано. Резултатите покажаа дека возраста, периодот и регионот се значајно поврзани со инфекцијата, што укажува дека преваленцата кај говедата не е случајно распределена, туку е обликувана од комбинација на биолошки, временски и просторни фактори. Во таа смисла, логистичкиот модел не претставува само статистичка потврда на претходно опишаните разлики, туку аналитичка рамка за појасно толкување на факторите што ја условуваат појавата на цисти во кланичниот материјал.

Најконзистентен и биолошки најлогичен резултат е асоцијацијата со возраста. Овој наод е во согласност со хроничниот карактер на цистичната ехинококоза, при што веројатноста за детекција на цисти се зголемува со времетраењето на изложеноста и со староста на животното. Сличен образец е опишан и во други ендемични подрачја, каде постарите животни покажуваат поголем ризик од инфекција како резултат на акумулирана изложеност низ времето (91,96). Поради тоа, ефектот на возраста во овој модел може да се смета за најстабилен и биолошки најубедлив наод.

Ефектот на периодот, односно разликата меѓу 2020 и 2021–2022 година, бара повнимателна интерпретација. Иако статистичкиот ефект е изразен, тој не треба автоматски да се чита како доказ дека реалниот интензитет на пренесување значајно се променил во тој временски интервал. Бројот на говеда во 2021 и 2022 година е помал, што ја зголемува чувствителноста на моделот на случајна варијација и на составот на примерокот. Во кланични студии, ваквите разлики можат да бидат поврзани не само со епидемиолошка промена, туку и со возраста, потеклото, производната категорија на животните и начинот на нивно пристигнување во кланица. Затоа, ефектот на периодот во ова истражување најсоодветно се толкува како показател за временска варијабилност во анализираниот кланичен примерок, а не како сигурен доказ за промена во интензитетот на трансмисијата.

Регионалниот ефект исто така има епидемиолошко значење, но и тука е потребна претпазливост. Фактот што одреден регион останува значаен и по прилагодување за возраст и период укажува дека постојат локални разлики кои не се објаснуваат само со структурата на примерокот. Таквата просторна нерамномерност е очекувана кај цистичната ехинококоза и е опишана и во други ендемични системи, каде ризикот варира според локалните услови на сточарство, движењето на животните, контактот со кучиња, организацијата на колење и постапувањето со кланичниот отпад (82,91). Сепак, регионалниот ефект во моделот не е доволен сам по себе за да се дефинираат причините за разликите меѓу регионите, туку укажува на потреба од подетални теренски податоци.

Главното ограничување на моделот произлегува од природата на достапните променливи. Возраста, периодот и регионот се значајни, но тие претставуваат посредни показатели на изложеноста, а не директни мерки на ризичните практики. Во моделот не беа вклучени податоци за фармските услови, начинот на одгледување, контактот со кучиња, домашното колење или локалните практики за отстранување на инфицирани органи. Поради тоа, моделот може да покаже кои фактори се статистички поврзани со присуството на цисти, но не може целосно да објасни зошто тие асоцијации се јавуваат на теренско ниво.

И покрај овие ограничувања, мултиваријабилната анализа има јасна вредност. Таа покажува дека инфекцијата кај говедата следи препознатливи обрасци, особено во однос на возраста, и дека нејзината појава не е случајна во анализираниот кланичен материјал. Затоа, моделот не треба да се чита како целосно објаснување на трансмисијата, туку како аналитички чекор што ги издвојува најконзистентните фактори поврзани со присуството на цисти кај говедата.

Мултиваријабилната анализа беше спроведена само кај говедата, бидејќи кај овците исклучително високата преваленца и малиот број негативни животни не овозможуваа стабилна проценка на независните асоцијации. Овој пристап не значи дека

возраста, периодот и регионот немаат епидемиолошко значење кај овците, туку дека во рамките на достапниот кланичен материјал нивниот независен ефект не можеше методолошки уверливо да се процени со ист степен на статистичка сигурност.

6.8. Кучињата како дефинитивни домаќини: европски искуства и локален контекст

Во епидемиологијата на цистичната ехинококоза, кучињата и другите каниди претставуваат клучна алка во одржувањето на циклусот, бидејќи присуството на возрастни тении кај дефинитивните домаќини директно ја условува контаминацијата на средината со јајца. Затоа, податоците за инфекцијата кај кучињата се неопходни за целосно разбирање на трансмисијата, особено во средини каде што кланичните наоди кај преживарите укажуваат на активен домашен циклус куче–преживар. Европските и регионалните искуства покажуваат дека преваленцата кај кучињата може значително да варира зависно од типот на кучешка популација, начинот на одгледување, движењето на животните, пристапот до кланичен отпад и применетата дијагностичка методологија (10).

Надзорот кај кучињата, сепак, претставува методолошки и организациски предизвик. Класичната копролошка анализа има ограничувања поради недоволната специфичност и можноста за интермитентно исфрлање на јајца, поради што во епидемиолошки и контролни програми сè поголемо значење имаат копроантигенските и молекуларните методи, особено копроантиген ELISA и копро-PCR (97–99). Европските искуства, вклучително и програмите во кои овие методи се применувале кај поголеми кучешки популации, покажуваат дека ваквиот пристап може да биде корисен не само за дијагностика, туку и за следење на ефектот од контролни мерки (100). Податоците од Турција дополнително укажуваат дека нетретирани кучиња и кучињата кои се движат слободно имаат поголем ризик, што ја нагласува потребата дефинитивните домаќини да се вклучат во систематскиот надзор, а не да се проценуваат само индиректно преку кланичните наоди кај преживарите (101).

Во Република Северна Македонија, достапната епидемиолошка слика за цистичната ехинококоза главно се заснова на податоци од меѓудомаќини, односно од кланично испитувани овци и говеда. Таквите податоци се исклучително вредни за проценка на распространетоста и биолошката активност на инфекцијата кај добитокот, но не ја опфаќаат директно дефинитивната алка во циклусот. Поради тоа, систематското испитување на домашните, и овчарските кучиња би претставувало логично продолжување на постојната епидемиолошка проценка. Ова не ја намалува вредноста на кланичните податоци, туку ја истакнува потребата тие во иднина да се поврзат со податоци од кучешката популација.

Практично, најсоодветен следен чекор би бил насочен надзор кај кучиња во подрачја каде што кланичните податоци укажуваат на повисока застапеност на инфекцијата кај преживарите. Таквиот надзор би можел да вклучи почетен скрининг со копроантиген ELISA, потврда со копро-PCR кај избрани примероци и паралелно собирање податоци за сопственоста, движењето, дехелминтизацијата и можниот пристап на кучињата до сурови инфицирани органи. На овој начин би се овозможило попрецизно поврзување на кланичните наоди кај преживарите со улогата на дефинитивните

домаќини во локалната трансмисија, што е неопходно за планирање поефикасни контролни мерки во рамки на пристапот Едно здравје.

6.9. Домашното колење и управувањето со органи како критична точка во одржувањето на циклусот

Во ендемичните подрачја, домашното или неконтролираното колење претставува една од најчесто опишаните ризични практики, особено во услови кога инфицираните органи и кланичниот отпад не се отстрануваат безбедно, туку стануваат достапни за кучињата како дефинитивни домаќини (64). Во медитеранските и балканските услови, дури и кога постои формален кланичен систем, неговиот ефект врз контролата може да биде ограничен ако дел од колењето останува надвор од организиран надзор или ако постапувањето со кланичниот отпад не е доследно спроведено (44). Поради тоа, домашното колење не треба да се разгледува како периферна околност, туку како една од критичните точки во епидемиолошката логика на болеста.

Овој аспект е важен и за интерпретацијата на резултатите од ова истражување, бидејќи кланично утврдените наоди кај преживарите укажуваат дека во локалната средина постојат услови за одржување на домашниот циклус куче–преживар. Кога органи што содржат фертилни цисти не се отстрануваат контролирано и стануваат достапни за кучињата, се создава директна врска меѓу инфекцијата кај меѓудумаќините и контаминацијата на животната средина со јајца на паразитот. На тој начин, неправилното постапување со органите може да ја претвори кланичната или домашната практика во активна точка на продолжување на циклусот.

Иако ова истражување не вклучуваше директно следење на патиштата на отстранување на инфицираните органи, добиените резултати имаат јасни практични импликации. Контролата на цистичната ехинококоза не може да се заснова само на детекција на цисти при кланичен преглед, туку мора да вклучи и безбедно уништување или недостапност на инфицираните органи за кучињата. Во спротивно, кланичната инспекција останува дијагностичка мерка со ограничено влијание врз трансмисијата, бидејќи паразитот може да продолжи да циркулира преку неформални или недоволно контролирани патишта на отстранување на отпадот.

Оттука, управувањето со инфицираните органи треба да се третира како една од централните практични компоненти на контролата. Насочените мерки треба да опфатат контролирано отстранување на кланичниот отпад, спречување на хранење на кучињата со сурови органи, едукација на сопствениците и фармерите и засилен надзор во периоди на зголемено колење. Таквиот пристап би ја прекинал врската меѓу инфицираните меѓудумаќини и кучињата како дефинитивни домаќини, што е суштинско за намалување на локалното одржување на циклусот.

6.10. Јавно здравје и Едно здравје: значењето на G1/G3-доминацијата кај животните

Од јавно-здравствен аспект, потврдата на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, со присуство на G1 и G3, претставува значаен молекуларен наод, бидејќи овој комплекс е тесно поврзан со зоонозната цистична ехинококоза. Светската здравствена организација ја вбројува ехинококозата меѓу значајните занемарени зоонози, со долг и често клинички

тивок тек, што ја отежнува навремената детекција кај луѓето (1). Во тој контекст, утврдувањето на зоонозно релевантни генотипови кај домашните преживари има значење што го надминува ветеринарниот аспект, бидејќи укажува на присуство на паразитски комплекс со потенцијално јавно-здравствено значење.

Перспективата Едно здравје е особено важна кај цистичната ехинококоза, бидејќи циклусот на пренесување ги поврзува домашните животни, кучињата, животната средина и човекот. Затоа, кланичните и молекуларните наоди кај преживарите не треба да се разгледуваат изолирано, туку како дел од поширок систем на трансмисија. Подобра интеграција на ветеринарните податоци со податоци од дефинитивните домаќини, како и со достапните јавно-здравствени извори, би овозможила попрецизна проценка на локалната епидемиолошка состојба и на потенцијалниот ризик за човекот.

Во локален контекст, резултатите од ова истражување обезбедуваат важна ветеринарна основа за таков интегриран пристап. Тие покажуваат дека кај домашните преживари циркулира паразитски вид со зоонозно значење, но истовремено укажуваат дека за целосна проценка на ризикот се потребни и податоци за кучешката популација, начинот на постапување со инфицирани органи и евентуалната поврзаност со хуманите случаи. Без такво поврзување, епидемиолошката слика останува делумна: кланичните податоци ја покажуваат изложеноста и биолошката активност кај меѓудомаќините, но не го прикажуваат директно интензитетот на контаминација на средината со јајца на паразитот.

Оттука, значењето на ова истражување во рамките на Едно здравје е во тоа што ги поставува ветеринарните наоди како основа за понатамошен мултисекторски надзор. Поврзувањето на податоците од кланиците, кучињата и јавно-здравствените извори би овозможило подобро препознавање на ризичните подрачја, поефикасно насочување на контролните мерки и пореална проценка на товарот на цистичната ехинококоза во земјата. Ваквиот пристап е во согласност со концептот Едно здравје, кој ја разгледува здравствената состојба на луѓето, животните и животната средина како меѓусебно поврзана целина (102).

6.11. Економско влијание во сточарството и скриени загуби

Економскиот товар на цистичната ехинококоза се состои од директни и индиректни компоненти. Највидливите директни загуби во сточарството се поврзани со конфискација и отфрлање на засегнатите органи, намалување на комерцијалната вредност на трупот, дополнителни трошоци за инспекција и постапување со отпадот, како и организациски трошоци за безбедно уништување на инфицираниот материјал. Индиректните загуби се потешко мерливи, но можат да вклучат намалена продуктивност, понизок прираст, репродуктивни последици и намален квалитет на производите. Таквите ефекти најчесто не се евидентираат во рутинските кланични системи, но можат кумулативно да создадат значаен економски товар (28,103).

Европските анализи покажуваат дека вкупниот товар на болеста може да остане висок дури и во услови на поразвиен надзор, особено кога покрај сточарските загуби ќе се земат предвид и трошоците поврзани со хуманата болест. Во анализата за Шпанија, Sarabin и соработниците (2014) покажуваат дека трошоците за дијагностика, лекување и следење на хуманите случаи доминираат во вкупниот економски биланс, додека загубите

во сточарството, иако помали, имаат траен и континуиран карактер (104). Овој пример е важен за интерпретацијата на сегашните наоди, бидејќи потсетува дека видливите кланични загуби претставуваат само еден дел од поширокиот економски товар на цистичната ехинококоза.

Во Република Северна Македонија засега недостига систематска национална економска проценка на цистичната ехинококоза, поради што резултатите од ова истражување не овозможуваат директно квантифицирање на финансиските загуби. Сепак, високата кланично-детектирана преваленца, зафатеноста на економски значајни органи и присуството на фертилни цисти кај дел од животните упатуваат дека болеста најверојатно создава не само ветеринарен, туку и економски релевантен товар. Овој товар веројатно не се одразува целосно во официјалните кланични податоци, бидејќи тие најчесто ги опфаќаат видливите органски промени и конфискациите, но не и индиректните последици врз продуктивноста, управувањето со стадата и долгорочното одржување на циклусот на пренесување.

Оттука, економската важност на цистичната ехинококоза не треба да се сведува само на бројот на отфрлени органи, туку да се разгледува како дел од поширок ветеринарно-економски проблем. Идното квантифицирање на овој товар би требало да ги интегрира кланичните конфискации, проценетите загуби по грло, индиректните производствени трошоци и доколку се достапни, податоците за хуманата болест. Таквиот пристап би овозможил пореална проценка на економската оправданост на превентивните и контролните мерки, особено во средини со активен домашен циклус на пренесување.

6.12. Ограничувања на студијата

Иако ова истражување обезбедува обемна и аналитички повеќеслојна слика за цистичната ехинококоза кај домашните преживари, интерпретацијата на резултатите мора да ги земе предвид методолошките ограничувања на применетиот дизајн. Студијата се заснова на кланичен надзор, кој претставува практично релевантен и епидемиолошки вреден пристап, бидејќи овозможува директен увид во органската локализација, бројноста и дел од биолошките карактеристики на цистите. Сепак, ваквиот пристап не ја опфаќа целата популација на домашни преживари, туку само животните што влегуваат во системот на колење. Поради тоа, испитаниот материјал не претставува строго случаен примерок од националната популација.

Животните испратени на колење можат да се разликуваат според возраста, производната намена, здравствениот статус и причините за испраќање во кланица, а овие фактори директно влијаат врз веројатноста за детекција на цисти. Од една страна, поголемото учество на постари или продуктивно отфрлени животни може да доведе до повисока кланично-детектирана преваленца во споредба со општата популација. Од друга страна, чувствителноста на кланичната инспекција може да варира зависно од големината, локализацијата и морфолошките карактеристики на цистите, како и од оперативните услови во кланицата, поради што дел од инфекциите можат да останат недетектирани. Затоа, добиените проценки најсоодветно треба да се толкуваат како преваленца утврдена во кланична популација, а не како целосна популациска проценка за сите домашни преживари во државата. Слични ограничувања се наведуваат и во други кланично базирани студии од регионот, каде возраста, структурата на примерокот и

производната категорија на животните се препознаваат како важни извори на варијација (10,63).

Годишните разлики во преваленцата беа статистички значајни кај двата вида, но нивната епидемиолошка интерпретација треба да биде внимателна. Во одделни години бројот на испитани животни беше мал, особено кај овците во 2022 година и кај говедата во 2021 и 2022 година, што ја ограничува стабилноста на проценките. Поради тоа, овие разлики посоодветно се разгледуваат како варијабилност во рамките на кланичниот примерок, а не како сигурен показател за национален временски тренд на инфекцијата.

Молекуларната анализа обезбеди јасна потврда на доминантниот G1/G3 профил во рамките на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, што претставува еден од важните наоди на ова истражување. Сепак, бројот на анализирани изолати и употребата на еден митохондриски маркер не овозможуваат подетална популациско-генетска резолуција, сигурно исклучување на ретки генотипови или прецизна реконструкција на микроепидемиолошката дисперзија. Затоа, молекуларните резултати треба да се толкуваат како силна потврда на доминантниот паразитски профил во анализираниот материјал, но не и како целосен популациско-генетски модел на паразитот во земјата (54,58,71).

Мултиваријабилната анализа беше ограничена на говедата, бидејќи кај овците исклучително високата преваленца и малиот број негативни животни не овозможуваа стабилно моделирање на независните асоцијации. Поради тоа, кај овците влијанието на возраста, периодот и регионот може да се разгледува главно на униваријабилно и интерпретативно ниво, но не и со иста аналитичка сигурност како кај говедата.

Дополнително, во рамките на ова истражување не беа директно испитувани ризичните практики што можат да го одржуваат домашниот циклус на пренесување, како домашното колење, постапувањето со инфицирани органи, дехелминтизацијата и движењето на кучињата. Затоа, заклучоците за механизмите на трансмисија се темелат на паразитолошките, кланичните и молекуларните показатели, а не на директно документирани теренски податоци за однесувањето на сопствениците, кучињата и управувањето со кланичниот отпад. Ова ја нагласува потребата идните истражувања да ги поврзат биолошките индикатори со податоци за практиките на колење, управувањето со органите и контролата на кучињата.

Конечно, студијата беше насочена кон меѓудомаќините и не ги вклучуваше дефинитивните домаќини ниту хуманата популација. Поради тоа, пошироките заклучоци за циклусот на пренесување треба да останат ограничени на наодите кај домашните преживари, без директно пренесување врз инфекцијата кај кучињата или кај луѓето. Во таа смисла, резултатите претставуваат силен и добро поткрепен показател за ендемичност и биолошка активност на инфекцијата кај меѓудомаќините, но не и целосен опис на сите сегменти од циклусот на пренесување (10,23).

6.13. Синтеза на наодите и идни насоки

Во однос на поставените работни хипотези, добиените резултати во најголем дел ги потврдуваат претпоставените епидемиолошки врски меѓу видот на домаќинот, возраста, регионот, органската локализација, фертилноста на цистите и генотипската

структура на паразитот. Цистичната ехинококоза беше широко присутна кај испитуваните домашни преживари, но нејзината распределба и биолошко значење се разликуваа меѓу овците и говедата, што укажува дека проценката на ендемичноста не може да се заснова само на преваленцата, туку мора да ги интегрира и паразитолошките и молекуларните показатели. Молекуларната потврда на *Echinococcus granulosus sensu stricto*, со присуство на G1 и G3, ја заокружува интерпретацијата за активен домашен циклус на пренесување во испитуваниот епидемиолошки контекст. Во целина, наодите покажуваат дека цистичната ехинококоза во Република Северна Македонија претставува комплексен ендемичен проблем, чија контрола не може да се заснова само на кланична детекција, туку бара поврзување на кланичните, паразитолошките, молекуларните и теренските податоци. Во иднина, особено значајно би било истражувањата да се прошират кон дефинитивните домаќини, преку систематски надзор кај домашни и овчарски кучиња, како и кон проценка на практиките поврзани со домашното колење, постапувањето со инфицирани органи и редовноста на дехелминтизацијата. Дополнително, примената на молекуларни методи со повисока резолуција и подоброто поврзување на ветеринарните и јавно-здравствените податоци би овозможиле попрецизно разбирање на локалната трансмисија, препознавање на ризични подрачја и планирање понасочени контролни мерки во рамки на пристапот Едно здравје.

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Цистичната ехинококоза е ендемски широко распространета кај домашните преживари во Република Северна Македонија во периодот 2020–2022 година, со висока вкупна преваленца во испитаната кланична популација.
2. Преваленцата е значајно повисока кај овците во споредба со говедата, што укажува на видот на домаќин како клучен фактор поврзан со присуството и интензитетот на инфекцијата.
3. Забележана е статистички значајна просторна/регионална и временска хетерогеност на преваленцата, што укажува на локални разлики во ризикот и варијабилност во кланичниот примерок низ испитуваните региони.
4. Кај овците доминира комбинирана локализација на цистите во црниот дроб и белите дробови, додека кај говедата е забележана порамномерна органска распределба.
5. Фертилноста на цистите е значајно повисока кај овците во споредба со говедата (Fisher's exact test, $p < 0,001$), што укажува дека овците претставуваат поефикасни меѓудомаќини со клучна улога во одржувањето на инфективниот циклус.
6. Молекуларната идентификација потврди симултана циркулација на генотиповите G1 и G3 кај двата вида преживари. Иако не беше утврдена статистички значајна разлика во нивната дистрибуција по домаќин ($p = 0,702$), регистриран е изразен интрагенотипен диверзитет.
7. Високата фертилност на генотипот G3 кај овците (82,6%), заедно со присуството на специфични микроваријанти (пр. изолатот MKD6), сугерира потенцијална еволутивна адаптација на овој генотип кон овцата како важен меѓудомаќин во македонскиот екосистем.
8. Комбинацијата од висока преваленца, висока фертилност кај овците и доминација на генотипот G1 укажува на активен и епидемиолошки одржлив трансмисионен циклус со значајно зоонозно потенцијално значење.
9. Резултатите од ова истражување ја рedefинираат улогата на овците во македонската епидемиолошка средина, не само како примарен резервоар за G1, туку и како главен биолошки катализатор за ширење и адаптација на генотипот G3. Овој феномен на 'бришење' на специфичноста кон домаќинот бара итна примена на интегрирани контролни стратегии (Едно здравје), со посебен акцент на строг ветеринарен надзор врз управувањето со кланичниот отпад како клучна алка за прекинување на инфективниот синџир.

KORISTENA LITERATURA

1. Organization WH. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases [Internet]. World Health Organization; 2010. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564090>
2. Budke CM, Casulli A, Kern P, Vuitton DA. Cystic and alveolar echinococcosis: Successes and continuing challenges. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(4):10–3. doi:10.1371/journal.pntd.0005477 PubMed PMID: 28426657.
3. Iván AHN, Enrico B, Cindy M. Cystic Echinococcosis. *J Clin Microbiol*. 2016 Feb 25;54(3):518–23. doi:10.1128/jcm.02420-15
4. Torgerson PR, Macpherson CNL. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Vet Parasitol*. 2011;182(1):79–95. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.017>
5. Thompson RCA. Chapter Two - Biology and Systematics of Echinococcus. In: Thompson RCA, Deplazes P, Lymbery AJ, editors. *Advances in Parasitology* [Internet]. Academic Press; 2017. p. 65–109. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065308X16300732> doi:<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.001>
6. Johannes E, Peter D. Biological, Epidemiological, and Clinical Aspects of Echinococcosis, a Zoonosis of Increasing Concern. *Clin Microbiol Rev*. 2004 Jan 1;17(1):107–35. doi:10.1128/cmr.17.1.107-135.2004
7. Alvarez Rojas CA, Mathis A, Deplazes P. Assessing the Contamination of Food and the Environment With Taenia and Echinococcus Eggs and Their Zoonotic Transmission. *Current Clinical Microbiology Reports*. Springer; 2018. p. 154–63. doi:10.1007/s40588-018-0091-0
8. Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijawi N, et al. Genetic polymorphisms of Echinococcus granulosus sensu stricto in the Middle East. *Parasitol Int*. 2012;61(4):599–603. doi:<https://doi.org/10.1016/j.parint.2012.05.014>
9. Parsa F, Haghpanah B, Pestechian N, Salehi M. Molecular epidemiology of Echinococcus granulosus strains in domestic herbivores of Lorestan, Iran. *Jundishapur J Microbiol* [Internet]. 2011. Available from: www.SID.ir
10. Tamarozzi F, Legnardi M, Fittipaldo A, Drigo M, Cassini R. Epidemiological distribution of Echinococcus granulosus s.l. infection in human and domestic animal hosts in European Mediterranean and Balkan countries: A systematic review. Torgerson PR, editor. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020 Aug 10;14(8):e0008519. doi:10.1371/journal.pntd.0008519
11. Rashikj L, Cvetkovikj A, Nikolovski M, Cvetkovikj I, Stefanovska J. Cystic Echinococcosis in Slaughtered Cattle and Sheep from North Macedonia. *Maced Vet Rev*. 2022;45(1):35–41. doi:10.2478/macvetrev-2022-0011
12. Rashikj L, Stefanovska J, Djadjovski I, Hristovska ZP, Xhekaj B, Trajchovski A, et al. Genetic characterisation of Echinococcus granulosus sensu lato infecting ruminants in the Republic of North Macedonia. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2025 Dec 18;76(4):10012–20. doi:10.12681/jhvms.40892
13. Wilkinson L. David I. Grove, A history of human helminthology, Wallingford, Oxon, C.A.B. International, 1990, pp.viii, 848, £55.00, \$104.50 (0-85198-689-7). *Med Hist*. 2012/08/16. 1992;36(1):100–1. doi:DOI: 10.1017/S0025727300054715
14. Eckert J, Thompson RCA. Historical Aspects of Echinococcosis. *Adv Parasitol*. 2017 Jan 1;95:1–64. doi:10.1016/BS.APAR.2016.07.003 PubMed PMID: 28131361.
15. Šnábel V. Current aspects of the taxonomy and phylogeny of the genus Echinococcus Rudolphi, 1801. *Ann Parasitol* [Internet]. 2023 Oct 9;69(Supplement 1):s30-32. Available from: <https://annals-parasitology.eu/index.php/AoP/article/view/110>

16. Vuitton DA, McManus DP, Rogan MT, Romig T, Gottstein B, Naidich A, et al. International consensus on terminology to be used in the field of echinococcoses. *Parasite* [Internet]. 2020;27. Available from: <https://doi.org/10.1051/parasite/2020024>
17. Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Vet Parasitol.* 2015;213(3–4):76–84. doi:10.1016/j.vetpar.2015.07.035
18. McMANUS DP. Current status of the genetics and molecular taxonomy of *Echinococcus* species. *Parasitology.* 2013/06/11. 2013;140(13):1617–23. doi:DOI: 10.1017/S0031182013000802
19. Thompson RCA. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol.* 2008 Aug 1;119(4):439–46. doi:10.1016/J.EXPPARA.2008.04.016 PubMed PMID: 18539274.
20. Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *Int J Parasitol.* 2013;43(12–13):1017–29. doi:10.1016/j.ijpara.2013.06.002
21. Lymbery AJ, Jenkins EJ, Schurer JM, Thompson RCA. *Echinococcus canadensis*, *E. borealis*, and *E. intermedius*. What's in a name? *Trends Parasitol.* 2015 Jan 1;31(1):23–9. doi:10.1016/j.pt.2014.11.003
22. Casulli A, Siles-Lucas M, Tamarozzi F. *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Trends Parasitol.* 2019 Aug 1;35(8):663–4. doi:10.1016/j.pt.2019.05.006
23. Casulli A, Massolo A, Saarma U, Umhang G, Santolamazza F, Santoro A. Species and genotypes belonging to *Echinococcus granulosus sensu lato* complex causing human cystic echinococcosis in Europe (2000–2021): a systematic review. *Parasit Vectors.* 2022;15(1):109. doi:10.1186/s13071-022-05197-8
24. Khan SN, Ali R, Khan S, Norin S, Rooman M, Akbar NU, et al. Cystic echinococcosis: an emerging zoonosis in southern regions of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *BMC Vet Res.* 2021;17(1):139. doi:10.1186/s12917-021-02830-z
25. Hao W, Lucine V, Tuerhongjiang T, Jun L, A VD, Wenbao Z, et al. Echinococcosis: Advances in the 21st Century. *Clin Microbiol Rev.* 2019 Feb 13;32(2):10.1128/cmr.00075-18. doi:10.1128/cmr.00075-18
26. Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig PS, et al. Ecology and Life Cycle Patterns of *Echinococcus* Species. *Advances in Parasitology* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017. 213–314 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.apar.2016.11.002> doi:10.1016/bs.apar.2016.11.002 PubMed PMID: 28131364.
27. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS, Organization WH. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health; 2001.
28. Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, et al. The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Adv Parasitol.* 2017 Jan 1;96:259–369. doi:10.1016/BS.APAR.2016.09.006 PubMed PMID: 28212790.
29. Pal M, Alemu H, Megersa L, Garedo D, Bodena E. Cystic Echinococcosis: A Comprehensive Review on Life Cycle, Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Spectrum, Diagnosis, Public Health and Economic Implications, Treatment, and Control. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine Research.* 2022 Mar 22;6. doi:10.26855/ijcemr.2022.04.005
30. Kapel CMO, Torgerson PR, Thompson RCA, Deplazes P. Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, raccoon dogs and cats. *Int J Parasitol.* 2006 Jan 1;36(1):79–86. doi:10.1016/J.IJPARA.2005.08.012 PubMed PMID: 16199043.
31. Thompson RCA, Kapel CMO, Hobbs RP, Deplazes P. Comparative development of *Echinococcus multilocularis* in its definitive hosts. *Parasitology.* 2006/01/19. 2006;132(5):709–16. doi:DOI: 10.1017/S0031182005009625
32. Holcman B, Heath DD. The early stages of *Echinococcus granulosus* development. *Acta Trop.* 1997 Apr 1;64(1–2):5–17. doi:10.1016/S0001-706X(96)00636-5 PubMed PMID: 9095285.

33. Jabbar A, Jenkins DJ, Crawford S, Walduck AK, Gauci CG, Lightowlers MW. Oncospheral penetration glands are the source of the EG95 vaccine antigen against cystic hydatid disease. *Parasitology*. 2010/07/21. 2011;138(1):89–99. doi:DOI: 10.1017/S0031182010001034
34. Manterola C, Rivadeneira J, Pogue SD, Rojas C. Morphology of *Echinococcus granulosus* Protoscolex. *International Journal of Morphology*. 2023;41:646–53.
35. Herrador Z, Siles-Lucas M, Aparicio P, Lopez-Velez R, Gherasim A, Garate T, et al. Cystic Echinococcosis Epidemiology in Spain Based on Hospitalization Records, 1997-2012. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016 Aug 22;10(8):e0004942-. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004942>
36. Daryani A, Sharif M, Amouei A, Nasrolahei M. Fertility and viability rates of hydatid cysts in slaughtered animals in the Mazandaran Province, Northern Iran. *Trop Anim Health Prod*. 2009;41(8):1701–5. doi:10.1007/s11250-009-9368-x
37. Kouidri FB, Benchaib Khoudja F, Boulkaboul A, Selles M. Prevalence, fertility and viability of cystic echinococcosis in sheep and cattle of Algeria. *Bulg J Vet Med*. 2012;15(3):191–7.
38. Otero-Abad B, Torgerson PR. A Systematic Review of the Epidemiology of Echinococcosis in Domestic and Wild Animals. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(6). doi:10.1371/journal.pntd.0002249 PubMed PMID: 23755310.
39. Eckert J, Thompson RCA, Mehlhorn H. Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 1983;69(6):737–48. doi:10.1007/BF00927423
40. Conraths FJ, Deplazes P. *Echinococcus multilocularis*: Epidemiology, surveillance and state-of-the-art diagnostics from a veterinary public health perspective. *Vet Parasitol*. 2015 Oct 30;213(3–4):149–61. doi:10.1016/J.VETPAR.2015.07.027 PubMed PMID: 26298509.
41. Thompson RCA. Growth, segmentation and maturation of the British horse and sheep strains of *Echinococcus granulosus* in dogs. *Int J Parasitol*. 1977 Aug 1;7(4):281–5. doi:10.1016/0020-7519(77)90036-4 PubMed PMID: 924713.
42. Smyth JD. Studies on tapeworm physiology: XI. In vitro cultivation of *Echinococcus granulosus* from the protoscolex to the strobilate stage. *Parasitology*. 2009/04/06. 1967;57(1):111–33. doi:DOI: 10.1017/S0031182000071936
43. Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF, Romig T, et al. Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Adv Parasitol*. 2017 Jan 1;95:315–493. doi:10.1016/BS.APAR.2016.11.001 PubMed PMID: 28131365.
44. Craig PS, McManus DP, Lightowlers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH, Gavidia CM, et al. Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*. 2007 Jun 1;7(6):385–94. doi:10.1016/S1473-3099(07)70134-2
45. Alvarez Rojas CA, Romig T, Lightowlers MW. *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes infecting humans – review of current knowledge. *Int J Parasitol*. 2014;44(1):9–18. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.08.008
46. Espinoza S, Salas AM, Vargas A, Freire V, Diaz E, Sánchez G, et al. Detection of the G3 genotype of *Echinococcus granulosus* from hydatid cysts of Chilean cattle using COX1 and ND1 mitochondrial markers. *Parasitol Res*. 2014 Jan;113(1):139–47. doi:10.1007/s00436-013-3636-4 PubMed PMID: 24158646.
47. Weng X, Mu Z, Wei X, Wang X, Zuo Q, Ma S, et al. The effects of dog management on *Echinococcus* spp. prevalence in villages on the eastern Tibetan Plateau, China. *Parasit Vectors*. 2020;13(1):1–12. doi:10.1186/s13071-020-04082-6 PubMed PMID: 32317015.
48. Mitrea IL, Ionita M, Wassermann M, Solcan G, Romig T. Cystic Echinococcosis in Romania: An Epidemiological Survey of Livestock Demonstrates the Persistence of Hyperendemicity. *Foodborne Pathog Dis*. 2012 Oct 17;9(11):980–5. doi:10.1089/fpd.2012.1237
49. Grosso G, Gruttadauria S, Biondi A, Marventano S, Mistretta A. Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012;18(13):1425.

50. Casulli A, Massolo A, Saarma U, Umhang G, Santolamazza F, Santoro A. Species and genotypes belonging to *Echinococcus granulosus sensu lato* complex causing human cystic echinococcosis in Europe (2000–2021): a systematic review. *Parasit Vectors*. 2022;15(1):109. doi:10.1186/s13071-022-05197-8
51. Romig T, Dinkel A, Mackenstedt U. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol Int*. 2006 Jan 1;55(SUPPL.):S187–91. doi:10.1016/J.PARINT.2005.11.028 PubMed PMID: 16352465.
52. Entezami M, Nocerino M, Widdicombe J, Bosco A, Cringoli G, Casulli A, et al. The spatial distribution of cystic echinococcosis in Italian ruminant farms from routine surveillance data. *Frontiers in Tropical Diseases*. 2022;Volume 3-2022. doi:10.3389/fitd.2022.1034572
53. ALISHANI M, SHERIFI K, REXHEPI A, HAMIDI A, ARMUA-FERNANDEZ MT, GRIMM F, et al. The impact of socio-cultural factors on transmission of *Taenia* spp. and *Echinococcus granulosus* in Kosovo. *Parasitology*. 2017/08/11. 2017;144(13):1736–42. doi:DOI: 10.1017/S0031182017000750
54. Hodžić A, Alić A, Spahić A, Harl J, Beck R. Genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu lato* from animals and humans in Bosnia and Herzegovina. *Parasit Vectors*. 2022;15(1):457. doi:10.1186/s13071-022-05598-9
55. Xhaxhiu D, Kusi I, Rapti D, Kondi E, Postoli R, Rinaldi L, et al. Principal intestinal parasites of dogs in Tirana, Albania. *Parasitol Res*. 2011;108(2):341–53. doi:10.1007/s00436-010-2067-8
56. Chaligiannis I, Maillard S, Boubaker G, Spiliotis M, Saratsis A, Gottstein B, et al. *Echinococcus granulosus* infection dynamics in livestock of Greece. *Acta Trop*. 2015 Oct 1;150:64–70. doi:10.1016/J.ACTATROPICA.2015.06.021 PubMed PMID: 26123192.
57. Breyer I, Georgieva D, Kurdova R, Gottstein B. *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol Res*. 2004;93(2):127–30. doi:10.1007/s00436-004-1116-6
58. Debeljak Z, Boufana B, Interisano M, Vidanovic D, Kulisic Z, Casulli A. First insights into the genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (ss) in Serbia. *Vet Parasitol*. 2016;223:57–62.
59. Hoge MO, Ciomaga BF, Muntean MM, Muntean AA, Popa MI, Popa GL. Cystic echinococcosis in the early 2020s: a review. *Trop Med Infect Dis*. 2024;9(2):36.
60. Kinkar L, Laurimäe T, Acosta-Jamett G, Andresiuk V, Balkaya I, Casulli A, et al. Global phylogeography and genetic diversity of the zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotype G1. *Int J Parasitol*. 2018;48(9):729–42. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.03.006
61. Sotiraki S, Chaligiannis I. Cystic echinococcosis in Greece. Past and present. *Parasite*. 2010;17(3):205–10. doi:10.1051/parasite/2010173205
62. Loi F, Berchialla P, Masu G, Masala G, Scaramozzino P, Carvelli A, et al. Prevalence estimation of Italian ovine cystic echinococcosis in slaughterhouses: A retrospective Bayesian data analysis, 2010–2015. *PLoS One*. 2019;14(4):2010–5. doi:10.1371/journal.pone.0214224 PubMed PMID: 30934010.
63. Dărăbuș G, Bușe A, Oprescu I, Morariu S, Mederle N, Ilie M, et al. Investigation on Descriptive Epidemiology, Geographical Distribution, and Genotyping of *Echinococcus granulosus* s.l. in Bovine from Romania. *Vet Sci*. 2022;9(12). doi:10.3390/vetsci9120685
64. Possenti A, Manzano-Román R, Sánchez-Ovejero C, Boufana B, La Torre G, Siles-Lucas M, et al. Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(11):1–15. doi:10.1371/journal.pntd.0005114
65. Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Vet Parasitol*. 2015;213(3):76–84. doi:https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.035
66. Roostaei M, Fallah M, Maghsood AH, Saidijam M, Matini M. Prevalence and Fertility Survey of Hydatid Cyst in Slaughtered Livestock in Hamadan Abattoir, Western Iran, 2015 - 2016.

Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection. 2017;4(2):43361–43361. doi:10.5812/ajcmi.43361

67. Daryani A, R.Alaei, R.Arab, M S, H.Dehghan, H.Ziaei. Prevalence of Hydatid Cyst in Slaughtered Animals in Northwest Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2006. p. 330–4.
68. Kinkar L, Laurimäe T, Acosta-Jamett G, Andresiuk V, Balkaya I, Casulli A, et al. Distinguishing *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotypes G1 and G3 with confidence: A practical guide. Infection, Genetics and Evolution. 2018;64:178–84. doi:https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.026
69. Kinkar L, Laurimäe T, Balkaya I, Casulli A, Zait H, Irshadullah M, et al. Genetic diversity and phylogeography of the elusive, but epidemiologically important *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotype G3. Parasitology. 2018/04/17. 2018;145(12):1613–22. doi:DOI: 10.1017/S0031182018000549
70. Casulli A, Interisano M, Sreter T, Chitimia L, Kirkova Z, La Rosa G, et al. Genetic variability of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences. Infection, Genetics and Evolution. 2012;12(2):377–83. doi:10.1016/j.meegid.2011.12.014
71. Bonelli P, Serra E, Dei Giudici S, Peruzzi A, Crotti S, Danesi P, et al. Molecular phylogenetic analysis of *Echinococcus granulosus sensu lato* infecting sheep in Italy. Acta Trop. 2024 Apr 1;252:107151. doi:10.1016/J.ACTATROPICA.2024.107151 PubMed PMID: 38367944.
72. Salamatin R, Kowal J, Nosal P, Kornaś S, Cielecka D, Jańczak D, et al. Cystic echinococcosis in Poland: genetic variability and the first record of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1 genotype) in the country. Parasitol Res. 2017 Nov 1;116(11):3077–85. doi:10.1007/s00436-017-5618-4 PubMed PMID: 28975403.
73. Šnábel V, Kuzmina TA, Antipov AA, Yemets OM, Cavallero S, Miterpáková M, et al. Molecular Study of *Echinococcus granulosus* Cestodes in Ukraine and the First Genetic Identification of *Echinococcus granulosus Sensu Stricto* (G1 Genotype) in the Country. Acta Parasitol. 2022;67(1):244–54. doi:10.1007/s11686-021-00450-z
74. Guo B, Zhao L, Zhao L, Mi R, Zhang X, Wang B, et al. Survey and Molecular Characterization of *Echinococcus granulosus sensu stricto* from Livestock and Humans in the Altai Region of Xinjiang, China. Pathogens. 2023 Jan 1;12(1). doi:10.3390/pathogens12010134
75. Jesudoss Chelladurai JRJ, Quintana TA, Johnson WL, Schmidt C, Righter D, Howey E. Cystic echinococcosis in cattle and sheep caused by *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotypes G1 and G3 in the USA. Parasit Vectors. 2024;17(1):128. doi:10.1186/s13071-024-06192-x
76. Larrieu E, Gavidia CM, Lightowlers MW. Control of cystic echinococcosis: Background and prospects. Zoonoses Public Health. 2019 Dec 1;66(8):889–99. doi:https://doi.org/10.1111/zph.12649
77. Organization WH. Echinococcosis. Geneva: World Health Organization; 2020.
78. Amarir F, Rhalem A, Sadak A, Raes M, Oukessou M, Saadi A, et al. Control of cystic echinococcosis in the Middle Atlas, Morocco: Field evaluation of the EG95 vaccine in sheep and cesticide treatment in dogs. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(3):e0009253.
79. Lightowlers MW. Vaccines against cysticercosis and hydatidosis: Foundations in taeniid cestode immunology. Parasitol Int. 2006;55:S39–43. doi:https://doi.org/10.1016/j.parint.2005.11.005
80. Larrieu E, Mujica G, Araya D, Labanchi JL, Arezo M, Herrero E, et al. Pilot field trial of the EG95 vaccine against ovine cystic echinococcosis in Rio Negro, Argentina: 8 years of work. Acta Trop. 2019 Mar 1;191:1–7. doi:10.1016/J.ACTATROPICA.2018.12.025 PubMed PMID: 30576624.
81. Gharbi M, Giraudoux P. Cystic echinococcosis (*Echinococcus granulosus sensu lato* infection) in Tunisia, a One Health perspective for a future control programme. Parasite. 2024 Jun 13;31:30. doi:10.1051/parasite/2024029
82. Bosco A, Alves LC, Cociancic P, Amadesi A, Pepe P, Morgoglione ME, et al. Epidemiology and spatial distribution of *Echinococcus granulosus* in sheep and goats slaughtered in a

hyperendemic European Mediterranean area. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):421. doi:10.1186/s13071-021-04934-9

83. Andrew Thompson RC. The molecular epidemiology of echinococcus infections. *Pathogens*. MDPI AG; 2020. p. 1–9. doi:10.3390/pathogens9060453

84. Barnes TS, Deplazes P, Gottstein B, Jenkins DJ, Mathis A, Siles-Lucas M, et al. Challenges for diagnosis and control of cystic hydatid disease. *Acta Trop*. 2012 Jul 1;123(1):1–7. doi:10.1016/J.ACTATROPICA.2012.02.066 PubMed PMID: 22410539.

85. Bart JM, Morariu S, Knapp J, Ilie MS, Pitulescu M, Anghel A, et al. Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitol Res*. 2006;98(2):130–7. doi:10.1007/s00436-005-0015-9

86. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018 Jun 1;35(6):1547–9. doi:10.1093/molbev/msy096 PubMed PMID: 29722887.

87. Saitou N, Nei M. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees' [Internet]. Available from: <https://academic.oup.com/mbe/article/4/4/406/1029664>

88. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the Bootstrap. *Evolution (N Y)*. 1985 Jul;39(4):783–91. doi:10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x PubMed PMID: 28561359.

89. JUKES TH, CANTOR CR. Evolution of Protein Molecules. In: *Mammalian Protein Metabolism* [Internet]. Elsevier; 1969. p. 21–132. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781483232119500097> doi:10.1016/B978-1-4832-3211-9.50009-7

90. Thrusfield M V. *Veterinary Epidemiology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2007. 0–626 p.

91. Hombo H, Oyarzo M, Álvarez C, Cuadros N, Hernández F, Ward MP, et al. Spatial epidemiology of cystic echinococcosis in livestock from a hyper-endemic region in southern Chile. *Vet Parasitol*. 2020;287(April). doi:10.1016/j.vetpar.2020.109258 PubMed PMID: 33075729.

92. El-Dakhly KM, Arafa WM, El-Nahass ESN, Shokier KAM, Noaman AF. The current prevalence and diversity of cystic echinococcosis in slaughtered animals in Egypt. *Journal of Parasitic Diseases*. 2019;43(4):711–7. doi:10.1007/s12639-019-01151-1

93. Bonelli P, Dei Giudici S, Peruzzu A, Piseddu T, Santucci C, Masu G, et al. Genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Sardinia (Italy). *Parasitol Int*. 2020 Aug 1;77:102120. doi:10.1016/J.PARINT.2020.102120 PubMed PMID: 32259586.

94. Khan A, Ahmed H, Simsek S, Afzal MS, Cao J. Spread of Cystic Echinococcosis in Pakistan Due to Stray Dogs and Livestock Slaughtering Habits: Research Priorities and Public Health Importance. *Front Public Health*. 2020;7(January):1–6. doi:10.3389/fpubh.2019.00412

95. Ito A. Review of “Echinococcus and Echinococcosis, Part A.” edited by RC Andrew Thompson, Alan J. Lymbery and Peter Deplazes. Springer; 2017.

96. Kamali W, Wang SY, Luo WD, Liu S, Zhao L, Pan XY, et al. Epidemiology and genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in the East Tianshan Mountains, Xinjiang, China. *Parasitol Res*. 2024;123(11):388. doi:10.1007/s00436-024-08394-9

97. Abu-Helu R, Kokaly G, Nojourn S, Matouk I, Ibrahim M, Abbasi I. Molecular Identification of Echinococcus spp. and other Taeniid Tapeworms Using Next Generation Sequence Analysis of PCR Amplified 18s rRNA gene. *bioRxiv*. 2024 Jan 1;2024.04.02.587684. doi:10.1101/2024.04.02.587684

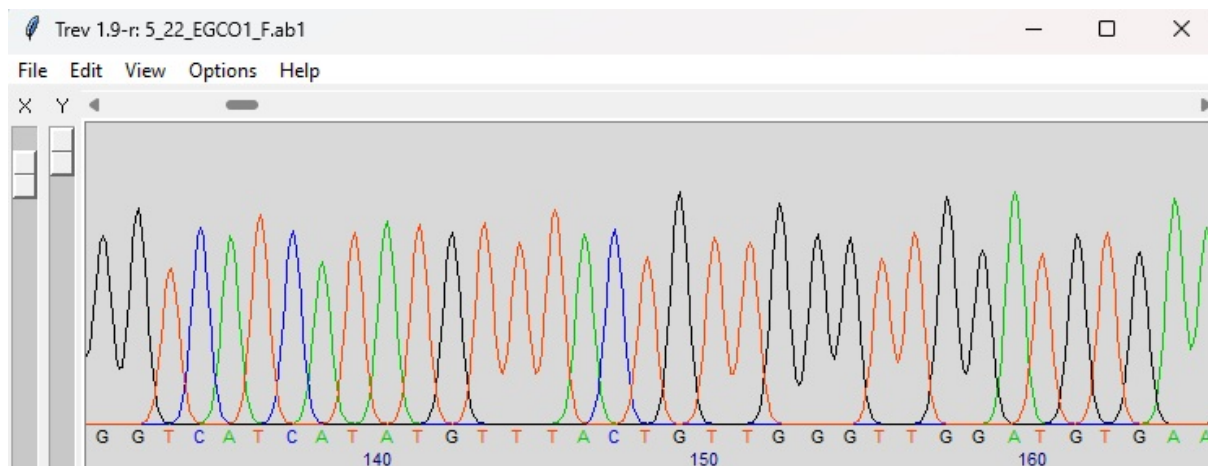
98. Shao G, Zhu X, Hua R, Chen Y, Yang G. Development of a Copro-RPA-CRISPR/Cas12a assay to detect *Echinococcus granulosus* nucleic acids isolated from canine feces using NaOH-based DNA extraction method. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2024 Dec 12;18(12):e0012753-. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012753>

99. Kartal Varol P, Özdal N, Oğuz B. Detection of *Echinococcus* spp. Coproantigens in Dogs in Van Province Using the ELISA Method. *Van Veterinary Journal*. 2025;36(2):115–20. doi:10.36483/vanvetj.1656770

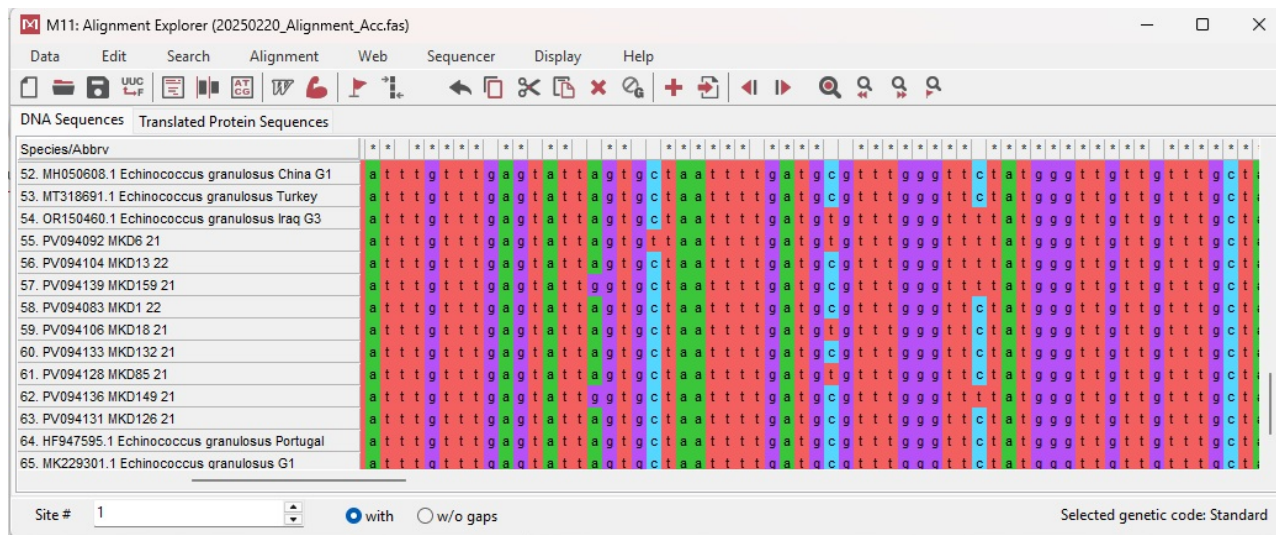
100. Christofi G, Deplazes P, Christofi N, Tanner I, Economides P, Eckert J. Screening of dogs for *Echinococcus granulosus* coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Vet Parasitol.* 2002;104(4):299–306. doi:[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00637-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00637-9)
101. Guzel M, Yaman M, Koltas IS, Demirkazik M, Aktas H. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in dogs from Antakya Province, Turkey. *Helminthologia.* 2008;45(3):150–3. doi:10.2478/s11687-008-0030-3
102. Tamarozzi F, Deplazes P, Casulli A. Reinventing the Wheel of *Echinococcus granulosus sensu lato* Transmission to Humans. *Trends Parasitol.* 2020 May 1;36(5):427–34. doi:10.1016/j.pt.2020.02.004
103. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis – an international public health challenge. *Res Vet Sci.* 2003;74(3):191–202. doi:[https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00006-7](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00006-7)
104. Carabin H, Balsera-Rodríguez FJ, Rebollar-Sáenz J, Benner CT, Benito A, Fernández-Crespo JC, et al. Cystic echinococcosis in the province of Álava, North Spain: The monetary burden of a disease no longer under surveillance. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(8). doi:10.1371/journal.pntd.0003069 PubMed PMID: 25102173.

ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Репрезентативен електроферограм по двонасочно секвенционирање на *cox1*.



Прилог 2. Повеќекратно подредување на *cox1* секвенците со референтни секвенци за G1 и G3.



Прилог 3. GenBank пристапни броеви на депонираните секвенци.

Колона 1	Колона 2	Колона 3	Колона 4
PV094083	PV094084	PV094085	PV094086
PV094087	PV094088	PV094089	PV094090
PV094091	PV094092	PV094093	PV094094
PV094095	PV094096	PV094097	PV094098
PV094099	PV094100	PV094101	PV094102
PV094103	PV094104	PV094105	PV094106
PV094107	PV094108	PV094109	PV094110
PV094111	PV094112	PV094113	PV094114
PV094115	PV094116	PV094117	PV094118
PV094119	PV094120	PV094121	PV094122
PV094123	PV094124	PV094125	PV094126
PV094127	PV094128	PV094129	PV094130
PV094131	PV094132	PV094133	PV094134
PV094135	PV094136	PV094137	PV094138
PV094139	PV094140		