

# Histološki prikaz hidatidoze u divlje svinje (*Sus scrofa* L.)



## Histological observation of hidatidosis in wild boar (*Sus scrofa* L.)

Škvorc, N., M. Bujanić\*, I.-C. Šoštarić-Zuckermann, S. Kužir, D. Konjević

### Sažetak

**H**idatidoza je parazitska bolest uzrokovana larvarnim stadijem trakavice *Echinococcus granulosus*. Nositelji ove trakavice su mesojedi, dok su posrednici biljojedi i svejedi u čijim se unutarnjim organima razvijaju hidatidne ciste. One su okružene adventicijalnim slojem koji čini vezivnotkivna čahura. Tu čahuru stvara posrednik. Tijekom postmortalnog pregleda organa divlje svinje uočili smo patološku tvorbu na jetri koju smo uzorkovali i pohranili u 10 %-tni neutralni formalin te je napravljena rutinska patohistološka pretraga. Uzorak je dodatno obojen bojenjima za vezivno tkivo: bojenje *Mallory's aniline blue collagen*, *Verhoeff-Van Giesonovo* bojenje i bojenje za retikularna vlakna. Patohistološkom pretragom unutar jetrenog parenhima vidljive su multifokalne ciste. Ciste su okružene fibrovaskularnom čahurom različite debljine koja se sastojala od granulacijskog tkiva infiltriranog s umjerenim brojem limfoplazmatskih stanica i manje eozinofila. Hidatidne ciste sastoje se od laminiranog hijalina i bjelančevinaste membrane, a unutar nje dio membrane ima brojna bazofilna vapnenasta tjelešca. Iz unutarnjeg zametnog epitela pupaju brojne zametne čahure s *višestrukim* protoskoleksima koji sadržavaju tegument, spužvasti parenhim, vapnenasta tjelešca, sisku i rostelum s kukicama. Dodatnim histološkim tehnikama bojenja istražena je građa stijenke hidatidne ciste u kojoj su utvrđena kolagena, elastična i retikularna vlakna.

**Ključne riječi:** divlja svinja, *Echinococcus granulosus*, jetra, hidatidna cista, bojenja za vezivno tkivo

### Abstract

Hydatidosis is a parasitic disease caused by the larval stage of the *Echinococcus granulosus* tapeworm. The definitive hosts of this tapeworm are carnivores, while the intermediate hosts are herbivores and omnivores in whose internal organs hydatid cysts develop. The cysts are surrounded by an adventitial layer made up of a connective tissue capsule produced by the intermediate host. During postmortem examination of wild boar organs, we observed a pathological formation on the liver, which was sampled and stored in 10% buffered formalin, and a routine pathohistological examination was performed. The sample was additionally dyed with connective tissue stains: *Mallory's aniline blue collagen stain*, *Verhoeff-Van Gieson stain*, and stain for reticular fibers. Histopathological examination revealed multifocal hydatid tissue cysts within the hepatic parenchyma. They were surrounded by a variably sized fibrovascular capsule consisting of granulation tissue, infiltrated with moderate numbers of lymphoplasmacytic cells and fewer eosinophils. The hydatid cysts consisted of laminated hyaline and proteinaceous membrane, and the internal aspect of the membrane had numerous basophilic calcareous bodies. Budding from the internal germinal epithelium

Nikolina ŠKVORC, dr. med. vet., asistentica; dr. sc. Miljenko BUJANIĆ, dr. med. vet. poslijedoktorand, dr. sc. Ivan-CONRADO ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, dr. med. vet., docent, dipl. ECVF, dr. sc. Snježana KUŽIR, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Dean KONJEVIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dipl. ECZM (WPH), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb. \*Dopisni autor: mbujanic@vef.hr

there were multiple brood capsules with multiple protoscolices, which consisted of a tegument, spongy parenchyma, calcareous corpuscles, a sucker, and a rostellum armed with hooks. Additional histological staining techniques were used to examine the structure of the hydatid cyst wall in which collagen, elastic and reticular fibers were identified.

**Key words:** wild boar, *Echinococcus granulosus*, liver, hydatid cyst, connective tissue stains

## Uvod

Ehinokokoza je zoonotska bolest uzrokovana trakavicama iz roda *Echinococcus* i porodice Taeniidae. Četiri vrste ovih trakavica od javnozdravstvene su važnosti: mala pseća trakavica *Echinococcus granulosus*, koja uzrokuje cističnu ehinokokožu, lisičja trakavica *Echinococcus multilocularis* kao uzročnik alveolarne ehinokokoze te uzročnici policistične ehinokokoze *Echinococcus vogeli* i *Echinococcus oligarthrus* (Thompson, 1995.; Moro i Schantz, 2009.). Cistična ehinokokoza u ljudi i životinja rasprostranjena je u zemljama umjerenog klimatskog pojasa, uključujući dijelove Euroazije, Australiju, Latinsku Ameriku i Afriku (Eckert i sur., 2000.; Grosso i sur., 2012.). Unutar vrste *E. granulosus* molekularnim istraživanjima identificirano je do sada 10-ak različitih genotipova (G1-G10) koji su u konačnici svrstani u nekoliko vrsta (Thompson, 2017.) Za svinje je važan genotip G7, tj. *Echinococcus intermedius* ili svinjski soj trakavice *E. granulosus*, prema staroj literaturi, ali su McManus i Thompson (2003.) u svinja u Poljskoj opisali i soj, za kojeg se danas smatra da je mikrovarijanta G7 (Romig i sur., 2015.). Ovcji soj (G1) dominantan je soj trakavice *E. granulosus* u području Sredozemlja, Velike Britanije i istočne Europe (Daniel-Mwambete i sur., 2004.; Romig i sur., 2006.), a osim iz ovaca ovaj je genotip izoliran i iz koza, kao i domaćih te divljih svinja (Breyer i sur., 2004.; Daniel-Mwambete i sur., 2004.). Adultni oblik trakavice *E. granulosus* parazitira u tankom crijevu mesojeda koji su nositelji. Najčešće su to domaći i divlji pripadnici porodice pasa, a rjeđe i porodice mačaka. U nositeljima trakavica razvija članke ispunjene jajašcima koja sadržavaju po jedan heksakantni embrio, tj. onkosferu. Jajašca izmetom izlaze u okoliš. Nakon ingestije hrane ili vode onečišćene jajašcima u tankom crijevu posrednika, pod utjecajem proteolitičkih enzima, dolazi do oslobađanja onkosfera. U unutarnjim organima posrednika, najčešće biljojeda i svejeda, razvijaju se larvalni stadiji, tj. metacestode, odnosno hidatidne ciste koje se najčešće razvijaju u jetri i plućima, ali mogu biti smještene i u drugim organima (Harris i sur., 1989.; Thompson, 1995.; Eckert i sur., 2000.; Hsu i sur., 2013.). Kod nositelja je zabilježen visok stupanj vrsne specifičnosti, što nije slučaj kod posrednika, pa tako i ljudi mogu biti slučajni posrednici (Thompson, 1995.).

U posredniku mogu nastati dva tipa hidatidnih cista, fertilne i sterilne. Fertilne su ciste oblik parazita koji je invazivan za nositelja. Kod njih iz germinativnog sloja pupaju zametne čahure koje nespolnim dijeljenjem proizvode brojne protoskolekse. Sterilne ciste ne stvaraju protoskolekse zbog čega nisu u mogućnosti nastaviti razvojni ciklus parazita (Thompson, 1995.; Eckert i sur., 2001.; Zhang i sur., 2003.; Moro i Schantz, 2009.; Paredes i sur., 2011.). Hidatidne su ciste sferične, unilokularne strukture ispunjene tekućinom u kojoj se može pronaći hidatidni pijesak. Ciste se sastoje od dva sloja koja potječu od parazita, unutarnjeg nuklearnog i vanjskog acelularnog. Unutarnji sloj naziva se i germinativni, dok je vanjski, laminarni, karakteristično acidofilno obojen te je okružen vezivnotkivnom čahuricom. Ona je proizvedena od strane posrednika te čini adventicijalni sloj koji služi kao barijera između tkiva posrednika i parazita. Jedna od komponenata vezivnog tkiva jesu vlakna koja nastaju sekrecijom iz fibroblasta. Tri glavna tipa vlakana uključuju kolagena, retikularna i elastična. Kolagena i retikularna vlakna formirana su od proteina iz obitelji kolagena, a elastična su sastavljena uglavnom od proteina elastina. Dok su kolagena vlakna u histološkim preparatima bojenim hematoksilin-eozinom (HE) ružičasta, retikularna i elastična vlakna na rutinskim histološkim preparatima teško je razlikovati od ostalih vlaknastih elemenata zbog čega se primjenjuju specijalne tehnike bojenja (Kozarić, 1997.; Mescher, 2016.). Larvalni oblik *E. granulosus* osim unilokularnih cista može uzrokovati i multivezikularne ciste u ljudi i goveda (Lahmar i sur., 2009.; Kul i Yildiz, 2010.) čija šupljina sadržava više cista endogenih kćeri (Eckert i sur., 2001.). Moro i Schantz (2009.) opisuju da se s vremenom može narušiti struktura tipična za mladu ehinokoknu cistu jer se u unilokularnim cistama stvaraju unutarnje pregrade i kćeri ciste.

Divlja svinja (*Sus scrofa* L.) zavičajna je vrsta krupne divljači u Republici Hrvatskoj (Janicki i sur., 2007.). Osim toga ova vrsta ima najširi geografski raspon od svih papkara te se prirodno pojavljuje u Europi, Aziji i sjevernoj Africi, a unesena je i na druge kontinente (Scandura i sur., 2011.). U ovom smo istraživanju pobliže istražili histološku građu hidatidne ciste divlje svinje koristeći se dodatnim tehnikama bojenja za vezivno tkivo.

## Materijal i metode

Tijekom uzorkovanja za potrebe HRZZ projekta IP 8963 *Interakcija nositelj-parazit: odnos tri različita tipa nositelja prema invaziji metiljem Fascioloides magna* pregledane su jetre divljih svinja, primarno zbog utvrđivanja promjena karakterističnih za fascioloidozu (invazija metiljem *Fascioloides magna*). Prilikom detaljnog pregleda jetara u jednom slučaju naišli smo na patološku tvorbu na jetri. Srednjedobna ženka divlje svinje odstrijeljena je tijekom provedbe redovitog plana gospodarenja u državnom otvorenom lovištu br. XIV/9 – Podunavlje-Podravlje. Tijekom postmortalnog pregleda organa prsne i trbušne šupljine na jetri smo uočili promjene koje nisu bile vidljive u ostalim organima. Jetra je oblikom i veličinom odgovarala životinji, bila je crvenosmeđe boje, glatke površine i elastične konzistencije. Na presjeku građa se razabirala, cijedila se umjerena količina tamnocrvene tekućine, a koherencija je bila žilava. Na desnom režnju jetre bila je vidljiva žučkastobijela, oštro ograničena, cistična okrugla tvorba promjera 5 – 7 cm. Prilikom presjeka cistična je tvorba kolabirala, isticala se prozirna do blago žučkasta serozna tekućina s dodatkom vrlo sitnog granuliranog materijala nalik na pijesak. Istodobno bila je i uočljivija kapsula debljine oko 2 mm. Pronađene promjene uzorkovali smo i pohranili u 10 %-tni neutralni formalin te je u Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu napravljena rutinska patohistološka pretraga. Uz to je uzorak u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju obojen specijalnim bojenjima za vezivno tkivo: bojenjem *Mallory's aniline blue collagen* (Švob, 1974.; Sheehan i Hrapchak, 1980.), Verhoeff-Van Giesonovim bojenjem (Sheehan i Hrapchak, 1980.) i bojenjem za retikulinska vlakna (Biognost: Gordon i Sweet, 1936.; Gomori, 1939.).

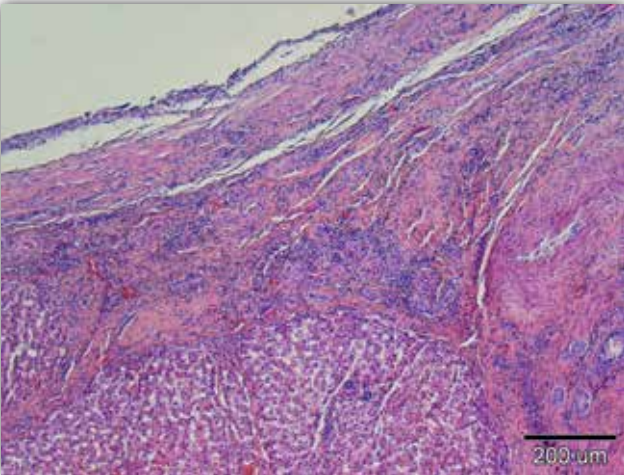
## Rezultati

Makroskopskom pretragom jetre postavljena je sumnja na ehinokoknu hidatidnu cistu (slika 1). Patohistološkom pretragom uočilo se da se unutar jetrenog parenhima nalaze multifokalne ciste promjenjive veličine, promjera do približno 1 cm. Većina cista okružena je fibrovaskularnom čahurom različite debljine, koja se sastojala od zrelog i reaktivnog vezivnog tkiva s brojnim krvnim žilama malog promjera (granulacijsko tkivo) infiltriranim s umjerenim brojem limfoplazmatskih stanica i manje eozinofila (slike 2 i 3). Povremeno je ovaj sloj infiltriran makrofagima i multinuklearnim divovskim stanicama. Šireći se iznutra, neke su ciste dalje ograničene eozinofilnom zrnatom proteinskom tekućinom po-

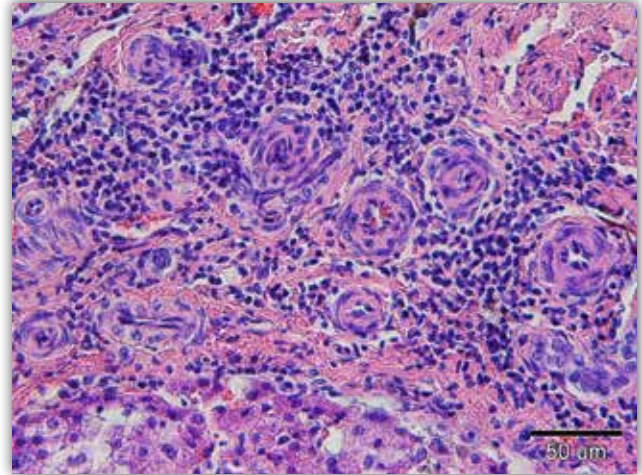


Slika 1. Hidatidna cista u tkivu jetre.

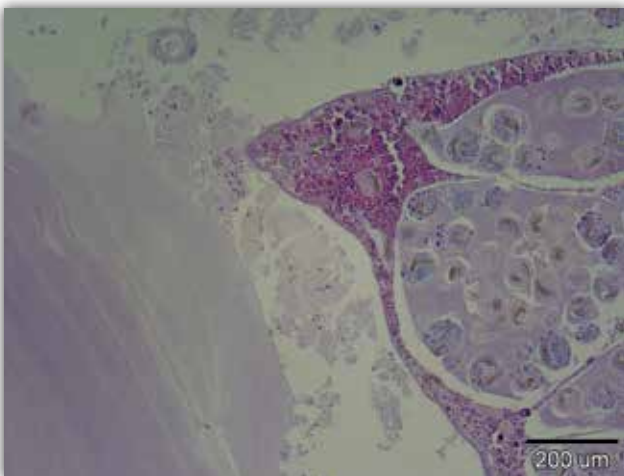
miješanom s nekrotičnim debrisom (interpretirano kao tkivna tekućina i nekrotični debris iz rupturiranih cisti). Ciste hidatidnog tkiva sastoje se od urednog višeslojnog ili laminiranog hijalina i bjelančevinaste membrane promjera do 150 mikrometara, a unutar-nji dio membrane ima brojna bazofilna vapnenasta tjelešca od 5 do 20 mikrometara (slika 4). Pupajući iz unutarnjeg zametnog epitela, postoji više tankih zametnih čahura s višestrukim protoskoleksima od 80 do 150  $\mu\text{m}$ . Protoskoleksi imaju 5  $\mu\text{m}$  debeo tegument, spužvasti parenhim, vapnenasta tjelešca, sisku i rostelum koji sadržava kukice. Zametne čahure i preostali dio unutrašnjosti tkivnih cista promjenjivo su ispunjeni dodatnim ekstravaziranim eritrocitima, proteinskom tekućinom i nekrotičnim debrisom (slika 5). Hepatociti koji okružuju tkivne ciste atrofični su (kompresijska atrofija). Zaključno, Malloryjevim bojenjem kolagena vlakna stijenke hidatidne ciste i unutar interlobularnog vezivnog tkiva obojena su plavo, jetrene stanice su smeđe, a eritrociti u sinusoidama i krvnim žilama stijenke crveni su (slika 6). Verhoeff-Van Giesonovom metodom bojenja kolagena vlakna u stijenci hidatidne ciste boje se ružičasto, dok su elastična vlakna tamnoplava do crna, vidljiva u pojedinim dijelovima stijenke ciste (slika 7). Bojenjem srebrnim solima vidljiva su tamnoljubičasto do crno obojena retikularna vlakna, dok je kolagen



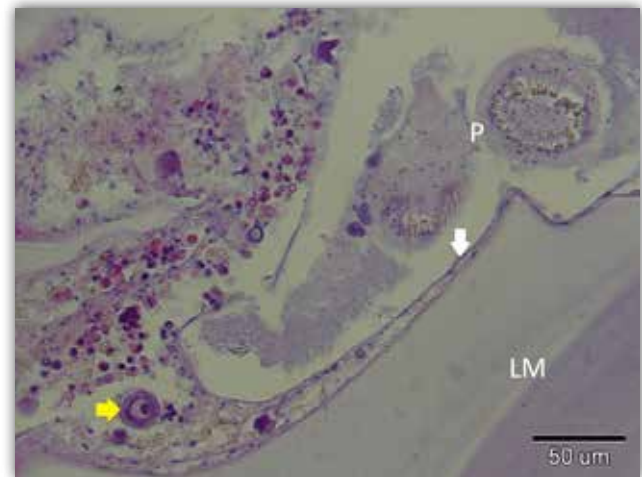
Slika 2. Stijenka hidatidne ciste s perifernom fibrozom, granulomatoznim i limfoplazmaticnim hepatitisom, HE.



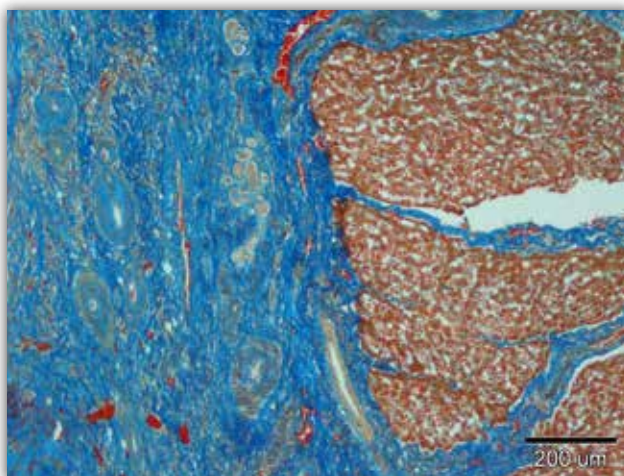
Slika 3. Brojne novonastale krvne žile i limfoplazmaticni infiltrat unutar vezivnotkivne stijenke, HE.



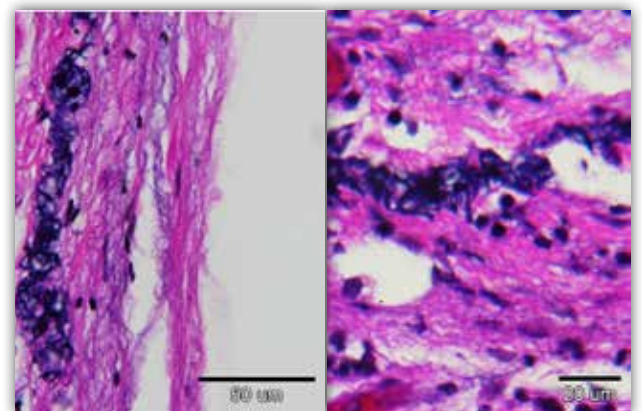
Slika 4. Zametne čahure s višestrukim protoskoleksima. Zametne čahure i preostali dio unutrašnjosti tkivnih cista ispunjeni eritrocitima, proteinskom tekućinom i nekrotičnim debrisom, HE.



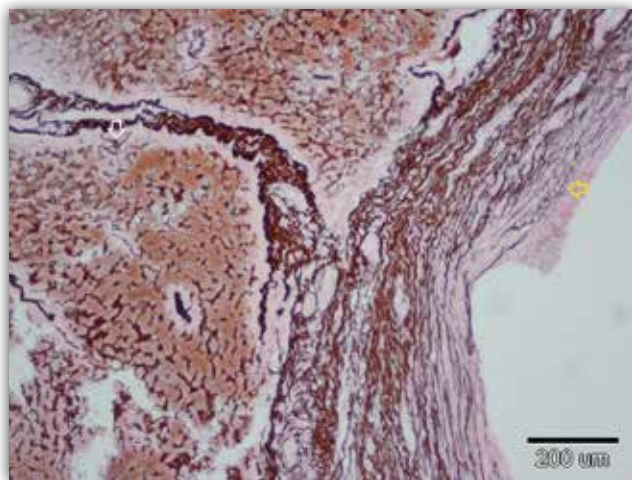
Slika 5. Segment vanjske hijalinizirane, laminarne membrane (LM) uz koju je germinativni (zametni) epitel (bijela strelica) s bazofilnim vappnenastim tjelešćima (žuta strelica). Odmah uz zametni epitel u lumenu ciste uočavaju se dva protoskoleksa (P) s dobro uočljivim rostelumom na kojem su brojne kukice s dvostrukim lomom svjetlosti, HE.



Slika 6. Kolagena vlakna unutar stijenke hidatidne ciste i interlobularno obojena su plavo, dok je jetreni parenhim smeđe boje, Mallory.



Slika 7. Unutar stijenke hidatidne ciste vidljiva su tamno-plavo obojena elastična vlakna i ružičasto obojena kolagena vlakna te crno obojene jezgre, Verhoeff -Van Gieson.



Slika 8. Unutar stijenke hidatidne ciste vidljiva su tamnoljubičasta do crna retikularna vlakna (žuta strelica) te smeđa kolagena vlakna. Retikularna vlakna nalaze se i unutar jetrenog parenhima (bijela strelica), bojenje za retikularna vlakna.

žučkastosmeđi. Retikularna vlakna prevladavaju u površinskom dijelu stijenke ciste, oko krvnih žila i unutar sinusoida jetrenog parenhima (slika 8). U unutarnjem sloju stijenke hidatidne ciste prevladava gusto formirano vezivno tkivo, za razliku od perifernog sloja koji je građen od gustog neformiranog vezivnog tkiva.

52

## Rasprava

*Echinococcus granulosus* jest trakavica koja kod kronične invadiranosti uzrokuje fibrozu jetre. Invazija ovom trakavicom kod posrednika stimulira i aktivira jetrene zvjezdaste stanice (Ito-stanice) što rezultira izlučivanjem veće količine kolagenih vlakana i time uzrokuje prekomjerno taloženje ekstracelularnog matriksa (Lee i Friedman, 2011.; Ramachandran i Iredale, 2012.). Lokacija cista može varirati kod svinja. Za razliku od našeg slučaja, u kojemu je hidatidna cista bila smještena unutar jetrenog parenhima, Martín-Hernando i suradnici (2008.) pronašli su veliku cistu u plućima divlje svinje, ali i brojne manje ciste u prsnoj i trbušnoj šupljini. Mwambete i suradnici (2004.) kod divljih su svinja pronašli ciste samo u plućima, dok je kod domaćih svinja hidatidnih cisti bilo više u jetri nego u plućima. Patohistološkom pretragom Martín-Hernando i sur. (2008.) uočili su da je velika hidatidna cista odvojena od nepromijenjenog tkiva pluća fibroznom kapsulom sastavljenom od zrelog kolagenog vezivnog tkiva sa sporadičnom kalcifikacijom, dok u našem slučaju kalcifikacija nije bila vidljiva. U ovom istraživanju potvrdili smo da su hidatidne ciste okružene vezivnotkivnom kapsulom promjenjive veličine te da je kapsula infiltrira-

na s umjerenim brojem limfoplazmatskih stanica. Jiménez i suradnici (2020.) utvrdili su da su CD3+ T-limfociti i CD20+ B-limfociti dominantne upalne stanice u adventicijalnom sloju hidatidne ciste u plućima goveda. Sveukupna distribucija upalnih stanica u adventicijalnom sloju intenzivnija je u sterilnim cistama. Imunohistokemijskom tehnikom bojanja uzoraka hidatidnih cista vidljivo je da se CD3+ T-limfociti nalaze periferno od palisadno poredanih makrofaga te da su neki prisutni blizu nepromijenjenog tkiva jetre posrednika. CD20+ B-limfociti imaju distribuciju sličnu T-stanicama te čine znatan udio upalnih stanica u adventicijalnom sloju fertilnih i sterilnih cista, što ističe važnost B-stanica u lokalnom upalnom odgovoru kod cistične ehinokokoze goveda. T-limfociti se u većem broju nalaze u sterilnim cistama, dok brojnost B-limfocita nije značajno povezana s tipom ciste. Hidalgo i suradnici (2019.) našli su kod fertilnih hidatidnih cista koje su imale protoskolekse prihvaćene za germinativni sloj, stanice u različitim fazama razvoja i debeo laminarni sloj koji se lako odvaja od adventicijskog sloja te upalne stanice koje se nalaze ispod sloja kolagena i fibroblasta. Kod cista koje imaju nisku sposobnost za daljni razvoj protoskoleksa i tanji laminarni sloj upalne stanice prevladavaju ispod laminarnog sloja. Jiménez i suradnici (2020.) također su prikazali kako fertilne ciste imaju deblji laminarni sloj u odnosu na sterilne ciste. Fertilne hidatidne ciste sadržavale su malo upalnog infiltrata u adventicijalnom sloju s visokim udjelom limfocita i fibroblasta. Nijedna fertilna hidatidna cista nije imala znatniji udio eozinofila. Male hidatidne ciste prate isti uzorak kao sterilne ciste koje imaju veću količinu upalnog infiltrata u adventicijalnom sloju s visokim udjelom limfocita i divovskih multinuklearnih stanica (Hidalgo i sur., 2019.). U istraživanju smo utvrdili da je stijenka hidatidne ciste građena od kolagenih vlakana, a djelomično je ojačana elastičnim vlaknima. Retikularna vlakna nalaze se na rubnim dijelovima hidatidne ciste što je u skladu sa Solcan i sur. (2010.) koji su kod koza, koristeći Gomori trikromno bojenje, također prikazali retikularna vlakna u stijenki hidatidne ciste. U zdravoj jetri fibrilarni kolageni tipa I i III ograničeni su na vezivno tkivo portalnog trakta i na područje oko središnjih vena, dok je kolagen tipa IV najobilniji kolagen retikulinskog potpornog tkiva sinusoida. Kolagen tipa III glavni je kolageni sastojak retikularnih vlakana (Kozarić, 1997.; Mescher, 2016.). Fibroza jetre jest sveukupno povećanje jetrenog ekstracelularnog matriksa, a osim povećanja količine matriksa dolazi i do promjena tipova kolagena te mjesta njihova odlaganja. Kod teških oblika fibroze u jetri se može nalaziti čak šest puta više kolagena i proteoglikana negoli što je to slučaj

u zdravoj jetri. Fibrozu obilježava povećanje fibrilarnih kolagena tipa I i III te nefibrilarnog kolagena tipa XVIII u Disseovim prostorima, portalnim područjima i oko centralnih vena. Uz ovo povećanje kolagena dolazi i do povećanja komponenata ekstracelularnog matriksa kao što su proteoglikani, fibronektini i hijaluronska kiselina (Cullen, 2008.). Beigh i suradnici (2018.) prikazali su u uzorcima pluća i jetara koza i ovaca da se kombiniranim PAS i *Alcian-blue* bojenjima laminarne membrane, germinativni sloj i zametne kapsule boje izrazito ružičasto pozitivno na neutralne mukopolisaharide te da se u adventiciji nalaze područja pozitivna na kisele mukopolisaharide. Također su i na protoskoleksima vidljivi dijelovi pozitivni na kisele mukopolisaharide koji odgovaraju površinama vapnenastih tjelešaca. *Toluidin blue* bojenjem potvrdili su brojne mastocite karakteristične po metakromatskim granulama unutar i izvan stanica. Isti su autori u uzorcima pluća obojenim *Masson trikrom* bojenjem dokazali intenzivno stvaranje kolagenih vlakana u pericističnom vezivnom tkivu, što je u skladu s našim nalazom. Uspoređujući afinitet protoskoleksa na boje, vapnenasta tjelešca u prije navedenom radu boje se kombiniranim PAS i *Alcian blue* te *Toluidin blue* metodama, dok ih HE i *Masson trikrom* metode nisu obojile. U našem slučaju vapnenasta tjelešca obojena su HE bojenjem te su vidljiva unutar protoskoleksa i izvan njih (unutar hidatidne ciste), dok se u uzorcima obojenim drugim navedenim specijalnim metodama bojenja nisu obojili.

Patološki nalaz hidatidoze u divlje svinje potvrđen je patohistološkom pretragom. Dodatnim histološkim tehnikama bojenja za vezivno tkivo detaljno je prikazan sastav stijenke hidatidne ciste.

## Zahvala

Istraživanje je u potpunosti financirano istraživačkim projektom Hrvatske zaklade za znanost pod oznakom IP-8963 *Interakcija nositelj – parazit: odnos tri različita tipa nositelja prema invaziji metiljem Fascioloides magna*.

## Literatura

- BEIGH, A. B., M. M. DARZI, S. BASHIR, A. SHAH, S. A. SHAH (2018): The pathology of cystic echinococcosis and structural details of hydatid cyst and protoscolex. *Indian J. Vet. Pathol.* 42, 8-14. doi:10.5958/0973-970X.2018.00002.0.
- BREYER, I., D. GEORGIEVA, R. KURDOVA, B. GOTSTEIN (2004): *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol. Res.* 93, 127-130. doi:10.1007/s00436-004-1116-6.
- DANIEL-MWAMBETE, K., F. PONCE-GORDO, C. CUESTA-BANDERA (2004): Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop.* 91, 87-93. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.04.001.
- ECKERT, J., F. J. CONRATHS, K. TACKMANN (2000): Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *Int. J. Parasitol.* 30:1283-1294. doi: 10.1016/S0020-7519(00)00130-2.
- ECKERT, J., R. L. RAUSCH, M. A. GEMMELL, P. GIRAUDOUX, M. KAMIYA, F. J. LIU, P. M. SCHANTZ, T. ROMIG (2001): Epidemiology of *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli* and *Echinococcus oligarthrus*. U: WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern (Eckert, J., M. A. Gemmell, F. X. Meslin, Z. S. Pawlowski, ur.). World Organization for Animal Health (OIE), Paris, str. 164-265.
- GOMORI, G. (1939): The effect of certain factors on result of silver impregnation for Reticulum fibers. *Am. J. Pathol.* 15, 493-495.
- GORDON, H., H. H. SWEET (1936): A Simple Method for the Silver Impregnation of Reticulum. *Am. J. Pathol.* 12, 545-552.
- GROSSO, G., S. GRUTTADAURIA, A. BIONDI, S. MARVENTANO, A. MISTRETTA (2012): Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World J. Gastroenterol.* 18, 1425-1437. doi: 10.3748/wjg.v18.i13.1425.
- HARRIS, A., D. D. HEATH, S. B. LAWRENCE, R. J. SHAW (1989): *Echinococcus granulosus*: ultrastructure of epithelial changes during the first 8 days of metacystode development in vitro. *Int. J. Parasitol.* 19, 621-629. doi: 10.1016/0020-7519(89)90040-4.
- HIDALGO, C., C. STOORE, K. STRULL, C. FRANCO, F. CORRÊA, M. JIMÉNEZ, M. HERNÁNDEZ, K. LORENZATTO, H. B. FERREIRA, N. GALANTI, R. PAREDES (2019): New insights of the local immune response against both fertile and infertile hydatid cysts. *PLoS ONE* 14(1): e0211542. doi: 10.1371/journal.pone.0211542.
- HSU, T.-L., G. LIN, A. KOIZUMI, K. BREHM, N. HADA, P.-K. CHUANG, C.-H. WONG, S.-L. HSIEH, A. DÍAZ (2013): The surface carbohydrates of the *Echinococcus granulosus* larva interact selectively with the rodent Kupffer cell receptor. *Mol. Biochem. Parasitol.* 192, 55-59. doi: 10.1016/j.molbiopara.2013.12.001.

- JANICKI, Z., A. SLAVICA, D. KONJEVIĆ, K. SEVERIN (2007): Zoologija divljači. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- JIMÉNEZ, M., C. STOOORE, C. HIDALGO, F. CORRÊA, M. HERNÁNDEZ, J. BENAVIDES, M. C. FERRERAS, L. SÁENZ, R. PAREDES (2020): Lymphocyte Populations in the Adventitial Layer of Hydatid Cysts in Cattle: Relationship With Cyst Fertility Status and *Fasciola Hepatica* Co-Infection. *Vet. Pathol.* 57, 108-114. doi: 10.1177/0300985819875721.
- KOZARIĆ, Z. (1997): Veterinarska histologija. Naklada Karolina, Zagreb, str. 53-68.
- KUL, O., K. YILDIZ (2010): Multivesicular cysts in cattle: Characterisation of unusual hydatid cyst morphology caused by *Echinococcus granulosus*. *Vet. Parasitol.* 170, 162-166. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.01.045.
- LAHMAR, S., W. REBAÏ, B. S. BOUFANA, P. S. CRAIG, R. KSANTINI, A. DAGHFOUS, F. CHEBBI, F. FTERICHE, H. BEDIQUI, M. JOUINI, M. DHIBI, A. MAKNI, M. S. AYADI, A. AMMOUS, M. J. KACEM, Z. BEN SAFTA (2009): Cystic echinococcosis in Tunisia: analysis of hydatid cysts that have been surgically removed from patients. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 103, 593-604. doi: 10.1179/000349809X12502035776153.
- LEE, U. E., S. L. FRIEDMAN (2011): Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 25, 195-206. doi: 10.1016/j.bpg.2011.02.005.
- MARTÍN-HERNANDO, M. P., L. M. GONZÁLEZ, F. RUIZ-FONS, T. GARATE, C. GORTAZAR (2008): Massive presence of *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Taeniidae) cysts in a wild boar (*Sus scrofa*) from Spain. *Parasitol. Res.* 103, 705-707. doi: 10.1007/s00436-008-0989-1.
- CULLEN, J. M. (2008): Jetra, bilijarni sustav i egzokrini dio gušterače. U: Specijalna veterinarska patologija (Grabarević, Ž., ur.). Stanek, Varaždin, str. 109-112.
- MCMANUS, D. P., R. C. A. THOMPSON (2003): Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology* 127, 37-51. doi: 10.1017/s0031182003003524.
- MESCHER, A. L. (2016): Connective Tissue. U: Junqueira's Basic Histology. McGraw-Hill Education, USA, str. 96-121.
- MORO, P., P. M. SCHANTZ (2009): Echinococcosis: a review. *Int. J. Infect. Dis.* 13, 125-133. doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.037.
- MWAMBETE, K. D., F. PONCE-GORDO, C. CUESTA-BANDERA (2004): Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop.* 91, 87-93. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.04.001.
- PAREDES, R., P. GODOY, B. RODRÍGUEZ, M. P. GARCÍA, C. CABEZÓN, G. CABRERA, V. JIMÉNEZ, U. HELLMAN, L. SÁENZ, A. FERREIRA, N. GALANTI (2011): Bovine (*Bos taurus*) humoral immune response against *Echinococcus granulosus* and hydatid cyst infertility. *J. Cell Biochem.* 112, 189-199. doi: 10.1002/jcb.22916.
- RAMACHANDRAN, P., J. P. IREDALE (2012): Liver fibrosis: A bidirectional model of fibrogenesis and resolution. *QJM* 105, 813-817. doi: 10.1093/qjmed/hcs069.
- ROMIG, T., D. EBI, M. WASSERMANN (2015): Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* sensu lato. *Vet. Parasitol.* 213, 76-84. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.07.035.
- ROMIG, T., A. DINTEL, U. MACKENSTEDT (2006): The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol. Int.* 55, 187-191. doi: 10.1016/j.parint.2005.11.028.
- SCANDURA, M., L. IACOLINA, M. APOLLONIO (2011): Genetic diversity in the European wild boar *Sus scrofa*: phylogeography, population structure and wild x domestic hybridization. *Mammal. Rev.* 41, 125-137. doi: 10.1111/j.1365-2907.2010.00182.x.
- SHEEHAN, D. C., B. B. HRAPCHAK (1980): Theory and practice of Histotechnology. Battelle Press, Columbus, Ohio, str. 180-201.
- SOLCAN, C., G. SOLCAN, M. IONIȚĂ, I. L. MITREA, D. V. HRISTESCU (2010): Histological aspects of cystic echinococcosis in goats. *Sci. Parasitol.* 11, 191-198.
- ŠVOB, M. (1974): Histološke i histokemijske metode. Svjetlost, Sarajevo, str. 142.-143.
- THOMPSON, R. C. A. (1995): Biology and systematics of *Echinococcus*. U: *Echinococcus* and hydatid disease (Thompson, R. C. A., A. J. Lymbery, ur.). Oxford CAB International, str. 1-50.
- THOMPSON, R. C. (2017): Biology and Systematics of *Echinococcus*. *Adv. Parasitol.* 95, 65-109. doi: 10.1016/bs.apar.2016.07.001
- ZHANG, W., J. LI, D. P. MCMANUS (2003): Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 18-36. doi: 10.1128/CMR.16.1.18-36.2003.