

MOLECULAR SYSTEMATIC STUDY OF *NEASCUS*-TYPE METACERCARIAE (DIGENEA, DIPLOSTOMIDAE) IN GYNOGENETIC AND SEXUAL FISH ACROSS A COMPLEX LANDSCAPE

V.V. TKACH AND L.M. SCHLOSSER

Department of Biology, University of North Dakota, Grand Forks, ND, 58202-9019, USA

The relative impact of genetic recombination, genetic co-adaptation, and ecological contact in determining parasitism and fitness effects of parasites in fishes is poorly understood. One of the existing theories, the so-called Red Queen hypothesis postulates that in gynogenetic fish complexes, genetically uniform (clonal) fish are more susceptible to parasitism than genetically variable (sexual) fish, due to genetic co-adaptation of parasites to non-recombinant hosts. The *Neascus*-type larvae or diplostomid metacercariae forming "black spots" on fish skin, represent an excellent model for studies of host-parasite interactions in natural fish populations. They are obvious, easy to count and thus allow for processing of large samples in a timely manner. Therefore, they have been used as targets in several studies testing the Red Queen hypothesis. One of the problems of these studies was lack of proper taxonomic differentiation among the metacercariae which could lead to serious flaws in the interpretation of data due to the differences in parasite life cycles, intermediate and definitive hosts, etc. In this study, we measured parasitism of *Neascus* type metacercariae in two sexual progenitors species and a gynogenetic *Phoxinus eos-neogaeus* hybrid clone, in the Voyageurs National Park, Minnesota. Due to the problematic identification of metacercariae based on the morphology alone, we used molecular approach based on matching DNA sequences of metacercariae from fish with those of potential adult stages from fish-eating birds occurring in the region. Complete sequences of the ITS (ITS1, 5.8S, ITS2) and partial sequences of the 28S regions of nuclear ribosomal DNA, obtained from single metacercariae and single specimens of adult digeneans, have been used in the comparative analysis. The infection rates of fish with different forms of metacercariae have been counted for three different drainages and parts of drainages in the VNP and the possible parasite impact on the fish fitness has been tested by assessment of parasitized/non-parasitized fish susceptibility to anoxia. From the systematic viewpoint, our results revealed that: (1) "black spot" infection of minnows in VNP is heterogeneous and

is represented by at least four diplostomid species belonging to three different genera, namely *Bolbophorus*, *Crassiphiala* and *Uvulifer*; (2) at adult stage these diplostomids are parasitic in belted kingfisher and white pelican and thus, their circulation patterns are quite different which influences host-parasite interactions in a complex landscape, and (3) the "small black spots" formed by metacercariae of *Uvulifer* and *Crassiphiala*, are practically indistinguishable externally. They are also difficult to excyst, therefore a precise counting of these species in a large number of fishes is not feasible. From the ecological and genetic viewpoints, we found that ecological contact between the host and parasite, as mediated by niche (habitat) differences in the fish hosts, appears to be relatively more important than genetic co-adaptation in determining parasitism and fitness effects in these fishes.

CHARACTERISTICS OF THE HELMINTHFAUNA OF THE WOOD MOUSE (*APODEMUS SYLVATICUS*) FROM AN URBAN WASTE DUMPING SITE IN CATALONIA (NE OF SPAIN)

JORDI TORRES¹, JORDI PEIG², JOAQUÍN DE LAPUENTE³, CATARINA EIRA¹, MIQUEL BORRÁS³, JACINT NADAL²

¹Laboratori de Parasitologia, Departament de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries, Facultat de Farmàcia, Univ. Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028 Barcelona, Spain. e-mail: jtorres@ub.edu;

²Departament de Biologia Animal (Vertebrats). Facultat de Biologia, Univ. Barcelona; ³Unitat de Toxicologia Experimental i Ecotoxicologia. Parc Científic de Barcelona.

The impact of anthropogenic activities over natural communities has proportionally increased with the growth of technological capacities. For example, the chemical industry constantly introduces new products into the environment, some of which produce significant biological effects. In order to provide early detection systems to assess and minimise risks, some authors had emphasised the need for sentinel organisms reflecting small-scale changes of pollution level. In this context, we have studied the helminthfauna of the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) in the urban waste dumping of Garraf (near Barcelona) in order to know its potential role as a sentinel model of environmental contamination by heavy metals. To perform this study 295 *A. sylvaticus* were analysed for helminths using classical helminthological methods. Most of them (187 individuals) were captured during the 2001-2002 period around the Garraf dumping site. The remaining 108 specimens were obtained during the same period around the village of Begues (also near Barcelona), which was selected as the control site.

The helminthfauna detected in the population from Garraf was constituted by the following species (prevalence and abundance indicated in brackets). *Brachylaima* sp. (3.2%, 0.04 specimens), *Corrigia vitta* (1.6%, 0.04) (Trematoda), *Taenia parva* larvae (24.2%, 0.34), *Skrjabinotaenia lobata* (18.4%, 0.3), *Gallegoides arfaai* (4.7%, 0.06) and *Hymenolepis straminea* (1.1%, 0.01) (Cestoda), *Mastophorus muris* (1.6%, 0.17), *Heligmosomoides polygyrus* (16.3%, 1.14), *Syphacia stroma* (26.3%, 7.47) and *Syphacia frederici* (50.6%, 13.38) (Nematoda). The helminthfauna from the control area was also formed by 10 species. They are *Brachylaima* sp. (3.7%, 0.11), *C. vitta* (12.9%, 0.29) (Trematoda), *T. parva* larvae (1.8%, 0.02), *S. lobata* (17.6%, 0.46) and *G. arfaai* (4.6%, 0.06) (Cestoda), *Aonchotheca annu-*

losa (6.3%, 0.37), *M. muris* (2.8%, 0.04), *H. polygyrus* (65.7%, 10.71), *S. stroma* (19.4%, 5.31) and *S. frederici* (43.4%, 7.59) (Nematoda). From a qualitative point of view, the helminthfaunas detected in both sites were very similar. Contrarily, some quantitative differences concerning the prevalence of some helminths were evidenced between both areas (*C. vitta* $\chi_1^2 = 11.6$ $p < 0.001$, *T. parva* larvae $\chi_1^2 = 26.2$ $p < 0.001$, *H. polygyrus* $\chi_1^2 = 48.3$ $p < 0.001$ and all digenids $\chi_1^2 = 7.6$ $p < 0.01$). The difference observed in the prevalence of *T. parva* larvae is completely conditioned by the populational density of genets (*Genetta genetta*) in both sites because this viverrid is the only definitive host of the taenid. The lower prevalences of the other helminths in *Apodemus* from Garraf could be linked to the already reported major contamination by heavy metals in this area, but some other not controlled factors (vegetation, Invertebrate fauna, climate, etc.) must be considered before drawing any conclusions.

PRÓBA BIOLOGICZNA W DIAGNOSTYCE TOKSOPLAZMOZY WRODZONEJ: PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAŃ SEROLOGICZNYCH Z WYNIKAMI BADAŃ PŁYNU OTRZEWNOWEGO INOKULOWANYCH MYSZY

MARIA WALOCH, ELŻBIETA GOŁĄB I TADEUSZ H. DZBEŃSKI

Zakład Parazytologii Lekarskiej, PZH, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

Jedną z metod stosowanych w procedurze potwierdzania toksoplazmozy, zwłaszcza inwazji pierwotnej u kobiet w ciąży, jest próba biologiczna.

Próba polega na dootrzewnowym inokulowaniu materiału pobranego od badanej osoby myszom doświadczalnym w celu namnożenia pasożyta. Wyniki próby odczytuje się badając popłuczyny jamy otrzewnowej szczepionych zwierząt na obecność toksoplazmoz lub wykonuje się myszom badania serologiczne dla wykazania ewentualnej serokonwersji.

Materiałem do obecnych badań był płyn owodniowy 33 ciężarnych, podejrzanych o inwazję pierwotną *T. gondii* na podstawie badań serologicznych. Płyn inokulowano myszom w objętości 1 cm³ po czym usypiano je po upływie 6 tyg., a następnie poszukiwano pasożytów oraz przeciwciał toksoplazmowych w, odpowiednio, popłuczynach jamy otrzewnowej oraz próbkach surowicy krwi. Szczepionym zwierzętom pobierano ponadto mózg którego część użyto do wykonania dalszych pasażów izolacyjnych, a w pozostałej poszukiwano cyst lub antygeny pasożyta *T. gondii* za pomocą metody peroksydaza antyperoksydaza.

Potwierdzono rozpoznanie toksoplazmozy u 8 badanych pacjentek: we wszystkich 8 przypadkach stwierdzono serokonwersję u myszy inokulowanych płynem owodniowym, w 7 przypadkach wykryto cysty *T. gondii* w mózгах zwierząt, w żadnym nie znaleziono pasożytów w płynie otrzewnowym zwierząt.

Metoda określania serokonwersji jest bardziej czułym wariantem próby biologicznej niż izolacja pasożyta.

KALCYFIKACJA LARW *TRICHINELLA SPIRALIS*

MICHAŁ WALSKI^{1,2}, BARBARA MACHNICKA-ROWIŃSKA³, BARBARA GRYTNER-ZIĘCINA¹, JULIA DĄBROWSKA¹ I EWA DZIEMIAN³

¹Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii Akademii Medycznej, 02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5; ²Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 02-106 Warszawa, ul. Pawińskiego 5; ³Instytut Parazytologii PAN, 00 – 818 Warszawa, ul. Twarda 51/55

Wapnienie larw *T. spiralis* zostało opisane w pierwszej połowie XX-ego wieku. Uważano, że jest to proces, który prowadzi do naturalnej śmierci pasożyta.

Badania wykonane za pomocą TEM larw *T. spiralis* pochodzących od szczura 24 miesiące po zarażeniu, wykazały w zewnętrznej warstwie torebki obecność rozsianych owalnych tworów o wymiarach od 100µm do 1000µm składających się z koncentrycznych blaszek. Badania za pomocą mikroanalizy rentgenowskiej ujawniły w nich obecność wapnia i fosforu. Obecność podobnych tworów o analogicznym składzie chemicznym była opisywana w tasiemcach (larwach i postaciach dojrzałych), w przywrach, pierwotniakach i stawonogach. Uważa się, że „calcareous bodies” obecne u tasiemców spełniają rolę fizjologiczną zubożniając kwasy powstające w trakcie beztlenowej glikolizy, a także są źródłem fosforu potrzebnego do fosforylacji heksoz.

Ciałka wapniowo-fosforowe w stosunku do larwy *T. spiralis* mogą również spełniać funkcje fizjologiczne chroniąc przed kwaśnym środowiskiem włókna mięśniowego. Nie można wykluczyć, iż „calcareous bodies” obecne w zewnętrznej części torebki, budowanej przez żywiciela stanowią jego ochronę przed metabolitami larwy.

Całkowite zwapnienie torebki wynikające z postępującego zwiększenia liczby ciałek wapiennych prowadzi do obumarcia larwy na skutek zahamowania wymiany substancji odżywczych i metabolitów z otaczającym włóknem mięśniowym. Powstanie ciałek wapiennych odbywa się na matrycy substancji organicznej, którą może być kolagen obecny w zewnętrznej części torebki.

Jak wynika z prac, w których opisywano wapnienie larw *T. spiralis* proces ten zachodzi w różnym czasie po zarażeniu lecz nie uwzględniano prawdopodobnych czynników warunkujących ten proces takich jak gatunek i wiek żywiciela oraz dawka zakaźna pasożyta.

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA PIERWOTNIAKÓW JELITOWYCH U MIESZKAŃCÓW POZNANIA I OKOLIC

ANNA WERNER¹, ANNA C. MAJEWSKA¹, ANNA SŁODKOWICZ¹, JACEK JUSZCZYK²
I GRAŻYNA BARAŁKIEWICZ²

¹Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10; ²Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 61-003 Poznań, ul. Wincentego 2

Ogółem zbadano 2134 próby kału, spośród których 1752 uzyskano od osób z zaburzeniami ze strony układu pokarmowego o nieustalonej etiologii (1373 próby od dorosłych i 379 prób od dzieci) i 89 prób od osób, które miały kontakt ze zwierzętami i/lub ich kałem (72 próby od osób dorosłych i 17 prób od dzieci). Natomiast pozostałe próby uzyskano od dzieci z 6 poznańskich przedszkoli (283 próby) oraz od pacjentów zakażonych wirusem HIV (10 prób).

Każdą próbę kału badano mikroskopowo (bezpośrednie rozmazy kału w roztworze NaCl oraz IKI oraz trwałe rozmazy barwione hematoksyliną). W celu identyfikacji oocyst kokcydiów lub spor mikrosporydiów rozmazy kału barwiono odpowiednio zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena lub chromotropem. Ponadto, w celu wykrycia koproantygeny *Cryptosporidium* lub *Giardia* wykorzystano dwa komercyjne testy immunoenzymatyczne.

Częstość występowania pierwotniaków jelitowych była niska: *Blastocystis hominis* (0,7%), *C. parvum* (0,5%), *G. intestinalis* (0,4%), *Entamoeba hartmanni* (0,4%), *Entamoeba coli* (0,1%) i *Entamoeba polecki* (0,1%). Natomiast *Chilomastix mesnili*, *Endolimax nana* i *Dientamoeba fragilis* wykryto tylko w pojedynczych próbach (0,04%).

Wyniki naszych badań wskazują, że inwazje pierwotniaków jelitowych wśród mieszkańców Poznania i okolicach są sporadyczne.

WYSTĘPOWANIE *BRANCHIOBELLA* W JAMIE SKRZELOWEJ RAKA BŁOTNEGO *ASTACUS LEPTODACTYLUS* Z WYBRANYCH STANOWISK

TERESA WŁASOW¹ I ALICJA BERNAD²

¹Zakład Genetyki Ewolucyjnej, Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, UWM w Olsztynie, 10-718 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 5; ²Zakład Higieny Weterynaryjnej, PIWet., 10-719 Olsztyn, ul. Warszawska 70

Podczas badań stanu zdrowotnego raków, prowadzonych w ramach programu ochrony raków rodzimych w Polsce, analizowano występowanie w jamie skrzelowej przedstawicieli rodzaju *Branchiobdella* uznanych za bezwzględne pasożyty. Pobrano 10 prób (181 sztuk) raka błotnego *Astacus leptodactylus* Esch.: 5 prób z jezior, 4 – ze stawów i jedną z rzeki Tyśmienicy. Stwierdzono obecność czterech gatunków: *Branchiobdella astaci* Odier 1823, *B. hexadonta* Grube 1883, *B. parasita* Braun 1805 i *B. pentadonta* Whitman 1882. Z pięciu prób z jezior jedynie u raków z jeziora Piekiełko (3,8 ha, eutroficzne; Pojezierze Lubawskie) stwierdzono nieznaczną infekcję *B. astaci* (prewalencja 5%, średnia intensywność 1). Raki ze stawów były silniej opanowane. Infekcja dotyczyła stawów koło Reszla (Województwo Warmińsko-Mazurskie); występowały *B. pentadonta* (prewalencja 38%, średnia intensywność 3) i *B. hexadonta* (odpowiednio: 38%, 1). Nie stwierdzono *Branchiobdella* na skrzelach raków z dzumą raków. Najsilniej opanowane były skrzelaki raków z Tyśmienicy (Lubelskie). Stwierdzono *B. pentadonta* (56%, średnia intensywność 3; zakres 1-9), *B. hexadonta* (13%, 1), *B. parasita* (6%, 1) i liczne kokony (u 100% raków, 13-196). Infekcja związana była z obniżeniem poziomu wód i silnym zanieczyszczeniem skrzel.

BADANIA ODPORNOŚCI POWSTAJĄCEJ W NASTĘPSTWIE DOŚWIADCZALNEJ SUPERINWAZJI *TOXOCARA CANIS* U MYSZY

NATALIA WNUKOWSKA I TADEUSZ H. DZBEŃSKI

Zakład Parazytologii Lekarskiej, PZH, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

W następstwie zarażenia człowieka glista psią – *Toxocara canis* powstaje odporność swoista, nie rozstrzygnięto jednak kwestii jaki jest charakter powstającej odporności i jaki jest jej wpływ na przebieg inwazji.

Do badań użyto myszy szczepu wsobnego CFW/Pzh, które zarażono *per os* dawką 350 jaj inwazyjnych *T. canis*. Po upływie 8 tygodni zwierzęta zarażono ponownie dawką 350 jaj inwazyjnych. Zarażonym zwierzętom pobierano krew z serca, a następnie wypreparowywano im mózg i śledzionę w odstępach tygodniowych od 1. do 8. tygodnia inwazji i superinwazji. W próbkach pobranej krwi określono poziom eozynofili, miana przeciwciał toksokarowych klas M i G oraz obecność krążącego antygenu pasożyta, wykorzystując m.in. odczyny immunoenzymatyczne ELISA i metodę Western-blot. W mózgach myszy liczono larwy pasożyta, natomiast z wyizolowanych śledzion uzyskiwano limfocyty do hodowli *in vitro*, gdzie badano zdolności splenocytów do produkcji IL 5 oraz konstruowania reakcji transformacji blastycznej w odpowiedzi na mitogen i antygen larw *T. canis* z hodowli *in vitro*.

Stwierdzono, że w następstwie inwazji wzrasta poziom eozynofili we krwi, pojawia się w krwiobiegu antygen pasożyta, powstają swoiste przeciwciała klas M i G, natomiast limfocyty zarażonych zwierząt produkują IL 5 i transformują w odpowiedzi na kontakt z antygenem pasożyta. Odpowiedź immunologiczna zwierząt nabywa cech reakcji anamnesticznej podczas superinwazji.

MYXOSPOREANS OF THE BLACK SEA WHITING *MERLANGIUS MERLANGUS EUXINUS*

VIOLETTA YURAKHNO AND ALLA SHCHEPKINA

Institute of Biology of the Southern Seas, 99011 Sevastopol, Nakhimov av. 2, Ukraine

M. gadi and *Ceratomyxa merlangi* are the common parasite species, which can be met in the whiting gall bladder during the whole year. Considerable increase of the fish abundance, infected by *M. gadi* and decrease of the fish abundance, infected by *C. merlangi* (for several tens of percents) are observed near Sevastopol last years. Negative impact of the *M. gadi* mass development on the host organism was discovered. Hystological investigation has shown, that mass development of this parasite in the fish gall bladder leads to the increase of the gall bladder sizes, considerable thickening of its walls, mortifying of the significant number of the epithelial cells, increased leucocytes number in its blood vessels. Color change of the considerably infected gall bladders, dimness and thickening of their contents are also the virtual signs of the negative impact of the *M. gadi* mass development on the host organism. Biochemical investigation revealed, that under the mass development of the *M. gadi* the lipid content of the whiting muscle does not change, but in the males (not females) liver there occurs decrease of the total lipids 2-3 times, triacylglycerol 3-4 times. This regularity was noticed in all investigated periods of the host year cycle (the beginning and the end of the spawning, beginning of the fattening), but the most change of the lipid content of the whiting male liver is observed at the end of its spawning period.

**WYKORZYSTANIE SEKWENCJI REGIONU ITS rDNA
W SYSTEMATYCE I FILOGENEZIE RODZAJU *GYRODACTYLUS*
(MONOGENEA: GYRODACTYLIDAE)**

MAREK S. ZIĘTARA¹, JAAKKO LUMME² I EDWARD F. SKORKOWSKI¹

¹Stacja Biologiczna Uniwersytetu Gdańskiego, 80-298 Gdańsk, ul. Ornitologów 26;

²Instytut Biologii Uniwersytetu w Oulu, POB 3000, 90014 Finlandia

W rodzaju *Gyrodactylus* znanych jest ponad czterysta mikroskopijnych gatunków bytujących głównie na skórze, płetwach, skrzelach i w gardzieli ryb. Gatunki te charakteryzują się zwykle wysoką specyficnością w stosunku do żywiciela. Uważa się, że dotychczas opisano jedynie około 2% gatunków, których całkowita liczba szacowana jest na co najmniej 20 000.

W diagnostyce gatunkowej *Gyrodactylus* wykorzystuje się przede wszystkim drobne różnice w budowie twardych elementów organu czepnego, których wielkość nie dość, że często nie przekracza 10 mikrometrów, to ponadto wykazuje zmienność osobniczą wywołaną zarówno przez czynniki biotyczne i abiotyczne.

W rodzaju *Gyrodactylus* występują groźne dla ryb gatunki patogeniczne, takie jak *G. salaris* odpowiedzialny za 80% redukcję ilości narybku łososia atlantyckiego (*Salmo salar*) w niektórych rzekach Norwegii czy *G. cyprini* i *G. katharineri* atakujący karpia (*Cyprinus carpio*), na skórze którego obserwowano do 500 osobników na 1 cm², co dawało około 1 250 000 osobników na całej rybie.

Ogromna ilość gatunków oraz duża trudność ich identyfikacji uniemożliwiająca bezbłędne rozpoznawania gatunków patogenicznych wymusiła zastosowanie metod molekularnych w poszukiwaniach odpowiednich markerów genetycznych. Jednym z nich okazał się region łączników ITS rybosomalnego DNA. Sekwencje DNA tego regionu, wysoko konserwatywne dla poszczególnych gatunków, mogą różnić się od jednego do kilkudziesięciu procent między różnymi gatunkami *Gyrodactylus*. Umożliwia to lepsze poznanie i klasyfikację gatunków o bardzo zbliżonej morfologii.

Analiza filogenetyczna oparta na sekwencjach drugiego łącznika ITS2 odsłania ciekawy sposób ewolucji *Gyrodactylus* choć wykazuje pewne niezgodności z klasyczną filogenezą opartą na budowie sytemu protonefrydialnego.

OCENA PRZYDATNOŚCI WYKRYWANIA SWOISTYCH IGG W SUROWICY KRWI W DIAGNOSTYCE OCZNEJ POSTACI TOKSOKAROZY

HANNA ŻARNOWSKA I PIOTR K. BORKOWSKI

Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych Akademii Medycznej w Warszawie,
01-201 Warszawa, ul. Wolska 37

Obraz kliniczny zapalenia wewnątrzgałkowego może być różny i zależy od miejsca oka, w którym larwa *Toxocara* sp. przedostała się z naczyń krwionośnych oraz reakcji immunologicznej żywiciela, która jest głównie odpowiedzialna za uszkodzenie tkanek.

Dorosłych pacjentów z ocznymi zmianami oraz obecnością przeciwciał anty *T. canis* podzielono na grupy według kryteriów klinicznych i obserwowano zachowanie się odczynów serologicznych w tych grupach. Badano poziom swoistych IgG komercyjnym testem ELISA. Wyniki wyrażano w indeksach obliczonych jako stosunek absorbancji próbki badanej do cut off. Grupa I – obecność świeżych ognisk zapalnych z charakterystycznymi ziarninami kwasochłonnymi; Grupa II – zmiany stare, obecność ziarnin kwasochłonnych; Grupa III – uogólnione zapalenie błony naczyniowej bez zmian ogniskowych w siatkówce; Grupa IV – pozapalne zmiany w siatkówce, bez obecności ziarnin, z widocznymi mętami w cieple szklistym oraz dodatnimi odczynami w kierunku toksoplazmozy. Tylko w grupie II zaobserwowano wyraźnie niższy poziom swoistych IgG. Natomiast pomiędzy grupami I, III i IV różnice były nieistotne. Ponieważ rutynowa diagnostyka ocznej postaci toksokarozy opiera się głównie na badaniach seroimmunologicznych, na ogół podejmowane jest leczenie osób seropozytywnych również z obrazem klinicznym, co do etiologii którego istnieją pewne wątpliwości. Rozpoznanie ostateczne bardzo często zawiera mechanizm „ex iuvantibus”.

WPŁYW CHLORHEKSYDYNY NA PRZEŻYWALNOŚĆ TROFOZOITÓW I CYST *ACANTHAMOEBA CASTELLANII*

JUSTYNA ŻEBROWSKA¹, LIDIA CHOMICZ¹, JANUSZ PIEKARCZYK²,
PAWEŁ ZAWADZKI², BARBARA PIEKARCZYK³, BOHDAN STAROŚCIAK⁴
I PRZEMYSŁAW MYJAK⁵

¹Zakład Biologii Medycznej, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Nowogrodzka 73, 02-018 Warszawa ²II Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Lindleya 4, 02-005 Warszawa; ³Zakład Ortodoncji, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa ⁴Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Oczki 3, 02-007 Warszawa ⁵Zakład Parazytologii Tropikalnej, Akademia Medyczna w Gdańsku, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-516 Gdynia

Różne szczepy pierwotnie wolno żyjących ameb z rodzaju *Acanthamoeba*, powszechne w naturze, mogą stanowić poważne zagrożenie dla ludzkiego zdrowia. Trofozoity i cysty tych pełzaków mogą być, w określonych sytuacjach, silnie patogeniczne dla człowieka, wywołując groźne stany chorobowe w obrębie mózgu, płuc, skóry czy oczu. Większość opisanych przypadków dotyczyła osób z zaburzoną odpowiedzią immunologiczną oraz pacjentów przyjmujących leki immunosupresyjne. Leczenie jest zwykle bardzo trudne, często nieskuteczne. Pełzaki tej grupy są bardzo odporne na działanie chemoterapeutyków. W prezentowanych badaniach oceniano zmiany w przeżywalności szczepu Neff *Acanthamoeba castellanii*, pojawiające się po dodaniu a) substancji o działaniu antyseptycznym – chlorheksydyny – stosowanej do odkażania przed i po zabiegach oraz b) metronidazolu – substancji o działaniu przeciwpierwotniaczym, w tym przeciwpęłzakowym. Akseniczna hodowla ameb była prowadzona w probówkach z pożywką Neff'a. Próby wykonywano dla 2 różnych stężeń każdego z preparatów: 4µg/ml i 10µg/ml dwuglukonianu chlorheksydyny oraz 4µg/ml i 8µg/ml metronidazolu. Po 24 godzinach ekspozycji cysty i trofozoity były oceniane mikroskopowo, a ich liczba porównywana z wynikami uzyskanymi dla próbek kontrolnych. Obserwowaliśmy różnice w przeżywalności ameb w hodowlach kontrolnych w porównaniu z tymi prowadzonymi w obecności czynnika chemicznego, różna była wzajemna proporcja poszczególnych stadiów rozwojowych. Analiza porównawcza wykazała istnienie korelacji między zmianami w relacji cyst do trofozoitów, a stężeniem chlorheksydyny i metronidazolu, intrygująca była przy tym większa wrażliwość cyst *A. castellanii* na mniejsze stężenie chlorheksydyny. Nasze dalsze badania nad funkcjonalną ultrastrukturą tych ameb, z zastosowaniem różnych stężeń substancji, w różnych interwałach czasowych, mogą być pomocne w wyjaśnieniu niezwykle małej wrażliwości cyst na szereg czynników abiotycznych.

ANTAGONISTIC IMPACT OF AMINOGUANIDINE AND ALBENDAZOLE ON INOS ACTIVITY IN THE MUSCLES FROM *TRICHINELLA SPIRALIS* INFECTED MICE

JAN ŻEROMSKI¹, KRYSZYNA BOCZOŃ² AND ELŻBIETA WANDURSKA-NOWAK²

¹Department of Clinical Immunology, Poznan University of Medical Sciences, 60-355 Poznań, Przybyszewskiego 49; ²Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, 61-701 Poznań, Fredry 10

Inducible synthase of nitric oxide (INOS) has for many years been the focus of interest of our laboratory. Recently it was shown, using the RT-PCR technique, that mRNA expression for INOS took place in *T. spiralis* infected mice on day 21 post-infection. Using immunohistochemical techniques with monoclonal antibodies against INOS, the presence of positive staining in the inflammation cells (mainly macrophages) around the encapsulated larvae was confirmed.

The aim of the presented research was to investigate the impact of the specific inhibitor of inos, aminoguanidine (AG), and of the commonly used anthelmintics, albendazole (ABZ), on inos activity, studied with the immunohistochemical methods.

Mice were infected in a dose of 400 larvae of *T. spiralis*/mouse. The drug was administered twice in the total dose of 50 mg/kg of body weight, and AG was administered 9-times in the total dose of 50 mg/kg. Fragments of skeletal muscles were subject to the immunohistochemical reaction using the DAKO-ARK test. After the administration of AG, the reaction to INOS presence was hardly visible. In animals treated with ABZ the reaction to INOS presence was much more pronounced.