

## OKREŚLENIE ŻYWOTNOŚCI STADIÓW ŚRODOWISKOWYCH *CRYPTOSPORIDIUM* I *GIARDIA*: TECHNIKA FISH

ANNA BAJER<sup>1</sup>, MAŁGORZATA BEDNARSKA<sup>1</sup>, EDWARD SIŃSKI<sup>1</sup>  
I TADEUSZ K. GRACZYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, Polska; <sup>2</sup>Department of Environmental Health Sciences, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD 21205, USA

Technika FISH (z ang.: fluorescent in situ hybridization) jest w ostatnich latach coraz szerzej stosowana do badań środowiskowych ze względu na wysoką specyficzność oligonukleotydowych sond DNA oraz na możliwość jednoczesnego określenia żywotności badanych organizmów. W czasie pilotowych doświadczeń zastosowano FISH do wykrywania i oznaczania gatunku oraz określenia żywotności form dyspersyjnych *Cryptosporidium parvum* i *Giardia intestinalis* w próbach kałowych pozyskanych ze środowiska. Przebadano 16 prób pochodzących od różnych osobników żubra europejskiego (*Bison bonasus*), 5 prób od wilka (*Canis lupus*), 9 prób od myszy leśnej (*Apodemus flavicollis*), 8 prób od nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*) i 7 prób od nornika zwyczajnego (*Microtus arvalis*). Próby były przechowywane w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$  lub w temp.  $+4^{\circ}\text{C}$  w dwuchromianie potasu. Do hybridyzacji zastosowano sondy Cry-1, Giar-4 i Giar-6.

Pozytywne wyniki hybridyzacji wykazano u wszystkich badanych gatunków zwierząt. Obecność żywotnych cyst *G. intestinalis* stwierdzono we wszystkich próbach od *C. glareolus* i 5 próbach od *M. arvalis*; w 1 próbie od *A. flavicollis*; w 1 próbie od *B. bonasus* i w 1 od *C. lupus*. Żywotne oocysty *C. parvum* wykryto w 2 próbach od *C. glareolus*, w 3 od *A. flavicollis* i w 4 od *B. bonasus*.

Stwierdzenie żywotności form dyspersyjnych pierwotniaków w badanych próbach świadczy o istotnej roli badanych gatunków zwierząt jako rezerwuaru *C. parvum* i *G. intestinalis*.

## TAJNIKI ŻYCIA MIKROPASOŻYTÓW MYSZY KOLCZYSTYCH (*ACOMYS DIMIDIATUS*) Z CZTERECH GÓRSKICH DOLIN W OKOLICACH ST. KATHERINE, GÓRY SYNAJ, EGIPT

ANNA BAJER<sup>1</sup>, JERZY M. BEHNKE<sup>2</sup>, PHILIP D. HARRIS<sup>2</sup>, MAŁGORZATA  
BEDNARSKA<sup>1</sup> I CHRIS J. BARNARD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1,  
02-096 Warszawa, Polska; <sup>2</sup>School Of Biology, University of Nottingham, University Park,  
Nottingham NG7 2RD, UK.

W czasie cztero tygodniowych badań w czterech dolinach górskich w górach Synaj w Egipcie określono zarażenie pasożytami krwi i infestację Arthropoda u myszy kolczystych (*Acomys dimidiatus*). Zbadano też zarażenie pierwotniakami jelitowymi - *Cryptosporidium parvum* i *Giardia* sp. Stwierdzono 5 gatunków pasożytów krwi (*Haemobartonella* sp. 80%, *Hepatozoon* sp. 20.6%, *Trypanosoma acomys* 17.5%, *Bartonella* sp. 2.5% i *Babesia* sp. 1.9%) oraz zarażenia *C. parvum* (16.9%) i *Giardia* sp. (17.6%). Z 18.7% myszy zebrano i oznaczono pchły a z 32.1% – wszy. Prewalencja i intensywność zarażenia pasożytami krwi i występowanie wektorów różniły się pomiędzy dolinami.

*Trypanosoma acomys*, *Hepatozoon* sp. i pchły stwierdzane były w dwóch dolinach – W. Gharaba i W. Tlah. Pierwotniaki jelitowe stwierdzano we wszystkich 4 dolinach, z najwyższą prewalencją i intensywnością zarażeń u myszy z W. Arbaein, okolic St. Katherine. Stwierdzono pozytywną zależność pomiędzy występowaniem *T. acomys* i *Hepatozoon* sp. a infestacją przez pchły, oraz pomiędzy zarażeniem *Haemobartonella* sp. a infestacją przez wszy.

Z badań naszych wynika, że najważniejszym czynnikiem kształtujących zarażenie mikropasożytami u myszy kolczystych z gór Synaju jest miejsce odłowu – dolina przez nie zasiedlana. Zaobserwowane różnice w parazytofaunie pomiędzy dolinami (wadies) wskazują na duży stopień izolacji populacji gryzoni. Można więc spodziewać się różnej presji selekcyjnej na populacje żywicieli, i w rezultacie procesu koewolucji – odrębnych strategii radzenia sobie z pasożytami w poszczególnych izolowanych populacjach.

## ZMIANY NIEKTÓRYCH PARAMETRÓW ZWIĄZANYCH Z ODPORNOŚCIĄ PRZECIWPASOŻYTNICZĄ MYSZY PO OSTRYM ZATRUCIU ESTREM IZOPROPYLOWYM KWASU METYLO-FLUORO- FOSFONOWEGO (IMPF)

JANUSZ BANY, DANUTA ZDANOWSKA I JUSTYNA KASPRZYCKA

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, 01-163 Warszawa, Kozielska 4

Ester izopropylowy kwasu metylo-fluorofosfonowego (IMPF) jest związkami fosforoorganicznym należącym do tzw. Bojowych środków trujących (BST). Wcześniejsze, wstępne badania wykazały że substancja ta może prowadzić do osłabienia szybkości eliminacji postaci dojrzałych *T. spiralis* z jelita myszy po ostrym zatruciu IMPF.

Celem pracy była ocena niektórych parametrów odporności przeciwpasożytnej odgrywająca istotną rolę w rozwoju *T. spiralis* u myszy. Zwrócono uwagę głównie na limfocyty T – ocenę fenotypową i czynnościową, odpowiedź humoralną oraz wytwarzanie cytokin IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$  biorących udział nie tylko w kontrolowaniu sekwencji odpowiedzi immunologicznej ale również w procesach neuroimmunologicznych.

Wykazano, że u myszy po ostrym zatruciu IMPF (100  $\mu$ g/kg masy ciała) wystąpił wzrost aktywności proliferacyjnej limfocytów w 4 godz. po zatruciu, natomiast po 7 dniach nastąpiło jej zahamowanie zarówno u myszy C57Bl/6 jak i u B6C3F<sub>1</sub>. Zmiany nastąpiły również w ekspresji markerów powierzchniowych komórek T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup>. Po 4 godz. od podania związku następował wzrost ekspresji CD3<sup>+</sup> i CD4<sup>+</sup>, natomiast po 7 dniach obserwowano obniżenie odsetka komórek CD3<sup>+</sup>. Następnie stwierdzono obniżenie wytwarzania przeciwciał anty-SRBC u myszy C57Bl/6. Ogólnie zmniejsza się poziom badanych cytokin nie tylko w krwi obwodowej ale również następują zmiany w ich wydzielaniu *in vitro* przez splenocyty myszy poddanych działaniu tego związku.

Otrzymane wyniki wskazują, że ostre zatrucie tym związkiem może powodować zaburzenia odpornościowych mechanizmów efektorowych prowadząc do dysregulacji odporności przeciwpasożytnej.

## KOINWAZJA *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* I *HELIGMOSOMOIDES POLYGYRUS* U MYSZY C57BL/6

MAŁGORZATA BEDNARSKA I EDWARD SIŃSKI

Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1,  
02-096 Warszawa

Celem badań było wykazanie modulującego wpływu zarażenia *Heligmosomoides polygyrus* na przebieg zarażenia *Cryptosporidium parvum* u myszy szczepu C57BL/6.

Doświadczenie przeprowadzono na samcach w 4 grupach eksperymentalnych. Myszy zarażano: (1) dawką 80 L<sub>3</sub> *H. polygyrus*; (2) dawką 10<sup>4</sup> oocyst *C. parvum*; (3) dawką 80 L<sub>3</sub> *H. polygyrus* i po 4 tygodniach dawką 10<sup>4</sup> oocyst *C. parvum*; (4) myszy kontrolne nie zarażone żadnym pasożytem. W czasie badań monitorowano intensywność wydalania oocyst *C. parvum* w 7, 14, 21, 28, 35, 42 dniu po zarażeniu (dpz) korzystając z testu immunofluorescencyjnego MerIFluor *Cryptosporidium/Giardia*. W trakcie sekcji parazytologicznej określano liczbę dorosłych nicieni *H. polygyrus* w jelicie, w dniu zarażenia oraz w 14 i 42 dpz *C. parvum*. Poziom IL 12 w śluzówce jelita i surowicy określano metodą ELISA w 14 i 42 dpz.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że inwazja *H. polygyrus* wpływa na zwiększenie intensywności wydalania oocyst *C. parvum*. W 14 dpz stwierdzano 14800 oocyst na gram kału w trakcie koinwazji a 4200 oocyst/g podczas zarażenia tylko *C. parvum*; odpowiednio w 42 dpz 2200 oocyst/g i 170 oocyst/g. Liczba nicieni *H. polygyrus* w trakcie koinwazji jest wyższa o 50% w 14 dpz i o 35% w 42 dpz w stosunku do zarażenia *H. polygyrus*. Wykazano, że poziom interleukiny 12 jest najwyższy w grupach zarażonych *C. parvum*.

Przeprowadzone badania wykazały, że zarażenie *H. polygyrus* wpływa na rozwój inwazji *C. parvum* u myszy laboratoryjnych.

## OCENA ZACHOWANIA SIĘ SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ ANTY *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* W SUROWICY KRWI W TRAKCIE WIELOLETNIEJ OBSERWACJI

MARIA BIELAWSKA

Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych, Akademia Medyczna, ul. Wolska 37,  
01-201 Warszawa

Spośród 93 chorych przyjętych do naszej Kliniki w ciągu 10 lat z podejrzeniem bąblowicy jednokomorowej 22 osoby zakończyło 100 dniowe leczenie Albendazolem (5 cykli 20 dniowych) w dawce 15mg/kg c.c. i pozostaje nadal w naszej obserwacji klinicznej. Najdłuższy okres obserwacji wynosi 3 lata i 8 miesięcy tj. 44 miesiące.

W badanych próbkach surowicy krwi wyżej wymienionych chorych wysokość obserwowanych mian w odczynie hemaglutynacji biernej OHB wahała się od 1:100 do 1: 50000. Poziom swoistych IgG badano testem ELISA, a wynik wyrażony w indeksach obliczonych jako stosunek absorbancji próbki badanej do cut off wahał się od 1,2 do 4,1. Metodą Western blot dodatnie wyniki uzyskano u 80% badanych. W grupie osób z ujemnym wynikiem tego testu znajdowały się osoby z dodatnim wynikiem ELISA przy czym maksymalny indeks wynosił 2,3. Stopniowe zmniejszanie się poziomu przeciwciał aż do zupełnego zaniknięcia następowało w ciągu 3,5 do 4 lat i nie zależało od wyjściowego poziomu przeciwciał. W 1 przypadku obserwowano pojawienie się przeciwciał w trakcie leczenia, gdy wyjściowo przed leczeniem nie były one wykrywane.

W 18% przypadków nie stwierdzano w ogóle obecności przeciwciał dla *E. granulosus* w OHB.

Wielkość miana przeciwciał nie zależy od wieku chorego, lokalizacji, czy wielkości torbieli. Być może istotną rolę odgrywa gatunkowe źródło pochodzenia pasożyta.

## PRÓBA OCENY EKSTENSYWNOŚCI ZARAŻENIA ŚWIŃ I DZIKÓW WŁOŚNIEM *TRICHINELLA SPIRALIS* NA PODSTAWIE OBECNOŚCI SPECYFICZNYCH PRZECIWCIAŁ KLASY IGG METODĄ ELISA

JUSTYNA BIEŃ, BOŻENA MOSKWA, KATARZYNA PASTUSIAK I WŁADYSŁAW  
CABAJ

Instytut Parazytologii im. Witolda Stefańskiego PAN, 00-818 Warszawa, ul. Twarda 51/55

*Trichinella spiralis* jest przyczyną jednej z najczęstszych i najniebezpieczniejszych zoonoz w Polsce. Każdego roku dochodzi do zarażenia kilkudziesięciu osób po spożyciu nie badanego mięsa wieprzowego lub dziczyzny. Ostatnie dane Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi (RRW-6) pochodzące z 2001 r. informują, że ekstensywność zarażenia świń i dzików włośniem, oceniana na podstawie metody wytrawiania wynosiła odpowiednio 0,00025% i 0,19%.

Podjęto próbę oceny ekstensywności zarażenia włośniem na podstawie obecności specyficznych przeciwciał klasy IgG oznaczanych metodą ELISA.

Warunki wykonania testu:

- płytki opłaszczano antygenem ekskrecyjno/sekrecyjnym larw mięśniowych *T. spiralis* (Ag ES L1 *T. spiralis*),
- surowice badane rozcieńczano 1:100,
- przeciwciało monoklonalne skoniugowane z peroksydazą chrzanową (Sigma) rozcieńczano 1: 10 000,
- jako substrat zastosowano TMB (Sigma),
- wynik reakcji odczytywano przy długości fali 630 nm,
- jako kontrolnej surowicy dodatkowo użyto surowicy świń typu SPF zarażonych eksperymentalnie dawką 20 000 L1 *T. spiralis*,

Zbadano 1226 surowic świń oraz 1880 surowic dzików zebranych na terenie całego kraju. Wyniki testu iELISA wykazały obecność przeciwciał w 11 surowicach świń (0.897%) i w 4 surowicach dzików (0.212%).

Uzyskane wyniki wskazują na znacznie wyższy odsetek zarażonych zwierząt niż wskazują dane Ministerstwa.

## ANALIZA WYSTĘPOWANIA PASOŻYTÓW JELITOWYCH U DZIECI KLAS PIERWSZYCH W POLSCE W ROKU 2002/2003

ELŻBIETA BITKOWSKA<sup>1</sup>, NATALIA WNUKOWSKA<sup>1</sup>, BOGDAN WOJTYNIAK<sup>2</sup>  
I TADEUSZ H. DZBEŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Parazytologii Lekarskiej, <sup>2</sup>Zakład Statystyki Medycznej, PZH, ul. Chocimska 24,  
00-760 Warszawa

W roku szkolnym 2002/2003 kontynuowano badania w stacjach sanepid rozpoczętą w 1988 r. ogólnopolską akcją badania co 5 lat dzieci klas pierwszych szkół podstawowych w kierunku pasożytów jelitowych, której celem jest ocena sytuacji epidemiologicznej pasożytów jelitowych na terenie kraju. Badania zostały zawężone do grupy dzieci siedmioletnich na podstawie wcześniejszych obserwacji, z których wynikało, że w wymienionej grupie wiekowej, ekstensywność inwazji jelitowych jest najwyższa, co powinno umożliwić wczesne rozpoznawanie zmian w sytuacji epidemiologicznej pasożytów w całej populacji.

Zbadano ogółem 31504 dzieci, w tym 19623 dzieci miejskich i 11881 pochodzących z terenów wiejskich. Stwierdzono, że najczęściej występującymi pasożytami były: *Enterobius vermicularis* (u 3827 uczniów tj., u 12,15% wszystkich badanych dzieci), *Ascaris lumbricoides* (u 263 tj., 0,83%) *Giardia intestinalis* (u 217 tj. 0,69%), *Entamoeba coli* (u 189 tj. 0,60%) i *Trichuris trichura* (u 39 tj. 0,12%). Najwyższy odsetek zarażonych dzieci stwierdzono na terenie województwa warmińsko-mazurskiego (29,6%), najniższy na terenie województwa śląskiego (8,8%). Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała większą ekstensywność inwazji u dzieci na wsi (19,0%) niż w mieście (10,4%).

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły wcześniejszą opinię, wg której sytuacja epidemiologiczna pasożytów jelitowych u dzieci w Polsce ulega systematycznej poprawie.

**ANALIZA ABERRACJI CHROMOSOMOWYCH, WYMIAN  
CHROMATYD SIOSTRZANYCH (SCE) I KINETYKI PODZIAŁÓW  
KOMÓRKOWYCH W HODOWLI LIMFOCYTÓW PODDANYCH  
DZIAŁANIU FRAKCJI BIAŁEK Z ASCARIS<sup>1</sup>**

**JOANNA BŁASZKOWSKA<sup>1</sup>, TOMASZ FERENC<sup>2</sup>, DOBROŚŁAWA ŁOPACZYŃSKA<sup>2</sup>,  
HENRYK STRÓŻYŃSKI<sup>3</sup> I WANDA BRATKOWSKA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej UM w Łodzi, 90-647 Łódź, Plac Hallera 1

<sup>2</sup>Zakład Biologii i Genetyki Katedry UM w Łodzi, 90-647 Łódź, Plac Hallera 1

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych UM w Łodzi, 91-347 Łódź, ul. Kniaziewicza 1/5

W badaniach własnych prowadzonych na modelach zwierzęcych wykryto działanie embriotoksyczne i teratogenne preparatu inhibitora trypsyny z *Ascaris suum*. Celem pracy była ocena ewentualnych właściwości mitostatycznych i genotoksycznych białek frakcji SF<sub>5</sub> otrzymanych z tego nicienia, wykazujących aktywność antytryptyczną.

Białka frakcji SF<sub>5</sub> (nie oczyszczony inhibitor trypsyny – NIT) otrzymano z homogenatu wora powłokowo-mięśniowego *Ascaris suum* zmodyfikowaną metodą Roli i Pudlesa. NIT w stężeniu 0,25 mg/ml całkowicie inaktywował 0,0125 mg kryształicznej trypsyny. Ocenę genotoksyczności prowadzono na płytkach metafazowych uzyskanych na drodze makrohodowli limfocytów krwi obwodowej człowieka (Moorhead 1960). Przeprowadzono test aberracji strukturalnych chromosomów i test wymian chromatyd siostrzanych. NIT dodawano na starcie hodowli w obu testach, w dawkach: 25, 50, 100 (μg/ml (ekspozycja ciągła). Kinetykę podziałów komórkowych określano za pomocą indeksu replikacyjnego (IR).

Wyniki badań uzyskane z testu aberracji chromosomowych (hodowla 48 godz.) wskazują, że NIT nie wykazuje właściwości klastogennych, natomiast istotnie obniża wartość indeksu mitotycznego. W teście SCE – (hodowla 72 godz.) zanotowano zwiększoną częstość wymian chromatyd siostrzanych w porównaniu z kontrolą. Analiza wartości IR wskazuje na stymulujący wpływ testowanej frakcji białek z *Ascaris* na dynamikę podziałów komórkowych.

<sup>1</sup>Praca finansowana przez UM w Łodzi w ramach tematu własnego nr 502-11-771(5)



## COMPARATIVE ULTRASTRUCTURE OF MATURE SPERMATOZOA IN PROTEOCEPHALIDEAN CESTODES, PARASITES OF FRESHWATER FISH

MAGDALÉNA BRUŇANSKÁ<sup>1,2</sup>, TOMÁŠ SCHOLZ<sup>1</sup> AND MOHAMMED HASAN  
IBRAHEEM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Parasitology, Academy of Sciences of the Czech Republic, 370 05 České Budějovice, Branišovská 31, Czech Republic; <sup>2</sup>Parasitological Institute, Slovak Academy of Sciences, 040 01 Košice, Hlinkova 3, Slovak Republic; <sup>3</sup>Department of Zoology, Faculty of Science, Minia University, El-Minia 61519, Egypt

Comparison of ultrastructural features of mature spermatozoa of *Proteocephalus longicollis* (parasite of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* and *P. torulosus* (parasite of chub *Leuciscus cephalus*) shows similarity of basic sperm characteristics in both species studied. The presence of specific phylogenetically important characters in male gametes of members of the genus *Proteocephalus* supports the hypothesis about close relationship of Proteocephalidea (parasites of freshwater fish) and Tetrphyllidea (parasites of elasmobranchs).

This assumption is supported by results of an ultrastructural study of mature spermatozoa of another proteocephalidean tapeworm, *Electrotaenia malopteruri*, the subfamily Gangesiinae, supposedly one of the most primitive groups of the order Proteocephalidea. *E. malopteruri* is a parasite of the electric catfish *Malapterurus electricus* (Siluriformes: Malapteruridae), living in the River Nile. Results of the electronmicroscopical investigation show that mature spermatozoa of *Electrotaenia* differ from that of tapeworms of the genus *Proteocephalus*, in presence of specific characters, described until now, only in the spermatozoa of Cyclophyllidea (group of tapeworms comprising the most significant parasites of humans and livestock). However, basic ultrastructural characters of sperm indicate affinity of *Electrotaenia* to other proteocephalidean and/or tetrphyllidean tapeworms.

The present findings confirm the importance of ultrastructural characteristics in investigation of the evolutionary processes of parasitic invertebrates, and they may be of principle significance for systematics and cladogenesis of organisms.

---

Study supported by the Grant Agency of the Czech Republic (project Nos. 206/03/1317 and 524/04/0342) and the Grant Agency of the Slovak Republic (VEGA, project No. 2/4177/04).

## HYMENOLEPIDIDS WITH AQUATIC LIFE CYCLES: COMPARISON OF THE FUNCTIONAL ULTRASTRUCTURE OF ONCOSPHERAL ENVELOPES

LIDIA CHOMICZ<sup>1</sup> AND ZDZISŁAW ŚWIDERSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Medical University of Warsaw, 73 Nowogrodzka Street, 02-018 Warsaw <sup>2</sup>W. Stefański Institute of Parasitology PAS, 51/55 Twarda Street, 00-818 Warsaw, Poland

The hymenolepidid cestodes, with the exception of *Hymenolepis nana*, have generally complex life cycles with the intermediate and final host and frequently with a change of environment between consecutive stages. Most of the previous studies on the functional ultrastructure of oncospherical envelopes in cestodes are restricted to hymenolepidids with terrestrial life cycles, mainly parasites of mammals. The purpose of the present study is to describe and compare origin, differentiation and functional ultrastructure of oncospherical envelopes of 12 cestode species with aquatic life cycles examined by means of transmission (TEM) and scanning (SEM) electron microscopy techniques. The material for the present ultrastructural study and comparative analysis represents twelve species of hymenolepidids with aquatic life cycles: *Diorchis parvogenitalis*, *D. brevis*, *D. elisae*, *D. inflata*, *D. ovofurcata*, *D. stefanski*, *Fimbriaria fasciolaris*, *F. czaplinski*, *Dicranotaenia coronula*, *Microsomacanthus paracompressa*, *Sobolevicanthus gracilis*, *Wardium aequabile*. Results of our comparative electron microscopical studies revealed that despite the general similarities in the ultrastructure of the primary envelopes surrounding developing embryos, there exist important differences both in the type of morphogenesis and in the final form and arrangement of the secondary envelopes between the 12 examined hymenolepidids. In all examined species, the embryophore develops within the syncytial layer of the primary inner envelope and is transformed into a heterogeneous structure in the final phase of infective egg formation. Some ultrastructural features of oncospherical envelopes are very characteristic for the cestode species examined, and may indeed represent a new useful criterion for differential diagnosis. Our data on ultramorphology of the envelopes and their connections with the uterine wall may also be useful for better understanding of the developmental physiology and biology of the oncospherical stage of hymenolepidids with aquatic life cycles. The comparative analysis allows determination of some ultrastructural

features that adapt oncospheres to the behavior and habitat of their intermediate hosts. Interrelations among the ultrastructure of the oncospherical envelopes, habitat of crustacean intermediate hosts, and cestode life cycles are drawn and discussed. Further ultrastructural studies on the morpho-physiology of the oncospherical envelopes of hymenolepidids with aquatic and terrestrial life cycles would be very useful for obtaining new data on a greater variability and for better understanding of different strategies of parasitic infections.

## MORFOLOGIA HAKÓW RYJKOWYCH LARW *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* OD PACJENTÓW OPEROWANYCH W WARSZAWIE

DANUTA CIELECKA<sup>1</sup>, ANNA GIERCZAK<sup>1</sup> I BOGDAN MICHAŁOWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii AM, 02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5;

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Transpl. Wątroby AM, 02-097 Warszawa, ul. Banacha 1

W centralnej i wschodniej części Europy, świński szczep *Echinococcus granulosus* uważany jest za główną przyczynę echinokokozy u ludzi, na szczęście, infekcji raczej rzadkiej. Z poubojowych badań zwierząt w Polsce (Deryło i Szilman 1998) wynika, że właśnie u świń występuje najwięcej przypadków hydatidozy *E. granulosus*; w roku 1997 było zarażonych 770 tys. świń (4,56%). Odmienność szczepową tasiemca bąblowcowego, izolowanego z polskich świń, manifestującą się niewielką infekcyjnością w stosunku do ludzi i do domowych zwierząt kopytnych oraz nieco innymi cechami morfologicznymi potwierdziły badania molekularne: zidentyfikowano jego genotyp jako G7 (Bowels i wsp. 1992). Natomiast charakterystyka molekularna DNA larw bąblowcowych uzyskanych od polskich pacjentów, nie jest jednoznaczna (Scott i wsp. 1997, Kędra i wsp. 1999). Celem badań było uzyskanie większej ilości danych o pasożycie występującym u człowieka, a tym samym o pochodzeniu ludzkiej echinokokozy.

Zbadano 14 torbieli bąblowcowych wątroby pochodzących od pacjentów operowanych w Klinice AM w Warszawie w latach 2000-2004, w większości zamieszkujących w centralnej Polsce, z wyjątkiem dwóch osób: pacjentki (21 lat) z Ukrainy i pacjenta (26 lat) z Kazachstanu. Mierzono: liczbę haków, długość całkowitą i długość ostrza w hakach dużych i małych, wyliczono wskaźniki długości i kształtu haków. Wszystkie wymiary i wskaźniki haków pochodzących z Ukrainy mieściły się w zakresach zmienności tych cech, określonych dla 12 polskich prób. Natomiast, parametry haków z kazachstańskiego pacjenta, istotnie różniły się. Uzyskane wyniki porównano z danymi z ludzkich i zwierzęcych bąblowców pochodzących z różnych rejonów świata. Pod względem morfologii haków ryjkowych, ludzki materiał z Polski i z Ukrainy jest zbliżony do świńskiego szczepu *E. granulosus*, podczas gdy larwa pochodząca od pacjenta z Kazachstanu ma cechy szczepu owczego.

## FERTILIZATION IN THE PARASITIC PLATYHELMINTHES

DAVID BRUCE CONN<sup>1</sup> AND ZDZISLAW SWIDERSKI<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>School of Mathematical and Natural Sciences, Berry College, Mount Berry, Georgia 30149-5036, U.S.A., <sup>2</sup>W. Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences, 51/55 Twarda Street, 00-818 Warsaw, <sup>3</sup>Department of Genegal Biology and Parasitology, Warsaw Medical University, Chałubińskiego 5, 02-004 Warsaw, Poland.

Very few ultrastructural studies have been published to date on fertilization in parasitic Platyhelminthes. The purpose of this review is to describe and compare fertilization processes in different representative species of the Monogenea, Digenea and Cestoda examined so far in this respect. In most species, fertilization occurs in the oviduct lumen or in the fertilization canal proximal to the ootype, where the formation of the embryonic capsule precludes sperm contact with the oocyte. Cortical granules are not present in the cytoplasm of cestode oocytes. However, two other types of large granules have been described in the perinuclear cytoplasm of at least one cestode species: one of homogenous, moderate electron density and another of heterogeneous moderate electron density. In all parasitic flatworms examined until now, spermatozoa coil spirally around the oocytes, and syngamy occurs by lateral fusion of oocyte and sperm plasma membranes. In the ootype, depending of species examined, one or numerous vitellocytes associate with the fertilized oocyte, forming a membranous capsule or a thick and hard shell, which encloses both cell types. In this stage, spirally coiled sperm flagella adhere partly to the external oocyte surfaces, and partially are incorporated into the oocyte's perinuclear cytoplasm. Usually, several loops of the spermatozoon occur within the oocyte cytoplasm. The electron-dense sperm nucleus within the oocyte cytoplasm becomes progressively electron lucent after entry. Simultaneously with chromatin decondensation, the elongate sperm nucleus changes shape, forming a spherical male pronucleus, which attains the size of the female pronucleus. Cleavage begins immediately after pronuclear fusion. Fertilization in species with uniflagellate spermatozoa resembles to some extent that described in other species with biflagellate spermatozoa. This homogeneity in fertilization patterns in different groups of parasitic flatworms contrasts sharply with the great variety in the ultrastructure of sperm in different taxa of Platyhelminthes.

## ROZWAŻANIA MORFOLOGICZNE NA POZIOMIE ROZDZIELCZOŚCI MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ DOTYCZĄCE BUDOWY KOMPLEKSU TOREBKI I "NURSE-CELL" LARWY *TRICHINELLA SPIRALIS* W OKRESIE ODLEGŁYM OD ZARAŻENIA

JULIA DĄBROWSKA<sup>1</sup>, EWA JANKOWSKA-STEIFER<sup>2</sup>, BARBARA GRYTNER-ZIĘCINA<sup>1</sup>,  
BARBARA MACHNICKA-ROWIŃSKA<sup>3</sup>, EWA DZIEMIAN<sup>3</sup> I MICHAŁ WALSKI<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, <sup>2</sup>Katedra Histologii Akademii Medycznej, 02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5; <sup>3</sup>Instytut Parazytologii PAN, 00-818 Warszawa, ul. Twarda 51/55 <sup>4</sup>Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 02-106 Warszawa, ul. Pawińskiego 5

Larwy L<sup>1</sup> *T. spiralis* dla przeżycia w organizmie żywicielskim, muszą dokonać zmian w metabolizmie i ultrastrukturze komórek mięśniowych gospodarza, prowadzących do powstania specyficznego dla nich mikrośrodowiska.

Badania przeprowadzono na mięśniach myszy zarażonych *per os* dawką 200 larw. Fragmenty przepony i mięśni czworogłowych uda, pobrane w 6 miesiącu po zarażeniu, zostały przygotowane do badań ultrastrukturalnych. Oceniano je w mikroskopie elektronowym transmisyjnym JEM 1200 EX.

Ocenie poddano torebkę larwy i stransformowane komórki mięśniowe tworzące „nurse-cell”. Szczególnie wnikliwie analizowano rejon „nurse-cell” znajdujący się w bezpośrednim sąsiedztwie z larwą.

Torebka larwy zbudowana jest z elementów łącznotkankowych tj. fibroblastów, włókienek kolagenowych prążkowanych i sieci naczyń kapilarnych. Często obserwowano sieć nowo powstających naczyń.

W „nurse-cell” obserwowano zwielokrotnione, leżące centralnie jądra oraz liczne organella tj. kanały siateczki śródplazmatycznej i mitochondria. Zdarzało się obserwować zachowane jeszcze fragmenty aparatu kurczliwego. Wykazano obecność błony plazmatycznej przyległej do powierzchni larwy, w pobliżu której widoczny był system kanalików mający z nią bezpośrednie połączenie. Często obserwowano odstawanie tej błony od powierzchni larwy i tworzenie się wolnej przestrzeni, co jest spowodowane powolnym oddawaniem wody w procesie starzenia się. Stanowi to artefakt powstały podczas preparatyki mikroskopowo-elektronowej.

## ULTRASTRUKTURALNA CHARAKTERYSTYKA ZMIAN W MIĄŻSZU PŁUCNYM ZACHODZĄCYCH W CZASIE WĘDRÓWKI LARW *TRICHINELLA SPIRALIS*

JULIA DĄBROWSKA<sup>1</sup>, MICHAŁ WALSKI<sup>2</sup>, BARBARA GRYTNER-ZIĘCINA<sup>1</sup> I RUSŁAN  
SALAMATIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii Akademii Medycznej, 02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5; <sup>2</sup>Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 02-106 Warszawa, ul. Pawińskiego 5

Celem pracy była ultrastrukturalna ocena przegrody oddechowej płuc myszy w 6 dniu po zarażeniu *per os* dawką 200 lub 600 larw *T. spiralis*. Analizie w mikroskopie elektronowym transmisyjnym poddano ultracienkie skrawki płuc zarażonych zwierząt. U zwierząt zarażanych dawką 200 larw w naczyniach kapilarnych płuc obserwowano granulocyty obojętnochłonne, kwasochłonne, limfocyty oraz płytki krwi. Komórki śródbłonkowe i nabłonkowe płaskie wykazywały niewielkie cechy obrzęku. We wnętrzu pęcherzyków widoczne były liczne makrofagi obładowane sfagocytowanym materiałem. Nie obserwowano pęcherzyków niedodmowych. Odmienny obraz ultrastrukturalny płuc obserwowano u myszy zarażanych dawką 600 larw. Istotne zmiany morfologiczne tj. obrzęk śródbłonków, zniszczenie elementów nabłonkowych komórek wyściółkowych oraz opróżnienie ciał lamellarnych przemawiały za procesami degeneracyjnymi. W wielu pęcherzykach obserwowano komórki zapalne. Połączenia międzykomórkowe często były otwarte i poszerzone, co ułatwiało przechodzenie płynu przesiękowego oraz elementów komórkowych krwi do światła pęcherzyków. Wielokrotne poszerzenie przegrody oddechowej prowadziło do zmniejszenia objętości pęcherzyków płucnych. Komórki nabłonkowe wyściełające pęcherzyki wykazywały cechy uszkodzenia przejawiające się przejaśnieniem cytoplazmy i obrzękiem mitochondriów. W wielu pęcherzykach obserwowano fragmenty uszkodzonej wyściółki surfaktanta. Uszkodzone fragmenty tubul mielinowych surfaktanta zintegrowane z wypustkami plazmatycznymi makrofagów płucnych, tworzyły często barierę oddzielającą płyn przesiękowy od zmniejszonej fazy powietrznej pęcherzyków płucnych. Wiele pęcherzyków w całości wypełniał płyn, co przemawia za niemożnością wymiany gazowej.

## PRZEBUDOWA KOMÓRKI MIĘŚNIOWEJ WE WCZESNYM OKRESIE INWAZJI LARW *TRICHINELLA SPIRALIS* — BADANIA ULTRASTRUKTURALNE

JULIA DĄBROWSKA<sup>1</sup>, MICHAŁ WALSKI<sup>1,2</sup>, BARBARA GRYTNER-ZIĘCINA<sup>1</sup>,  
BARBARA MACHNICKA-ROWIŃSKA<sup>3</sup> I EWA DZIEMIAN<sup>3</sup>

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

Celem pracy była ocena w mikroskopie elektronowym transmisyjnym zmian w komórkach mięśniowych zachodzących pod wpływem larw *T. spiralis*.

Analizie poddano fragmenty przepony i mięśni czworogłowych uda w 12 dniu po zarażeniu myszy *per os* dawką 400 larw *T. spiralis*. W badaniach użyto goniometru, uzyskując możliwość oceny preparatów ugiętych pod różnym kątem do wiązki elektronów.

Poczynione obserwacje potwierdziły zasadniczą przebudowę fragmentu komórki mięśniowej będącego w bezpośrednim kontakcie z larwą. Obserwowano zachodzącą znaczną destrukcję aparatu kurczliwego sarkomerów, przypominającą zmiany dystroficzne komórek mięśniowych. Na terenie cytoplazmy stwierdzono liczne fagolizosomy i zmienione morfologicznie mitochondria z krystaloidami pojawiającymi się we wnętrzu macierzy. Zwielokrotnione jądra, bogate w jasną chromatynę i z aktywnymi jąderkami, były obecne w centralnej części komórki. Obserwowano ciągłość błon plazmatycznych oddzielających cytoplazmę komórki mięśniowej od błony komórkowej na powierzchni larwy, a na wewnętrznej powierzchni sarkolemy ściśle upakowane cząsteczki glikogenu.

Analiza ultracienkich skrawków z użyciem goniometru potwierdziła obecność ciągłej błony komórkowej, która wchodzi w bezpośredni kontakt z powierzchnią larwy umożliwiając wymianę substancji pomiędzy pasożytem a żywicielem na drodze pasażu transbłonowego.

W komórkach mięśniowych, w których doszło do uszkodzenia błony plazmatycznej obserwowano postępującą destrukcję organelli, co w konsekwencji doprowadza do nekrozy tych komórek oraz eliminacji larw.



## CHANGES IN THE LEVEL OF ANTIOXIDANTS IN THE BLOOD FROM *TRICHINELLA SPIRALIS* INFECTED MICE

MONIKA DERDA, ELŻBIETA WANDURSKA-NOWAK I EDWARD HADAŚ

Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences,  
61-701 Poznań, Fredry 10

Biological reaction caused by oxygen-derived free radicals at the molecular and cellular levels engage many different biochemical components which can be directly damaged by oxidizing radicals. As such reaction may lead to pathological processes, defence mechanisms have evolved to limit the rate of free radicals production. These mechanisms employ low molecular non-enzymatic antioxidants and anti-oxidant enzymes which are inducible by oxidant stress. In this study the activity of two antioxidant enzymes: superoxide dismutase (ec 1.15.1.1) and glutathione peroxidase (ec 1.11.1.9), and the level of non-enzymatic antioxidants (total antioxidant status) in the blood from mice infected with *Trichinella spiralis* was examined. We observed a statistically significant, up to above 2-fold increase (relative to the control value in uninfected mice) in the level of both examined enzymes, and in the total antioxidant status in the blood from infected mice. Intensification of antioxidant processes during trichinellosis could be related to the presence of *T. spiralis* larvae which may induce phagocytes to generate free radicals. Our research showed that the maximal growth in antioxidants activity in blood appears during the period of the greatest muscle damage caused by *T. spiralis* infection (3-7 weeks post-infection).

## CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA PASOŻYTA *PNEUMOCYSTIS CARINII* (*P. JIROVECI*) U PACJENTÓW Z RÓŻNYMI CHOROBYMI UKŁADU ODDECHOWEGO

MIECZYŚLAW DYMON, AGATA PIETRZYK, BARBARA PAPIR  
I EMILIA NOWAKOWSKA

Zakład Parazytologii Katedry Mikrobiologii CM UJ, 31-121, Kraków, ul. Czysta 18

*Pneumocystis carinii* (*P. jiroveci*) jest drobnoustrojem oportunistycznym, który wywołuje śródmiąższowe zapalenie płuc u osób z upośledzoną funkcją układu immunologicznego.

Celem pracy było wykazanie zróżnicowanej podatności pacjentów z przewlekłymi chorobami dróg oddechowych na kolonizację pasożytem *P. carinii*.

Analizą objęto 408 chorych w wieku od 20 do 80 lat, leczonych w oddziałach Kliniki Pulmonologii i Kliniki Alergii i Immunologii II Katedry Chorób Wewnętrznych CM UJ w latach 1999-2004. Materiał diagnostyczny, pochodzący od tych chorych stanowiły popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe. Próbkę materiałów badano mikroskopowo w preparatach barwionych metodą Giemsy poszukując form rozwojowych pasożyta.

W badanej populacji chorych hospitalizowanych obecność cyst *P. carinii* wykazano u 91 osób (22%), z czego jedynie w 4 przypadkach (4,4%) klinicznie rozpoznano pneumocystozowe zapalenie płuc. Analizując badaną populację występowanie *P. carinii* wykazano także u 28% chorych z zaostrzeniem przewlekłego zapalenia oskrzeli i POCHP, 21% chorych z astmą oskrzelową, 18% pacjentów z niewydolnością oddechową i zespołem ARDS, 4% chorych z pierwotnym lub wtórnym zwłóknieniem płuc, 3% pacjentów z rozpoznaniem nowotworów oskrzeli i płuc. U chorych z innymi chorobami dróg oddechowych, takimi jak silikoza, azbestoza, sarkoidoza obecność *P. carinii* stwierdzano jedynie w pojedynczych przypadkach. Występowanie pasożyta w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych wykazano także u 19% pacjentów z wysiękiem płucnym lub odmą i rozedmą płuc o nieustalonej etiologii.

Powyższe dane sugerują, że najbardziej narażeni na kolonizację pasożytem *P. carinii* są chorzy z przewlekłym zapaleniem oskrzeli i POCHP, chorzy z astmą oskrzelową oraz chorzy z niewydolnością oddechową i zespołem ARDS, rzadziej natomiast pacjenci z chorobami nowotworowymi dróg oddechowych, sarkoidozą, silikozą czy azbestozą.