

MECHANICAL TRANSPORT OF HUMAN ENTERIC PARASITES BY FILTH FLIES

THADDEUS K. GRACZYK¹, BARBARA H. GRIMES², BEATA SZOSTAKOWSKA³,
RONALD KNIGHT¹, WIESŁAWA KRUMINIS-ŁOZOWSKA³, MARIA RACEWICZ³,
LEENA TAMANG¹, ALEXANDRE. J. DA SILVA⁴ AND PRZEMYSŁAW MYJAK³

¹Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA; ²On-Site Wastewater Section, DEH-NCDENR, Raleigh, NC, USA; ³Department of Tropical Parasitology, Inter-Faculty Institute of Maritime and Tropical Medicine, Medical University of Gdańsk, Gdynia, Poland; ⁴CDC, Atlanta, GA, USA

Synanthropic filth flies are transport hosts for a variety of pathogens of public health importance. Wild-caught non-biting flies associated with cattle operations and animal and municipal waste processing sites were tested for transmissive stages of human parasitic protozoans such as *Cryptosporidium parvum* oocysts, *Giardia lamblia* cysts, and spores of human-infectious microsporidia (i.e., *Encephalitozoon intestinalis*, *E. hellem*, *E. cuniculi*, and *Enterocytozoon bieneusi*) on their exoskeletons and in their digestive tracts. Oocysts and cysts have been identified by Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) combined with FITC-conjugated mAb, and microsporidian spores by FISH and PCR. At most of the sites, the quantities of *C. parvum* oocysts were positively correlated with the numbers of *G. lamblia* cysts, indicating a common source of contamination. More cysts occurred on exoskeletons than within the digestive tracts; this relationship was opposite for oocysts. Spores of *E. bieneusi* were identified for the first time from insect mechanical vectors; most of the spores were recovered from exoskeletons. The vast majority of oocysts, cysts, and spores were viable; 80, 69, and 87%, respectively. The biology and ecology of synanthropic filth flies suggest that their potential for mechanical transmission of human enteric parasites is high. As such, flies can acquire transmissive stages of human enteric parasites naturally from unhygienic sources and carry them on their surfaces and in their guts. They may be involved in the epidemiology of cryptosporidiosis, giardiasis, and microsporidiosis. However, epidemiologic involvement of flies in the epidemiology of these diseases is difficult to prove, as all cases of diarrheal diseases resulting from fly visitations are classified as foodborne.

IMMUNOMODULATORY FUNCTIONS OF FILARIAL CYSTATIN

SUSANNE HARTMANN, PETER SCHIERACK, BETTINA SONNENBURG
AND RICHARD LUCIUS

Department of Molecular Parasitology, Humboldt-University at Berlin, Philippstr. 13, 10115 Berlin

Immune responses of individuals infected with filarial nematodes are characterized by a marked cellular hyporesponsiveness and a shift of the cytokine balance towards a Th2 response. This immunomodulation is considered as a mechanism of immune evasion. Among the secreted nematode immunomodulators, cysteine protease inhibitors (cystatins) are shown to be of major importance. Cystatins of parasitic nematodes are well described pathogenicity factors which contribute to the downregulation of T cell proliferation and the induction of anti-inflammatory cytokine responses. We investigated the immunomodulatory potential of cystatins of *Onchocerca volvulus* (Ov17), *Acanthocheilonema viteae* (Av17) and in parallel the effects of homologous proteins of the free living nematode *C. elegans*. Like filarial cystatins, the *C. elegans* cystatins (rCysele1 and 2) possess domains relevant for inhibition of papain-like proteases and are biologically active inhibitors of cathepsins. However, inhibition of cathepsin B by *C. elegans* cystatins is much stronger. Filarial cystatins suppress proliferation of human PBMC, which coincides with a modulation of macrophage functions. The expression of HLA-DR and CD86 on human monocytes are downregulated and the production of IL-10 is significantly increased. In contrast, *C. elegans* cystatins had hardly any effect on the proliferation of PBMC and increased the production of IL-12 and IFN-gamma by human PBMC, respectively. Both, the cystatins of filariae and of *C. elegans* induced an upregulation of inducible nitric oxide production by IFN-gamma-stimulated murine macrophages, an intrinsic property of natural cysteine protease inhibitors. These data suggest that filarial cystatins have multiple capacities for immunomodulation, acting in parallel on different immune effector mechanisms. Some immunomodulatory effects are a specific evolutionary design of parasitism whereas other effects are also present in the free-living nematode.

FOSFATAZY ZWIĄZANE Z TRAWIENIEM WEWNĄTRZKOMÓRKOWYM W REDII I CERKARII *FASCIOLA* *HEPATICA* ORAZ W WĄTROBOTRZUSTCE ŚLIMAKA

MIROŚLAWA HUMICZEWSKA

Zakład Ekologii Człowieka US, 71-065 Szczecin, al. Piastów 40 B

Celem pracy było określenie lokalizacji oraz nasilenia aktywności enzymów związanych z trawieniem wewnątrz komórkowym tj. fosfatazy kwasnej (AcP), pirofosfatazy tiaminowej (TPPazy) oraz β -glukuronidazy (β -gl) w rediach i cercariach motylicy wątrobowej oraz w wątrobotrzustce ślimaka *Lymnaea truncatula*, u którego larwy pasożytowały.

Materiał do badań stanowiły ślimaki zarażone miracidiami motylicy, w warunkach laboratoryjnych. Enzymy wykrywano metodami histochemicznymi, po 40 i 60 dniach od zarażenia, kiedy w wątrobotrzustce ślimaków rozwijały się redie i cercarie. Ponadto do oznaczenia ilościowego enzymów dokonywano pomiarów preparatów w cytofotometrze. Cytofotometryczną analizę przeprowadzano wykonując pomiary zawartości enzymów w tkankach redii i cercarii oraz w komórkach trawiennych wątrobotrzustki ślimaków. Otrzymane wartości odpowiadające względnej ilości badanych enzymów poddawano obliczeniom statystycznym, określając istotność różnicy ilości enzymów w komórkach trawiennych wątrobotrzustki 40 i 60 dni po zarażeniu oraz nie zarażonej, a także w pasożytach.

Uzyskane wyniki wykazały, że największe ilości aktywnych enzymów u pasożytów nagromadzone są w tkankach aktywnych metabolicznie: w kulach zarodkowych, gardzieli i jelicie redii oraz w tegumencie i przyssawkach cercarii. Występują też różnice w aktywności poszczególnych enzymów, najwyższą aktywnością odznacza się AcP, najniższą β -glukuronidaza. Silna aktywność badanych enzymów w tkankach pasożytów świadczy o tym, że odgrywają one istotną rolę w ich metabolizmie. Szczególnie wysoka aktywność w kulach zarodkowych redii wydaje się być związana z intensywnymi podziałami komórek zarodkowych i różnicowaniem się embrionów cercarii.

W komórkach trawiennych wątrobotrzustki po 40 i 60 dniach zarażenia aktywność AcP jest silna i bardzo silna i wykazuje wyraźny wzrost ilościowy w porównaniu z wątrobotrzustką nie zarażoną. Natomiast TPPaza i β -glukuronidaza wykazuje wzrost aktywności w wątrobotrzustce po 40 dniach zarażenia, w porównaniu z nie zarażoną oraz wyraźny spadek po 60 dniach zarażenia. Różnice w zawartości enzymów są istotne statystycznie ($p < 0,001$). Świadczą one o zaburzeniu metabolizmu w zarażonej wątrobotrzustce ślimaka, szczególnie silne po 40 dniach zarażenia.

NIEKTÓRE FOSFATAZY SPECYFICZNE I NIESPECYFICZNE W METACERKARII *FASCIOLA HEPATICA*

MIROŚLAWA HUMICZEWSKA

Zakład Ekologii Człowieka US, 71-065 Szczecin, al. Piastów 40 B

Celem badań było poznanie niektórych aspektów metabolizmu metacerkarii *Fasciola hepatica* w różnym okresie od encystacji, poprzez wykrycie lokalizacji i nasilenia aktywności enzymów związanych z trawieniem wewnątrzkomórkowym, a mianowicie fosfatazy kwaśnej (AcP), pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) oraz β -glukuronidazy (β -gl).

Metacerkarie pozyskiwano ze ślimaków *Lymnaea truncatula* w warunkach laboratoryjnych, zarażając je miracidiami *Fasciola hepatica*. Metacerkarie pobierano do badań na trzeci dzień po encystacji, oraz po upływie 6 miesięcy – krojono je w krioście na 10 μ m skrawki, w których wykrywano aktywne enzymy metodami histochemicznymi: AcP metodą Gomoriego, TPPazę wg Novikoffa i Goldfischera, a β -gl metodą Pearsona i wsp. Ponadto do oznaczenia ilościowych zmian enzymatycznych zastosowano pomiary preparatów w cytofotometrze. Cytofometryczną analizę przeprowadzano wykonując pomiary zawartości enzymów w tkankach metacerkarii. Otrzymane wartości odpowiadające względnej ilości badanych enzymów poddano obliczeniom statystycznym, określając istotność różnicy ilości enzymów w tkankach metacerkarii trzydniowej i 6 miesięcznej.

W metacerkariach trzydniowych wykryto pozytywne odczyny wszystkich badanych fosfataz. AcP odznaczała się umiarkowanym odczynem w obu przyssawkach gębowej i brzusznej, w jelicie i w parenchymie, a słabym w tegumencie. TPPaza wykazywała dosyć silną aktywność w parenchymie oraz w jelicie i przyssawkach, a umiarkowaną w komórkach rozrodczych. β -gl charakteryzowała się umiarkowanym odczynem w większości tkanek metacerkarii, jedynie w komórkach tegumentu – słabym. W metacerkariach badanych po 6 miesiącach od encystacji aktywność enzymów była znacznie niższa niż w metacerkariach trzydniowych. Pomiary cytofometryczne wykazały, że różnice w ilości badanych enzymów w metacerkariach trzydniowych i 6 miesięcznych, w większości tkanek były istotne statystycznie.

Uzyskane wyniki wskazują na stopniowe, w miarę upływu czasu, obniżanie się poziomu metabolizmu u starszych metacerkarii, co w efekcie może przyczyniać się do obniżenia ich żywotności oraz zdolności inwazyjnych.

DEHYDROGENAZA β -HYDROKSYMASŁOWA I ACETYLO-CO-A W UKŁADZIE WĄTROBOTRZUSTKA *LYMNAEA TRUNCATULA* – STADIA ROZWOJOWE *FASCIOLA HEPATICA*

MIROŚŁAWA HUMICZEWSKA¹ I KRYSZTIAN RAJSKI²

¹Zakład Ekologii Człowieka US, 71-065 Szczecin, al. Piastów 40 B, ²Katedra Chorób Wewnętrznych Medycyny Weterynaryjnej UWM, 10-965 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 14

Celem pracy było określenie jaki wpływ wywierają sporocysty, redie i cerkarie *Fasciola hepatica* na aktywność i lokalizację obu dehydrogenaz w zarażonej wątrobotrzustce ślimaka.

Materiał badawczy stanowiły ślimaki *Lymnaea truncatula*, które zarażano miracidiami *F. hepatica*. Ślimaki pobierano do badań po 20, 40 i 60 dniach od inwazji i równocześnie z każdą grupą kontrolną badano ślimaki nie zarażone (kontrolne). Enzymy wykrywano metodami histochemicznymi w skrawkach kriostatowych, a ilościowe pomiary wykonywano w cytofotometrze. Otrzymane wartości poddawano obliczeniom statystycznym, w celu określenia różnicy w ilości enzymów w gruczole zarażonym i i niezarażonym.

W niezarażonej wątrobotrzustce zarówno dehydrogenaza β -hydroksymasłowa (HBDH) jak i acetylo-co-A (ACDH) odznaczają się silną aktywnością w komórkach trawiennych (sekrecyjnych) gruczołu, a umiarkowaną w komórkach wapiennych. Po 20 dniach zarażenia odczyn jest nieco słabszy, szczególnie w pobliżu sporocyst, przy nie zmienionej lokalizacji. Po 40 i 60 dniach inwazji, gdy w wątrobotrzustce pasożytują redie i cerkarie aktywność obu dehydrogenaz obniża się bardzo znacznie w komórkach trawiennych, a w komórkach wapiennych nie wykryto aktywnego enzymu. Pomiary cytofotometryczne wykazały spadek ilości enzymów po 20 dniach zarażenia od ok. 15% (ACDH), do 25% (HBDH), a po 40 i 60 dniach zarażenia – od 75%, do ok. 50% odpowiednio. Są to różnice istotne statystycznie. W pasożytach znaczne ilości obu enzymów stwierdzono w kulach zarodkowych sporocysty i redii, w gardzieli i jelicie redii oraz w tegumencie i przyssawkach cerkarii.

Zaobserwowane bardzo znaczne obniżenie ilości obu dehydrogenaz w zarażonym gruczole ślimaka jest wyrazem zaburzenia procesów katabolizmu kwasów tłuszczowych, co jest związane z uszkodzeniem mitochondriów w przebiegu inwazji pasożytnej, ale może być również powiązane ze zmniejszoną podażą estrów kwasów tłuszczowych, przechodzących do matrix mitochondrialnego. Silna aktywność obu dehydrogenaz w pasożytach potwierdza możliwość rozkładu lipidów przez stadia larwalne motylidy i wykorzystania ich jako dodatkowego źródła energii.

WPLYW WYBRANYCH GLEBOWYCH GRZYBÓW SAPROFITYCZNYCH NA ROZWÓJ EMBRIONALNY *ASCARIS SUUM*

MAGDALENA JABOROWSKA I WANDA KUŻNA-GRYGIEL

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, Pomorska Akademia Medyczna,
70-111 Szczecin, al. Powstańców Wlkp. 72

Wyizolowane z gleby grzyby saprofityczne *Metarhizium flavoviride* i *Paecilomyces fumosoroseus* hodowano na podłożu Czapka w temp. 25°C. Do badań wykorzystano zapłodnione jaja *Ascaris suum*. Hodowle jaj podzielono na 3 grupy doświadczalne: I – jaja *A. suum* w PBS (kontrola); II – jaja *A. suum* + *P. fumosoroseus*; III – jaja *A. suum* + *M. flavoviride*. Inkubacja przebiegała przez 60 dni w temp. 25°C.

Obserwacje mikroskopowe wykazały, że badane gatunki grzybów wydłużają czas rozwoju jaj *A. suum* oraz wywołują zaburzenia morfologiczne zarodków w poszczególnych stadiach embriogenezy.

Uzyskane wyniki wskazują, że *M. flavoviride* i *P. fumosoroseus* mogą odgrywać pewną rolę w ograniczaniu populacji pasożytniczych nicieni.

**WPŁYW JONÓW OŁOWIU I KADMU W SKAŻONEJ GLEBIE
NA POPULACJĘ NICIENI ENTOMOPATOGENICZNYCH
STEINERNEMA FELTIAE (FILIPJEV) ZDOLNOŚĆ DO ODSZUKIWANIA
I INFEKOWANIA OWADA TESTOWEGO (*G. MELLONELLA* L.)**

JOANNA JARMUŁ I MARTA KAMIONEK

Chair of Biology of the Animal's Environment Department of Zoology Warsaw Agricultural
Academy Nowoursynowska 166, 02-787 Warsaw, Poland; E-mail: Kamionek@alpha.sggw.waw.pl
or Jarmul@alpha.sggw.waw.pl

Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych wykorzystując dwa rodzaje gleb, piasek gliniasty oraz glinę lekką skażone jednocześnie jonami ołowiu i kadmu. Do tak przygotowanej gleby wprowadzono nicienie entomopatogeniczne oraz owada testowego w trzech odstępach czasowych: bezpośrednio i po 7, 14 dniach.

Przeprowadzone badania pozwoliły poznać wpływ jonów ołowiu i kadmu na zdolność nicieni entomopatogenicznych do odszukiwania owada żywiciela w skażonej glebie. Na zdolność do odszukiwania owada żywiciela przez IJs *S. feltiae* miał wpływ czas przebywania w skażonym środowisku, następnie struktura gleby i stopień skażenia. Wraz z upływem czasu malała liczba nicieni docierających do żywiciela

ODPOWIEDŹ HUMORALNA SZCZURÓW IMMUNIZOWANYCH DONOSOWO cDNA KODUJĄCYM GST I ZARAŻONYCH *FASCIOLA* *HEPATICA*

L. JEDLINA-PANASIUK I H. WĘDRYCHOWICZ

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

Choroba motylicza jest przyczyną dużych strat ekonomicznych w hodowli przewraczy zarówno w Polsce jak i na świecie. Dlatego też podejmowane są próby immunoprophylaktyki fasciolozy.

W ostatnich latach coraz częściej korzysta się z metod biologii molekularnej do otrzymywania antygenów pasożytów w formie cDNA. Efektywność szczepienia takimi antygenami i rodzaj odpowiedzi immunologicznej zależą w dużym stopniu od miejsca podania szczepionki.

Celem podjętych badań było zbadanie odpowiedzi humoralnej szczurów immunizowanych donosowo cDNA kodującym transferazę-S-glutationową (GST) i zarażonych *F. hepatica*.

W doświadczeniu zastosowano dwie grupy doświadczalne. Grupa pierwsza szczepiona była dwukrotnie, donosowo 50 µg cDNA, natomiast grupa druga stanowiła kontrolę zarażenia. Po 28 dniach obie grupy zarażone zostały 30 metacerkaria-
mi *F. hepatica*. Badania sekcyjne przeprowadzono w 1, 5, 9 tygodniu po zarażeniu.

Metodą ELISA określono odpowiedź przeciwciał IgM, IgG1, IgG2a, IgG2b i IgA. Przeciwciała IgM osiągnęły najwyższy poziom dla obydwu grup w 1 pierwszym tygodniu po zarażeniu. Nie stwierdzono podwyższenia swoistych dla GST przeciwciał IgG1, IgG2a oraz IgG2b u szczurów immunizowanych cDNA GST w porównaniu z kontrolą zarażenia. W przypadku wszystkich badanych izotypów przeciwciał odpowiedź szczurów szczepionych donosowo była wielokrotnie słabsza niż u szczurów kontrolnych.

LIGULA INTESTINALIS (L., 1758) IN MUSCLES OF BREAM *ABRAMIS BRAMA* (L.). FIRST RECORD IN POLAND

WITOLD JEŻEWSKI

W. Stefański Institute of Parasitology of the Polish Academy of Sciences, 00 818 Warszawa,
ul. Twarda 51/55, Poland

The study on infection of the bream *Abramis brama* with *Ligula intestinalis* was conducted in the Gosławskie Lake (middle Poland) in the years 2000-2002.

Ligula intestinalis plerocercoids (L., 1758) were found in the muscles of two breams (*Abramis brama*) from the lake Gosławskie of the Konin lakes complex, polluted to various degrees with thermal effluents of an electric power station. This species was noted, only in the body cavity of fish (plerocercoid) and intestine of final hosts – birds. This parasite localization in breams' muscles, has not been noted until now in Poland.

PASOŻYTY ZEWNĘTRZNE SARNY *CAPREOLUS CAPREOLUS* (L.) Z POLSKI PÓŁNOCNO-ZACHODNIEJ

SŁAWOMIR KADULSKI I DOROTA KWIATKOWSKA

Pracownia Parazytologii i Zoologii Ogólnej, Katedra Zoologii Bezkręgowców, Uniwersytet Gdański,
81-378 Gdynia, Al.Marsz. Piłsudskiego 46

Stan poznania pasożytów Cervidae w Polsce jest zróżnicowany. Dość dobrze poznano ektopasożyty jelenia czy łośa (np. Kadulski 1996). Ostatnio ukazało się sporo publikacji o pasożytach zewnętrznych danieli (m.in. Kadulski i Szczurek 2001, Szczurek i Kadulski 2004). Na tym tle wydaje się, że parazytofauna sarny jest słabo poznana (Kaczmarek i Kołodziej 1994).

Badania prowadzono od września 2002 roku do stycznia 2004 roku na obszarze województwa pomorskiego, zachodnio-pomorskiego, kujawsko-pomorskiego i wielkopolskiego. Pasożyty zbierano w punktach skupu zwierząt łownych. Pasożyty sierściowe wybierano pincetą przeszukując sierść sarny w pasach co 5-7cm, szczególnie zwracając uwagę na szyję, fałdy łokciowe i kolanowe. Łącznie przebadano 253 sarny.

Na *Capreolus capreolus* znaleziono obecnie cztery taksony pasożytów sierściowych: Insecta-Diptera: *Lipoptena cervi*; Mallophaga: *Damalinia (Cervicola) meyeri*; Arachnida-Acari: *Ixodes ricinus*. Ponadto *Lipoptena cervi* mająca kilka cech *L. fortisetosa*.

Lipoptena cervi – ekstensywność wynosiła 59%, intensywność ok. 3,5 egz. Najbardziej zarazone były koźlęta – ekstensywność 77%, intensywność 4,6 egz. Osobniki dojrzałe płciowo były wyraźnie słabiej zarazone np. samce – koźły były prawie dwukrotnie słabiej zainfestowane (ekstensywność 39%, intensywność ok. 1,3 egz.).

W ciągu roku nasilenie infestacji zmieniało się: wiosną było niewielkie (intensywność ok. 1,4 egz.), latem nieco wzrastało, aby jesienią osiągnąć maksimum – intensywność sięgała 3,8 egz. (np. w grudniu wynosiła ok. 4,6 egz.). Natomiast zimą intensywność już nieco opadała, aby wiosną dojść do minimum. Podobnie układała się ekstensywność.

Nasilenie infestacji sarny przez *Damalinia (C.) meyeri* było niewielkie. Po przebadaniu 253 saren tylko na 18 znaleziono wszoły; ekstensywność wynosiła 7%, intensywność 25 egz. Tak niskie zarażenie jest zastanawiające, gdyż na ogół podaje się, że zapasożycenie populacji saren przez *D. meyeri* sięga 15-20% (Piotrowski 1980).

Ixodes ricinus na sarnie notowano często. Ekstensywność sięgała wiosną nawet blisko 90%, także latem była wysoka (w sierpniu 77%). Zimą ekstensywność bardzo opadała i wynosiła ok. 4%. Może to sugerować, że część populacji kleszczy zimuje na sarnie. Jest to zjawisko, które ostatnio jest coraz częściej obserwowane na kopytnych. Na sarnie oprócz *Lipoptena cervi* znaleziono także kilkanaście egzemplarzy *Lipoptena* mających kilka cech podawanych dla *L. fortisetosa* (Borowiec 1984), natomiast nie znaleziono egzemplarzy strzyżaka z wszystkimi cechami *Lipoptena fortisetosa* Maa.

***SYNCUARIA SQAMATA* (LINSTOW, 1883) (NEMATODA: ACUARIIDAE),
A PARASITIC NEMATODE SPECIES NEW FOR THE FAUNA OF
POLAND, IN THE BLACK CORMORANT (*PHALACROCORAX CARBO*)**

GERARD KANAREK, LESZEK ROLBIECKI I JERZY ROKICKI

University of Gdańsk, Department of Invertebrate Zoology, 81-378 Gdynia,
Al. Marsz. Piłsudskiego 46, E-mail: kanarek@sat.ocean.univ.gda.pl

So far, the nematode fauna of the Black Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Poland has been very poorly known. It was only Okulewicz (1989, 1993) and Żuchowska (2000) who reported the presence of *Baruscapillaria carbonis* (Dubinin et Dubinina, 1940) and *Contracaecum rudolphii* (Harwich, 1964), respectively.

In 2000-2001, a batch of 90 birds consisting of 12 adults and 78 juveniles (from newly hatched nestlings to 7-8 week-old fledglings) was collected from a breeding colony at Kąty Rybackie on the Vistula Spit and from the Vistula Lagoon. Additional 18 specimens (15 adults and 3 young in their first year of life) were obtained from Lake Selmęt Wielki near Ełk.

Stomachs of the young birds (90.1%) from the Vistula Lagoon revealed the presence of 1214 nematodes identified as *Syncuaria sqamata* (Linstow, 1883). The species identification was consulted with Professor V. Barus (Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic). The mean infection intensity and range amounted to 22.7 and 1-120 parasites, respectively. One young and one adult cormorant from Ełk yielded a single *S. sqamata* each.

This is the first record of *S. sqamata* in Poland. The nematode is specific of the Phalacrocoracidae and occurs in various areas of the world. The life cycle involves ostracods as intermediate hosts and fish of various families as paratenic hosts, the only source of infestation for the Black Cormorant (definitive host), a typical piscivore. It is interesting that it is the young birds that are primarily affected. Assuming the adult cormorants to feed their offspring the fish species they eat themselves, it can be presumed that the nematode's presence in the young birds is related to their limited immunoresistance.

CANINE BABESIOSIS IN POLAND

GRZEGORZ KARBOWIAK¹, IRENA WITA¹, URSZULA CZAPLIŃSKA¹, SUSAN SLEMENDA² I NORMAN J. PIENIAŻEK²

¹W. Stefański Institute of Parasitology of Polish Academy of Sciences, 00-818, Warsaw, Twarda Str. 51/55, Poland; ²Center for Disease Control and Prevention, Parasitic Diseases Branch, Mailstop F36, 4770 Buford Highway NE, Atlanta, GA 30341, USA .

During the last several years there were many anecdotal reports noting the increase of cases of canine babesiosis in Poland and in other countries in Central Europe. Despite the fact that no hard epidemiologic data exist, it is clear that infections occur mainly in central and southeastern parts of Poland; however, new foci are still being reported. Most veterinarians when asked about canine babesiosis, report that about 5-10% of dogs they see are infected. Possibly, this prevalence increases with the peak of tick bites in May and in August/September. However, it is impossible to estimate the prevalence of canine babesiosis among the dogs that were not brought to clinics and among stray dogs.

If the incidents of canine babesiosis are truly on the rise, the reasons are unclear. One of them may be been climate change observed during last several years in Europe. Higher temperatures from December to February are favorable to over-wintering of ticks and may contribute to the increase in their populations. This may lead to an increase of tick-borne diseases infections. It is also possible that the duration of seasonal activity of ticks increased. Indeed, active *Dermacentor reticulatus* ticks have been collected from dogs by us in December. An additional factor contributing to the increase of canine babesiosis may be the popularity foreign travel which favors the import of parasitic infections from Southern Europe and tropical zone.

On the other hand, it is important to recognize the progress in the diagnosis of parasitic diseases in Poland. Until recent, the diagnosis was based only on the clinical symptoms, and many cases may have been misdiagnosed or not diagnosed at all. During the last several years the situation improved a lot; there are more small-animal veterinarians using the service of regional diagnostic laboratories. This situation favors the detection of cases that would not be recognized in the past and may contribute to the observed increase of infection.

The situation is complicated by fact, that there are several genetically distinct and displaying different pathogenicity *Babesia canis* species infecting dogs:

Babesia canis canis, *B. canis vogeli*, and *B. canis rossi*. Moreover, infections may be caused by species morphologically distinct from *B. canis*, such as *Babesia gibsoni* and the newly described *Theileria (Babesia) annae*, presently known only from infections in Spain. Combined use of morphological and molecular diagnosis is needed to monitor this infection.

Acknowledgements: We would like to thank the staff of „Laboratorium Weterynaryjne Animal-Lab” in Warsaw, „Lecznica Azorek” in Lublin and dr Bogusław Rocki from „Hotel dla Zwierząt Bazyli” in Łomna-Las for diagnostic samples as well as for epidemiologic information

RÓŻNORODNOŚĆ BIOLOGICZNA POLSKI – PASOŻYTNICZE PIERWOTNIAKI

STANISŁAW L. KAZUBSKI

Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, ul. Wilcza 64

W opracowaniu „Różnorodność gatunkowa pierwotniaków” w dziele „Różnorodność biologiczna Polski” red. R. Andrzejewski i A. Weigle, wyd. Narodowej Fundacji Ochrony Środowiska, Warszawa 2003, 83-91, odnotowałem w Polsce nieco ponad 1150 gatunków pierwotniaków, należących do większości grup systematycznych, z wyłączeniem glonów i niższych grzybów. W tej liczbie znajdują się liczne pasożyty: 50 gat. Microsporidia; 50 gat. Myxozoa oraz 14 gat. dawnych Actinomyxidia; 262 gat. Apicomplexa, w tym 143 gat. gregaryn i 111 gat. kokcydii, ale tylko 6 gat. krwinkowców i 2 gat. piroplazm. Na ogólną liczbę 577 znanych w Polsce gatunków Ciliophora – 201 to orzęski pasożytnicze, podobnie jak 6 gat. Opalinidae. Z 148 gatunków pełzaków, zaliczanych obecnie do różnych grup systematycznych, odnotowano 15 gatunków pasożytów. A z pierwotniaków wiciowych, pasożytami są wszystkie znane w Polsce: Diplomonadida – 7 gat., Kinetoplastea – 23 gat., Trichomonadida – 14 gat. i Retortamonadida – 2 gat. W Polsce odnotowano także 3 gatunki pasożytniczych Euglenoidea. Pasożytami są także 2 gatunki Haplospora i 6 pierwotniaków o nieustalonej pozycji systematycznej (w tym Pneumocystis). Ogółem więc w Polsce jest odnotowanych 647 gatunków pasożytniczych, co stanowi 56,25% wszystkich gatunków pierwotniaków stwierdzanych w Polsce. Warto dodać, że w tej liczbie znajduje się 141 nowych gatunków opisanych w Polsce.

Podsumowując można stwierdzić, że w Polsce są grupy poznane dobrze – Microsporidie, Myxozoa, gregaryny i kokcydzie z Apicomplexa, Ciliophora, ale są także grupy poznane słabo, zwłaszcza wśród pełzaków i wiciowców. Widać także, że poznawanie pierwotniaków w Polsce odbywało się pod wpływem parazytologii i potrzeb człowieka, w wielu grupach, zwłaszcza gorzej poznanych, były badane przede wszystkim gatunki występujące u człowieka i w jego najbliższym otoczeniu.

KLESZCZE GRYZONI Z MASYWU ŚLĘŻY (DOLNY ŚLĄSK)

DOROTA KIEWRA I MARIA MODRZEJEWSKA

Zakład Parazytologii, Instytut Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego,
51-148 Wrocław, ul. Przybyszewskiego 63/77

Badania przeprowadzono w latach 2002-2003 w Masywie Ślęży – popularnym miejscu rekreacyjnym mieszkańców Wrocławia. Odłowiono 52 gryzonie należące do dwóch rodzajów: *Apodemus* (30 osobników) i *Clethrionomys* (22). Rodzaj *Apodemus* reprezentowany był przez trzy gatunki: *A. agrarius* (18), *A. flavicollis* (8) i *A. sylvaticus* (4), zaś rodzaj *Clethrionomys* przez gatunek – *C. glareolus*. Kleszcze stwierdzono u 45 gryzoni co stanowi 86,5%. Wyższą infestację zanotowano u *Apodemus* (90,0%), niż u *Clethrionomys* (81,8%). Z badanych gryzoni zebrano ogółem 425 kleszczy należących do dwóch gatunków: *Ixodes (I.) ricinus* i *Ixodes (Exopalgiger) trianguliceps*. Łącznie zebrano 392 *I. ricinus* (339 larw i 53 nimfy) i 33 *I. trianguliceps* (25 larw, 7 nimf i jedną samicę).

Gatunkiem dominującym był *I. ricinus* występujący u 80,7% badanych gryzoni (*Apodemus* – 83,3%, *Clethrionomys* – 77,3%). Średnia intensywność infestacji *I. ricinus* wynosiła 9,3, przy czym była prawie dwukrotnie wyższa u *Apodemus* (11,2), niż u *Clethrionomys* (6,6). Ekstremalna intensywność wynosiła od 1 do 74 dla myszy (1-67 larw i 1-9 nimf) i od 1 do 35 dla nornicy (1-28 larw, 1-7 nimf).

Ixodes trianguliceps znaleziono u 12 gryzoni, co stanowi 23,1% badanej populacji. Myszy były ponad dwukrotnie częściej opadnięte przez *I. trianguliceps* (30,0%) niż nornice (13,6%). Średnia intensywność infestacji wynosiła 2,75 i była wyższa dla *Apodemus* (3,0) niż dla *Clethrionomys* (2,0). Największa liczba *I. trianguliceps* znalezionych na jednym osobniku (*A. agrarius*) wynosiła 9 (wyłącznie larwy). Samica *I. trianguliceps* zebrana została jedynie z *A. flavicollis*. Koinwazję obu gatunków kleszczy odnotowano u 9 gryzoni (17,3%), w tym u siedmiu z rodzaju *Apodemus* (23,3%) i dwóch *Clethrionomys* (9,1%).

OZNACZANIE WYBRANYCH NICIENI Z NADRODZINY ASCARIDOIDEA ZA POMOCĄ METODY PCR-RFLP

AGNIESZKA KIJEWSKA^{1,2}, JERZY ROKICKI^{1,2} I BORYS WRÓBEL^{1,3}

¹Instytut Oceanologii PAN, Zakład Genetyki, ul. Św. Wojciecha 5, 81-347 Gdynia; ²Katedra Zoologii Bezkręgowców, Uniwersytet Gdański, Al. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia; ³Cavanilles Institute for Biodiversity and Evolutionary Biology, University of Valencia, Spain;

Czternaście gatunków należących do rodziny Ascarididae, Anisakidae i Raphidascarididae zostało oznaczonych za pomocą metody PCR-RFL. Zbadano dwa gatunki siostrzane z kompleksu *Anisakis* (*A. simplex* i *A. pegreffii*) oraz morfologicznie różny od nich gatunek *Anisakis physeteris*. Ponadto zbadano gatunki *Contracaecum osculatum*, *C. radiatum*, *C. rudolphi* (pasożyty pletwonogich oraz ptaków rybożernych) i *Pseudoterranova decipiens* (pasożyt fok) oraz należące do rodziny Raphidascarididae gatunki *Raphidascaris acus*, *Hysterothylacium bidentatum* i *Hysterothylacium aduncum* pasożytujące na rybach. Rodzinę Ascaridida reprezentowały gatunki pasożytnicze ptaków *Porrocaecum ensicaudatum*, *P. angusticolle*, *P. depressum* i *P. crassum*. Rejon rybosomalnego DNA amplifikowany metodą PCR obejmował dwa odcinki niekodujące oraz gen 5.8S (ITS1 – 5.8S – ITS2). Do trawienia użyto endonukleaz *Taq I*, *Alu I*, *Bsu RI* i *Rsa I*. Wzory restrykcyjne uzyskane z pomocą poszczególnych endonukleaz były charakterystyczne i niezmiennie dla każdego gatunku. Metoda oznaczania wymienionych gatunków nicieni może być z powodzeniem używana do celów identyfikacji gatunku niezależnie od stadium rozwojowego i regionu geograficznego, z którego pochodzą próby.

Na podstawie sekwencji DNA obejmujących amplifikowany rejon, uzyskanych dla badanych gatunków opracowano także relacje filogenetyczne w obrębie nadrodziny Ascaridoidea. Wyniki potwierdziły odrębny status gatunków *Hysterothylacium* i *Raphidascaris acus* jak proponował to Fagerholm (1991). Na podstawie analizy stwierdzono także polifiletyzm podrodziny Toxocarinae oraz potwierdzono bliskie pokrewieństwo gatunków Ascaridinae charakteryzujących się monoksenicznym cyklem rozwojowym.

GRZYBY WODNE WYSTĘPUJĄCE W STAWACH I RZEKACH WOJEWÓDZTWA PODLASKIEGO

BOŻENA KIZIEWICZ

Zakład Biologii Ogólnej, Akademia Medyczna, ul. Kilińskiego 1, 15-089 Białystok;
E-mail: bkizbiol@amb.edu.pl

Celem badań było ustalenie różnorodności gatunkowej grzybów w stawach kąpieliskowych w Dojlidach, hodowlanych w Knyszynie i Topilcu oraz naturalnych w Białowieży i w rzekach zasilających stawy, znajdujących się na terenie województwa podlaskiego, stwierdzenie lub wykluczenie potencjalnych czynników etiologicznych grzybic, ustalenie wpływu czynników fizykochemicznych na rozwój i morfologię grzybów wodnych.

Woda stanowi duże skupisko grzybów. Wiele gatunków grzybów wodnych prowadzi pasożytniczy tryb życia i może stanowić czynnik etiologiczny chorób zwierząt. Duże zagrożenie między innymi dla ryb wykazują grzyby pleśniowe. Występują one nie tylko na osobnikach dojrzałych, ale także na ikrze i na narybku. Grzybami o takich preferencjach są grzyby zoosporowe *Achlya prolifera*, *Ac. oblongata*, *Ac. radiosa*, *Aphanomyces laevis*, *Dictyuchus monosporus*, *Saprolegnia diclina*, *Saprolegnia ferax*, *S. hypogyna*, *S. monoica*, *S. paradoxa* i *S. parasitica*. Gatunki te stanowią przyczynę znacznych strat w hodowli ryb w stawowych, jeziorowych i rzecznych gospodarstwach rybnych.

W wodach powierzchniowych spotykane są grzyby patogeniczne, które przy obniżonej odporności wywołują grzybice oraz alergie u ludzi. Wśród tej grupy znajdują *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Microsporum gypseum*, *Rhizopus nigrans*, *Trichophyton raubitschekii* oraz *Trichosporon cutaneum*.

Grzyby wodne występują w środowisku o zachowanej równowadze ekologicznej jak też w środowisku zdegradowanym ekspansywną działalnością człowieka. Niektórzy przedstawiciele grzybów wodnych stanowią bioindykatory wód o różnym stopniu zanieczyszczenia i brane są pod uwagę w monitoringu hydrosfery. Do takich grzybów należy *Leptomitus lacteus* pojawiający się w wodach o znacznym ładunku zanieczyszczeń.

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF TESTES AND EPIDIDYMIDES IN THE COURSE OF FASCIOSIS IN RATS

LIDIA KOŁODZIEJCZYK¹ I BARBARA WISZNIEWSKA²

¹Chair and Department of Biology and Medical Parasitology; ²Chair and Department of Histology and Embryology, Pomeranian Medical University, 70-111 Szczecin, al. Powstańców Wlkp. 72

The present study was based on 40 male Wistar rats exposed to a dose of 30 metacercariae of *F. hepatica*. At 4, 7, 10, and 13 weeks post infection (wpi) the testes and epididymides of rats were stained with PAS method. No morphological changes were detected in the epididymides of rats infected with *F. hepatica* neither in the acute- nor in the chronic phase of fasciolosis. Sporadically in the testes of rats (7 wpi) multinuclear cells were present in the seminiferous tubules, without, however, changes in the number of spermatozoa in the lumen of the epididymis. The above-mentioned observations may be an evidence of the continuity (no damage) of the blood-testis barrier and about its effectiveness in the course of fasciolosis.

**THE PREVALENCE OF *BORRELIA BURGdorFERI* S. L.
IN MOSQUITOES (*CULICIDAE*) IN FOREST AREAS OF SZCZECIN**

DANUTA KOSIK-BOGACKA, KATARZYNA GÓRNIK I WANDA KUŻNA-GRYGIEL

Chair and Department of Biology and Medical Parasitology, Pomeranian Medical University,
70-111 Szczecin, 72 Powstańców Wielkopolskich

The aim of the study was to determine the infection level of mosquitoes with spirochetes *Borrelia burgdorferi* s.l. in forest areas of the city of Szczecin. The mosquitoes were collected from June to September 2003. The spirochetes, *Borrelia burgdorferi* s. l. present in mosquitoes were detected with indirect immunofluorescence assay (IFA) using rabbit anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies and goat anti-rabbit IgG marked with fluorescein isocyanate (FITC). A total of 1557 females and 58 males were collected. They represented genera *Aedes* (63%) and *Culex* (37%). The infection level of the mosquitoes from the area studied amounted to 1.7%. The results of the present study confirm a potential of those arthropods to spread Lyme borreliosis.