

## WYKORZYSTANIE SEKWENCJI POWTÓRZONEJ TANDEMOWO DO IDENTYFIKACJI *FASCIOLA HEPATICA* U ŻYWICIELI POŚREDNICH

MONIKA KOZAK-CIĘSZCZYK I HALINA WĘDRYCHOWICZ

Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, 00-818 Warszawa, ul. Twarda 51/55;  
E-mail: mkozak@twarda.pan.pl

W genomie wielu pasożytów znajdują się sekwencje powtórzone mogące służyć identyfikacji organizmu na różnych szczeblach taksonomicznych. Są to sekwencje nie kodujące, często tandemowo ułożone w bardzo wielu kopiach, typowo nie przekraczające długości tysiąca par zasad. Sekwencję tandemowo powtórzoną wykryto również u *Fasciola hepatica*. Jest to powtórzenie 124-nukleotydowe, występujące w około 300000 kopii w genomie przywry. Duża liczba powtórzeń poszukiwanej sekwencji sprzyja wysokiej czułości metody, jednak jej charakterystyczne ułożenie stwarza pewne problemy przy wykorzystaniu jej w metodzie opartej na amplifikacji DNA.

Celem pracy jest przedstawienie sposobu opracowania optymalnych warunków reakcji łańcuchowej polimerazy służącej do wykrywania obecności DNA *Fasciola hepatica* u żywicieli pośrednich, ślimaków *Galba truncatula*, ze szczególnym uwzględnieniem specyfiki pracy z sekwencją ułożoną tandemowo. Największym problemem jest powstawanie wielokrotności sekwencji docelowej co nie pozwala uzyskać pojedynczego prążka po rozdiale na żelu. Konieczne jest zastosowanie stężeń reagentów wykraczających poza typowe zakresy przyjęte dla metody PCR. W pierwszej kolejności zostały dobrane warunki optymalne w oparciu o kontrolę pozytywną, to jest DNA wyizolowane od dorosłych przywr. Następnie sprawdzono czułość testu na grupie ślimaków zarażonych miracidiami przywry. Badano ślimaki zarażone różną liczbą miracidów i w różnych dniach po zarażeniu. Opracowany test umożliwia wykrycie materiału genetycznego przywry już w 24 godziny po zarażeniu ślimaka pojedynczym miracidium *Fasciola hepatica*. Po pokonaniu wstępnych trudności otrzymano test o wysokiej czułości i powtarzalności.

## MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) OF THE VISTULA SPIT

BEATA KUBICA-BIERNAT<sup>1</sup> I BEATA KOWALSKA-ULCZYŃSKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Interfaculty Institute of Maritime and Tropical Medicine Medical University of Gdańsk, 81-519 Gdynia, ul. Powstania Styczniowego 9B; <sup>2</sup>I Academic Secondary School in Gdynia, 81-547 Gdynia, ul. Folwarczna 2

The Vistula-spit (Mierzeja Wiślana) is situated between the Vistula Lagoon (*Zalew Wiślany*) – a shallow reservoir of brackish water and the Bay of Gdańsk (*Zatoka Gdańska*) – a part of the Baltic Sea. It is about 50 km long and 0.5-1.8 km wide. The small town Krynica Morska situated there has belonged from the 30's to the to the most popular and overcrowded summer resorts of this region. Especially in tourist resorts, where mosquitoes can occur in enormous quantities, the problem of disturbance may cause serious damage to economy as in some localities in Poland (especially in its northern part) tourism is the main or the only source of income for majority of local inhabitants. Good knowledge of mosquito fauna is the essential condition of effective mosquito control action.

Mosquito larvae were caught with a dipper. Most larval habitats have shallow, stagnant water and max. 80 cm deep. A lot of them have dark-brown water being a result from a big amount of fallen leaves. They are situated in the town and in the forest on both sides of main roads leading along the Vistula-Spit. Adult mosquitoes were collected first of all using CO<sub>2</sub> traps. Moreover mosquitoes were caught on human bait in the forest (coniferous and mixed type) and in the cow-sheds using a Nabokov-Zeifert exhaustor. Mosquito males were collected from bushes and weed with an entomological net.

The first qualitative studies carried out on mosquito fauna in Krynica Morska region in 1959 showed occurrence of 13 mosquito species, among them those which usually occur in mass numbers and cause serious nuisance problems. The qualitative and quantitative studies on mosquito fauna in 2000 and 2001 showed the presence of 24 species, out of 47 being reported in Poland, representing 6 genera: *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*, *Coquillettidia* and *Ochlerotatus*. In this study we found 12 species new for this area: *Cs. annulata*, *Cs. morsitans*, *Cx. territans*, *Oc. annulipes*, *Oc. caspius*, *Oc. cataphylla*, *Oc. communis*, *Oc. exrucians*, *Oc. geniculatus*, *Oc. intrudens*, *Oc. leucomelas* and *Oc. sticticus*. So far, we have not noted two species previously recorded: *Cs. ochroptera* and *Oc. cyprius*. The predominant species was *Ochlerotatus cantans* followed by *Oc. communis*. Both are very common in Poland and can breed in huge amounts.

## WEED FISHES FROM THE RIVER BRYNICA AS A SOURCE AND A VECTOR OF PARASITIC CRUSTACEANS

SŁAWOMIR KWIATKOWSKI AND ZBIGNIEW POKORA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of General and Molecular Biology, and Genetics, Silesian Medical University,  
40-752 Katowice, ul. Medyków 18, Poland

Fishes inhabiting water-courses supplying dam reservoirs may play an important role in epizootiology of parasitic diseases of fish bred in these reservoirs. The aim of this work was to detect the occurrence of strongly pathogenic crustaceans *Argulus foliaceus* and *Ergasilus sieboldi* in subpopulations of young individuals of common fish species in upper course of the Brynica river, supplying the storage reservoir in Kozłowa Góra (the Silesian Upland). The stock of the reservoir made the multispecies community of fishes.

Fishes (53 perch, 51 bream, 47 roach, 46 rudd, 38 sunbleak; all specimens in the age classes 0-2+) were caught on the station in the distance of 750 m from inflow of the river into the reservoir.

The main hosts of *A. foliaceus* in upper course of the river seem to be perch, roach and sunbleak (prevalences of the infection were 32.1%, 29.8%, 28.9%, respectively, vs. 8.7% and 9.8% in young rudd and bream. The highest prevalence of gills with *E. sieboldi* was observed in subpopulations of bream (35.3%) and roach (25.5%; vs. the lowest prevalence in the subpopulation of young sunbleak 7.9%). Co-occurrence of both crustaceans on infected fish was observed occasionally (from 7.1% of infected rudd and roach to 16.7% of infected perch, the Yule's coefficient for non-measurable characteristics  $Q = 0.22$ ). There were not ascertained significant differences among the condition factor of fish infected with crustaceans and non-infected with these parasites. There was not proved the relationship between occurrence of crustaceans and relative intensity of infection with plerocercoids of the cestode *Ligula intestinalis*, which was the commonest internal parasite in examined fish (the ratio of correlation  $\eta = 0.17$ ).

## **SCHORZENIA PASOŻYTNICZE PRZEWODU POKARMOWEGO W ARMII POLSKIEJ W LATACH 1922-1931 WG SPRAWOZDANIA GEN. STANISŁAWA ROUPPERTA DO MARSZAŁKA JÓZEFA PIŁSUDSKIEGO**

**JAN LACH, JANUSZ BANY I JERZY BZDEGA**

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. Karola Kaczkowskiego, 01-163, Warszawa,  
ul. Kozielska 4

W roku 1933 szef Departamentu Zdrowia Ministerstwa Spraw Wojskowych gen. brygady dr Stanisław Rouppert przedłożył Głównemu Inspektorowi Sił Zbrojnych, a praktycznie Naczelnemu Wodzowi Wojska Polskiego Marszałkowi Polski Józefowi Piłsudskiemu, zbiorcze sprawozdanie o stanie zdrowotnym armii w okresie dziesięciolecia 1922-1931. Znajdowały się w nim również dane o liczbie żołnierzy leczonych w szpitalach wojskowych z powodu schorzeń pasożytniczych. Wymieniano tam następujące inwazje pasożytnicze: tasiemca bąblowcowego, włośnicę, glistnicę, włosogłówczycę, pełzakowicę i lambliozę. Z tego sprawozdania wynika, że w latach 1922-1931, w dziesięciu szpitalach podlegających Dowództwom Okręgów Korpusu (DOK) leczono 716 żołnierzy z powodu inwazji pasożytniczych, w tym w DOK: I Warszawa 55 chorych, DOK II Lublin – 36, DOK III Grodno – 91, DOK IV Łódź – 26, DOK V Kraków – 81, DOK VI Lwów – 137, DOK VII Poznań – 50, DOK VIII Toruń 2 – 93, DOK IX Brześć nad Bugiem – 72, DOK X Przemyśl – 75. Najwięcej żołnierzy leczono z powodu tasiemczycy – 468 osób, następnie glistnicy i włosogłówczycy – 150, bąblowicy – 38 (w tym 2 zgony), włośnicy – 36, pełzakowicy i lambliozy – 24 osoby.

W poszczególnych latach liczby leczonych żołnierzy przedstawiały się następująco: 1922 – 47 chorych, 1923 – 49, 1924 – 62, 1925 – 66, 1926 – 107, 1927 – 109, 1928 – 78, 1929 – 67, 1930 – 74, 1931 – 57 chorych. Armia w opisywanych latach liczyła około 300 000 żołnierzy.

## ZACHOROWANIA NA ŚWIERZB W WOJSKU POLSKIM W LATACH 1922–1931 W ŚWIETLE SPRAWOZDANIA GEN. STANISŁAWA ROUPPERTA DO MARSZAŁKA JÓZEFA PIŁSUDSKIEGO

JAN LACH<sup>1</sup>, JERZY BZDEGA<sup>1</sup> I ALINA CHRABOŁ-SURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, 01-163 Warszawa, ul. Kozielska 4; <sup>2</sup>Samodzielny Zespół Publicznych Zakładów Lecznictwa Otwartego Warszawa-Praga Północ, 03-719 Warszawa, ul. Jagiellońska 34

W roku 1933 Szef Departamentu Zdrowia Ministerstwa Spraw Wojskowych gen. bryg. Stanisław Rouppert przedłożył Głównemu Inspektorowi Sił Zbrojnych i Naczelnemu Wodzowi Wojska Polskiego Marszałkowi Polski Józefowi Piłsudskiemu zbiorcze sprawozdanie o stanie zdrowotnym armii w okresie dziesięciolecia 1922-1931. Znajdowały się w nim także dane o liczbie żołnierzy leczonych w szpitalach wojskowych z powodu świerzbu (*scabies*). Ze sprawozdania tego wynika, że w latach 1922-1931 w dziesięciu szpitalach podlegających Dowództwom Okręgów Korpusu (DOK) leczono z powodu świerzbu 6076 żołnierzy, w tym w DOK I Warszawa 1061 osób, DOK II Lublin – 681, DOK III Grodno – 918, DOK IV Łódź – 183, DOK V Kraków – 503, DOK VI Lwów – 1171, DOK VII Poznań – 40, DOK VIII Toruń – 57, DOK IX Brześć – 954, DOK X Przemyśl – 508.

W poszczególnych latach liczby leczonych we wszystkich szpitalach przedstawiały się następująco:

Rok	1922	1923	1924	1925	1926	1927	1928	1929	1930	1931
Liczba leczonych	1124	833	532	352	633	730	542	437	434	459
Wsk. na 1000 os. st. liczb.	3,52	2,74	2,10	1,33	2,60	2,88	2,05	1,64	1,63	1,7

Dane z tabeli wskazują, że liczba zachorowań zmniejszała się w latach 1922-1925, by wzrosnąć w 1926 i 1927 roku. W następnym okresie 1928-1931 obserwuje się ponowny spadek zachorowań. Armia w opisywanym czasie liczyła około 300 000 żołnierzy.

## ZACHOROWANIA NA ZIMNICĘ W WOJSKU POLSKIM W LATACH 1922-1931 WEDŁUG SPRAWOZDANIA GEN. STANISŁAWA ROUPPERTA DO MARSZAŁKA JÓZEFA PIŁSUDSKIEGO

JAN LACH<sup>1</sup>, TERESA SULGOSTOWSKA<sup>2</sup> I JERZY BZDEGA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, 01-163 Warszawa, ul. Kozielska 4; <sup>2</sup>Zakład Zoologii SGGW w Warszawie, Katedra Biologii Środowiska Zwierząt, 02-786 Warszawa, ul. Ciszewskiego 8

W roku 1933 Szef Departamentu Zdrowia Ministerstwa Spraw Wojskowych gen. bryg. Stanisław Rouppert przedłożył Głównemu Inspektorowi Sił Zbrojnych i Naczelnemu Wodzowi Wojska Polskiego Marszałkowi Polski Józefowi Piłsudskiemu zbiorcze sprawozdanie o stanie zdrowotnym armii w okresie dziesięciolecia 1922-1931, znajdowały się w nim także dane o liczbie żołnierzy leczonych w szpitalach wojskowych z powodu zimnicy (plasmodiosis). Ze sprawozdania wynika, że w okresie sprawozdawczym w dziesięciu szpitalach podlegających Dowództwom Okręgów Korpusu (DOK) leczono z powodu zimnicy 7442 żołnierzy (armia w tym okresie liczyła około 300000 żołnierzy). W tym w DOK I Warszawa chorowało 1699 osób, DOK II Lublin – 655, DOK III Grodno – 538, DOK IV Łódź – 279, DOK V Kraków – 295, DOK VI Lwów – 449, DOK VII Poznań – 235, DOK VIII Toruń – 178, DOK IX Brześć – 2736, DOK X Przemyśl – 378.

W poszczególnych latach liczby leczonych we wszystkich szpitalach przedstawiały się następująco:

Rok	1922	1923	1924	1925	1926	1927	1928	1929	1930	1931
Liczba leczonych	3806	1508	653	510	301	261	207	89	57	50
Wsk. na 1000 os. st. liczb.	11,95	4,96	2,56	1,94	1,23	1,02	0,78	0,33	0,21	0,19

Z tabeli wynika, że zachorowalność na zimnicę była najwyższa w 1922 roku, a w następnych latach systematycznie obniżała się. Prawdopodobnie spowodowane to zostało zwiększeniem skuteczności działalności zapobiegawczej.

**REDESCRIPTION OF A SUB-ANTARCTIC  
ACANTHOCEPHALAN *ASPERSENTIS JOHNI* (BAYLIS, 1929)  
(PALAEACANTHOCEPHALA, HETERACANTHOCEPHALIDAE)**

**ZDZISŁAW LASKOWSKI AND KRZYSZTOF ZDZITOWIECKI**

W. Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences, 00 818 Warszawa, ul. Twarda 51/55, Poland and Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences, 02-141 Warszawa, ul. Ustrzycka 10, Poland

*Aspersentis johni* (Baylis, 1929) (Acanthocephala: Heteracanthocephalidae) is redescribed based on specimens collected from a sub-Antarctic nototheniid fish, *Patagonotothen longipes*. Hosts were caught in the Beagle Channel (Magellanic sub-region). The redescription contains previously undescribed or poorly described features and complete measurements. Acanthocephalans have a strong dorso-ventrally asymmetrical armament of the proboscis (ventral hooks are much larger than dorsal), presence of conspicuous spines on the anterior part of the trunk and smaller spines occurring more posterior up to the body end, and narrow lemnisci longer than the proboscis receptacle. The most important features useful for distinguish *A. johni* from *A. megarhynchus* (Linstow, 1892) are: 10-13 proboscis hooks in row, maximum length of ventral hooks 0.077-0.108 mm, narrower proboscis with length/width ratio 2.16-3.22:1 (mean 2.78:1), egg length 0.087-0.102 mm and unusual posterior body end of females (presence of the terminal concavity between two lateral lobes).

## TOKSOPLAZMOZA WRODZONA U BLIŹNIĄT W MATERIALE WŁASNYM

**BOŻENA LIPKA<sup>1</sup>, BOGUMIŁA MILEWSKA-BOBULA<sup>1</sup>, DOROTA DUNIN-WĄSOWICZ<sup>1</sup>,  
BARBARA KASSUR-SIEMIĘŃSKA<sup>1</sup>, MIROŚŁAWA IDZIK<sup>1</sup>, MIROŚŁAWA SZRETER<sup>2</sup> I  
EWA WITKOWSKA-VOGTT<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Klinika Niemowlęca, <sup>2</sup>Klinika Okulistyki, <sup>3</sup>Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, 04-730 Warszawa, Al. Dzieci Polskich 20

Częstość występowania zarażenia wrodzonego *T. gondii* w ciąży bliźniaczej nie jest znana. W piśmiennictwie istnieje niewiele publikacji na temat wrodzonej toksoplazmozy u bliźniąt. Podobnie jak w przypadku ciąży pojedynczych, do zarażenia płodów dochodzi tym częściej, w im późniejszym okresie ciąży nastąpi pierwotne zarażenie ciężarnej. Nie potwierdzono jednoznacznie większego odsetka wcześniactwa w ciążach zarażonych. Infekcji ulegają zwykle oba płody, rzadziej jeden z nich (z reguły w ciąży dwujajowej). Istnieje wyraźna zgodność przebiegu klinicznego u bliźniąt jednojajowych, której nie obserwuje się w przypadku bliźniąt dwujajowych – co wskazuje na kluczową rolę łożyska w transmisji zarażenia na płód. Zgodność przebiegu klinicznego u bliźniąt jednojajowych, a więc o identycznym wyposażeniu genetycznym w porównaniu z bliźniętami dwujajowymi (zgodność genowa w około 50%) może przemawiać za przewagą czynników genetycznych nad środowiskowymi.

W latach 1988-1999 pod opieką Kliniki Niemowlęcej IP-CZD pozostawały 4 pary bliźniąt dwujajowych z toksoplazmozą wrodzoną. Wiek dzieci w chwili rozpoczęcia obserwacji wahał się od 4 tygodnia życia do 6 lat, zaś w chwili ukończenia obserwacji wynosił od 3 do 13 roku życia. Długość obserwacji wynosiła od 3 do 9 lat. W dwóch pierwszych parach przebieg zarażenia różnił się pomiędzy bliźniętami; w kolejnych dwóch był podobny. Z uwagi na małą liczebność grupy i tą samą zygotyczność trudno o porównanie naszego materiału z danymi z piśmiennictwa. W ciągu prawie 30 lat działalności Kliniki Niemowlęcej IP-CZD trafiły do nas zaledwie 4 pary bliźniąt z wrodzoną toksoplazmozą.



## CYCLOSPORA SPP. U BEZKRĘGOWCÓW

ANNA C. MAJEWSKA I SZYMON JĘDRZEJEWSKI

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna  
im. Karola Marcinkowskiego, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10

Rodzaj *Cyclospora* został utworzony przez Schneidera w 1881 roku dla organizmów wykrytych u wijów, które nazwał *C. glomericola*. Przez wiele lat kokcydia z tego rodzaju nie były obiektem zainteresowania parazytologów, chociaż do 1993 roku opisano kolejnych 12 gatunków z tego rodzaju pasożytujących u gadów i owadożernych. Dopiero po zidentyfikowaniu nowego gatunku – *C. cayetanensis* – jako ważnego patogenu jelitowego człowieka, zainteresowanie tymi pierwotniakami gwałtownie wzrosło. Do dzisiaj znanych jest 17 gatunków z rodzaju *Cyclospora*, ale większość z nich (13) opisano na podstawie badań morfometrycznych oraz występowania u określonych gatunków żywicieli. W związku z wykorzystywaniem technik molekularnych do identyfikacji *C. cayetanensis* w próbach środowiskowych, konieczna staje się molekularna charakterystyka innych gatunków *Cyclospora*, w celu określenia przydatności stosowanych starterów, a tym samym prawidłowej oceny stopnia zagrożenia zdrowia publicznego.

Celem pracy było zbadanie wijów (*Myriapoda*) oraz równonogów (*Isopoda*) na obecność *Cyclospora*. W regionie Wielkopolski (Poznań i Kępno) odłowiono 240 okazów prosionka szorstkiego (*Porcellio scaber*) i 240 wijów z podgromady *Diplopoda*. Z pozyskanych okazów wypreparowywano układy pokarmowe wraz z zawartością, z których wykonywano rozmazy. Preparaty barwiono metodą Ziehl-Neelsen i przeglądano mikroskopowo. Nie stwierdzono obecności oocyst *Cyclospora*.

## EPIDEMIA KRYPTOSPORIDIOZY NA FARMIE BYDŁA MLECZNEGO

ANNA C. MAJEWSKA, SZYMON JĘDRZEJEWSKI, ANNA SŁODKOWICZ-KOWALSKA,  
PIOTR SOLARCZYK I ANNA WERNER

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola  
Marcinkowskiego, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10

Kryptosporidioza u zwierząt hodowlanych, a szczególnie u bydła, jest przyczyną dużych strat ekonomicznych. U bydła stwierdzono występowanie trzech, morfologicznie rozróżnialnych gatunków *Cryptosporidium*: *C. parvum* – pasożytujący w końcowym odcinku jelita cienkiego, *C. andersoni* – pasożytujący w trawieńcu oraz *C. felis* – gatunek pasożytujący głównie u kotów. Z wymienionych gatunków tylko *C. parvum* wywołuje biegunkę, która wiąże się z wysoką śmiertelnością cieląt. Natomiast inwazja *C. andersoni*, wykrywana głównie u dorosłych osobników, wpływa na spadek wagi ciała i produkcji mleka.

Na farmie bydła mlecznego w północnej Wielkopolsce, od stycznia do marca 2004 roku odnotowano wysoką śmiertelność wśród cieląt z powodu niepodatnej na antybiotyki biegunki. W związku z tym, zbadano kał na obecność *Cryptosporidium* od wszystkich zwierząt (141 krów, w tym 22 badano dwukrotnie oraz 26 cieląt) oraz od 25 osób (3-krotnie zbadano kał 17 pracowników zatrudnionych w tym przedsiębiorstwie rolno-produkcyjnym i 8 ich dzieci). W badaniach wykorzystano mikroskopowe przeglądanie rozmazów kału barwionych metodą Ziehl-Neelsena, immunoenzymatyczny test oraz technikę PCR.

Inwazję wywołaną *C. parvum* wykryto u 8 cieląt (30.8%) i 6 krów (4.3%); u 4 cieląt stwierdzono wysoką intensywność inwazji. U 14 krów wykryto oocysty *C. andersoni* (10%); u 13 krów intensywność inwazji była wysoka. Ponadto, u jednej krowy i jednego cielaka stwierdzono jednocześnie oocysty *C. parvum* i *C. andersoni*; w kale krowy liczba oocyst *C. andersoni* była zdecydowanie wyższa niż liczba oocyst *C. parvum*, natomiast u cielaka liczba oocyst obu gatunków *Cryptosporidium* była tak samo wysoka. W kale ludzi nie stwierdzono obecności pasożytów jelitowych.

## USING ROTIFERS AND FISH ASSAY FOR THE DETECTION OF INTESTINAL PROTOZOAN PARASITES IN SURFACE WATERS

ANNA C. MAJEWSKA<sup>1</sup>, PIOTR NOWOSAD<sup>1</sup>, THADDEUS K. GRACZYK<sup>2</sup>, ANNA  
SŁODKOWICZ-KOWALSKA<sup>1</sup> I NATALIA KUCZYŃSKA-KIPPEN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Fredry 10, 61-701 Poznań, Poland; <sup>2</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA; <sup>3</sup>Department of Water Protection, Adam Mickiewicz University in Poznan, 60-613 Poznan, Drzymały 24, Poland

Contaminated water is a major source of infections. Infections caused by parasitic intestinal protozoans such as: *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and microsporidia have become a very significant threat to the health of both people and animals in recent years. Therefore, to protect the public health systematic monitoring of waters has become a necessity in order to detect the dispersive stages of parasitic intestinal protozoans, to qualify their viability, and also to identify their species. A well-known kinds of methods for detecting intestinal protozoans in water samples exists, however these methods are insufficiently sensitive, time- and labour-consuming, expensive and also have little practical value in the routine monitoring of waterborne pathogens.

The aim of present examination was the utilization of rotifers as bioindicators of surface waters contamination by dispersive stages of intestinal protozoans. Rotifers were sampled from different lakes located in Poznań. To detect the (oo)cysts of intestinal protozoans the FISH technique (Fluorescent *In Situ* Hybridization) was used.

In rotifers *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts were detected. Most of the *Giardia* cysts did not contain cytoplasm (were non-infective), contrary to the oocysts of *Cryptosporidium*, which contained sporozoites. The results of the study indicated that rotifers provide perfect and easily accessible bioindicators of contamination with dispersive stages of intestinal protozoans of surface water reservoirs.

## CYCLOSPORA SPP. – PROBLEMY W DIAGNOSTYCE MOLEKULARNEJ

ANNA C. MAJEWSKA<sup>1</sup>, NORMAN J. PIENIAŹEK<sup>2</sup>, IACI N.S. MOURA<sup>2</sup>, HENRY  
S. BISHOP<sup>2</sup>, MICHAEL J. ARROWOOD<sup>2</sup>, KIMBERLY Y. WON<sup>2</sup> I PIOTR SOLARCZYK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10, Poland; <sup>2</sup>Division of Parasitic Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Przez ponad sto lat od ich opisanie przez Schneidera w 1881 roku, kokcydia z rodzaju *Cyclospora* nie były obiektem zainteresowania parazytologów. Dopiero w latach 90-tych XX wieku, po zidentyfikowaniu nowego gatunku – *C. cayetanensis* – jako ważnego patogenu jelitowego człowieka, zainteresowanie tymi pasożytami gwałtownie wzrosło. W celu wykrycia inwazji *Cyclospora* u zwierząt mikroskopowo zbadano 2257 rozmazów kału lub zawartości jelita od 170 gatunków zwierząt. Tylko u kreta wykryto oocysty *Cyclospora* sp. (prawdopodobnie *C. talpae*) i *Iso-spora* sp. Wyniki testu sporulacji i barwienie DNA sporozoitów przy pomocy DAPI potwierdziły obecność *Cyclospora* sp., jednak mikroskopowa obserwacja oocyst w UV wykazała autofluorescencję zarówno ściany oocyst, jak i ścian sporocyst, co nie jest cechą charakterystyczną dla *C. cayetanensis*. Wykonano wielokrotne badania molekularne (nested PCR, PCR z starterami amplifikującymi cały 18S rRNA i sekwencjonowanie SSU-rRNA). Uzyskano produkt amplifikacji ze starterami specyficznymi dla *C. cayetanensis* oraz z starterami amplifikującymi cały 18S rRNA, które jednak zamplifikowały 18S rRNA zarówno *Gregarina* i *Cyclospora*. Przy zastosowaniu specyficznych starterów uzyskano amplifikację rRNA tylko *Cyclospora*. Stosując program BLAST przeszukano bazę sekwencji GenBank i wykazano, że sekwencja SSU-rRNA *Cyclospora* sp. najbardziej przypomina sekwencje *Eimeria rioarribaensis* i *Eimeria reedi*. Fakt, że uzyskano pozytywną amplifikację DNA *Cyclospora* sp. przy wykorzystaniu starterów specyficznych dla *C. cayetanensis*, wskazuje, że wykorzystywanie tych starterów do testowania prób środowiskowych jest wysoce problematyczne. Dalsze badania mogą stać się podstawą rewizji taksonomicznej rodzajów *Eimeria* i *Cyclospora*.

## NOWE GATUNKI ŻYWCIELI *GIARDIA INTESTINALIS*

ANNA C. MAJEWSKA<sup>1</sup>, ANNA SŁODKOWICZ-KOWALSKA<sup>1</sup>, TADEUSZ K. GRACZYK<sup>2</sup>,  
EWA TRZĘSOWSKA<sup>3</sup> I SZYMON JĘDRZEJEWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10, Polska, <sup>2</sup>Department of Molecular Immunology, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, <sup>3</sup>Ogród Zoologiczny w Poznaniu, 60-814 Poznań, ul. Zwierzyniecka 19

Spośród pięciu gatunków *Giardia* najszerszy krąg żywicieli ma *G. intestinalis* – pasożyt człowieka i wielu gatunków ssaków. Z jednej strony, występowanie morfologicznie identycznych populacji *G. intestinalis* u zwierząt i u ludzi komplikuje dociekania epidemiologiczne i taksonomiczne. Natomiast z drugiej strony, wyniki badań molekularnych wskazują, że wiele populacji tego pasożyta ma potencjał antro-pozoonotyczny.

W trakcie badań kału zwierząt z Poznańskiego Ogrodu Zoologicznego wykryto cysty *Giardia* w świeżych rozmazach kału lemura katta (*Lemur catta*) i gazeli tomi (*Gazella thomsonii*). Chociaż identyfikacja cyst *Giardia* z reguły nie nastręcza trudności, to w badaniach dodatkowo wykorzystano metodę FISH (fluorescent *in situ* hybridization), opartą na stosowaniu oligonukleotydów znakowanych fluorochromem hybrydujących specyficznie z rRNA *G. intestinalis*. Wykorzystanie metody FISH w połączeniu z IFA nie tylko potwierdziło rozpoznanie, ale wykazało jednocześnie, iż cysty były żywe. Zwierzęta były zarażone bezobjawowo. Cysty oczyszczono z kału stosując wirowanie w gradiencie 0.85 M sacharozy. W celu uzyskania aksenicznych hodowli izolatów *Giardia*, zastosowano procedurę opisaną wcześniej (Kasprzak i Majewska 1985, Majewska i Kasprzak 1990). Uzyskano tylko akseniczną hodowlę izolatu *Giardia* uzyskanego od gazeli tomi. Jest to jeden z nielicznych na świecie izolatów *Giardia* od *Artiodactyla*, utrzymywany w aksenicznej hodowli.

## PTAKI JAKO ŹRÓDŁO INWAZYJNYCH DLA CZŁOWIEKA PASOŻYTNICZYCH PIERWOTNIAKÓW

ANNA C. MAJEWSKA<sup>1</sup>, ANNA SŁODKOWICZ-KOWALSKA<sup>1</sup>, LEENA TAMANG<sup>2</sup>,  
THADDEUS K. GRACZYK<sup>2</sup>, NORMAN J. PIENIAZEK<sup>3</sup>, ALEXANDRE J. DA SILVA<sup>3</sup>,  
ANDRZEJ NOWOSAD<sup>4</sup>, SZYMON JĘDRZEJEWSKI<sup>1</sup> I PIOTR NOWOSAD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10, Polska, <sup>2</sup>Department of Molecular Immunology, Bloomberg School, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, <sup>3</sup>Division of Parasitic Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA, <sup>4</sup>Zakład Zoologii Systematycznej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10

W ostatnich latach stwierdzono, że niektóre gatunki ptaków mogą być rezerwuarem *Encephalitozoon hellem* lub wektorami *Cryptosporidium parvum* i *Giardia intestinalis*. Celem niniejszej pracy było zbadanie kału ptaków dziko żyjących, hodowlanych oraz z ogrodu zoologicznego w kierunku obecności pasożytniczych pierwotniaków.

Materiał badań stanowiły 84 próby kału od 10 gatunków dzikich ptaków, 83 próby od 34 gatunków ptaków z ZOO oraz 210 prób ptaków hodowlanych (kury i indyki). Każdą próbę kału badano mikroskopowo (świeży rozmaz w roztworze NaCl i IKI, trwałe rozmazy barwione metodą Ziehl-Neelsena oraz chromotropem). Mikroskopową identyfikację pierwotniaków potwierdzano komercyjnym testem immunoenzymatycznym (ProsPecT *Cryptosporidium* Microplate Assay) lub fluorescencyjną hybrydyzacją *in situ* (FISH) oraz techniką PCR.

Spośród 377 prób kału tylko 3 próby, uzyskane od dziko żyjących łabędzi niemych, były pozytywne. W jednej próbie wykryto pojedyncze oocysty *C. parvum* oraz koproantygen CSA. Natomiast w kale 2 łabędzi wykryto spory mikrosporydiów. Identyfikacja gatunku była możliwa dzięki zastosowaniu metody FISH i PCR. Po raz pierwszy stwierdzono, że łabędzie nieme (*Cygnus olor*) są żywicielami *E. hellem*.

## USING COMBINED DIRECT IMMUNOFLUORESCENT ANTIBODY AND FLUORESCENT *IN SITU* HYBRIDIZATION TECHNIQUES IN SURVEYS OF EQUINE CRYPTOSPORIDIOSIS

ANNA C. MAJEWSKA<sup>1</sup>, PIOTR SOLARCZYK<sup>1</sup>, LEENA TAMANG<sup>2</sup> AND THADDEUS K. GRACZYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, 61-701 Poznan, 10 Fredry Street, Poland; <sup>2</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD 21205, USA

*Cryptosporidium parvum*, a coccidian intracellular parasite, is an important enteric pathogens of humans and animals. *C. parvum* causes acute or asymptomatic self-limiting infection in adult animals and in immunocompetent humans but in young ruminants as well as in immunocompromised humans, the infection may often be fatal. In contrast to bovine and human cryptosporidiosis, equine cryptosporidiosis is not well understood.

A total of 518 faecal samples from 318 horses used for recreational riding, child hippotherapy and racing at 10 commercial and governmental stables in western Poland were tested for *C. parvum* infection by microscopic examination of Ziehl-Neelsen-stained smears, enzyme immunoassay, and combined direct immunofluorescent antibody and fluorescent *in situ* hybridization. Also, 7 stool samples from 5 persons who had daily contact with these horses were tested for *C. parvum* infection. Eleven horses that shed *C. parvum* oocysts were found in 5 of 10 stables (50%). The prevalence of infection varied from 0 to 11.5%. The overall prevalence of equine *C. parvum* infection in the Wielkopolska region was 3.5%. *C. parvum* oocysts were found only in faecal samples of mature horses; the number of oocysts was low, and infections were asymptomatic. Oocysts and coproantigen were not found in human faecal specimens. Because the horses surveyed in the present study are intensively used for child hippotherapy and recreational riding, the potential for zoonotic transmission of *C. parvum* is real and needs to be further illuminated.

## STĘŻENIE WYBRANYCH INTERLEUKIN U CHORYCH ZARAŻONYCH *TOXOPLASMA GONDII*

JOANNA MATOWICKA-KARNA I HALINA KEMONA

Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Akademii Medycznej w Białymstoku,  
15-274 Białystok, ul. J. Waszyngtona 15a

Cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał jest głównym mechanizmem obronnym skierowanym przeciwko pasożytom, a komórkami efektorowymi są eozynofile. Zwiększenie produkcji eozynofilów jest spowodowane działaniem cytokin m. in. IL-5 i IL-3. Natomiast IL-6 bierze udział w odpowiedzi immunologicznej, w reakcji zapalnej oraz jest jednym z czynników regulujących mechanizmy obronne ustroju. Celem przeprowadzonych badań była ocena stężenia IgE, IL-5 oraz IL-6 u kobiet zarażonych *Toxoplasma gondii*.

Badania wykonano u 38 kobiet (w wieku od 19 do 39 lat) zarażonych *T. gondii*. Oznaczano stężenia swoistych przeciwciał w klasach IgM i IgG, skierowanych przeciwko *T. gondii* oraz wykonano oznaczenia stężenia IgE, IL-5 i IL-6. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych kobiet w wieku od 18 do 46 lat. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych. Za różnice istotne statystycznie uznano wartość funkcji testowej na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Stężenie IgE u chorych zarażonych *T. gondii* wynosiło  $71,12 \pm 98,40$  KIU/l i było istotnie statystycznie wyższe w porównaniu do wartości uzyskanej w grupie kontrolnej. Stężenie IL-5 w grupie badanej było około dwukrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej i wynosiło  $7,31 \pm 2,84$  pg/ml. Różnica uzyskana pomiędzy tymi wartościami była istotna statystycznie. Natomiast stężenie IL-6 w grupie badanej wynosiło  $6,85 \pm 3,10$  pg/ml i było około 2,5-krotnie wyższe w porównaniu do wartości w grupie kontrolnej. Różnica uzyskana pomiędzy tymi wartościami była istotna statystycznie.

Wniosek: U chorych zarażonych *Toxoplasma gondii*, wzrost stężenia IL-5 i IL-6, a także IgE wskazuje na ich udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu żywiciela.



## EKSTENSYWNOŚĆ INWAZJI *TOXOPLASMA GONDII* U KOTÓW Z TERENU OLSZTYNA

MIROSŁAW MICHALSKI I ALEKSANDRA PLATT-SAMORAJ

Katedra Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie,  
10-719 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 13

Toksoplazmoza należy do najczęściej występujących chorób u zwierząt, a 70% ludzi przechodzi zarażenie utajone. Żywicielem ostatecznym *T. gondii* są koty domowe i kotowate, a pośrednim człowiek i inne ssaki oraz ptaki. Uważa się, że głównym źródłem zarażenia dla ludzi jest surowe mięso oraz podroby, a dla zwierząt hodowlanych oocysty wydalone przez koty wałęsające się w obejściach gospodarskich.

Dorośle koty, nie wykazują żadnych objawów ze strony przewodu pokarmowego w okresie wydalania oocyst, stąd prawdopodobieństwo znalezienia ich, badaniem koproskopowym w kale jest niewielkie.

Celem prowadzonych badań było określenie metodą aglutynacji bezpośredniej ekstensywności zarażenia *T. gondii* kotów-pacjentów jednej z lecznic Olsztyna.

Do badań użyto 17 surowic. Krew pobierano przy okazji zabiegów operacyjnych w ilości około 2 ml. Badania surowicy na obecność immunoglobulin klasy IgG anty-*Toxoplasma gondii* przeprowadzono metodą aglutynacji bezpośredniej przy użyciu testu Toxo-Screen DA firmy BioMerieux. W mianie 1:40-70,6% surowic kotów reagowało dodatnio w kierunku toksoplazmozy, a w 5,9% surowic stwierdzono wynik wątpliwy. W mianie 1:4000 dodatnich wyników było – 58,8%, przy takiej samej liczbie wyników wątpliwych.

Przedstawione wyniki świadczą o dużym odsetku obecności przeciwciał przeciwko *T. gondii* u kotów z terenu Olsztyna, a także o utrzymującym się szerokim potencjalnym źródle zarażenia (mięso, narządy i tkanki zwierząt hodowlanych).

## WYSTĘPOWANIE *ICHTHYOCOTYLURUS VARIEGATUS* (CREPLIN, 1825) U OKONIA W DWÓCH PŁOSACH JEZIORA OŚWIN NA TERENIE REZERWATU ORNITOLOGICZNEGO

KATARZYNA MIERZEJEWSKA<sup>1</sup> I TERESA WŁASOW<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii i Hodowli Ryb, <sup>2</sup>Zakład Genetyki Ewolucyjnej, Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, UWM w Olsztynie, 10-718 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 5

Porównano występowanie *Ichthyocotylurus variegatus* u okonia w dwóch zróżnicowanych płosach eutroficznego jeziora Oświn na terenie rezerwatu ornitologicznego „Siedem Wysp”. Analizowano wpływ okresu poboru prób i wielkości ryb na poziom infekcji. Pobrano 165 okoni z obu płos – w maju, lipcu, sierpniu i październiku 1998 i 1999 roku. Stwierdzono wysoki poziom infekcji okonia (średnia intensywność zarażenia 16,3, maksymalna 143, prewalencja 50% w płosie zachodnim, a we wschodnim – odpowiednio 5,8; 26 i 43%). Zjawisko to można wiązać z dostępnością żywiciela pośredniego (*Valvata piscinalis*) i ostatecznego (*Larus argentatus*). W zróżnicowanych warunkach środowiskowych obu części jeziora wystąpiły znaczące różnice w intensywności zarażenia ryb (ANOVA przy  $p = 0,01$ ). Świadczy to o istnieniu w zbiorniku grup ryb przebywających przez dłuższy czas w poszczególnych płosach. Różnice w zarażeniu ryb w różnych okresach badań były istotne (ANOVA przy  $p < 0,05$ ), jednak nie miały charakteru zmian sezonowych. Nie stwierdzono proporcjonalnej zależności pomiędzy liczbą metacerkarii a wielkością ryb. Brak pasożytów u okonia powyżej 28 cm długości jest związany z preferencjami pokarmowymi ryby.

**ULTRASTRUCTURE OF THE MATURE SPERMATOZOON IN THE  
GENUS *FASCIOLA* L., 1758: A COMPARATIVE ANALYSIS  
OF *F. HEPATICA* L., 1758 AND *F. GIGANTICA* COBBOLD, 1856**

**JORDI MIQUEL<sup>1</sup>, PAPA IBNOU NDIAYE<sup>1</sup>, CATARINA EIRA<sup>1</sup> AND BERNARD  
MARCHAND<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Lab. Parasitologia, Dep. Microbiologia i Parasitologia Sanitaries, Fac. Farmacia, Univ. Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028 Barcelona, Spain; <sup>2</sup>Lab. Parasites et Écosystemes Méditerranéens, Fac. Sciences et Techniques, Univ. Corse, 20250 Corte, France

The genus *Fasciola* L., 1758 (Trematoda, Digenea, Fasciolidae) includes two species, *F. hepatica* L., 1758 and *F. gigantica* Cobbold, 1856. These liver flukes infect both domestic and wild animals as well as humans. The aim of the present study is to make a comparative analysis of the ultrastructural characters present in the mature spermatozoa of these species.

Live specimens were obtained from infected livers of cattle from different localities and collected in Barcelona (Spain) and Dakar (Senegal) abattoirs. Several portions containing seminal ducts were fixed at 4°C in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 sodium cacodylate buffer, postfixed at 4°C in 1% osmium tetroxide in the same buffer, dehydrated and embedded in Spurr epoxy medium according to the general TEM methodology. Ultrathin sections were double stained with uranyl acetate and lead citrate and observed in Hitachi H600 and H800 TEMs.

The mature spermatozoa of *Fasciola* spp. present the usual structures of digenean male gametes: two axonemes of the 9+1' trepaxonematan pattern, mitochondrion, nucleus and two sets of parallel cortical microtubules. Large amounts of glycogen are also present in the sperm. Nevertheless, several features characterise these species. The most interesting structures are (1) the so-called spine-like bodies, (2) the external ornamentation of the plasma membrane, and (3) the hook-shaped dorsolateral cytoplasmic expansion. All these structures are present in the anterior areas of sperm, which also includes the anterior extremity of mitochondrion.

Thus, both *F. hepatica* and *F. gigantica* spermatozoa are characterized by an anterior extremity presenting a single axoneme followed by the appearance of a second axoneme. At this level, cortical microtubules initiate its parallel course along

\*Study partially supported by the Spanish projects 2001-SGR-00088 and HF2002-0063.

the spermatozoon and the three above-mentioned characters also appear. This zone constitutes the initial portion of the mitochondrial region of sperm. In both species, the posterior area of the mature spermatozoon constitutes the nuclear region. In fact, the disorganization of the first axoneme and the simultaneous disappearance of the cortical microtubules takes place in this nuclear region of sperm. Disruption of the second axoneme occurs near the posterior spermatozoon tip and thus the posterior spermatozoon extremity contains only nucleus.

The presence of an external ornamentation of the spermatozoon membrane has been described in numerous species of digenetic trematodes. Concerning the spine-like bodies, these submembranous electron-dense structures have been described for the first time in the fish opecoelid *Opecoeloides furcatus* (Miquel *et al.* 2000) and, posteriorly, they have been observed in other digenetic parasites of mammals such as the notocotylid *Notocotylus neyrai* and *Fasciola* spp. (Ndiaye *et al.* 2003a, b, 2004). The presence of cytoplasmic expansions is quite frequent in the digenetic sperm probably as a result of the process of proximodistal fusion characteristic of the Cercomeridea during spermiogenesis. Thus, this origin has been described during spermiogenesis of *F. gigantica* when the second free flagellum fuses with the median cytoplasmic process. However, similar hook-shaped expansions have only been described previously in the echinostomatid digenetic *Echinostoma caproni* (Iomini & Justine 1997).