

Sesja plenarna

Developing novel anthelmintics from natural plant resources

Jerzy Behnke¹, Gillian Stepek¹, Ann Low¹, Ian Duce¹ and David Buttle²

¹School of Biology, University Park, University of Nottingham, Nottingham, UK, NG7 2RD, E-mail: jerzy.behnke@nottingham.ac.uk

²Section of Molecular Medicine, University of Sheffield Medical School, Sheffield, UK, S10 2RX

Gastrointestinal nematodes are important pathogens that cause widespread disease in humans and in domestic livestock. Many of these parasites have now acquired resistance to the three classes of anthelmintics used for control and resistance has spread world-wide. Currently, no alternatives are available commercially, making agriculture based on livestock, notably on sheep, difficult and even impossible in some parts of the world.

Naturally occurring plant products, have generally not lived up to initial expectations, but one class of plant-derived substances that have proven anthelmintic activity are the cysteine proteinases that occur in the latex and juices of plants such as papaya, figs, pineapple and kiwi fruits. We have assessed the activity of both the raw extracts from these fruits and of the purified enzymes they contain against the intestinal nematodes of mice, exploiting species of worms that have parallels in livestock. Our data show that that these enzymes destroy nematodes by attacking the cuticle, and that they are extremely effective at expelling worms from the stomach, small and large intestines. Hence, anthelmintic activity in this case is mediated by a mechanism that is totally different from that of any other known anty-parasitic drug. They show high efficacy against all the nematodes tested both in vitro and in vivo, and are safe with no evident side-effects. We believe that there is scope here to develop a potent new class of commercially viable anthelmintics for use in intensively farmed animals, and also to exploit the raw materials as a cheap and readily available remedy for worms for use by small holder farmers in Developing Countries.

Recent advances in the reproductive and developmental biology of Cestoda and Trematoda

David Bruce Conn

Department of Biology, Berry College, Mount Berry, GA 30149-5036, U.S.A., E-mail: bconn@berry.edu

Cestodes and trematodes require high reproductive potential and sophistication to succeed in maintaining stability in and dispersing among host populations. Because many cestodes and trematodes are important agents of animal and human disease, much attention has been focused on their reproductive biology, and related embryonic and postembryonic development. During the past 25 years, many advances have been made in understanding cellular and subcellular bases for cestode and trematode reproduction, especially in the areas of functional morphology and ultrastructure, using various microscopical and cytochemical techniques. Through the work of international networks, especially based in Poland, many advances have been made in understanding structural and developmental diversity among these parasitic helminths in marine, freshwater, and terrestrial hosts. Most advances have related to spermatogenesis, embryogenesis, larval structure, and cellular design of reproductive systems. Substantial, but fewer, advances have been made in understanding vitellogenesis, fertilization, parental contribution to reproductive success (e.g., adult parenchymal and epithelial participation in success of egg dissemination), and postembryonic developmental mechanisms (e.g., developmental processes of metacestodes and post-cercarial stages of trematodes). Other important areas still poorly understood include oogenesis and oocyte structure, and the role of epithelia, parenchyma and extracellular matrices in guiding postembryonic development and asexual reproduction.

A public health need for source-tracking of wastewater-derived protozoan enteropathogens in engineered wetlands

Thaddeus K. Graczyk^{1,2}

¹Department of Environmental Health Sciences, Division of Environmental Health Engineering, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland 21205, USA

²Johns Hopkins Water and Public Health Center, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland 21205, USA; E-mail: tgraczyk@jhsph.edu

Demand for high quality drinking and recreational waters rises exponentially due to global demographic growth in the human population, reinforcing an urgent need for microbiologically safe reclaimed waters. However, constructed wetlands, implemented into municipal wastewater treatment, may not provide substantial remediation for such human protozoan enteropathogens as *Cryptosporidium*, *Giardia*, and human-virulent microsporidia.

Sewage wastewater discharges are worldwide risk factors for the introduction of human protozoan enteropathogens into surface waters. Pathogen source-tracking research in sewage treatment wetlands is deficient, due to the lack of available molecular technology in the past.

Current technology allows for multiplexed species-specific identification, enumeration, viability assessment, and source-tracking of human protozoan pathogens. Such advances can benefit public health in developing and developed regions of the world by changing the conceptual research framework for constructed wetlands from "pathogen removal" to "pathogen source-tracking" efforts. "Removal" assumes that "survived pathogens" originate from pathogens delivered to that wetland from the sewage treatment process, while "source tracking" evaluates the complexity of pathogen ecological interactions in engineered wetlands and also its seasonal dynamics.

Present knowledge on aphanomycosis in crayfish plague — distribution, transmission, diagnosis

R.W. Hoffmann¹, S. Geiger¹, P. Steibauer¹ and B. Oidtmann²

¹Munich, Germany

²Weymouth, Great Britain

Cray fish plague affecting preferently European fresh water crayfish was described in the midst of 19th century in Europe a short time after transfer of American species to Europe. Only in the thirties of the 20th century, the causing agent *Aphanomyces astaci* could be detected. *A. astaci* is surviving in water only short time depending on water quality and temperature, but can survive in infected animals as reservoir for a very long time. *A. astaci* induce mycelia in the cuticula of affected animals which typically develop loss of extremities, uncoordinated movements and death after about a week. In contrast to less or more resistant American species which mostly survive European crayfish show a mortality of about 100 percent. The exact diagnosis is very difficult since the cultivation of the causative fungus needs a long time and is often not very successful by overcrowding other aquatic fungi. Therefore the diagnosis was regularly confirmed by experimental contact infection, which also needs a long time. However even these cohabitation trials do not give an answer of an unapparent infection of American species. During the last years we could establish PCR techniques which allows a high specific rapid diagnosis. By this way it is also possible to test clinical healthy American crayfish for the presence of *A. astaci*. Broad studies in Austria, Czech Republic, France, Germany and Switzerland confirmed, that in most regions populated by American species crayfish plague is endemic. Therefore areas free of the disease have to be protected especially by effective control of crayfish populations and avoidance of contact to American crayfish. By this way it could be shown that populations of endogenous crayfish can be conserved. The main danger is the involuntary introduction of infected animals into water system by fish transfer, use of contaminated tackling, escaping of infected food animals and release of Aquarian animals into brooks.

Systematyka niższych Eukaryota, problemy z pierwotniakami i myksosporidiami

Systematic of lower Eukaryota, questions of protists and myxosporidians

Stanisław L. Kazubski

Muzeum i Instytut Zoologii PAN, ul. Wilcza 64, 00-679 Warszawa; E-mail: stankaz@neostrada.pl

Nowe techniki badawcze, które pojawiły się w połowie XX w. i umożliwiły badania przyżyciowe i ultrastrukturalne, spowodowały lawinowy wzrost informacji o biologii i budowie pierwotniaków. Pojawiły się też nowe koncepcje biologiczne dotyczące liczby królestw w świecie istot żywych, w tym wyróżnienie królestwa Protista oraz teoria seryjnej endosymbiozy Margulis (1969), dotycząca utworzenia się komórki eukariotycznej. Wpłynęło to zasadniczo na systematykę pierwotniaków. Początkowo, uwzględnianie nowych danych z zakresu morfologii i biologii pierwotniaków kończyło się zazwyczaj wyróżnianiem nowych taksonów, niekiedy nawet wysokiej rangi. Jednak w ciągu ostatnich kilkunastu lat, zwłaszcza po zaliczeniu do pierwotniaków — Protista, wszystkich nietkankowych Eukaryota, zmiany nabrały bardziej zasadniczego charakteru. Przedstawię trzy systematyki pierwotniaków, ostatnio opublikowane w szeroko dostępnych wydawnictwach.

(1) Hausmann K., Hülsmann N., Radek R., 2003, *Protistology*, Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart, 379 pp. System wyróżnia 12 typów (z licznymi podtypami), ułożonymi zgodnie z poziomami organizacji na poszczególnych etapach procesu endosymbiotycznego formowania się komórki eukariotycznej. W założeniu monofiletyczny.

(2) *The illustrated guide to the Protozoa, 2000*, Sec. ed, (Ed. J.J.Lee, G.F.Leedale, Ph. Bradbury). Soc. of Protozoologists, 1-2 vol., 1432 pp. Obejmuje wszystkie grupy pierwotniaków, w tym Microsporida i Myxozoa. Wyróżnia 44 **niezależne** taksony różnej rangi, od typu do rodziny, w tym kilka „grup” o niejasnej pozycji systematycznej; może to dotyczyć całej grupy, albo poszczególnych jej członków. System skrajnie polifiletyczny.

(3) Adl S. M. et al., (łącznie 27 autorów) 2005. **The new higher level classification of Eukaryotes with Emphasis on the taxonomy of Protists**, *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52 (5) 399-459. Wyróżniono: 6 najwyższych taksonów, o dużym stopniu niezależności, i 31 taksonów pierwszego poziomu, w różnym stopniu powiązanych między sobą.

Uwaga. Typ Myxozoa, obejmujący gromady Myxosporidia i Malacosporidia jest obecnie zaliczany do Metazoa i wiązany z parzydełkowcami — Cnidaria.

Lekooporność izolatów *Plasmodium falciparum* zawlekanych do Polski i uzyskanych od mieszkańców Angoli

Drug resistance of *Plasmodium falciparum* isolates imported to Poland and obtained from inhabitants of Angola

Przemysław Myjak¹, Waclaw Nahorski², Beata Szostakowska¹, Halina Pietkiewicz¹, Hanna Żarnowska-Prymek³, Tomasz Kryger² i Anna Wojtacha²

¹Zakład Parazytologii Tropikalnej, Międzywydziałowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej Akademii Medycznej w Gdańsku, Gdynia; E-mail: pemyjak@amg.gda.pl

²Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych, Międzywydziałowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej Akademii Medycznej w Gdańsku, Gdynia

³Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych Akademii Medycznej w Warszawie

Malaria jest nadal jedną z najgroźniejszych chorób ludzkości. Pojawienie się i rozprzestrzenienie oporności na leki jest jednym z najważniejszych publicznych zagrożeń zdrowotnych wywoływanych przez choroby infekcyjne i inwazyjne. Szczególnie niepokojący jest wzrost lekooporności *Plasmodium falciparum* na stosowane leki, tak w ramach chemioprophylaktyki, jak i w leczeniu tej choroby.

Jedną z metod określania lekooporności *P. falciparum* jest poszukiwanie mutacji powiązanych z lekoopornością na chlorochinę lub na antyfolanty (pyrimetamina, proguanil i sulfadoksyna) występujących w genach *pfcr*, *dhfr* i *dhps*.

W Krajowym Ośrodku Medycyny Tropikalnej wykonujemy badania izolatów *P. falciparum* importowanych do Polski i uzyskiwanych od rdzennych mieszkańców Angoli. Do tego celu stosujemy PCR i sekwencjonowanie uzyskanych produktów na automatycznym analizatorze DNA ABIPRISM 310, co pozwala na wykrycie wszystkich znanych i dotąd niepoznanych mutacji występujących w analizowanym fragmencie odpowiedniego genu.

Przedstawiono wyniki badań wykonanych z 223 izolatami *P. falciparum*, w tym z 82 uzyskanymi od Polaków i 141 od Angolczyków. Spośród nich, tylko w 5 próbach (4 od Polaków i jedna od Angolczyka) nie stwierdzono żadnej mutacji powiązanej z opornością na badane leki. W każdym z badanych genów, izolaty dzikie występowały rzadziej w próbach *P. falciparum* uzyskanych od Angolczyków niż od Polaków, a różnica ta jest statystycznie istotna.

Obecność mutacji powiązanych z opornością *P. falciparum* na badane leki tłumaczy niepowodzenia ze stosowaniem chemioprophylaktyki i/lub leczenia przeciwmalarycznego chlorochiną czy pyrimetaminą/sulfadoksyną.

Co dziś wiemy o powłokach ciała i pasożytnictwie u płazińców (Platyhelminthes)

What is known today about body wall and parasitism of Platyhelminthes?

Katarzyna Niewiadomska¹, Andrzej Czubaj² i Julita Nowakowska²

¹Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego, PAN

²Pracownia Mikroskopii Elektronowej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Od czasu, kiedy poznano zjawisko zastępowania urzęsionego nabłonka larw pasożytniczych płazińców przez syncytialną warstwę — neoderme (*neodermis*) i utworzono podtyp Neodermata (Ehlers 1985), zgromadzono wiele nowych danych na temat budowy i rozwoju powłok ciała u form płazińców wolno żyjących i pasożytniczych.

W rozwoju zarodkowym wirków powłoka ciała przechodzi trzy etapy rozwoju. Pierwszy etap to różnicowanie się pierwotnego nabłonka zarodkowego składającego się z niewielu nieurzęsionych płaskich komórek, drugi etap charakteryzuje się wykształceniem wtórnego nabłonka urzęsionego, który tworzą komórki macierzyste — neoblasty migrujące z wnętrza zarodka (wchodzą one między istniejące komórki pierwotne) oraz etap trzeci, w trakcie którego powstaje ostateczna warstwa urzęsionych komórek nabłonkowych, zawierająca również komórki rabditotwórcze (wynik migracji neoblastów). Komórki nabłonkowe pierwszego i drugiego etapu są usuwane w procesie apoptozy. Podobne zjawisko migracji neoblastów obserwujemy w rozwijających się larwach pasożytniczych płazińców. Migrujące komórki macierzyste (neoblasty) wchodzą między urzęsione komórki nabłonka, a następnie tworzą neoderme — „nową powłokę” ciała. Powstały na miejscu urzęsionych komórek syncytialny tegument Neodermata podlega w czasie rozwoju dalszym modyfikacjom, charakterystycznym dla poszczególnych grup systematycznych.

Zjawisko pasożytnictwa i związane z tym zmiany w budowie powłoki ciała są charakterystyczne także dla niewielkiej liczby gatunków należących do Turbellaria. Ponieważ podstawą kontaktu pasożyta z żywicielem są powłoki ciała, następuje u tych gatunków modyfikacja nabłonka powłokowego, sprzyjająca zwiększeniu powierzchni tego kontaktu. Modyfikacje te z jednej strony idą w kierunku utraty rzęsek na ograniczonych obszarach ciała, tworzenia obszarów syncytialnych, zawierających jądra komórkowe w obrębie zewnętrznej warstwy, albo mających jądra komórkowe pogrążone w parenchymie. Jednocześnie u form, które mają na powierzchni między rzęskami mikrokosmki, następuje ich wydłużenie i pogrubienie.

Płazińce są jedyną grupą wśród bezkręgowców, u których w powstawaniu powłok ciała biorą udział migrujące komórki macierzyste (neoblasty) (Tyler i Hooge 2004). W innych grupach Metazoa wzrostowi organizmu towarzyszy rozrost nabłonka dzięki podziałowi istniejących już niezróżnicowanych komórek śród-nabłonkowych. Udział neoblastów może być traktowany jako cecha autapomorficzna i stanowić dodatkowy argument za uznaniem monofiletyczności typu Platyhelminthes. Obecnie monofiletyczność tej grupy jest kwestionowana na podstawie badań molekularnych i danych embriologicznych. Dane te wskazują, że Acoelomorpha (Acoela i Nemertodermatida) oraz Platyhelminthes stanowią odrębne typy. Acoelomorpha i Catenu-lida lokowane są u podstaw ewolucji Bilateria, a Platyhelminthes znajdują się w obrębie Lophotrochozoa ra-

zem z Annelida, Mollusca i innymi grupami, u których występuje bruzdkowanie spiralne. Tyler i Hooge (2004) zwracają też uwagę na to, że proces powstawania powłok ciała u płazińców stanowił preadaptację do pasożytnictwa. Kontakt z ciałem żywiciela spowodował powstanie ciągłej warstwy na powierzchni, odpornej na reakcje obronne żywiciela.

Ehlers U. (1985) *Das Phylogenetische System der Plathemintes*. Gustav Fischer, Stuttgart, Germany.

Tyler S., Hooge M. (2004) *Canadian Journal of Zoology* 82: 194-210.

Sytuacja zdrowotna w świecie z uwzględnieniem wybranych inwazji pasożytniczych

International health with an emphasis on the selected parasitic infections

Zbigniew S. Pawłowski

Katedra i Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu;
E-mail: zpawlows@amp.edu.pl

Na międzynarodowej konferencji w Alma Ata w roku 1978 po raz pierwszy obiecano „zdrowie dla wszystkich w roku 2000” poprzez promocję podstawowej opieki zdrowotnej. To zadanie okazało się niewykonalne, głównie z uwagi na nieprzygotowane agendy rządowe i pozarządowe, światowy kryzys kadr medycznych, niedostateczne poparcie finansowe i społeczne. W tej sytuacji w roku 2000 ONZ przyjął program Millennium Developmental Goals, który zakłada, że sytuacja zdrowotna jest współzależna od rozwoju ekonomicznego społeczności, ich struktury społeczno-kulturalnej i poziomu edukacji, a nade wszystko od współpracy resortów związanych z ochroną zdrowia i społeczeństwa. Program Millennium zajmuje się niezakaźnymi przyczynami nadmiernej śmiertelności (niedożywienie, niedostateczna opieka nad matką i dzieckiem) oraz zwalczaniem chorób zakaźnych i pasożytniczych. Wśród działań priorytetowych w zakresie chorób zakaźnych, obok AIDS i gruźlicy, wytypowano malarię, która — mimo znacznego postępu wiedzy — jest nadal poważnym problemem w tropiku. W zakresie chorób wirusowych, poza likwidacją ospy prawdziwej, osiągnięto duży postęp w zmniejszeniu globalnej zapadalności na chorobę Heinego-Medina i odrę. Znaczący postęp można odnotować w zwalczaniu inwazji pasożytów przewodu pokarmowego, filarioz i drakunkulozy. Niektóre inwazje szerzą się jednak w świecie nadal. Przykładem jest tasiemczyca i wągryca *Taenia solium*, która często bywa zawleczana z krajów endemicznych do USA i krajów europejskich. W krajach Półkuli Północnej problemem jest bąblowica wywołwana przez *Echinococcus multilocularis*.