

***Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystiidae) u żubra (*Bison bonasus*) w Puszczy Białowieckiej**

***Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystiidae) infection in European bison (*Bison bonasus*) from Białowieża Forest, Poland**

Anna M. Pyziel, Aleksander W. Demiaszkiewicz

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

ABSTRACT. Samples of oesophagus, diaphragm and heart muscles were taken from one European bison from Białowieża Forest during seasonal European bison elimination in 2008. Five gram of each muscle was examined by staining small samples in 0.2% aqueous solution of methylene blue. After that they were placed between compressor glasses and examined under a dissecting microscope in order to detect *Sarcocystis* sp. infection. All sarcocysts observed were counted. The 5-g sample of the heart muscle yielded a total of 756 sarcocysts while that of the diaphragm contained 107 of them and that of the oesophagus – 89. All of the sarcocysts were isolated from 1 g of each muscle by using preparation needles (probes). After that the sarcocysts were taken to 0.5% physiological solution and examined under light microscope. The special attention was paid to detection of their cyst wall, which was thin (1 μm up to 1.2 μm) and smooth in all cases. Sometimes villar protrusions were seen on the surface of the cysts. Differences between the size of sarcocysts isolated from different muscle samples were observed. The longest and the slenderest sarcocysts were found in the diaphragm. Slightly smaller in the oesophagus and the smallest ones in the heart muscle tissue. The average size of sarcocysts isolated from diaphragm was 957.6 μm x 112.7 μm . Sarcocysts found in the oesophagus measured 484.1 μm x 194.6 μm and those isolated from the heart muscle attained 305.4 μm x 103.9 μm . All of the sarcocysts isolated from heart, oesophagus and diaphragm muscles were identified *Sarcocystis cruzi*.

Key words: Protozoa, *Sarcocystis cruzi*, European bison, Białowieża Forest, Poland

Wstęp

Pierwotniaki z rodzaju *Sarcocystis* występują powszechnie u kręgowców. Oprócz ssaków notowano je także u ptaków, gadów, płazów i ryb [1]. Wyniki badań Osińskiej [2] wykazały występowanie *Sarcocystis* sp. u żubrów w Puszczy Białowieckiej o wysokiej ekstensywności inwazji, wynoszącej 84,5%. Dotychczas ukazały się trzy prace dotyczące występowania *Sarcocystis* sp. u żubrów w Polsce, z ukierunkowaniem na wykazanie zmian histopatologicznych w przebiegu tej inwazji [2–4]. Odening [5] wykazał obecność 3 gatunków *Sarcocystis* w mięśniach żubra urodzonego i padłego

w Ogrodzie Zoologicznym w Cottbus w Niemczech. Były to: *Sarcocystis cruzi* o cystach cienkościennych i dwa gatunki wytwarzające cysty grubościennie o palisadowej budowie ściany *Sarcocystis hirsuta* oraz *Sarcocystis hominis*. Wymienione gatunki są typowe dla bydła. Dwie prace Odeninga [5, 6] są jedynymi dotyczącymi gatunków *Sarcocystis* występujących u żubrów w Europie. Dubey i wsp. [1] wykazali zarażenie bizona amerykańskiego (*Bison bison*) w Ameryce Północnej tylko gatunkiem *S. cruzi*. Rozwój pierwotniaków z rodzaju *Sarcocystis* przebiega z udziałem dwóch żywicieli. Dla gatunku *S. cruzi* żywicielem ostatecznym jest pies, wilk i lis, dla *S. hirsuta* żywicielem ostatecznym jest

kot i ryś, a dla gatunku *S. hominis* człowiek [1, 7–9]. Żubr może być żywicielem pośrednim wspomnianych gatunków, u którego umiejscawiają się one w postaci cyst w mięśniach. Zараżenie żywiciela pośredniego następuje poprzez zjedzenie wraz z karmą sporocyst *Sarcocystis*, wydalanych z kałem żywiciela ostatecznego. W przewodzie pokarmowym ze sporocyst uwolnione zostają sporozycy. Te wnikają do komórek śródbłonka naczyń krwionośnych narządów wewnętrznych, gdzie po około trzech tygodniach przechodzą schizogonię, z wytworzeniem merozoitów. Merozoity drogą krwionośną przedostają się do tkanki mięśniowej, gdzie po 30–40 dniach wytwarzają cysty. W ich wnętrzu zachodzi drugi etap schizogonii, prowadzący do wytworzenia bradyzoitów, widocznych, jako charakterystyczne bananowate twory. Po zjedzeniu przez żywiciela pośredniego surowego lub niedogotowanego mięsa zawierającego cysty mięśniowe *Sarcocystis* sp. dochodzi do uwolnienia w przewodzie pokarmowym pod wpływem enzymów trawiennych bradyzoitów, czemu towarzyszy wydzielanie przesączalnej, ciepłochwiejnej neurotoksyny, zwanej sarkotoksyną. Odpowiada ona za wystąpienie szeregu objawów ze strony przewodu pokarmowego, jak nudności, wymioty, bóle brzucha i biegunka [1, 9, 10]. W błonie śluzowej przewodu pokarmowego zachodzi gamogonia, prowadząca do wytworzenia oocyt, a następnie sporogonia, w efekcie której wewnątrz oocyt powstają po dwie sporocysty, z których każda zawiera po cztery sporozycy. Sporocysty zostają wydalone z kałem do środowiska zewnętrznego. Zараżenie *Sarcocystis* sp. nie jest obojętne dla zdrowia żywicieli pośrednich. Objawy kliniczne zależne są od spożytej przez żywiciela dawki sporocyst. W przebiegu sarkosporydiozy u bydła obserwowano gorączkę, niedokrwistość normocytarną i normochromatyczną, biegunkę, ślinotok, wyciek z nosa, spadek spożycia karmy, wychudzenie, wypadanie sierści, poronienia oraz obniżenie mleczności. Ze względu na umiejscowienie się cyst *Sarcocystis* sp. w mięśniach widoczne są także objawy ze strony aparatu ruchu zarażonych zwierząt. Objawiać się to może drżeniami mięśni oraz ogólną słabością mięśniową [1, 7, 11]. Zaznaczyć należy, że żywiciel ostateczny może również stać się żywicielem pośrednim pierwotniaków z rodzaju *Sarcocystis*. Dzieje się tak w sytuacjach, gdy wraz z karmą spożyje sporocysty, tak więc, gdy nie zaraża się poprzez spożycie zakażonego mięsa. Dowodem na to są cysty mięśniowe przypadkowo znajdowane przy okazji badań histopatologicznych w mięśniach ludzi,

psów, kotów [12–16]. Do dnia dzisiejszego brak badań nad ustaleniem gatunków z rodzaju *Sarcocystis*, którymi zarażone są żubry w naszym kraju. Dlatego też podjęto próbę określenia gatunku cyst mięśniowych, znalezionych u jednego badanego żubra, mając na uwadze możliwość zarażenia żubrów w warunkach puszczy gatunkami typowymi dla jeleniowatych.

Material i metody

Podczas eliminacji żubrów w Puszczy Białowiejskiej, przeprowadzonej w sezonie zimowym 2007/2008, pobrano od jednego żubra, samca w wieku 2,5 roku, próby tkanki mięśniowej z przełyku, przepony i serca. Makroskopowo nie zaobserwowano żadnych zmian w pobranych mięśniach. Materiał poddano zamrożeniu na okres pięciu miesięcy w temperaturze -18°C . Po rozmrożeniu odważano po 5 g tkanki z każdej próby. Wycinano zgodnie z przebiegiem włókien mięśniowych fragmenty wielkości ziarna owsa i barwiono je przez 10 min w 0,2% roztworze błękitu metylenowego. Następnie osuszano na bibule filtracyjnej, odbarwiano przez 5 minut w 1,5% roztworze kwasu octowego i po wtórnym osuszeniu umieszczano w kompresorze. Po czym badano pod mikroskopem stereoskopowym na obecność granatowo wybarwionych cyst mięśniowych [17]. Ustalano liczbę zaobserwowanych pierwotniaków w każdej z 5 gramowych próbek mięśniowych. Dodatkowo z 1 g mięśni wypreparowywano przy użyciu igieł preparacyjnych cysty mięśniowe. Następnie przenoszono je do 0,5% roztworu fizjologicznego i każdą z wypreparowanych struktur oglądano pod mikroskopem świetlnym, przy powiększeniu 125–1000x, zwracając szczególną uwagę na wygląd ściany cysty oraz dokonując pomiarów. Na tej podstawie oznaczano oglądane cysty do gatunku. Po ocenie mikroskopowej cysty przenoszono do 70% etanolu w 0,5% roztworze fizjologicznym w celu utrwalenia.

Wyniki i dyskusja

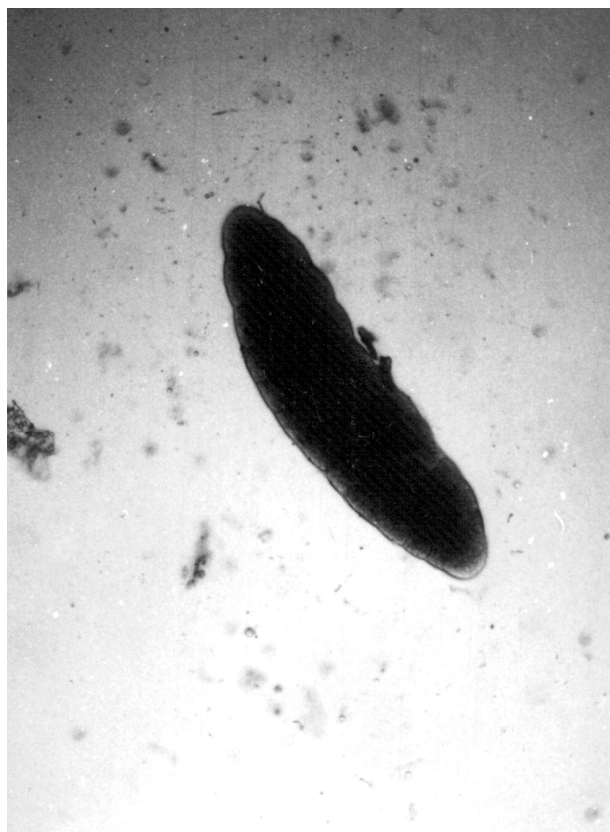
Badany żubr okazał się zarażony pierwotniakami z rodzaju *Sarcocystis*. We wszystkich badanych mięśniach zanotowano obecność cyst, należących do tego rodzaju. Jednak intensywność inwazji była różna dla poszczególnych mięśni. I tak największą liczbę pasożytów odnotowano w mięśniu sercowym – 756 cyst w 5 g tkanki mięśniowej. Ilość badanych pierwotniaków w przeponie wyniosła 107 w 5 g



Fot. 1. Cysta *S. cruzi* w mięśniu przepony żubra (powiększenie 125x)

Phot. 1. *S. cruzi* cyst in diaphragm of European bison (magnification 125x)

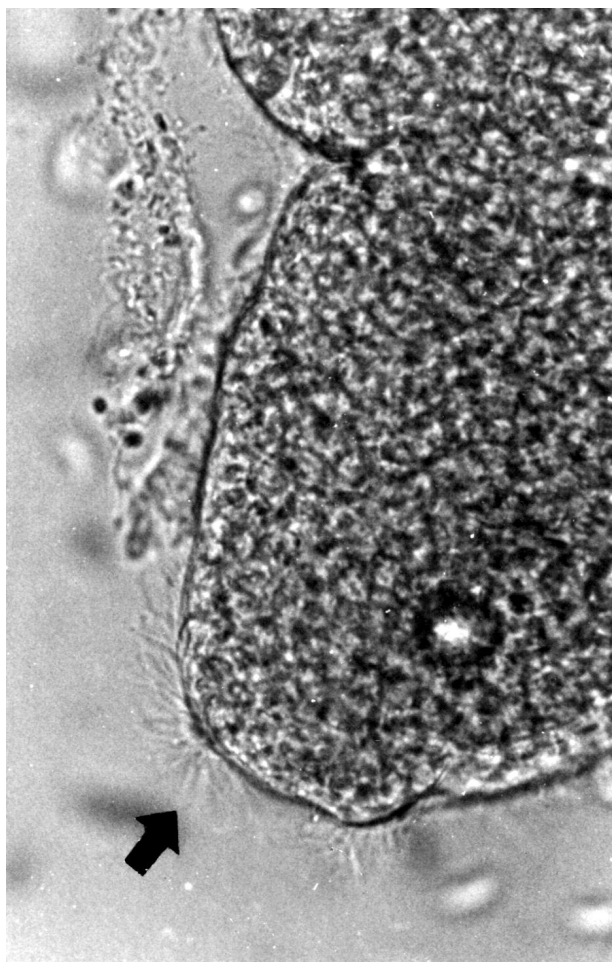
tkanki mięśniowej. Najmniej cyst występowało w mięśniach przełyku, tj. 89 w 5 g mięśni. Badacze litewscy [17] na podstawie badań nad zarażeniem dzikich przeżuwaczy na Litwie zaobserwowali największą intensywność inwazji tymi pasożytami w mięśniu sercowym, niższą w przypadku mięśni przełyku, a najniższą w przeponie. Zgodnie z podanymi wynikami należy przypuszczać, że spośród mięśni przełyku, przepony i mięśnia sercowego to właśnie mięsień sercowy stanowi najdogodniejsze miejsce lokalizacji dla cyst *Sarcocystis* sp. Wszystkie wypreparowane cysty miały kształt owalny, mniej lub bardziej wydłużony w zależności od mięśnia z którego pochodziły. Najmniejsze i najmniej wydłużone cysty znajdowano w mięśniu sercowym (Fot. 2). Średnia ich długość wynosiła 305,4 μm , zaś szerokość 103,9 μm . Nieco większe struktury znajdowano w mięśniach przełyku, średnia długość wynosiła 484,1 μm a szerokość 194,6 μm . Najdłuższe i najbardziej wysmukłe egzemplarze znajdowano



Fot. 2. Cysta *S. cruzi* wypreparowana z mięśnia sercowego żubra (powiększenie 125x)

Phot. 2. *S. cruzi* cyst isolated from heart muscle of European bison (magnification 125x)

w przeponie (Fot. 1). Ich średnia długość wynosiła 957,6 μm a szerokość 112,7 μm . Różnice w wielkości cyst mięśniowych wykazał również Odening [5], spostrzegając, że ich wielkość zależna jest od długości włókien mięśniowych, w których lokalizują się pasożyty. Wszystkie wypreparowane cysty okazały się gładko i cienkościenne, o grubości ściany wynoszącej od 1 do 1,2 μm . W niektórych przypadkach dobrze widoczne były rzęski, zlokalizowane na powierzchni ściany cysty (Fot. 3). Na podstawie analizy struktury i grubości ścian wypreparowanych cyst zaliczono je do gatunku *S. cruzi*. Osińska [2], oceniając preparaty histopatologiczne z mięśnia sercowego zarażonych sarkocystiozą żubrów, zwróciła uwagę na różnice w grubości i budowie ścian cyst mięśniowych, co sugeruje występowanie u żubrów białowieskich więcej niż jednego gatunku z rodzaju *Sarcocystis*. Dlatego też istnieje potrzeba kontynuowania badań nad tym zagadnieniem. Należy przypuszczać, że gatunek *S. cruzi* jest najpowszechniej występującym u żubrów żyjących na wolności, za czym przemawia także duża gama żywicieli ostatecznych zajmujących tą samą niszę



Fot. 3. Rzęski na powierzchni cysty *S. cruzi* (powiększenie 1000x)

Phot. 3. Villar portusions on the surface of *S. cruzi* cyst wall (magnification 1000x)

ekologiczną, np. lisy, czy wilki. Jest to pierwsza w Polsce rejestracja zarażenia żubra gatunkiem *Sarcocystis cruzi*.

Literatura

- [1] Dubey J. P., Speer C. A., Fayer R. 1989. *Sarcocystosis of Animals and Man*. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- [2] Osińska B., Piusiński W. 1997. Sarcocystosis mięśnia sercowego żubrów (*Bison bonasus*) z Puszczy Białowieskiej. *Wiadomości Parazytologiczne* 43: 393–398.
- [3] Piusiński W., Malicka E., Bielecki W., Osińska B., Lenartowicz-Kubrat Z. 1996. Zmiany patomorfologiczne u żubrów w Puszczy Białowieskiej. *Medycyna Weterynaryjna* 52: 386–388.

na Weterynaryjna 52: 386–388.

- [4] Szwejkowski H. 1954. *Sarcocystis* w mięśni sercowym żubra (*Bison bonasus* Boj.) w Polsce. Materiały IV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego. Gdańsk, 30.10–1.11.1954: 118–119.
- [5] Odening K., Wesemeier H. H., Walter G., Bockhardt J. 1994. The wisent (*Bison bonasus*, Bovidae) as an intermediate host of three *Sarcocystis* species (Apicomplexa: Sarcocystidae) of cattle. *Folia Parasitologica* 41: 115–121.
- [6] Odening K., Wesemeier H. H., Walter G., Bockhardt J. 1995. On the morphological diagnostics and host specificity of the *Sarcocystis* species of some domesticated and wild Bovini (cattle, banteng and bison). *Applied Parasitology* 36: 161–178.
- [7] Dubey J. P., Fayer R. 1983. Zoonoses in practice. Sarcocystosis. *British Veterinary Journal* 139: 371–377.
- [8] Odening K. 1998. The present state of species – systematics in *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Protisata, Sporozoa, Coccidia). *Systematic Parasitology* 41: 209–233.
- [9] Prost E. 1985. Higiena mięsa. PWRiL, Warszawa.
- [10] Płotkowiak J. 1979. Problem diagnostyki sarkosporidiozy jelitowej człowieka. *Wiadomości Parazytologiczne* 26: 389–392.
- [11] Fayer R., Lynch G.P., Leek R.G., Gasbarre L.C. 1983. Effects of sarcocystosis on milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 66: 904–908.
- [12] Beaver P.C., Gadgil R.K., Morera P. 1979. *Sarcocystis* in man: a review and report of five cases. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 28: 819–844.
- [13] Fayer R. 2004. *Sarcocystis* spp. in human infections. *Clinical Microbiology Reviews* 17: 894–902.
- [14] Hill J.E., Chapman W.L., Prestwood A.K. 1988. Intramuscular *Sarcocystis* sp. in two cats and a dog. *Journal of Parasitology* 74: 724–727.
- [15] Pathmanathan R., Kan S.P. 1992. Three cases of human *Sarcocystis* infection with a review of human muscular sarcocystosis in Malaysia. *Tropical and Geographical Medicine* 44: 102–108.
- [16] Wong K.T., Pathmanathan R. 1994. Ultrastructure of the human skeletal muscle sarcocyst. *Journal of Parasitology* 80: 327–330.
- [17] Malakauskas M., Grikiene J. 2002. *Sarcocystis* infection in wild ungulates in Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica* 12: 372–380.

Wpłynęło 6 października 2008

Zaakceptowano 26 listopada 2008