

Ustalenie drogi wnikania larw I stadium *Elaphostrongylus cervi* (Nematoda, Protostrongylidae) do żywiciela pośredniego i ich rozwój do stadium inwazyjnego

The way of penetration of first stage larvae of *Elaphostrongylus cervi* (Nematoda, Protostrongylidae) to the intermediate host and their development to the invasive stage

Izabela Kuligowska, Aleksander W. Demiaszkiewicz

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

ABSTRACT. The aim of the study was the way of penetration of the first stage larvae of *Elaphostrongylus cervi* to the intermediate host and their development to the invasive stage. The first stage larvae of *E. cervi* penetrate to the body of a snail by the epithelium of its foot, and localise in tissue of muscles. The period of their development to the second stage is 7 to 9 days, and to the third stage is 21 to 28 days.

Key words: *Elaphostrongylus cervi*, intermediate host, invasive stage

Wstęp

Elaphostrongylus cervi [1] jest nicieniem należącym do rodziny Protostrongylidae, pasożytem tkanki łącznej międzymięśniowej i ośrodkowego układu nerwowego dzikich i fermowych jeleni szlachetnych w Europie i Azji [2]. Dojrzałe samice w miejscu lokalizacji w organizmie żywiciela ostatecznego składają jaja, które drogą krwionośną przedostają się do serca, a następnie do płuc. W płucach wylęgają się z nich larwy I stadium, które wędrują przez miąższ płuc do światła pęcherzyków płucnych, uszkadzają je mechanicznie i wywołują procesy zapalne [3]. Następnie larwy przełknięte ze śluzem oskrzelowym, wydalone są przez przewód pokarmowy wraz z kałem do środowiska zewnętrznego. W środowisku larwy I stadium wydostają się z kału i wnikają do ciała ślimaka. Rolę żywiciela pośrednich *E. cervi* pełnią liczne gatunki ślimaków lądowych. W ślimaku larwy I stadium intensywnie odżywiają się, rosną, dwukrotnie linieją i osiągają stadium inwazyjne [4]. Jelenie zarażają się tym ni-

cieniem zjadając wraz z trawą i pędami roślin pełzające po niej drobne ślimaki lądowe, zarażone larwami inwazyjnymi.

U zwierząt młodych oraz w słabszej kondycji, przy intensywnej inwazji, przebieg elafostromylozy jest ciężki i może prowadzić do śmierci. W wyniku migracji larw *E. cervi* przez układ oddechowy rozwijają się procesy zapalne oskrzeli i płuc. W przebiegu inwazji, w której nicienie lokalizują się w ośrodkowym układzie nerwowym, zwierzęta wykazują kliniczne objawy nerwowe, może nastąpić niedowład lub paraliż jednej kończyny lub całej obręczy miednicznej [5,6]. Postać nerwowa elafostromylozy o ciężkim przebiegu klinicznym prowadząca do śmierci zwierząt występuje najczęściej w warunkach fermowych. Liczne przypadki takiego przebiegu elafostromylozy obserwowano w hodowlach jeleni pantowych w Kazachstanie [3,7].

E. cervi jest również patogenny dla domowych przeżuwaczy. Spontaniczną elafostromylozę u kóz odnotowano w Szwajcarii oraz w Polsce w okolicy Komańczy w Bieszczadach, a eksperymentalne za-

rażenie kóz i owiec wykazało, że nicienie *E. cervi* wykazują wysoką patogenność dla domowych przetrzymaczy i wywołują u kóz i owiec śmiertelną chorobę przebiegającą z objawami nerwowymi w postaci niedowładów i porażeń [8–10].

Brak informacji dotyczących drogi wnikania larw I stadium *E. cervi* do żywiciela pośredniego i ich rozwoju do stadium inwazyjnego było przyczyną podjęcia niniejszych badań.

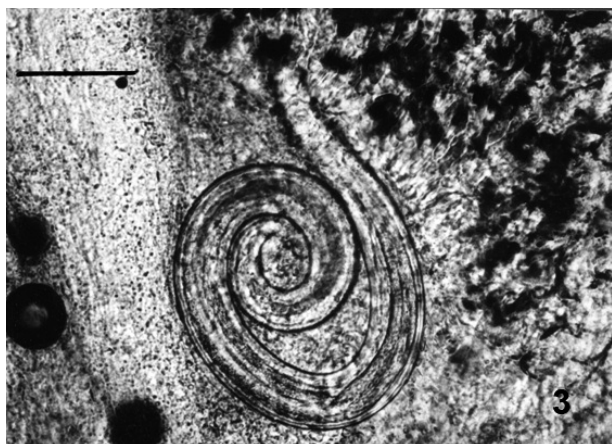
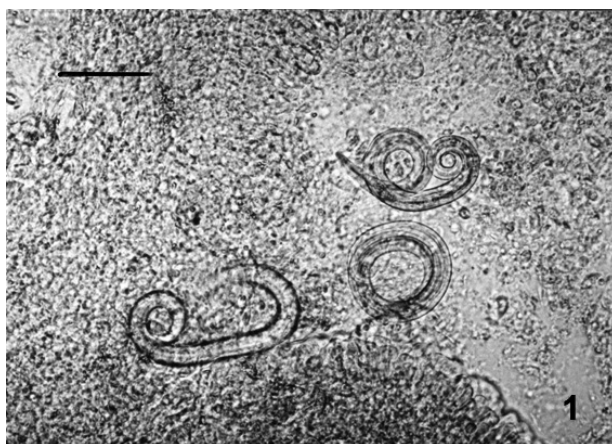
Material i metody

Do badań użyto wolne od zarażenia ślimaki lądowe *Succinea putris* zebrane na terenie niezasiedlonym przez jelenie (okolice Piaseczna). Są one często spotykane w warunkach naturalnych, a ich przezroczyste tkanki umożliwiają dobrą obserwację w kompresorze do trychinoskopii. Ślimaki (128 egzemplarzy) zarażono doświadczalnie umieszczając na 3 godziny na płytce Petriego, w której w cienkiej warstwie znajdowała się zawiesina ok. 25 tysięcy larw I stadium *E. cervi*, tak aby mogły swobodnie poruszać się w tej zawieszynie i miały z nią stały kontakt. Początkowo ślimaki sekcjonowano co 15 minut w ciągu 45 minut, potem co 30 minut w ciągu 4 godzin, a następnie co godzinę w ciągu 3 godzin. Podczas sekcji wyodrębniano przewód pokarmowy i mięsień stopy, które badano w kompresorze pod mikroskopem stereoskopowym w celu wykrycia larw.

Pozostałe ślimaki wykorzystano do prześledzenia rozwoju larw I stadium do III stadium (inwazyjnego). Zarażone ślimaki przeniesiono do pojemnika, którego dno pokrywała warstwa wilgotnego piachu o grubości ok. 3 cm i kontynuowano ich hodowlę w temperaturze 20°C, odżywiając sałatą. Sekcje ślimaków przeprowadzano co 24 godziny. Z rozdrobnionych ślimaków sporządzano preparaty mikroskopowe w celu obserwacji larw, ustalenia okresów ich rozwoju do II, a następnie III stadium i wykonania dokumentacji fotograficznej.

Wyniki i dyskusja

W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących drogi wnikania larw I stadium *E. cervi* do organizmu ślimaka *Succinea putris*. W trakcie doświadczenia zaobserwowano, że 30 minut po zarażeniu ślimaki stały się mniej ruchliwe na skutek podrażnienia i uszkodzenia tkanek spowodowanego przez wnikające larwy. Należy przypuszczać, że larwy I stadium *E. cervi* przenikają do organizmu śli-



Fot. 1–3. Larwy I–III stadium *E. cervi* w tkankach ślimaka; skala 0,01 mm. 1. Larwy I stadium; 2. Larwy II stadium; 3. Larwy III stadium.

Phot. 1–3. Larvae I–III stage *E. cervi* in snail tissues; scale bar 0.01 mm. 1. Larvae I stage; 2. Larvae II stage; 3. Larvae III stage.

maka przez mięśnie stopy, a nie przez przewód pokarmowy (Fot. 1). W przewodzie pokarmowym zwykle nie obserwowano larw, wykryto tylko pojedyncze w jednym przypadku, gdy przedostały się tam spożyte podczas żerowania. W mięśniu stopy *S. putris* stwierdzono maksymalnie aż 438 larw.

Po upływie 7 dni od zarażenia obserwowano nacieki zapalne w tkankach dookoła larw *E. cervi* i pierwsze larwy II stadium, które zaczęły gromadzić substancje zapasowe w postaci ziarnistości, co uwidacznia się w postaci ciemno pigmentowanego jelita. Po upływie 9 dni wszystkie larwy osiągnęły już II stadium (Fot. 2), a 18 dnia odnotowano początek drugiej linki, oskórek larw uległ odwarstwieniu na obu końcach i w środku larw. Po 21 dniach większość larw osiągnęła III stadium, a 28 dnia wszystkie larwy były larwami inwazyjnymi (Fot. 3).

Samson i Holmes [11] badali sposób wniknięcia larw I stadium pokrewnych gatunków z rodziny Protostrongylidae: *Protostrongylus stilesi* i *P. rushi* do organizmu ślimaka *Vallonia pulchella*. Stwierdzili oni, że larwy są zdolne do dokonania inwazji ślimaka dwoma drogami: aktywnie i pasywnie. Od zarażenia do 6 godzin po ekspozycji zaobserwowano, że mniej niż połowa dostaje się przez przewód pokarmowy, a ponad połowa przez nabłonek stopy ślimaka i powłokę. Po 72 godzinach ponad 2/3 larw było w stopie ślimaka, a mniej niż 1/3 w przewodzie pokarmowym. Řezáč i wsp. [12] badali sposób wejścia larw I stadium *E. cervi* do organizmu ślimaków *Arianta arbustorum* i *Helix pomatia*. Powierzchniowe bruzdy podeszwy były uznane jako najważniejsze miejsce wejścia larw. Obecne wyniki potwierdzają obserwacje tych autorów. W doświadczeniach Demiaszkiewicza [13], który zarażał ślimaki *Helix pomatia* drogą iniekcyjną, pierwsze larwy inwazyjne *E. cervi* otrzymano po 28 dniach, a w ślimakach *Cepea hortensis* stwierdzono po 30 dniach od chwili zarażenia. W ślimakach wodnych rozwijały się dłużej, w *Galba corvus* pierwsze larwy inwazyjne rozwijały się po 35 dniach, w *Planorbarius corneus* po 37 dniach, a w ślimakach *Physa* sp. po upływie 33 dni od zarażenia. Hale [14] w ślimakach *Cepea hortensis* otrzymała larwy inwazyjne szybciej, bo w ciągu 23–26 dni, bardzo podobnie jak w powyższym doświadczeniu.

W niniejszych badaniach stwierdzono, że główną drogą wnikania larw I stadium *E. cervi* do organizmu ślimaka *S. putris* są mięśnie stopy. Okres rozwoju larw *E. cervi* do II stadium wynosi 9 dni, a do stadium inwazyjnego 21 dni.

Literatura

- [1] Cameron T. 1931. On two species of nematodes from the Scottish red deer. *Journal of Helminthology* 9: 213–216.
- [2] Demiaszkiewicz A.W. 1985. Elafostromyloza – nowa pasożytoza jeleniowatych w Polsce. *Medycyna Weterynaryjna* 41: 616–618.
- [3] Ljubimov M. 1959. Novoe v epizootologii, profilaktike i terapii elafostromyloza pantovych olenej. W: *Sbornik statej po pantovomu olenovodstvu*. Knižnoe Izdatelstvo, Gorno-Altajsk: 164–214.
- [4] Demiaszkiewicz A.W. 1987. Skład gatunkowy oraz ekstensywność inwazji jeleniowatych w wybranych łowiskach przez nicienie z rodziny Protostrongylidae. *Wiadomości Parazytologiczne* 33: 57–62.
- [5] Borg K. 1979. Symptome der Kreutzlähme (Schleuderkrankheit) bei Elaphostromylozabefall des Kleinhirns bei einem Rotwildkalb. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 25: 237–238.
- [6] Demiaszkiewicz A.W. 1997. Elafostromyloza – śmiertelna choroba kóz wywołana przez pasożyty jeleni. Sprawozdanie z działalności PAN w roku 1996. PAN 99.
- [7] Prjadko E., Vysokov S., Frolov V. 1963. K epizootologii elafostromyloza severnych olenej. W: *Parazyty selsko-chozjajstvennych životnych Kazachstana*. 3. *Gel'Minty*. Izdatielstvo AN Kaz. SSR, Alma-Ata: 74–83.
- [8] Demiaszkiewicz A.W. 2000. Elafostromyloza – nowa śmiertelna pasożytoza owiec. *Magazyn Weterynaryjny* 9: 43–45.
- [9] Demiaszkiewicz A.W. 2001. Przebieg i próba leczenia elafostromylozy domowych przeżuwaczy. *Magazyn Weterynaryjny* 10: 62–64.
- [10] Demiaszkiewicz A.W., Drózd J., Lachowicz J., Bielecki W. 1999. Doświadczalne zarażenie kóz larwami inwazyjnymi *Elaphostromyloz cervi*. *Medycyna Weterynaryjna* 55: 465–467.
- [11] Samson J., Holmes J.C. 1985. Modes of entry of the first-stage larvae of *Protostrongylus stilesi* and *P. rushi* (Nematoda, Protostrongylidae) in the snail intermediate host *Vallonia pulchella*. *Canadian Journal of Zoology* 63: 2481–2482.
- [12] Řezáč P., Palkovic L., Holasova E., Busta J. 1994. Modes of entry of the first-stage larvae of *Elaphostromyloz cervi* (Nematoda: Protostrongylidae) into pulmonate snails *Arianta arbustorum* and *Helix pomatia*. *Folia Parasitologica* 41: 209–214.
- [13] Demiaszkiewicz A.W. 1984. Badania nad nicieniami z rodziny Protostrongylidae występującymi u jeleniowatych w Polsce. Praca doktorska, IP PAN.
- [14] Hale J. 1980. Zur Entwicklung von *Elaphostromyloz cervi* Cameron, 1931 in Zwischenwirt. *Praktischer Tierarzt* 61: 34.

Wpłynęło 12 lutego 2009

Zaakceptowano 16 kwietnia 2009

[1] Cameron T. 1931. On two species of nematodes from