

# Wybrane, rzadko wykrywane pierwotniaki i ich znaczenie w praktyce klinicznej

BOŻENA PANASIUK, ANNA GRZESZCZUK, DANUTA PROKOPOWICZ, ANATOL PANASIUK

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna AM, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok

Panasiuk B., Grzeszczuk A., Prokopowicz D., Panasiuk A.

## A selection of rarely detected protozoa and their significance in clinical practice

### Summary

In recent years, many new parasites that were earlier undetected in human beings have now been discovered thanks to modern diagnostic methods such as molecular investigations. One of these parasites is Microsporidia which was earlier observed only in animals. The introduction of molecular biology techniques has revealed that *Cryptosporidium parvum* is not animal specific and *Cryptosporidium felis* may be a pathogen in humans who have a decreased level of immunity.

Recognising these parasites will allow us to understand infections better, to prevent them and to treat new invasions.

**Keywords:** rarely detected protozoa, microsporidia, *Cryptosporidium*.

W ostatnich latach dzięki zastosowaniu nowoczesnych technik diagnostycznych, w tym badań molekularnych, a także udoskonaleniu wcześniej znanych metod, poznano wiele pasożytów uprzednio nie wykrywanych lub rzadko stwierdzanych u człowieka. Należą do nich m.in. microsporidia.

Przedstawicielem rodzaju *Encephalitozoon* (*Enc.*) jest *Enc. cuniculi*. Według Canninga i wsp. (2) Levaditi i wsp. wykryli ten wewnątrzkomórkowy pasożyt wielu ssaków oraz niektórych owadów w 1923 r. Pojedyncze przypadki tej parazytozy opisywano także u ptaków. Pierwsze zarażenie człowieka wykryto dopiero w 1959 r. (15). *Enc. cuniculi* jest przyczyną uogólnionych infekcji, może powodować ciężkie postaci zapalenia nosogardzieli i zatok, wątroby, a nawet otrzewnej, prowadzące niekiedy do zgonów.

W 1991 r. Didier i wsp. (3) opisali nowy gatunek – *Enc. hellem*. Pasożyt ten występuje tylko u ludzi, często z obniżoną odpornością immunologiczną, w tym chorych na AIDS. Schwartz i wsp. (17) pierwsi opisali i usystematyzowali zarażenie *Encephalitozoon* u żyjących z HIV. Objawy tej infekcji dotyczą najczęściej narządu wzroku, powodując objawy *keratoconjunctivitis*. Pacjenci zgłaszają bóle i uczucie suchości oczu, zaburzenia widzenia, a niekiedy nadmierne wydzielanie łez. Badaniem oftalmoskopowym stwierdza się rozlane, powierzchowne uszkodzenie rogówki, czasami występujące w postaci owrzodzeń. Pasożyt ten może bytować również w komórkach nabłonka zatok, oskrzeli, a także dróg moczowych powodując zapalenie oskrzeli, płuc, zatok, nerek, pęcherza

moczowego, a także cewki moczowej (18, 21). Według Michielsa i wsp. (9) infekcja *Enc. hellem* może predysponować do dodatkowego zakażenia wirusem cytomegalii.

W 1985 r. po raz pierwszy u człowieka został opisany pierwotniak należący do rodzaju *Pleistophora* – *Pleistophora* spp. Do tego czasu zarażenie tym pasożytem było stwierdzane tylko u owadów i kręgowców, głównie ryb. Pasożyt w organizmie człowieka umiejscawia się w komórkach mięśniowych powodując ich włóknienie z masywnym odczynem zapalnym. Zarażenie to zostało opisane u 20-letniego mężczyzny, który zgłaszał znaczne bóle mięśni. Badaniem przedmiotowym stwierdzano uogólnioną limfadenopatię, ginekomię, atrofię jąder. W badaniach laboratoryjnych wykazano cechy niedokrwistości, podwyższoną aktywność aminotransferaz. Badaniem elektromiograficznym stwierdzono cechy rozlanej myopatii (7). Tej inwazji pasożytniczej sprzyjają również stany obniżonej odporności immunologicznej.

Kolejnym pasożytem należącym również do microsporidia jest *Enterocytozoon* (*Ent.*) *bieneusi*. Uważano, że wywołuje on tylko parazytozę ryb. W 1985 r. Modigliani i wsp. (15) stwierdzili jego obecność w organizmie człowieka. *Ent. bieneusi* pasożytuje głównie w przewodzie pokarmowym. Znalaziono go w nabłonku dróg żółciowych, pęcherzyka żółciowego, przewodu trzustkowego, dwunastnicy, jelicie cienkim i grubym. Najczęstszym miejscem pasożytowania jest nabłonek dwunastnicy (11). Zarażenie przebiega głównie pod postacią zapalenia pęcherzyka żółciowego,

dróg żółciowych. *Ent. bienensei* powoduje również objawy ostrego lub przewlekłego nieżytu jelitowego. Towarzyszy temu utrata apetytu, nudności, wymioty, bóle brzucha. Badania laboratoryjne wykazują wzrost aktywności aminotransferaz (4). *Ent. bienensei* stwierdzany jest również w drogach oddechowych. Pol i wsp. (14) opisali obecność tego pasożyta w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych. Zarażeniu towarzyszy przewlekły kaszel, duszność. Śmiertelność zakażonych *Ent. bienensei* szacuje się na ok. 56% (14).

Istnieje wiele metod wykrywania zarażenia microsporidia. Do technik tych zalicza się m.in. diagnostykę cytologiczną. Pierwotniaki te wykrywane są w mikroskopie świetlnym w tkankach i płynach ustrojowych. Preparaty do diagnostyki barwione są typowo metodą Grama i Giemsa. Przydatną metodą jest diagnostyka histologiczna tkanek pobranych np. z jelita, pęcherzyka żółciowego, rogówki, barwionych metodą H+E, PAS, Ziehl-Nielsen. Preparaty oglądane są w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu 1000-krotnym. W związku z tym, że microsporidia są małymi organizmami, najlepiej widoczne są w mikroskopie elektronowym. Do rozpoznawania pasożyta wykorzystywane są również metody immunologiczne. Metodę ELISA stosuje się głównie do wykrywania *Enc. cuniculi*. Jedną z najbardziej czułych, ale również kosztownych technik jest PCR (17).

Kolejną, rzadko występującą pasożytozą człowieka jest cyclosporoza. *Coccidia* z rodzaju *Cyclospora* pasożytują głównie u kręgowców: gadów i ssaków. Według Zendera i wsp. (20) Ortega w 1993 r. po raz pierwszy opisał jedyny inwazyjny dla człowieka gatunek, *Cyclospora cayentanensis*. Człowiek zaraża się spożywając zanieczyszczoną wodę i żywność. Postacią inwazyjną dla człowieka jest dojrzała oocysta. Pasożyty te są patogenem przewlekłych biegunek. Wykrywane są metodą cytologiczną w stolcu. Preparaty barwi się metodą Ziehl-Nielsen lub Kinyon. W mikroskopie świetlnym widziane są jako okrągłe, czerwone oocysty. Organizmy te mają średnicę kilku mikrometrów i dlatego powinny być oglądane przy 1000-krotnym powiększeniu.

W 1907 r. w gruczołach myszy został wykryty przez Tyzera pierwszy gatunek *Cryptosporidium* (*C.*), a mianowicie *C. muris* (19).

Rodzaj *Cryptosporidium* należy do typu *Apicomplexa*, klasy *Sporozoasida*, podklasy *Coccidia* (8). Zarażenie *C. parvum* zostało po raz pierwszy opisane w 1909 r. u myszy, a w 1971 r. u cieląt. U zwierząt tych obserwowano objawy biegunki, której towarzyszyła gorączka, upośledzone łaknienie, odwodnienie i zły stan ogólny (5). Opisano także gatunek podobny do *C. muris* u przewlekle zarażonego, dorosłego bydła. Produkcja mleka i przyrosty masy ciała były zwykle niższe u bydła zarażonego *Cryptosporidium* w porównaniu ze zdrowym. Inwazje oboma gatunkami identyfikowano wśród bydła, myszy i szczurów na całym świecie (5).

Wczesne badania nad krzyżową zakaźnością nie wykazały specyficzności gatunkowej *Cryptosporidium* w obrębie ssaków (10). Jednak nasuwający się z tych doświadczeń wniosek o jednogatunkowym rodzaju *Cryptosporidium* jest błędny. Kolejne doświadczenia nad zakaźnością w obrębie innych grup zwierząt wykazały istnienie specyficzności gatunków *Cryptosporidium* w obrębie gadów, ptaków czy ssaków, a nawet węższej – inwazję *C. wrairi* można wywołać jedynie u świnki morskiej (6). Kilkanaście gatunków *Cryptosporidium* było nazwanych od gatunku, z którego wyizolowano oocysty; dopiero doświadczenia nad krzyżową zakaźnością pozwoliły na dokładniejszą ocenę i eliminację wielu z tych gatunków.

Ostatnio uważa się, że 8 gatunków *Cryptosporidium* wywołuje inwazje u kręgowców: *C. felis*, *C. wrairi*, *C. parvum* – stwierdzane u ssaków, *C. muris* – u gryzoni, *C. meleagridis* i *C. baileyi* – u ptaków, *C. serpentis* – u gadów, *C. nasorum* – u ryb.

Trudności nad badaniami różnych izolatów przypominających *C. parvum* wynikają między innymi z braku możliwości hodowli *in vitro* (5).

Ostatnio badania genotypowania izolatów od zarażonych ludzi i bydła (12) wykazały istnienie dwu odrębnych genotypów *C. parvum*. Genotyp 1 – „ludzki” był izolowany jedynie od ludzi, zaś genotyp 2 – „bydłęcy” – od cieląt i osób z bliskiego kontaktu z zarażonymi zwierzętami lub po spożyciu pokarmów prawdopodobnie zanieczyszczonych odchodami bydła. Ponadto badania eksperymentalne wykazały, że izolaty o genotypie 2 były zakaźne dla myszy oraz cieląt w rutynowych warunkach laboratoryjnych, podczas gdy izolaty genotypu 1 – nie wykazywały tej zdolności. Wyniki te sugerują występowanie dwóch odrębnych dróg transmisji zarażenia *C. parvum* u ludzi (12).

Najnowsze techniki analizy sekwencji DNA różnych izolatów *Cryptosporidium* prowadzą do zaskakujących odkryć. Ostatnio opisano zarażenie *C. felis*, współistniejące z inwazją *C. muris* i *C. parvum* u cieląt z gospodarstwa rolnego w Bystrej koło Gdańska (1). Izolaty te są identyczne z odkrytymi niedawno u kotów (16) i u chorych z AIDS (13). Najnowsze badania Pieniążka i wsp. (13) nad sekwencją małej podjednostki rRNA wykazały, obok zarażeń dwoma powyżej wspomnianymi genotypami (I i II) oraz genotypem identycznym z *C. felis*, istnienie inwazji nowym, nienazwanym genotypem *Cryptosporidium*, identycznym z izolatem pochodzącym od psa (13).

Reasumując, najnowsze techniki badań laboratoryjnych, ze szczególnym uwzględnieniem badań molekularnych, pozwoliły na identyfikację pasożytów dotychczas nie wykrywanych lub rzadko stwierdzanych u człowieka. Ich poznanie pozwoli być może na lepsze zrozumienie szerszego zarażenia, a tym samym zapobieganie i leczenie nowych inwazji. Przewidywać należy także wykrywanie nowych gatunków pasożytów co powoduje stałą potrzebę informowania o tych zagrożeniach lekarzy medycyny i weterynarii.

## Piśmiennictwo

1. *Bornay-Linares F. J., Silva A. J., Moura I. N., Myjak P., Pietkiewicz H.*: Identification of *Cryptosporidium felis* in cow by morphologic and molecular methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, 65, 1455-1458.
2. *Canning E. V., Lom J.*: The Microsporidia of Vertebrates. London, Academic Press, 1986.
3. *Didier E. S., Didier P. J., Friedberg D. N., Stenson S. M., Orenstein J. M., Yee R. W., Tio F. O., Davis R. M., Vossbrinck C., Millichamp N.*: Isolation and characterisation of new human microsporidian, *Encephalitozoon hellem* (n. sp.), from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J. Infect. Dis.* 1991, 163, 617-621.
4. *Eeftink Schattenkerk J. K. M., Van Gool T., Schot L. S.*: Chronic rhinosinusitis a new clinical syndrome in HIV – infected patients with microsporidiosis. Abstract, Workshop on Intestinal Microsporidia in HIV Infection. Paris, 1992, 18-22.
5. *Fayer R., Speer C., Dubey J. P.*: The general biology of *Cryptosporidium*, w: Fayer R.: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRP Press Inc., Boca raton, Filadelfia, 1997.
6. *Graczyk T. K., Fayer R., Cranfield M. R.*: Zoonotic transmission of *Cryptosporidium parvum*: Implication for waterborne cryptosporidiosis. *Parasitol. Today* 1997, 13, 348-351.
7. *Ledford D. K., Overman M. D., Gonzalvo A.*: Microsporidiosis myositis in patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1985, 102, 628-630.
8. *Ma P.*: *Cryptosporidium* spp. and *Isospora belli*. w: *Opportunistic infections in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome*. Leoung G., Mills J., Marcel Dekker, New York, 1989, 355-377.
9. *Michiels J. F., Hofman P., Saint Paul M. C.*: Pathological features of intestinal microsporidiosis in HIV positive patients. A report 13 cases. *Path. Res. Pract.* 1993, 189, 377-383.
10. *O'Dongue P. J.*: *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *J. Parasitol.* 1995, 25, 139-195.
11. *Orenstein J. M., Tenner M., Kottler D. P.*: Localization of infection by the microsporidian *Enterocytozoon bienewisi* in the gastrointestinal tract of AIDS patients with diarrhea. *AIDS* 1992, 6, 195-197.
12. *Peng M. M., Xiao L., Freeman A. R., Arrowood M. J., Escalante A. A., Weltman A. C., Ong C. S. L., Mac Kenzie W. R., Lal A. A., Beard C. B.*: Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerg. Infect. Dis.* 1997, 3, 567-573.
13. *Pieniążek K. D., Bornay-Linares F. J., Slemenda S. B., da Silva A. J., Moura I. N. S., Arrowood M. J., Dietrich O., Addiss D. G.*: New *Cryptosporidium* genotypes in HIV-infected persons. *Emerging Infect. Dis.* 1995, 5, 444-449.
14. *Pol S., Romana C. A., Richard S., Amouyal P., Desportes-Livage I., Carnot F., Pays J. F., Berthelot P.*: Microsporidia infection in patients with the human immunodeficiency virus and unexplained cholangitis. *N. Engl. J. Med.* 1994, 328, 95-99.
15. *Rogowska-Szadkowska D.*: Inwazje pasożytnicze w AIDS. *Wiad. Parazytol.* 1996, 42, 145-157.
16. *Sargent K. D., Morgan U. M., Eliot A., Thompson R. C. A.*: Morphological and genetic characterisation of *Cryptosporidium* oocysts from domestic cats. *Vet. Parasitol.* 1998, 77, 221-227.
17. *Schwartz D. A., Bryan R. T., Hewan-Lowe K. O.*: Disseminated microsporidiosis and AIDS: pathologic evidence for respiratory acquisition of *Encephalitozoon* infection. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1992, 116, 660-668.
18. *Terada S., Reddy R., Jeffers L. J.*: Microsporidian hepatitis in acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1987, 107, 61-62.
19. *Weber K., Deplazes P.*: Neue parasitare Erkrankungen beim Menschen: Infektionen durch Mikrosporidien und *Cyclospora* species. *Schweiz. Med. Wochenschr.* 1995, 125, 909-923.
20. *Zender H. O., Arrigoni E., Eckert J.*: A case of *Encephalitozoon cuniculi* peritonitis in patient with AIDS. *Am. J. Clin. Pathol.* 1989, 92, 352-356.

Adres autora: dr n. med. Bożena Panasiuk, Klinika Obserwacyjno-Zakaźna AM, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok

## STAN ZAKAŻNYCH CHOROÓB ZWIERZĄT W POLSCE,

według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii  
w kwietniu 2000 r. \*)

- 1) **Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w 5 województwach, a mianowicie: kujawsko-pomorskim (1-1), łódzkim (1-1), podkarpackim (1-1), świętokrzyskim (3-3), warmińsko-mazurskim (2-2). Wściekliznę stwierdzono u 2 psów, 4 kotów i 2 szt. bydła.
- 2) **Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 11 województwach: kujawsko-pomorskim (3-5), lubelskim (7-13), łódzkim (1-1), małopolskim (3-25), mazowieckim (9-14), podkarpackim (7-22), podlaskim (10-19), śląskim (1-1), świętokrzyskim (7-30), warmińsko-mazurskim (8-20), wielkopolskim (2-2). Zanotowano ją u 123 lisów, 14 jenotów, 1 kuny, 1 tchórza, 1 borsuka, 1 wilka, 1 nietoperza i 1 fretki.
- 3) **Salmoneloza świń** – wystąpiła w województwie wielkopolskim (1-1).
- 4) **Wirusowe zapalenie tętnic koni** – wystąpiło w województwie podkarpackim (1-3)
- 5) **Bruceloza owiec** – wystąpiła w województwie opolskim (1-1).
- 6) **Myksomatoza królików** – wystąpiła w województwie warmińsko-mazurskim (1-1).
- 7) **Wirusowa wiremia u karpia** – wystąpiła w województwie warmińsko-mazurskim (1-1) i wielkopolskim (1-1)
- 8) **Wirusowa posocznica krwiotoczna ryb łososiowatych** – wystąpiła w województwie pomorskim (1-1) i warmińsko-mazurskim (1-1).
- 9) **Zgnielec amerykański** – wystąpił w 3 województwach: małopolskim (1-1), warmińsko-mazurskim (1-1), wielkopolskim (1-1).
- 10) **Salmoneloza drobiu** – wystąpiła w 10 województwach: dolnośląskim (3-4), kujawsko-pomorskim (2-2), lubuskim (3-5), łódzkim (1-1), małopolskim (3-3), mazowieckim (4-4), śląskim (3-5), świętokrzyskim (2-4), wielkopolskim (8-15), zachodniopomorskim (1-1)

\*) w nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.