

Doświadczalne zarażenie bydła larwami inwazyjnymi *Elaphostrongylus cervi**)

ALEKSANDER W. DEMIASZKIEWICZ, JAN DRÓŹDŹ, JACEK LACHOWICZ,
WOJCIECH BIELECKI**

Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa

**Katedra Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Demiaszkiewicz A. W., Dróżdź J., Lachowicz J., Bielecki W.

Experimental infection of cattle with invasive larvae of *Elaphostrongylus cervi*

Summary

In order to examine the susceptibility of cattle for elaphostrongylosis, four 4-month old calves were infected *per os* with doses of 10 000-50 000 invasive larvae of *E. cervi*. One 1 calf was the control. Clinical symptoms such as decreased appetite, weakness, cough, mucus outflow from nostrils and rales in the bronchia, were observed from the 6th day post infection only in calves infected with the highest doses. The calf infected with 30 000 of larvae in 20th day of invasion had a strong cough and purulent outflow from its nostrils. The calf infected with 50 000 larvae from 18th day post infection also indicated disorders of gastrointestinal motility and meteorism. Two calves with clinical symptoms were necropsied on the 30th and 60th day post infection. Inflammatory changes were found in their lungs, hyperemia in the gastrointestinal tract as well as hyperaemia, blood extravasations and submeningeal hematomas in the nervous system. Despite these changes, no nervous disorders were observed in the calves. A few dead larvae of *E. cervi* were isolated from the cranial cavity and vertebral canal. Calves infected with the smaller doses were observed for 300 days and did not show any clinical symptoms of invasion. No eggs of this parasite were found in coproscopic examinations of faecal samples from the infected calves. This study showed that cattle are less susceptible to elaphostrongylosis than small ruminants.

Keywords: *Elaphostrongylus cervi*, calves, course of invasion

Nicienie z rodzaju *Elaphostrongylus* są pasożytami tkanki łącznej międzymięśniowej i ośrodkowego układu nerwowego jeleniowatych (*Cervidae*) w Eurazji. Jedynym przedstawicielem tego rodzaju w Polsce jest *Elaphostrongylus cervi* występujący u jeleni szlachetnych i danieli. Ekstensywność zarażenia krajowych jeleni tym pasożytem waha się w poszczególnych łowiskach od 63,6% do 100%, osiągając maksymalną wartość w Puszczy Białowieskiej (2, 3, 6, 12).

Patogenność tego gatunku uzależniona jest ściśle od jego lokalizacji. Nicienie umiejscawiające się w tkance łącznej międzymięśniowej powodują elafostromylozę o przebiegu subklinicznym, natomiast zlokalizowane w ośrodkowym układzie nerwowym mogą wywoływać ciężkie kliniczne objawy nerwowe (1, 11).

Dojrzałe samice *E. cervi* w organizmie żywiciela ostatecznie składają jaja, które drogą układu krwionośnego przedostają się do płuc, gdzie wylęgają się z nich larwy I stadium aktywnie przenikające do światła pęcherzyków płucnych. Przełknięte ze śluzem

oskrzelowym larwy I stadium wydalane są wraz z kałem do środowiska. Żywicielami pośrednimi pasożyta są liczne gatunki ślimaków lądowych. Larwy pasożyta po opuszczeniu kału wnikają aktywnie przez powłoki ciała ślimaków lub zostają przez nie połknięte. W mięśniu stopy ślimaka larwy te intensywnie rosną, linieją dwukrotnie i w ciągu 30-40 dni osiągają stadium inwazyjne. Jelenie zarażają się zjadając wraz z trawą i pędami roślin pełzające po nich drobne ślimaki lądowe zawierające larwy pasożyta. Wszędzie gdzie występuje jelenie istnieje źródło zarażenia elafostromylozą (9, 11, 13). Dlatego przeżuwacze domowe wypasane na przyleśnych pastwiskach narażone są na kontakt z tym pasożytem. Przypadki spontanicznej elafostromylozy odnotowano u kóz w Szwajcarii (14, 15, 16) oraz u kóz i owiec w okolicy Komańczy w Bieszczadach (4). Doświadczalne zarażenie larwami inwazyjnymi *E. cervi* kóz i owiec wykazało, że nicień ten powoduje u tych zwierząt śmiertelną parazytozę przebiegającą z objawami ze strony układu nerwowego w postaci niedowładów i porażań. Brak informacji w piśmiennictwie dotyczących zarażenia bydła tym pa-

*1 Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 5 P06K 032 14.

sożytem skłonił nas do zbadania podatności tego gatunku na elafostromylozę.

Material i metody

Larwy I stadium *E. cervi* uzyskano przy użyciu metody Baermanna z kału naturalnie zarażonych jeleni zebranego w Puszczy Białowieskiej. Larwy inwazyjne (III stadium) otrzymano przez zarażenie iniekcyjne ślimaków lądowych *Helix pomatia* dawkami około 1000 larw I stadium. Po upływie 40 dni ślimaki po zabiciu i rozdrobieniu umieszczano w zlewce wypełnionej 1% płynem trawiącym na mieszadle magnetycznym w temperaturze 37°C i poddawano trawieniu w ciągu czterech godzin. Następnie zlewano płyn z nad osadu, osad zalewano czystą wodą i dekantowano wielokrotnie do uzyskania pełnej przejrzystości. W osadzie wśród niestrawionych tkanek ślimaków na dnie zlewki zgromadzone były bardzo liczne larwy inwazyjne *E. cervi*. Niewielkie ilości osadu przenoszono na szkiełko zegarkowe i pod kontrolą lupy wybierano z niego larwy inwazyjne przygotowując dawki do zarażenia cieląt.

Do zarażenia użyto cielęta rasy nizinnej czarno-białej w wieku 4 miesięcy pochodzące z Zakładu Doświadczalnego Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Zwierzęta przed doświadczeniem zostały odrobaczone Iwermektyną. Cztery cielęta otrzymały doustnie dawki 10 000, 20 000, 30 000 i 50 000 larw inwazyjnych *E. cervi*, a jedno pozostawiono jako kontrolę. Po zarażeniu zwierzęta obserwowano codziennie rejestrując objawy kliniczne inwazji, co 14 dni pobierano od nich krew do badań hematologicznych, natomiast od najdłużej utrzymywanych cieląt pobierano co dwa dni próby kału i badano metodą Vajdy w celu wykrycia ewentualnego wydalania larw pasożyta. Cielęta zarażone dawkami 30 000 i 50 000 larw, u których wystąpiły objawy kliniczne inwazji były uśpione i sekcjonowane po upływie 30 i 60 dni. Pozostałe cielęta zostały uśpione i poddane sekcji po upływie 300 dni. Przeprowadzono szczegółowe badania anatomo- i histopatologiczne. Ośrodkowy układ nerwowy cieląt i wycinki zmienionych narządów utrwalono w 10% zobojętnionym formaldehydzie. Wycinki zatapiano w parafinie (Paraplast Regular – Sigma), skrawki mikrotomowe o grubości 4 µm barwiono metodą przeglądową hematoksylina – eozyna. Preparaty oceniano w mikroskopie świetlnym BX 50 Olympus.

Wyniki i omówienie

Po upływie 6 dni u cieląt, które otrzymały najwyższe dawki 30 000 larw i 50 000 larw zaobserwowano zmniejszony apetyt, osłabienie, kaszel i śluzowy wypływ z nozdrzy. Zwierzęta leżały rzadko wstając, wystąpiły rżenia w oskrzelach, a w płucach stwierdzono zaostroszony szmer pęcherzykowy. Cielę zarażone dawką 30 000 larw 15 dnia po zarażeniu utraciło apetyt, co doprowadziło do dużej straty masy ciała i obserwowanego, około 20 dnia inwazji, znacznego wychudzenia (ryc. 1). Wciąż utrzymywał się u niego bardzo silny napadowy kaszel i wkrótce pojawił się ropny wyciek z nozdrzy. Cielę to zostało uśpione 30 dnia po zarażeniu.

Badanie sekcyjne wykazało obecność płynu w jamach opłucnowej i otrzewnowej. Węzły chłonne krez-



Ryc. 1. Cielę zarażone dawką 30 000 larw inwazyjnych *E. cervi* 20 dnia inwazji



Ryc. 2. Pasmowate rozrosty łącznotkankowe pod torebką wątroby



Ryc. 3. Śledziona zarażonego cielęcia z guzowatymi zgrubieniami (zaznaczonymi strzałkami)

kowe były powiększone, występowało przekrwienie części odźwiernikowej trawieńca i dwunastnicy oraz zrosty włóknikowe otrzewnej. Wątroba była powiększona, przez torebkę były widoczne szarosiwe pasma rozrostu łącznotkankowego (ryc. 2). W śledzionie również powiększonej stwierdzono trzy guzy o średnicy od 5 do 9 cm (ryc. 3). W nerkach obserwowano pojedyncze ogniska barwy białej o średnicy od 3 do 4 mm, a w płucach rozległe zmiany zapalne. Przednia część płuc barwy ciemnoczerwonej, niepowietrzna, pozosta-



Ryc. 4. Zmiany zapalne w płucach



Ryc. 5. Wylewy podoponowe w rdzeniu kręgowym

łe części wykazywały cechy rozedmy i obrzęku (ryc. 4). Ośrodkowy układ nerwowy przekrwiony, w rdzeniu kręgowym począwszy od części piersiowej liczne, rozległe wylewy podoponowe (ryc. 5). Rdzeń kręgowy otoczony masami włóknistymi o konsystencji galaretowatej wypełniającymi kanał kręgowy, szczególnie obficie w okolicy lędźwiowo-krzyżowej. Z jamy czaszkowej wyizolowano 2 martwe larwy *E. cervi*, częściowo uległe resorpcji. W masach włóknistych otaczających rdzeń kręgowy stwierdzono fragmenty martwych larw pasożyta.

U cielęcia zarażonego dawką 50 000 larw 18 dnia inwazji kaszel zaczął się zmniejszać, ustąpiły rzęzenia w oskrzelach, natomiast zaobserwowano spowolnienie motoryki przewodu pokarmowego i lekkie wzdęcie objawiające się wysklepieniem powłok brzusznych w okolicy lewego dołu głodowego, które utrzymywało się w ciągu 8 dni. Po upływie 36 dni po zarażeniu stan zdrowia zwierzęcia wrócił do normy.

Po 60 dniach od zarażenia nie wykazujące żadnych objawów klinicznych cielę zostało uspijone i poddane sekcji. W jamie opłucnowej stwierdzono niewielką ilość płynu surowiczego, a w płucach stare zmiany zapalne w płatach wierzchołkowych i cechy obrzęku. Węzły chłonne krezkowe i śródpiersiowe były powiększone. W wątrobie stwierdzono podtorebkowo 5 blizn łącznotkankowych barwy szarej o średnicy od 0,5 do 1 cm. Ośrodkowy układ nerwowy był przekrwiony, na brzusznej powierzchni rdzenia kręgowego w okolicy lędźwiowej występowały cztery okrągłe krwinki podoponowe o średnicy od 2 do 4 mm. W okolicy krzyżowej stwierdzono również podłużny rozległy krwiatek podoponowy. Opony rdzenia otoczone były wysiękiem

włóknistym przerośniętym tkanką łączną. Larw *E. cervi* nie znaleziono.

Badanie wycinków zmienionych narządów obu cieląt, u których wystąpiły kliniczne objawy inwazji wykazało podobny obraz histopatologiczny. W płucach cieląt obserwowano przekrwienie, a u cielęcia zarażonego dawką 30 000 larw w przegrodach międzypłacikowych nacieki zapalne z przewagą granulocytów kwasochłonnych, ogniskowo w płacikach zapalenie śródmiąższowe i odoskrzelowe z tendencją do obliteracji oskrzeli. Natomiast u cielęcia zarażonego dawką 50 000 larw stwierdzono odoskrzelowe zapalenie płuc o charakterze przewlekłym, charakteryzujące się rozrostem podścieliska łącznotkankowego. U obu cieląt w nerkach występowało przekrwienie, wylewy krwi, i ogniskowo nacieki limfoidalne, a w wątrobach ogniskowe nacieki zapalne o charakterze ziarniaków w przestrzeniach bramnożółciowych. W mózgach obu zwierząt zarejestrowano obrzęk i przekrwienie, ogniskowo podoponowe i okołonaczyniowe nacieki zapalne z udziałem granulocytów kwasochłonnych, zwyrodnienie neuronów i neuronofagię. W rdzeniach kręgowych występowały ogniskowe nacieki zapalne o charakterze guzków pasożytniczych. Ponadto u cielęcia zarażonego dawką 30 000 larw w mięśniu sercowym stwierdzono podnasierdziowe nacieki limfoidalne, w śledzionie rozległą martwicę w stadium demarkacji z tendencją do tworzenia martwaka, a w dwunastnicy nacieki zapalne z przewagą granulocytów kwasochłonnych w błonie śluzowej i mięśniowej. Zastanawiającym jest fakt, że pomimo rozległych zmian anatomo- i histopatologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym cielęta te nie przejawiały widocznych objawów nerwowych.

Cielęta zarażone niższymi dawkami 10 000 larw i 20 000 larw były obserwowane w ciągu 300 dni. W okresie tym nie zarejestrowano u nich żadnych objawów klinicznych inwazji. Również nie stwierdzono larw pasożyta w ich kale. Badaniem sekcyjnym stwierdzono u nich stare zmiany w postaci łącznotkankowych blizn w wątrobie, mięśniu sercowym i nerkach oraz ciemne przebarwienia w ośrodkowym układzie nerwowym będące prawdopodobnie złogami hemosyderyny pozostałymi po zresorbowanych wylewach.

Badanie hematologiczne po 2 tygodniach od zarażenia wykazało u wszystkich cieląt leukocytozę z eozynofilią i neutrofilią oraz erytrocytopenię ze zmniejszeniem hematokrytu. Wymienione zmiany postępowały do 6 tygodnia inwazji, po czym uległy zahamowaniu i około 8 tygodnia po zarażeniu wskaźniki hematologiczne zaczęły wracać do normy.

Wykonane wcześniej zarażenie doświadczalne dawkami od 300 do 10 000 larw *E. cervi* kóz i 3000 do 20 000 owiec wykazało, że wymieniony pasożyt wywołuje u tych zwierząt śmiertelną parazytozę przebiegającą z objawami ze strony układu nerwowego w postaci niedowładów i porażań (4, 5, 7, 8). Również autorzy norwescy (10) przeprowadzili doświadczalną

inwazję owiec i kóz, jednak przy użyciu znacznie niższych dawek od 60 do 380 larw inwazyjnych *E. cervi* obserwując u niektórych zwierząt asymetryczne niedowład, zaburzenia odruchów rdzeniowych, zaburzenia widzenia i świadomości oraz porażenie kończyn. W niniejszych badaniach cielęta były zarażone bardzo wysokimi dawkami od 10 000 do 50 000 larw inwazyjnych *E. cervi*. Biorąc pod uwagę fakt, że w jednym ślimaku może rozwinąć się od kilku do 500 larw pasożyta należy przypuszczać, że w warunkach naturalnych nawet na pastwiskach odwiedzanych przez jelenie intensywność inwazji była nie może przekroczyć kilku tysięcy larw. Taka inwazja może wywołać zmiany patologiczne w organizmie zwierząt, ale nie zagraża ich życiu. Brak objawów nerwowych u zarażonych cieląt i wystąpienie niespecyficznych objawów ze strony układu oddechowego i pokarmowego jedynie u zwierząt najsilniej zarażonych spowodowane masową migracją larw przez tkanki świadczy o mniejszej podatności była na elafostromylozę w porównaniu z małymi przeżuwaczami.

Piśmiennictwo

1. *Borg K.*: Symptome der Kreuzlähme (Schleuderkrankheit) bei *Elaphostromylobefall* des Kleinhirns bei einem Rotwildkalb. *Jagdwissenschaft*. 1979, 25, 237-238.
2. *Demiaszkiewicz A. W.*: Skład gatunkowy oraz ekstensywność inwazji jeleniowatych w wybranych łowiskach przez nicienie z rodziny Protostrongyliidae. *Wiad. Parazytol.* 1987, 33, 57-62.
3. *Demiaszkiewicz A. W.*: *Elaphostromylos cervi* Cameron, 1931 in European red deer (*Cervus elaphus*) in Poland. *Acta Parasitol. Pol.* 1987, 32, 171-178.
4. *Demiaszkiewicz A. W.*: Elafostromyloza – nowa śmiertelna pasożytoza owiec. *Magazyn Wet.* 2000, 9, (51), 43-45.
5. *Demiaszkiewicz A. W.*: Przebieg i próba leczenia elafostromylozy domowych przeżuwaczy. *Magazyn Wet.* 2001, 10, (61), 62-64.
6. *Demiaszkiewicz A. W., Drózdź J., Lachowicz J.*: Występowanie nicieni płucnych u jeleni w Puszczy Białowieskiej. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 519-520.
7. *Demiaszkiewicz A. W., Drózdź J., Lachowicz J.*: Experimental elaphostromylosis of sheep. *Acta Parasit.* 2000, 45, 161.
8. *Demiaszkiewicz A. W., Drózdź J., Lachowicz J., Bielecki W.*: Doświadczalne zarażenie kóz larwami inwazyjnymi *Elaphostromylos cervi*. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 565-567.
9. *Hale J.*: Zur entwicklung von *Elaphostromylos cervi* Cameron, 1931 im Zwischenwirt. *Prakt Tierarzt.* 1980, 61, 340.
10. *Handeland K., Gibbons L. M., Skorping A.*: Experimental *Elaphostromylos cervi* infection in sheep and goats. *J. Comp. Path.* 2000, 123, 248-257.
11. *Ljubimov M. P.*: Novoe v epizootologii, profilaktike i terapi elafostromylozy patovych oleney. *Sb. Stat. Pant. Olenovod. gorno-Altajsk. Knižn. Izd.* 1959, s. 164-214.
12. *Misiewicz J., Demiaszkiewicz A. W.*: Występowanie i ekstensywność inwazji nicieni płucnych u jeleni, danieli i sarn w lasach olsztyńskich i śląskich. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 137-138.
13. *Panin V. Ja.*: Rol nazemnych molluskov v rasprostranienii elafostromylozy patovych oleney. *Parazity Sel-choz. Živ. Kazach., Gelminty.* 1964, 3, 79-83.
14. *Pusterla N., Caplazi P., Braun U.*: Zerebrospinal Nematodiasis bei sieben Ziegen. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1997, 139, 282-287.
15. *Pusterla N., Caplazi P., Lutz H., Braun U.*: Untersuchungen zur Behandlung der zerebrospinal Nematodiasis bei Ziegen. *D. tierarztl. Wschr.* 1999, 106, 22-24.
16. *Pusterla N., Hertzberg H., Viglezio M., Vanzetti T., Braun U.*: Untersuchungen über das Vorkommen der lumbalen Parese bei Ziegen und über das Auftreten von *Elaphostromylos cervi* beim Rothirsch im Kanton Tessin. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1998, 140, 76-82.

Sekcja Epizootiologiczna PTNW oraz
Katedra Epizootiologii z Kliniką Chorób Zakaźnych
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
organizują konferencję naukową pt.

Choroby zakaźne wykorzystywane w bioterroryzmie

Konferencja odbędzie się 10 września 2003 r. o godz. 10⁰⁰ na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UW-M w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13 i będzie bezpośrednio poprzedzać IV Kongres Immunologów Weterynaryjnych.

Koszt uczestnictwa, obejmujący materiały konferencyjne, wynosi 70 zł. Przedpłaty należy dokonać na adres: Bank PKO BP Oddział Centrum w Olsztynie, nr konta 31 10203541 1011428886 tytułem „uznać subkonto 0507-1102” do dnia 1 września 2003 r.

Zgłoszenia: Katedra Epizootiologii z Kliniką Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UW-M w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn; tel. (0 prefix 89) 523 35 74, fax. (0 prefix 89) 523 35 75; E-mail: szweda@uwm.edu.pl. Szczegółowy program zostanie przesłany zainteresowanym w stosownym terminie.