Fascioloides magna pasożytem sarny w Borach Zielonogórskich

ALEKSANDER W. DEMIASZKIEWICZ, ROBERT KOWALCZYK*,
KATARZYNA J. FILIP, ANNA M. PYZIEL

Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa
*Lecznica Weterynaryjna „U Kusego i Sokoła”, ul. A. Mickiewicza, 68-200 Żary

Otrzymano 12.04.2017

Zaakceptowano 27.06.2017

Demiaszkiewicz A. W., Kowalczyk R., Filip K. J., Pyziel A. M.
Fascioloides magna: a parasite of roe deer in Bory Zielonogórskie

Summary

The aim of this study was to determine the prevalence of infection with *F. magna* flukes in roe deer from the conifer forest Bory Zielonogórskie. Parasitological dissection was performed on 20 roe deer hunted in May 2016. Faecal samples from the animals were examined by the decantation method. One roebuck was verified to be infected with *F. magna*, which yielded a prevalence of 5%. We noted fibrinous deposits on the diaphragmatic surface of the liver with adhesions to the diaphragm, as well as five dark-coloured nodular protrusions on the liver surface. In the cross section view of the infected liver, we saw five pseudocysts corresponding to the nodular protrusions observed on the liver surface. Three of the pseudocysts were filled with dark brown liquid containing a few flukes, their eggs and cell detritus. The other two pseudocysts contained dark fluid and fragments of dead flukes. Although, no liver fluke eggs were detected in the faeces, thousands of eggs were found in the pseudocysts. Previous studies in Poland revealed two foci of this parasitosis: in south-western and south-eastern parts of the country. It is possible that the range of both foci is expanding due to red deer migrations and the spread of infected water snails and larval forms of the parasite in watercourses and rivers. *Fascioloides magna* infection is a threat for cervids and domestic ruminants. Therefore, it is important to monitor the occurrence of this fluke in Poland. It is essential to determine the range of fascioloidosis, examine the intermediate host species and record cases of *F. magna* infection in domestic ruminants.

Keywords: *Fascioloides magna*, *Capreolus capreolus*, Bory Zielonogórskie

Fascioloides magna (Bassi, 1875), obcy na terenie Europy gatunek przywry wątrobowej jest patogennym pasożytem jeleniowatych i domowych przeżuwaczy. Typowymi żywicielami ostatecznymi tej przywry w Ameryce Północnej są: wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*), jeleń wirginijski (*Odocoileus virginianus*), karibu (*Rangifer tarandus*), mulak (*Odocoileus hemionus hemionus*) i jeleń czarnoogoniasty (*Odocoileus hemionus columbianus*) (22). Gatunek *F. magna* po raz pierwszy stwierdzono i opisano we Włoszech, gdzie w 1875 r. w zwierzyńcu pod Turynem pasożyt był przyczyną masowych zachorowań jeleni, prowadzących do upadku ponad 100 zwierząt. Źródłem zarażenia były sprowadzane do tego zwierzyńca amerykańskie jelenie wapiti (1). Na kontynencie amerykańskim przywra ta została wykryta kilkanaście lat później u bydła (11), a następnie również u innych domowych i dzikich przeżuwaczy (22). W Europie rolę żywicieli ostatecznych przywry pełnią jelenie (*Cervus elaphus*), sarna (*Capreolus capreolus*) i daniel (*Dama dama*). *F. magna* została stwierdzona również w Niemczech, Czechach,

Słowacji i Austrii, na Węgrzech, w Chorwacji i w Serbii (6, 15, 17-21, 24, 25, 29).

Rozwój pasożyta jest zbliżony do cyklu rozwojowego motylicy wątrobowej *Fasciola hepatica*. Z jaj wydalonych z kałem w ciągu 4-7 tygodni wylęgają się miracidia. Do ich dalszego rozwoju niezbędne jest środowisko wodne, w którym aktywnie poszukują ślimaków, będących żywicielami pośrednimi. W Ameryce Północnej rolę tę pełnią liczne gatunki ślimaków wodnych należące do rodziny Limnæidae, w Europie ślimaki *Galba truncatula* i *Radix peregra*. Miracidia mają zdolność wytwarzania enzymów proteolitycznych, dzięki którym aktywnie wnikają w głąb tkanek ślimaka. Po upływie 12-20 godzin przekształcają się w kolejną postać larwalną – sporocystę. W sporocystach po 10-15 dniach z kul zarodkowych rozwija się następne pokolenie larwalne – redie macierzyste, a w każdej z nich redie potomne. W rediach potomnych powstają cercarie, które wydostają się do środowiska wodnego i przekształcają się w metacercarie będące formą inwazyjną pasożyta. Rozwój w żywicielu po-

średnim trwa od 6 do 9 tygodni (6, 8). Z metacerkarii spożytych przez zwierzęta wraz z pokarmem lub wodą wydostają się młodociane przywry, które penetrują ścianę jelita, przedostając się do jamy otrzewnowej, a następnie migrują do wątroby, gdzie rosną i osiągają dojrzałość. U nietypowych żywicieli mogą przenikać również do innych tkanek lub narządów, najczęściej do płuc. Okres prepatentny fascioloidozy wynosi od 3 do 7 miesięcy. Przywry żyją około 5 lat (7, 9, 10, 22).

Celem badań było określenie prevalencji inwazji przywr *F. magna* w wątrobie saren pochodzących z Borów Zielonogórskich.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w maju 2016 r. na terenie Nadleśnictwa Krzystkowice, położonego w Borach Zielonogórskich, mających powierzchnię ok. 235 tys. ha. Obszar nadleśnictwa wynosi 32 030 ha. Lasy nadleśnictwa składają się z dwóch dużych kompleksów rozdzielonych rzeką Bóbr. Na obszarze leśnym jest mało naturalnych zbiorników wodnych, sporadycznie występują bagna. Gatunkiem panującym jest sosna pospolita (*Pinus silvestris*), której udział w nadleśnictwie osiąga 93%, dominują siedliska borowe stanowiące ok. 84% lasów, przeciętny wiek drzewostanów wynosi 54 lata. Najczęściej występującymi zwierzętami łownymi są: jelenie, sarny, daniela i dziki (33).

Wykonano sekcję parazytologiczną wątrób 20 samców saren (kozłów) odstrzelonych na terenie nadleśnictwa. Wątroby przecinano wielokrotnie w odstępach 2 cm, a następnie przepłukiwano i wyciskano w wodzie. Po odlaniu płynu osad pozostały na dnie naczynia badano makroskopowo, i przy użyciu mikroskopu stereoskopowego. Stwierdzone pasożyty izolowano, utrwalano w 70% alkoholu, po czym określano ich gatunek na podstawie cech morfometrycznych. Cechami pozwalającymi na odróżnienie przywr *F. magna* od rodzimej motylicy *Fasciola hepatica* są: brak stożka przedniego, owalny kształt, zaokrąglony koniec tylny i znacznie większe wymiary (do 10 cm długości i 3,5 cm szerokości) oraz umiejscowienie wewnątrz cyst (4, 30). Ponadto zbadano metodą dekantacji 3 g próbki kału tych zwierząt.

Wyniki i omówienie

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że jeden samiec sarny zarażony był przywrmi *F. magna* (ryc. 1), tak więc prevalencja wynosiła 5%. Zwierzę w wieku ok. 8-10 lat, o masie ciała 17 kg było w dobrej kondycji.

Na powierzchni przeponowej wątroby występowały zrosty z przeponą spowodowane przez złoże włóknikowe oraz pięć ciemno zabarwionych guzowatych uwypukleń (ryc. 2). Na przekroju wątroby stwierdzono pięć jamowatych pseudocyst, odpowiadających obserwowanym na powierzchni uwypukleniom. W trzech pseudocystach wypełnionych ciemnobrązowym płynem znajdowały się pojedyncze przywry (ryc. 3), ich jaja oraz detritus komórkowy, dwie pozostałe zawierały ciemny płyn i fragmenty martwych przywr. Mięszs wątroby wykazywał cechy marskości, przewody żół-

Ryc. 1. Przywry *F. magna* wyizolowane z wątroby sarny

Ryc. 2. Wątroba sarny zarażonej przywrmi *F. magna* ze złożami włóknika na powierzchni

Ryc. 3. Przekrój wątroby z pseudocystą i wydobytą z niej przywrą

ciowe były rozszerzone. W wątrobie stwierdzono trzy dojrzałe przywry *F. magna* o długości od 42 do 44 mm i szerokości 22-31 mm. W kale nie wykryto jaj przywr *F. magna*, natomiast z przeciętych cyst wypłukano tysiące jaj tego pasożyta (ryc. 4).

Przywry *F. magna* stwierdzono po raz pierwszy na terenie Polski w 1932 r., w wątrobie jelenia odstrzelo-

Ryc. 4. Jaja *F. magna* wypłukane z pseudocyst w wątrobie

nego w Borach Dolnośląskich, w okolicy Bolesławca (27), a następnie w 1953 r. u jelenia w tym samym kompleksie leśnym (28). W ciągu wielu lat w kraju nie rejestrowano obecności *F. magna*. W 2013 r. w kale jelenia z Nadleśnictwa Ruszów w Borach Dolnośląskich metodą dekantacji wykryto jaja przywry o wymiarach znacznie większych od jaj motyli wątrobowej *Fasciola hepatica*. DNA wyizolowane z tych jaj poddano badaniom molekularnym. Stwierdzono, że sekwencja nukleotydowa genu ITS-2 była identyczna z sekwencjami *F. magna* pochodzącymi od jelenia szlachetnego i wapiti ze Słowacji oraz od daniela z USA, zdeponowanymi w Gen Banku (23). Następnie w okresie zimowym 2013/2014 r. po raz kolejny wykryto dojrzałe przywry *F. magna* u 2 spośród 30 badanych jeleni również w Borach Dolnośląskich (4). W oparciu o zebrany wówczas materiał przeprowadzono analizę markerów mitochondrialnych sekwencji nukleotydowych genów (*cox 1*) i (*nad 1*), porównując je z haplotypami z dobrze zbadanych europejskich populacji pasożyta. Badania wykazały genetyczną zgodność egzemplarzy *F. magna* z Polski z częścią osobników z naturalnego ogniska w Czechach. W wyniku tych badań określono drugie w Europie ognisko *F. magna* jako ognisko „w Czechach i w południowo-zachodniej Polsce” (16). Potwierdzenie występowania przywry *F. magna* u jeleni w Borach Dolnośląskich skłoniło do kontynuowania badań w celu wykrycia tego pasożyta również w sąsiednim kompleksie leśnym, Borach Zielonogórskich. Próbkę kału jeleniowatych zostały zebrane tam w lutym 2015 r. na terenie Nadleśnictwa Krzystkowice, w okolicach Nowogrodu Bobrzańskiego. Łącznie zbadano 13 próbek kału. Jaja *F. magna* były wykryte w 2 spośród 7 badanych próbek kału jeleni, w 3 spośród 4 próbek kału saren, i w jednej z dwóch próbek kału danieli. Wyniki badań rozszerzyły zasięg występowania przywry *F. magna* na sąsiadujący od północy z Borami Dolnośląskimi kompleks leśny Borów Zielonogórskich, oddległy o około 60 km. Badania te pozwoliły na uznanie daniela i sarny za nowych w Polsce żywicieli ostatecznych *F. magna*

(3). Następnie w wyniku sekcji daniela pochodzącego z hodowli fermowej wykryto w jego wątrobie przywry *F. magna*, wykonano badania molekularne i opisano zmiany anatomopatologiczne (14). Jest to pierwsze w naszym kraju stwierdzenie *F. magna* u zwierząt utrzymywanych fermowo oraz rejestracja nowego ogniska w południowo-wschodniej Polsce, w pobliżu granicy ze Słowacją. Badanie struktury genetycznej przywry pochodzących z tego ogniska fascioloidozy przy użyciu markerów mitochondrialnych wykazało genetyczną identyczność z haplotypami *F. magna* pochodzącymi z Republiki Czeskiej oraz z Borów Dolnośląskich w Polsce (13). Kolejne badania sekcyjne i molekularne zwierząt pochodzących z południowo-zachodniej Polski (z okolic Jawora i Nowogrodu Bobrzańskiego) wykazały inwazję *F. magna* u 13,6% saren, 70% jeleni i 33,3% danieli. Badaniami koproskopowymi wykryto u jeleni i danieli jaja pasożyta, natomiast w kale sarn jaj nie stwierdzono (12). Obecność *F. magna* była już wcześniej zarejestrowana u jeleni, sarn i danieli w okolicach Nowogrodu Bobrzańskiego, który jest siedzibą Nadleśnictwa Krzystkowice, obejmującego Bory Zielonogórskie (3), natomiast stwierdzenie inwazji przywry w Nadleśnictwie Jawor jest rozszerzeniem ogniska fascioloidozy o około 80 km w kierunku południowo-wschodnim (12).

Sarna uważana jest za nietypowego żywiciela *F. magna* i stosunkowo rzadko zarażona jest tym pasożytem (22). Na Węgrzech w wyniku sekcji 57 saren, zarejestrowano zarażenie *F. magna* u 5,2% zwierząt. Obserwowane zmiany anatomopatologiczne były podobne do występujących u jeleni (5). Stwierdzona w niniejszych badaniach prewalencja jest zbliżona do występującej na Węgrzech. Brak jaj *F. magna* w kale, podczas gdy bardzo licznie występowały w pseudocystach, może świadczyć o braku przewodów wyprowadzających. Jest to charakterystyczne u nietypowych żywicieli, do których zaliczyć można także bydło (2). Uniemożliwia to przyżyciową diagnostykę koproskopową u tych zwierząt. Poziom prewalencji inwazji *F. magna* u jeleni jest wyższy i w poszczególnych krajach różni się znacznie. W Chorwacji w latach 2002-2003 jaja pasożyta stwierdzono w 34,5% badanych próbek kału jeleni, a dorosłe przywry w 28,5% badanych wątrób (24). Na terenie Niemiec po raz pierwszy inwazja *F. magna* zarejestrowana była w Bawarii w latach 2011-2012 u 57,1% badanych jeleni fermowych i 70% żyjących na wolności (26). Badania nad występowaniem tej przywry prowadzone w latach 2000-2005 w dolinie Dunaju w Austrii wykazały prewalencję *F. magna* u od 6,3% do 50% jeleni (32). Najniższa stwierdzona wówczas wartość prewalencji jest prawie równa obserwowanej w badaniach przeprowadzonych w Borach Dolnośląskich (3).

Przywry *F. magna* są patogenne dla żywicieli, wywołując w ich wątrobach rozległe zmiany anatomopatologiczne. U typowych żywicieli – jeleni – parazytoza w przypadku mało intensywnych inwazji może prze-

biegać subklinicznie. Natomiast w inwazjach o wysokiej intensywności lub u żywicieli przypadkowych – saren, bydła, owiec i kóz inwazja może wywoływać objawy kliniczne w postaci utraty apetytu, depresji, wychudzenia i prowadzić do padnięć tych zwierząt (9-11, 22). Obecność w wątrobie sarny już 2 egzemplarzy przywr *F. magna* może prowadzić do ciężkiego schorzenia, a występowanie 4-5 przywr prowadzić do śmierci zwierzęcia (5). U bydła pseudocysty zawierające dojrzałe przywry zwykle nie kontaktują się z przewodami żółciowymi, natomiast u owiec i kóz młodzińskie przywry nie dojrzewają, nie osiedlają się i wędrują, niszcząc tkankę wątroby, tworząc na jej powierzchni smugowate zagłębienia, dlatego zwykle inwazja przywry u bydła, owiec i kóz nie ma okresu patentnego i nie może być wykryta przez badanie kału żywiciela. Długotrwała migracja niedojrzałych przywr jest również bardzo wyniszczająca u lam, danieli i jeleni sika (2).

Dotychczasowe badania przeprowadzone w Polsce wykazały obecność dwóch ognisk tej pasożytozy: w południowo-zachodniej i południowo-wschodniej części kraju. Należy przypuszczać, że zasięg obszarów tych ognisk wykazuje tendencję do rozszerzania się. Może to być spowodowane wędrówkami jeleni oraz rozprzestrzenieniem zarażonych ślimaków wodnych lub postaci larwalnych pasożyta (miracidów, cercarii lub metacercarii) wzdłuż cieków wodnych i rzek. Zagrożenie inwazją *F. magna* jeleniowatych i domowych przeżuwaczy powoduje konieczność prowadzenia monitoringu jej występowania na terenie naszego kraju. Niezbędne jest ustalenie zasięgu ognisk fascioloidozy, zbadanie składu gatunkowego żywicieli pośrednich *F. magna*, a także rejestrowanie przypadków występowania tej pasożytozy u domowych przeżuwaczy.

Piśmiennictwo

1. Bassi R.: Sulla cachessia ittero-verminosa, o marciaia, causata dal Distomum magnum. Medico Vet. Torino 1875, 4, 497-515.
2. Bowman D. D.: Georgis' Parazytologia weterynaryjna. Elsevier, Wrocław 2012, s. 427.
3. Demiaszkiewicz A. W., Kuligowska I., Pyziel A. M., Lachowicz J., Kowalczyk R.: Extension of occurrence area of the American fluke Fascioloides magna in south-western Poland. Ann. Parasit. 2015, 61, 93-96.
4. Demiaszkiewicz A. W., Pyziel A. M., Kuligowska I., Lachowicz J.: Fascioloides magna pasożytem jeleni w Borach Dolnośląskich. Med. Weter. 2016, 72, 110-112.
5. Egri B.: On the special pathological changes of livers in hunted deers and wild boar, infected by American liver fluke (Fascioloides magna). Mod. High. Technol., Biol. Sci. 2012, 4, 12-16.
6. Erhardová B.: Fascioloides magna in Europe. Helminthologia 1961, 3, 91-106.
7. Erhardová-Kotrlá B.: The Occurrence of Fascioloides magna (Bassi, 1875) in Czechoslovakia. Academia, Prague 1971, s. 155.
8. Faltyňková A., Horačková E., Hirtová L., Novobilský A., Modry D., Scholz T.: Is Radix peregra a new intermediate host of Fascioloides magna (Trematoda) in Europe? Field and experimental evidence. Acta Parasit. 2006, 51, 87-90.
9. Foreyt W. J., Leathers C. W.: Experimental infection of domestic goats with Fascioloides magna. Am. J. Vet. Res. 1980, 41, 883-884.
10. Foreyt W. J., Todd A. C.: Development of the large American liver fluke, Fascioloides magna, in white-tailed deer, cattle and sheep. J. Parasitol. 1976, 62, 26-32.
11. Hassal A.: Fasciola americana (Hassal, 1891). American Vet. Rev. NY 1891, 15, 359.
12. Houszka M., Piekarska J., Podkowik M., Gorczykowski M., Bania J.: Morphology and molecular study of Fascioloides magna – a growing threat to cervids (Cervidae) in Poland. J. Vet. Res. 2016, 60, 435-439.
13. Juhasova L., Bazsalovicsova E., Kralova-Hromadova I., Karamon J.: A genetic structure of novel population of Fascioloides magna from Poland, Podkarpackie Province, indicates an expanding second European natural focus of fasciolidosis. Acta Parasit. 2016, 61, 790-795.
14. Karamon J., Larska M., Jasik A., Sell B.: First report of the giant liver fluke (Fascioloides magna) Infection in farmed fallow deer (Dama dama) in Poland – pathomorphological changes and molecular identification. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2015, 59, 339-344.
15. Kašný M., Beran L., Siegelova V., Siegel T., Leontovyc R., Berankova K., Pankrac J., Kostakova M., Horak P.: Geographical distribution on the giant liver fluke (Fascioloides magna) in the Czech Republic and potential risk of its further spread. Vet. Med. Praha 2012, 57, 101-109.
16. Králová-Hromadová I., Bazsalovicsova E., Demiaszkiewicz A. W.: Molecular characterization of Fascioloides magna (Trematoda: Fasciolidae) from south-western Poland based on mitochondrial markers. Acta Parasit. 2015, 544-547.
17. Králová-Hromadová I., Špakulová M., Horačková E., Turčeková L., Novobilský A., Beck R., Koudelá B., Marinculic A., Rajský D., Pybus M.: Sequence analysis of ribosomal and mitochondrial genes of the giant liver fluke Fascioloides magna (Trematoda: Fasciolidae): intraspecific variation and differentiation from Fasciola hepatica. J. Parasitol. 2008, 94, 58-67.
18. Majoros G., Sztojkov V.: Appearance of the large American liver fluke Fascioloides magna (Bassi, 1875) in Hungary. Parasit. Hung. 1994, 27, 27-38.
19. Marinculic A., Dzakula N., Janicki Z., Hardy Z., Lucinger S., Zivicnjak T.: Appearance of American liver fluke (Fascioloides magna, Bassi, 1875) in Croatia – a case report. Vet. Arch. 2002, 72, 319-325.
20. Novobilský A., Kašný M., Mikeš L., Kovařík K., Koudela B.: Humoral immune responses during experimental infection with Fascioloides magna and Fasciola hepatica in goats and comparison of their excretory/secretory products. Parasitol. Res. 2007, 101, 357-364.
21. Pfeiffer H.: Fascioloides magna: Erster fund in Oesterreich. Wien. Tierärztl. Mschr. 1983, 70, 168-170.
22. Pybus M. J.: Liver flukes, [w:] Samuel W. M., Pybus M. J., Kocan A. A. (red.): Parasitic diseases of wild mammals. Manson Publishing/The Veterinary Press, Iowa State University Press 2001, s. 121.
23. Pyziel A. M., Demiaszkiewicz A. W., Kuligowska I.: Molecular identification of Fascioloides magna (Bassi, 1875) from red deer from South-Western Poland (Lower Silesian Wilderness) on the basis of internal transcribed spacer 2 (ITS-2). Pol. J. Vet. Sci. 2014, 17, 485-487.
24. Rajković-Janje R., Bosnić S., Rimac D., Gojmerac T.: The prevalence of American liver fluke Fascioloides magna (Bassi 1875) in red deer from Croatian hunting grounds. Eur. J. Wildl. Res. 2008, 54, 525-528.
25. Rajský D., Patus A., Bukovjan K.: The first finding of Fascioloides magna Bassi, 1875 in Slovakia. Slov. Vet. Čas. 1994, 19, 29-30.
26. Rehbein S., Hamel D., Reindl H., Visser M., Pfister K.: Fascioloides magna and Ashworthius sidemi – two „new” parasites in wild ungulates in Germany. Program & Abstract Book European Multicollquium of Parasitology EMOP XI, Cluj-Napoca, Romania 25-29.07.2012, s. 565.
27. Salomon S.: Fascioloides magna bei deutschem Rotwild. Berl. Tierärztl. Wschr. 1932, 48, 627-628.
28. Ślusarski W.: Studia nad europejskimi przedstawicielami przywry Fasciola magna (Bassi, 1875), Stiles, 1894. I. Ponowne wykrycie ogniska inwazji u jeleni na Śląsku. Acta Parasit. Pol. 1955, 3, 1-59.
29. Špakulová M., Čorba J., Várady M., Rajský D.: Bionomy, distribution and importance of giant liver fluke (Fascioloides magna), an important parasite of free living ruminants. Vet. Med. Praha 1997, 42, 139-148.
30. Taylor M. A., Coop R. L., Wall R. L.: Veterinary Parasitology. Blackwell Publishing, Oxford 2007, s. 89.
31. Ullrich K.: Über das Vorkommen von seltenen oder wenig bekannten Parasiten der Säugetiere und Vögel in Böhmen und Mähren. Prag. Arch. Tiermed. 1930, 10, 19-43.
32. Ursprung J., Joachim A., Prosl H.: Vorkommen und Bekämpfung des Amerikanischen Riesenleberegels, Fascioloides magna, in einer Schalenwildpopulation in der Donauauen östlich von Wien. Berl. Münch. Tierärztl. 2006, 119, 316-323.
33. Zawadzka D., Kwiecień E.: Puszcze i lasy Polski. Encyklopedia ilustrowana. Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa 2011, s. 182.

Adres autora: prof. dr hab. Aleksander W. Demiaszkiewicz, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa; e-mail: aldem@twarda.pan.pl