

Noi observații privind etiologia și ontogenia în sarcocistoză la cabaline în România

ȘUTEU E., COZMA V., MICLĂUȘ V., MIRCEAN VIORICA, GHERMAN C.

Facultatea de Medicină Veterinară Cluj-Napoca

REZUMAT. Observațiile parazitologice - microstructurale, micrometrice și de ontogenie - pe 4 cadavre de cabaline în zona Clujului au condus la semnalarea, în premieră națională, a infecției cu *Sarcocystis fayeri* și reidentificarea *S. equicanis*. *S. fayeri* a fost transmis prin consum de carne infestată la câine, G.D. Dimensional, chisturile de *S. fayeri* măsoară 400-1000/70-100 μm , având membrana de 2-3,5 μm , iar bradizoii de 16-21,6/2,8-4,6 μm . Sporochisturile eliminate de câinele infestat experimental sunt de 12,1-12,7/8-8,5 μm . Prepatența și patența au fost de 8 și respectiv 6 zile. Extensivitatea infecției cu *Sarcocystis spp.* la cabaline din zonă este maximă (100%).

INTRODUCERE

S-au obținut progrese remarcabile, în ultimele decenii, în ceea ce privește etiopatogeneza și diagnosticul sarcocistozei la animale. După semnalarea mieloencefalitei protozoariene, investigațiile s-au intensificat și asupra sarcocistozei la cabaline (1).

În prezent, se cunosc, pe lângă *Sarcocystis bertrami* (Doflein, 1901), și alte specii cu patogenitate diferită: *S. equicanis* (Rommel și Giesel, 1975); *S. fayeri* (Dubey și colab., 1977) și mai puțin cunoscute: *S. neurona* și *S. asini* (3). Ontogenia genului *Sarcocystis*, parazit la ecvine, se realizează având gazdă definitivă (G.D.) câinele (2, 13, 14) și probabil oposum (*Didelphis virginiana*) pentru *S. neurona* (7). Există însă multe aspecte necunoscute privind biologia și patogenitatea sarcociștilor.

În România, pe lângă *S. bertrami*, cunoscut în vechea taxonomie, la cabaline s-a identificat și studiat ontogenia lui *S. equicanis* (Șuteu, 1982).

În lucrarea prezentă am continuat investigațiile privind etiologia și ontogenia sarcociștilor și incidența sarcocistozei la cabaline.

MATERIAL ȘI METODĂ

Investigațiile s-au efectuat în intervalul 1996-1998, pe 5 cadavre de cabaline adulte, rasa comună, în stare de întreținere bună sau slabă, provenite din raza și localitățile limitrofe municipiului Cluj-Napoca. De la fiecare caz s-au prelevat probe de: musculatură scheletică, diafragm și miocard.

Probele de carne, în stare proaspătă, au fost controlate microscopic, prin metoda compresării (model trichineloscopic), examinându-se 14-28 probe per animal. La cazurile pozitive (cu *Sarcocystis spp.*) am efectuat examene histologice, folosind metode de colorare: hematoxilină eozină (H.E.).

Chisturile identificate au fost măsurate ($n > 5$), stabilindu-se dimensiunile, aspectul și grosimea membranei chistice. Din chisturi am efectuat frotiuri colorate May-Grünwald-Giemsa (M.G.G.) și micromăsurători ale bradizoilor ($n > 10$).

Testele de transmisibilitate la gazde definitive s-au făcut pe câini ($n = 5$) și pisici ($n = 9$) din Biobaza disciplinei de Parazitologie. Animalele au fost hrănite 1-2 zile cu carne crudă sau miocard, provenite de la cazurile infestate. În perioada experimentărilor loturile au fost supravegheate și

alimentate controlat, pentru a evita eventuale infecții cu sarcocisti din alte surse.

Animalele au fost controlate coproscopic la 1-3 zile interval (metoda de flotație Willis), începând cu 5-7 zile ante-infecție (a.i.) și apoi 20-30 zile post-infecție (p.i.). Am urmărit profilul parazitar, iar la cazurile infectate cu *Sarcocystis* am efectuat micromăsurători de sporochisturi.

Testele de infestație ale G.D. s-au realizat astfel:

- cazul nr. 1 - s-a dat în hrană musculatură scheletică la 3 căței și 1 pisică;
- cazul nr. 3 - musculatură scheletică la 2 câini (unul tineret) și 3 pisici (tinere);
- cazul nr. 4 - musculatură scheletică la 2 pisici;
- cazul nr. 5 - miocard la 3 pisici.

REZULTATE

Incidența sarcocistozei la cabaline din împrejurimile și municipiul Cluj-Napoca este maximă (100%). Chisturile, cu localizare în musculatură, au dimensiuni microscopice, evidențiabile la examen prin metoda compresării. Intensivitatea infecției (exprimată prin numărul de probe pozitive din totalul probelor examinate) a variat de la 2/28 (7,1%) la 12/28 (42,8%).

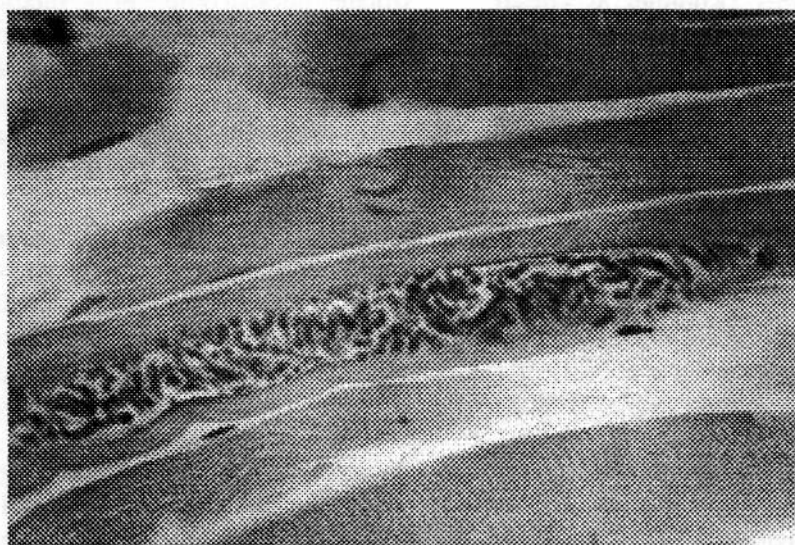


FIG. 1. *Sarcocystis fayeri*: microchist (Col. H.E.; ob. 40 X)

Într-o probă s-au găsit 1-3 microchisturi. La cazul nr. 5, cu infestație slabă, s-au identificat chisturi numai în diafragm, nu și în miocard și musculatura scheletică.

Morfostructură și micrometrie

Rezultatele histologice și micrometrice ale chisturilor și bradizoților din masele musculare relevă aspecte diferite (tabel 1). Cazul nr. 3 este cel mai interesant prin noutatea rezultatelor.

Cazul nr. 3: chisturile de *Sarcocystis* sunt foarte lungi și înguste (405-1000/70-100 μm). Unul din poli este rotunjit, celălalt mai ascuțit (Fig. 1). Membrana chisturilor, cu aspect radiar, bine delimitată de miofibrile, are grosimea de 2-3,5 μm . Bradizoții aglomerati, cu spații libere între aglomerări, sunt centrali, iar periferic, metrocitele (Fig. 2).

Bradizoții în frotiuri sunt bananiformi, cu un pol ușor mai ascuțit și dimensiunile de 16-21,6/3-3,6 μm . Aspectele structurale și micrometrice sunt asemănătoare cu cele prezentate de Dubey și colab. (1977) pentru *Sarcocystis fayeri*.

La același caz, am identificat și microchisturi mai mici, nelodate, cu membrana de 2 μm (Fig. 3).

Cazul nr. 1: chisturile sunt microscopice, ovale, cu dimensiunile de 105-204/28,8-91,2 μm . La aceste chisturi nu s-au produs segmentarea și formarea lojelor, iar membrana chistului este subțire, la unii sub 1 μm (Fig. 4 și 5).

Tabel 1
Incidența și aspecte morfostructurale ale speciilor de *Sarcocystis* la cabaline

Cabaline Cazul nr.	Examen musculatură - metoda compresării		Chisturi (μm)		Frotiu bradizoși (μm)	Transmisibilitate G.D.				Dimensiuni sporo-chisturi (μm)	Prepa- tența (zile)	Pa- tența (zile)	Specia <i>Sar- cocystis</i>
	Produs	Pozi- tiv	Intensi- vitate	Dimen- siuni		Mem- brana	Căine n	pozi- tiv	Pisică n				
1	m. mem- bre	+	2/28 (7,1%)	105-204/28,8-91,2	≤ 1	10-14,4/2-2,4	3	-	1	-	control 27 negativ	-	<i>S. equicanis</i>
2	m. inter- costală	+	-	≤ 350	≤ 1	-	netransmis la G.D.						
3	m. inter- costală	+	12/28 (42,8%)	405-1000/70-100	2-3,5 aspect radiar	16-21,6/3-3,6	2	+	3	-	8	6	<i>S. fayeri</i>
4	m. pecto- rală	+	4/28 (14,2%)	400-1000/60-100	n.c.	17,1-18,4/2,8-4,6	0	-	2	-	control 30 negativ	-	<i>S. fayeri</i>
5	diafragm miocard m. inter- costală	+	-	≥ 400	n.c.	-	0	-	3	-	control 25 negativ	-	

n.c. = necontrolat; - = negativ; + = pozitiv.

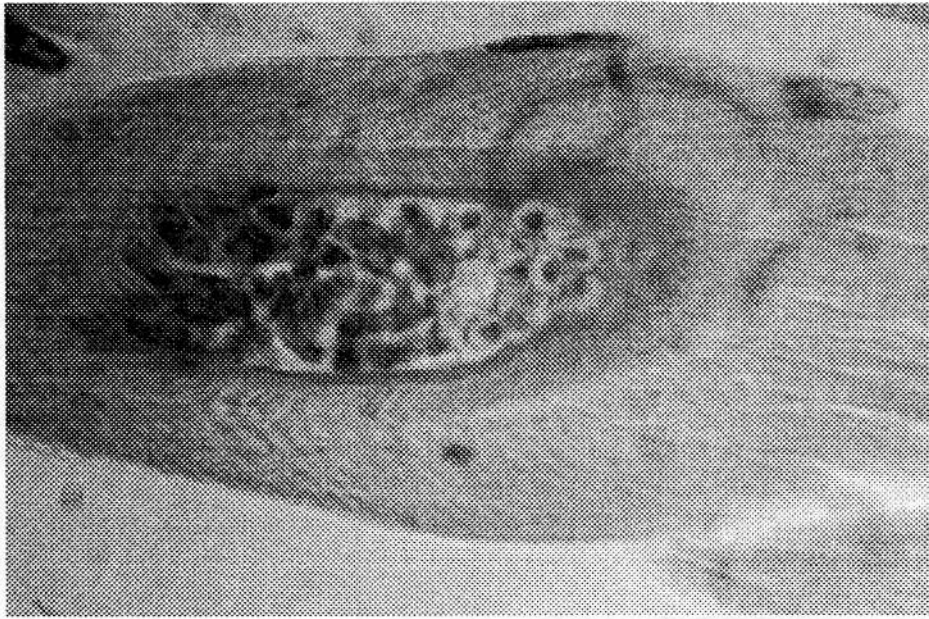


FIG. 2. *S. fayeri*: microchist, detaliu (Col. H.E.; ob. 100 X)

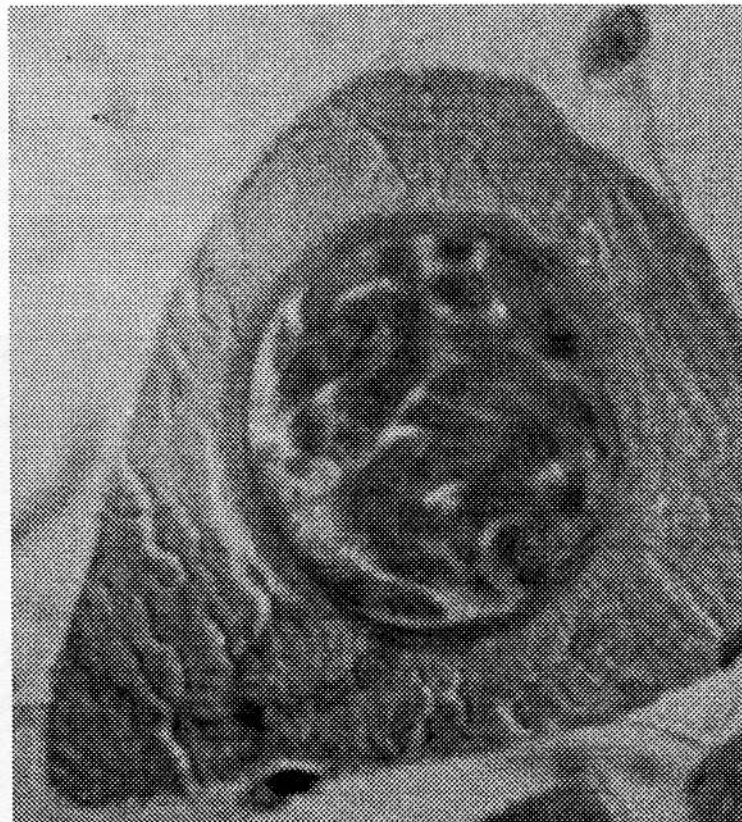


FIG. 3. *S. fayeri*: microchist în formare (Col. H.E.; ob. 100 X)



FIG. 4. *S. equicanis*: microchist, detaliu (Col. H.E.; ob. 100 X)

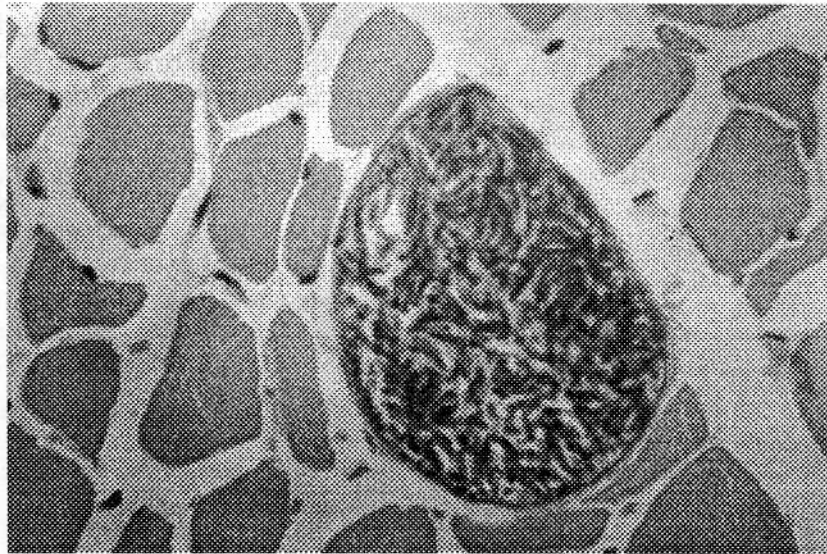


FIG. 5. *S. equicanis*: microchist (Col. H.E.; ob. 40 X)

Bradizoii, în frotiuri, sunt falciformi, cu dimensiunile de 10-14,4/2-2,4 μm . Caracteristicile structurale și dimensionale sunt încadrabile speciei *Sarcocystis equicanis* (Rommel și Giesel, 1975).

În masele musculare au existat unele chisturi, cu dimensiunile sub 200 μm , cu membrana chistică

netedă, de 2-3 μm . Și aceste chisturi sunt neseptate.

Cazul nr. 2 a prezentat chisturile de *Sarcocystis* similare celor de la cazul nr. 1.

Cazurile nr. 4 și 5 prezintă chisturile similare cu ale cazului nr. 3; bradizoii de la cazul nr. 4 au dimensiunile de 17,1-18,4/2,8-4,6 μm .

Teste de transmisibilitate

Biotestele pentru precizarea G.D., la *Sarcocystis* spp. de la cabaline, au demonstrat că din cele 9 pisici hrănite cu carne infestată (n=6) sau cu miocard (n=3) nici una nu s-a infestat. Pisicile nu constituie G.D. în sarcocistoza cabalinelor. Rezultatele încercărilor de transmitere la câine demonstrează că transmiterea a reușit prin consum de musculatură scheletică la cazul nr. 3. Perioada prepatentă a fost de 8 zile și patența de 6 zile. Dimensiunile sporochisturilor sunt de 12,1-12,7/8-8,5 μm. La cazul nr. 1, controlul coproscopic la câini și pisici a durat 27 zile p.i., dar nu a reușit transmiterea infecției la câini, deși ipotetic ar fi fost realizabilă.

DISCUȚII

Date recente asupra biologiei sarcocistidelor și, mai ales, semnalarea encefalomielitei protozoariene la cabaline (1, 7) implică reluarea și reorientarea cercetărilor în acest domeniu. Studiul sarcocistozei la cabaline, în țară, a fost sporadic (4, 11, 14, 15) și au rămas multiple aspecte neclarificate. Datele din prezenta lucrare relevă că extensivitatea sarcocistozei la cabaline, în zona investigată, este maximă, dar intensivitatea este slabă, nefiind complet cunoscute speciile de *Sarcocystis* și nici patogenitatea acestora.

După unii autori, sunt validate - pe baza unor metode complexe: microscopice, electronooptice și ontogenice (5, 9, 16) - speciile: *S. bertrami*, *S. equicanis* (pro parte *S. bertrami*) și *S. fayeri*. Acestea sunt bine cunoscute morfostructural cât și transmisibilitatea lor prin intermediul câinelui, G.D. (2, 3, 5, 8, 9, 12). Rezultatele noastre de microscopie, micrometrie și ontogeneze ne-au permis să identificăm, în premieră pe țară, *S. fayeri*, la două cabaline. La una (nr. 3) a reușit transmiterea la câine. Aspectul și dimensiunile chisturilor, bradizoților și sporochisturilor sunt similare cu cele stabilite de Dubey și colab. (1977) și de Fayer și Dubey (1982).

La 2 cabaline (nr. 1, 2) structurile acestor forme evolutive sunt similare cu cele determinate pentru *S. equicanis*, de Rommel și Giesel (1975). Nereușita transmiterii la câine (carne de la cazul nr. 1) probabil se datorește infestației slabe și numărului mic de bradizoți. Totuși, în cercetări

anterioare am stabilit ontogenia la *S. equicanis*, având G.D. câinele (Șuteu, 1982).

Despre *S. neurona* se știe, recent, că are drept G.D. opossum (Fenger și colab., 1997), dar având în vedere faptul că și în țara noastră se cunoaște mieloencefalita (fără precizare etiologică), probabil de natură protozoariană, s-ar putea să intervină G.D. altă specie? Faptul că nu cunoaștem multe lucruri despre *S. asini* (3, 5, 8, 10, 16) constituie punct de plecare pentru alte investigații.

CONCLUZII

Studiile microscopice, micrometrice și testele de transmisibilitate ale sarcocistidelor la cabaline au condus la următoarele:

1. Extensivitatea infecției cu *Sarcocystis* spp. la cabaline, în zona Clujului, este maximă (100%), însă intensivitatea este slabă.
2. S-a diagnosticat, pentru prima dată în țară, sarcocistoza determinată de *Sarcocystis fayeri*, a cărui G.D. - stabilită experimental - este câinele.
3. Chisturile de *S. fayeri* au dimensiunile de 400-1000/70-100 μm; bradizoții au 16-21,6/2,8-4,6 μm și sunt bananiformi; sporochisturile au 12,1-12,7/8-8,5 μm. Prepatența la câine este de 8 zile și patența de 6.
4. S-a reconfirmat prezența la cabaline, în zonă, a speciei *S. equicanis*.

SUMMARY

New observations concerning ethiology and ontogeny in sarcocystosis in horses from Romania

Microstructural, micrometrical and ontogenical parasitological observations on four horse bodies from Cluj region led to the first record of *Sarcocystis fayeri* in Romania and description of *S. equicanis*. The horses were infected with *S. fayeri* ingesting infected dog meat (definitive host). The cysts of *S. fayeri* were 400-1000/70-100 μm, with

a membrane of 2-3.5 µm and bradizoits of 16-21.6/2.8-4.6 µm. The sporocysts eliminated by the experimentally infected dog were of 12.1-12.7/8-8.5 µm. (Prepatenta si

patenta) were of 8 and respectively 6 days. *Sarcocystis spp.* infection extensivity in horses from this region is maximum (100%).

BIBLIOGRAFIE

- BOWMAN D.D. Equine protozoal myeloencephalitis: history and recent developments. *Equine Pract.* 1991, **13**, 28.
- DUBEY J.P., STREITEL R.H., STROMBERG P.C., TOUSSANT M.J. *Sarcocystis fayeri* sp.n. from the horse. *J. Parasit.* 1977, **63**, 443.
- DUBEY J.P., SPEER C.A., FAYER R. *Sarcocystis* of animal and man. C.R.C. Press Inc. Boca Raton, Florida, 1989.
- DULCEANU N., TERINTE CRISTINA. Parazitologie veterinară. I, Edit. Moldova, 1994, 153-155.
- ERBER M., GIESEL D. Vorkommen und Entwicklung von 2 Sarkosporidienarten des Pferdes. *Z. Parasitenkd.* 1981, **65**, 283.
- FAYER R., DUBEY J.P. Development of *S. fayeri* in the equine. *J. Parasitol.* 1982, **68**, 856.
- FENGER C.K., GRANSTROM D.E., GAJADHAR A.A., WILLIAMS N.M., McCRILLIS S.A., STAMPER S., LANGEMEIER J., DUBEY J.P. Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis sp.* sporocysts from the opossum (*Didelphis virginianum*). *Vet. Parasitol.* 1997, **68**, 3, 199-213.
- FRENKEL J.P., HEYDORN A.O., MEHLHORN H., ROMMEL M. *Sarcocystinae*: Nomina Dubia and Available Names. *Z. Parasitenkd.* 1979, **58**, 115-139.
- GÖBEL E., ROMMEL M. Licht and elektronenmikroskopische Untersuchungen an zysten von *S. equicanis* in der äsophagusmuskulatur von Pferden. *Berl. Muench. Tierärztl. Wochenschr.* 1980, **93**, 41.
- MEHLHORN H., HEYDORN A.O., FRENKEL J.K., GÖBEL E. Announcement of the establishment of neohepanto-types for some important *Sarcocystis* species. *Z. Parasitenkd.* 1985, **71**, 689.
- NICULESCU AL., DIDĂ I. Parazitologie clinică veterinară. Edit. Ceres, Bucureşti, 1998.
- PÖTTERS URSULA. Untersuchungen über die Häufigkeit von Kokzidien-Oozysten und Sporozysten in den Fäzes von Karnivoren. Inaug. Diss. Tierärz. Hochsch. Hannover, 1978.
- ROMMEL M., GIESEL O. Untersuchungen über die Verbreitung und Lebenszyklus eines Sarkosporidiens des Pferdes (*S. equicanis* n. sp.). *Berl. Muench. Tierärztl. Wschr.* 1975, **88**, 468.
- ŞUTEU E. Cercetări experimentale și biometrice asupra sarcosporidiilor la animale. Al III-lea Congres Național Microbiologie Medicală, Bucureşti, 1982, 173-174.
- ŞUTEU I., COZMA V. Bolile parazitare la animalele domestice. Edit. Ceres, Bucureşti, 1998.
- TINLING S.P., CARDINET G.H., BLYTHE L.L., COHEN M., VANDERFECHT S.L. A light and electronmicroscopic study of *Sarcocystis* in a horse. *J. Parasitol.* 1980, **66**, 458.