

Ultrastruktur der Cystenwand der Sarkosporidien des Rehes (*Capreolus capreolus* L.)

J. Schramlová und K. Blažek

Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag 6,
Flemingovo nám. 2, Tschechoslowakei

Ultrastructure of the Cyst Wall of Sarcocysts of the Roe Deer (*Capreolus capreolus* L.)

Summary. The ultrastructure of the cyst wall of two types of sarcocysts from roe deer is described. In the thin-walled cyst (wall thickness 0.18–0.26 μm), the primary cyst wall forms long, finger-shaped protrusions distant from one another and running in parallel with the surface of the cyst (Figs. 1a–d, FP). No fibrils are observable in the protrusions. The primary cyst wall between them forms numerous bubble-like invaginations (Fig. 1c, arrows). In the thick-walled cysts (wall thickness 4.49–7.49 μm), the primary cyst wall forms massive, palisade-like protrusions lying close one to another (Figs. 2a, c). There are numerous fibrillar and tubular structures in these protrusions (Fig. 2d), and the primary cyst wall occasionally forms shallow invaginations at the base of some protrusions (Fig. 2b). The unit membrane on the surface of some protrusions is slightly undulated and covered with a layer of short and thick bars on the outside. The sarcocysts found in roe deer are compared with those from cattle and sheep.

Einleitung

Auf Grund von Übertragungsversuchen wurde bewiesen, dass die Sarkosporidien einiger Haustiere, deren systematische Stellung lange unsicher blieb, Stadien der ungeschlechtlichen Phase des Entwicklungszyklus von Kokzidien sind, bei denen als definitive Wirte die Fleischfresser und der Mensch entdeckt wurden (Heydorn und Rommel, 1972; Rommel und Heydorn, 1972; Rommel et al. 1972; Fayer und Johnson, 1973; Ford, 1974; Rommel und Heydorn, 1974). Deshalb wurde die Aufmerksamkeit auch auf ihre Struktur und Ultrastruktur gerichtet (Mehlhorn und Scholtyseck, 1973; Scholtyseck et al., 1973; Bergmann und Kinder, 1974, 1975a, b; Mehlhorn et al., 1976). So wurde festgestellt, dass bei demselben Tier (dem Zwischenwirt) die Entwicklungsstadien mehrerer Arten der Gattung *Isospora* parasitieren können, von denen jede Art einen anderen, wahrscheinlich spezifischen definitiven Wirt hat. So z.B. kann die Sarkosporidiose des Rindes durch Zoitencysten von drei, die Sarkosporidiose des Schafes durch Zoitencysten von mindestens zwei Kokzidienarten der Gattung *Isospora* verursacht werden (Rommel und Heydorn, 1974; Munday, 1976). Die Zoitencysten (Sarkocysten) einzelner *Isospora*-Arten unterscheiden sich durch die Ultrastruktur der Cystenwand. Aufgrund dieser

Erkenntnisse haben einige Autoren für die Sarkocysten des Rindes, Schafes und Schweines eine neue Benennung vorgeschlagen (Heydorn et al., 1975), die aber bisher nicht allgemein anerkannt und benutzt wird.

Mit der Ultrastruktur der wildlebenden Tiere hat sich bisher niemand systematisch befasst. Nur Mehlhorn et al. (1976) beschreiben feingewebige Strukturen der Cystenwand beim Wildschwein und einigen anderen Wildtieren. Bei den jagdbaren Wiederkäuern der Familie Cervidae und Bovidae ist aber die Sarkosporidiose häufig (Ippen et al., 1974), und bei einigen Arten, so z.B. beim Reh, ist die Inzidenz des Sarkosporidienbefalles besonders hoch und die Infektion relativ oft mit pathologischen Veränderungen der Herz- und Skelettmuskulatur verbunden (Drost und Graubmann, 1974; Blažek et al., 1976). Bei der gezielten Suche nach der Sarkosporidiose des Rehwildes haben wir zwei Typen von Sarkocysten entdeckt, welche sich voneinander ohne Schwierigkeiten schon im Lichtmikroskop unterscheiden liessen (Blažek et al., 1977). Es handelte sich um dünnwandige Cysten und um Cysten mit einer auffällig dicken und radiär gestreiften Wand. Die Ultrastruktur der Cystenwand beider Sarkocysten wird in diesem Beitrag besprochen.

Material und Methode

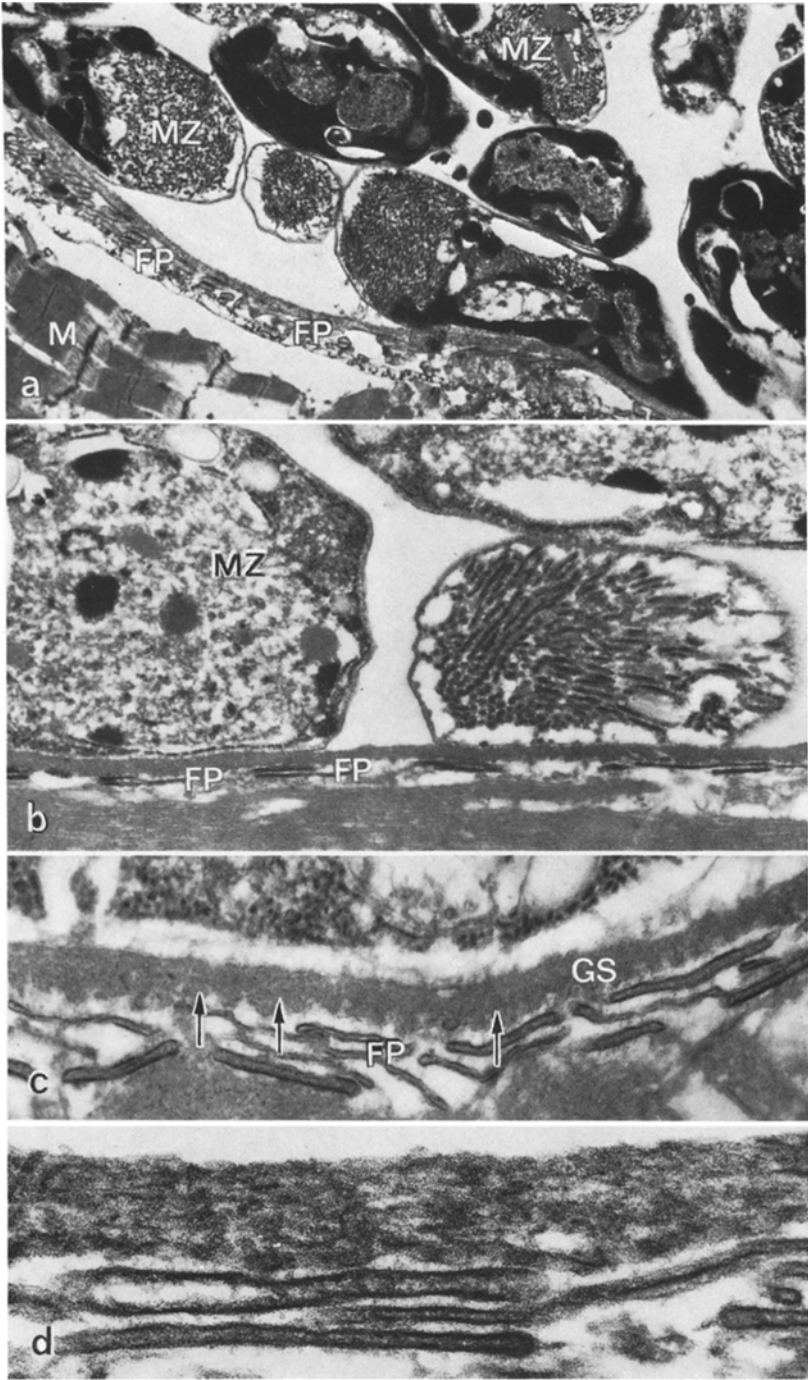
Wir haben die Sarkocysten aus der Herz-, Skelett- und Schlundmuskulatur untersucht. In allen Fällen handelte es sich um Mikrozysten, die mit unbewaffnetem Auge nicht sichtbar waren. In einigen Fällen wurde das Material in Glutaraldehyd fixiert, aber das stiess auf Schwierigkeiten beim Aussuchen der Sarkosporidien und bei der weiteren Bearbeitung. Deshalb wurde meistens das pathologische, in Paraffin eingebettete Material benutzt. Nach der Beurteilung der histologischen Schnitte wurde beim positiven Sarkosporidienbefund die zugehörige Stelle aus dem Paraffinblock ausgeschnitten und nach dem Entparaffinieren das Gewebe in 2,5% OsO₄ in Phosphatpuffer für 3 h fixiert. Die Gewebeprobe wurde dann entwässert und in Araldit eingebettet. Die Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte wurden auf dem Ultramikrotom UOm₂ Reichert hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden mit Toluidinblau gefärbt, die Ultradünnschnitte mit Uranylacetat und Reynoldslösung kontrastiert und im Elektronenmikroskop JEM 100B JOEL durchmustert.

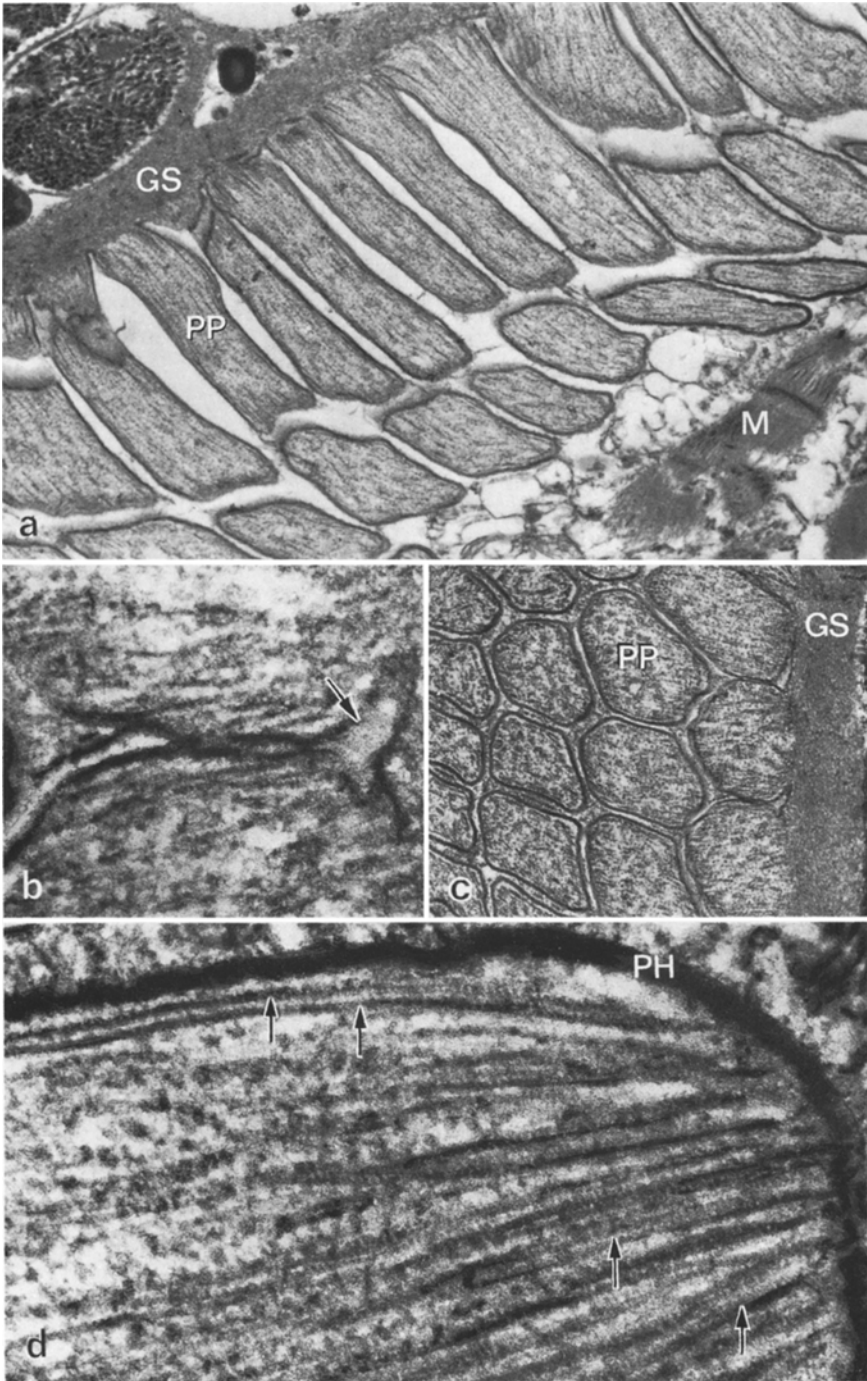
Ergebnisse

Die Wand der dünnwandigen Cysten erschien im Lichtmikroskop sehr zart und hatte folgende Ultrastruktur: Die Primärhülle bildete enge und lange, fingerähnliche Protrusionen, die in grosser Distanz voneinander entsprangen (Abb. 1a–d, FP). Ihr Querschnitt war oval und erreichte einen Durchmesser von 0,02–0,03 µm. Die Protrusionen bogen sich in kurzem Abstand von der Cystenwand um und liefen dann parallel mit ihrer Oberfläche. Die Schicht dieser fingerähnlichen Protrusionen war 0,09–0,13 µm dick, die Schicht der Grundsubstanz darunter erreichte ebenfalls eine

Abb. 1a–d: *C. capreolus*

- a Ein Teil der dünnwandigen Cyste mit Merozoiten (MZ). Die Cystenwand läuft fingerartig in lange Protrusionen (FP) aus. M = quergestreifte Muskelfasern
- b Detail der Cystenwand der dünnwandigen Cyste: Enge Protrusionen (FP) laufen parallel mit der Wandoberfläche. MZ = Merozoit
- c Zahlreiche Einbuchtungen der Membrane der Zystenwand sind gut sichtbar (Pfeile). GS = Grundsubstanz, FP = fingerähnliche Protrusionen
- d Detail einiger fingerähnlicher Protrusionen der Cystenwand





Dicke von 0,09–0,13 μm . Im Inneren der Protrusionen befand sich eine feingranulierte Substanz. Die Membran auf der Oberfläche der Protrusionen war ohne Mikroporen; die Primärhülle zwischen den Protrusionen war stellenweise mit sehr häufigen Einbuchtungen versehen (Abb. 1c, Pfeile).

Die Wand der dickwandigen Cysten war radiär gestreift. Im Elektronenmikroskop zeigte sich, dass die Primärhülle in massiven, palisadenförmig angeordneten Protrusionen entsprang. Diese Protrusionen entsprangen meistens etwas schief und waren dicht aneinander gedrängt (Abb. 2a, c, PP). Sie hatten einen polygonalen Querschnitt, dessen Durchmesser 0,78–0,83 μm erreichte. Die Schicht von Protrusionen war 3,9–6,64 μm dick, die Zone der Grundsubstanz unter ihr war 0,59–0,83 μm dick und lief in das Innere der Cyste septenartig aus. In den palisadenförmigen Protrusionen waren zahlreiche Fibrillen, die sich von der Basis bis zur Spitze der Protrusion erstreckten (Abb. 2d, Pfeile). Stellenweise schien es zur Bildung tubulärer Gebilde zu kommen. Die Primärhülle bildete an der Basis einiger Zotten (Protrusionen) spärliche und flache Einbuchtungen (Abb. 2b). An der Oberfläche einiger Protrusionen war die Primärhülle wellenförmig und mit einer äusseren Schicht kurzer und dicker Stäbchen versehen.

Diskussion

Wir sind uns dessen bewusst, dass die Artzugehörigkeit der Sarkocysten nicht ausschliesslich nach den morphologischen Kennzeichen beurteilt werden kann. Unser Befund von zwei Typen von mikroskopischen Cysten in der Herz-, Skelett- und Schlundmuskulatur des Rehes scheint aber zu beweisen, dass beim Reh (*Capreolus capreolus* L.) Entwicklungsstadien wahrscheinlich zweier Kokzidienarten der Gattung *Isospora* parasitieren. Bei dem Vergleich der Literaturangaben über die Ultrastruktur der Sarkosporidien des Rindes, Schafes und Schweines mit eigenen Befunden beim Rehwild können wir sagen, dass die dünnwandigen Cysten beim Reh den dünnwandigen Cysten beim Rind die als *Sarcocystis bovicanis* bezeichnet werden (Rommel und Heydorn, 1974; Heydorn et al., 1975), und den dünnwandigen Mikrozysten des Schafes, die Bergmann und Kinder (1975a) beschrieben, ähnlich sind. In beiden Fällen wird der Hund als definitiver Wirt bezeichnet.

Die dickwandigen Cysten sind den dickwandigen Sarkocysten des Rindes gewissermassen ähnlich, die als *Sarcocystis bovifelis* bezeichnet werden (Rommel und Heydorn, 1974; Heydorn et al., 1975), und deren definitiver Wirt die Katze ist. Bei den dickwandigen Cysten des Rehes haben wir aber keine Mikroporen an der Oberfläche der Protrusionen beobachtet, die für *S. bovifelis* so typisch sein sollen. Die Mikroporen sind aber erst bei reifen Cysten ausgebildet (Mehlhorn et al., 1976). Es besteht die Frage, ob die beschriebenen Sarkocysten beim Reh den erwähnten Typen der Sarkocysten des Rindes und des Schafes nur ähnlich oder mit ihnen

Abb. 2a–d: *C. capreolus*

- a Die Wand einer dickwandigen Cyste. GS = Grundsubstanz; PP = palisadenförmige Protrusionen; M = Muskelfasern
- b Detail einer Einbuchtung an der Basis der Protrusion (Pfeil)
- c Querschnitt durch die Schicht der palisadenförmigen Protrusionen. PP = palisadenförmige Protrusionen; GS = Grundsubstanz
- d Detail der Oberfläche und des Inneren einer Protrusion. Fibrillen (Pfeile). PH = Primärhülle

identisch sind. Das könnten weitere Vergleichstudien und Übertragungsversuche klären, und die Ergebnisse könnten auch aus der Sicht der Wirtsspezifität einzelner *Isospora*-Arten interessant sein.

Literatur

- Bergmann, V., Kinder, E.: Elektronenmikroskopische Befunde an der Parasit-Wirt-Kontaktzone von *Sarcocystis miescheriana* in Muskelfasern des Schweines. Mh. Vet.-Med. **29**, 956–958 (1974)
- Bergmann, V., Kinder, E.: Unterschiede in der Struktur der Zystenwand bei Sarkozysten des Schafes. Mh. Vet.-Med. **30**, 772–774 (1975a)
- Bergmann, V., Kinder, E.: Ultrastruktur der Zystenwand von Sarkozysten in Muskelfasern spontan infizierter Rinder. Mh. Vet.-Med. **30**, 945–947 (1975b)
- Blažek, K., Kotrlý, A., Ippen, R.: Sarkosporidióza myokardu spárkaté zvěře. Vet. Med. **21**, 75–80 (1976)
- Blažek, K., Schramlová, J., Ippen, R., Kotrlý, A.: Die Sarkosporidiose des Rehwildes. Folia Parasitol. (im Druck, 1977)
- Drost, S., Graubmann, H.D.: Der Sarkosporidienbefall beim Rehwild. Mh. Vet.-Med. **29**, 620–621 (1974)
- Fayer, R., Johnson, A.J.: Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs. J. Parasitol. **59**, 1135–1137 (1973)
- Ford, G.E.: Prey-predator transmission in the epizootology of ovine sarcosporidiosis. Aust. Vet. J. **50**, 38–39 (1974)
- Heydorn, A.O., Gestrich, R., Mehlhorn, H., Rommel, M.: Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. Z. Parasitenkd. **48**, 73–82 (1975)
- Heydorn, A.O., Rommel, M.: Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. II. Hund und Katze als Überträger der Sarkosporidien des Rindes. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **85**, 121–123 (1972)
- Ippen, R., Blažek, K., Henne, D., Kotrlý, A.: Ein Beitrag zur Sarkosporidiose der Zoo- und Wildtiere. Verhandlungsb. XVI. Int. Symp. Erkr. Zootiere, pp. 315–321 (1974)
- Mehlhorn, A., Hartley, W.J., Heydorn, A.O.: A comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. Protistologica **12**, 451–467 (1976)
- Mehlhorn, A., Scholtyssek, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cystenstadien von *Sarcocystis tenella* aus der Oesophagus-Muskulatur des Schafes. Z. Parasitenkd. **41**, 291–310 (1973)
- Munday, B.L.: Further studies on the host specificity of *Sarcocystis* spp. in domestic animals. Aust. Vet. J. **52**, 103 (1976)
- Rommel, M., Heydorn, A.O.: Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. III. *Isospora hominis* (Railliet und Lucet, 1891) Wenyon, 1923, eine Dauerform der Sarkosporidien des Rindes und des Schweines. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **85**, 143–145 (1972)
- Rommel, M., Heydorn, A.O.: Neue Erkenntnisse zur Epidemiologie der Sarkosporidiose bei Mensch und Tier. Zentralbl. Veterinärmed. Suppl. 104–106 (1974)
- Rommel, M., Heydorn, A.O., Gruber, F.: Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporocyste von *S. tenella* in den Fäzes der Katze. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **85**, 101–105 (1972)
- Scholtyssek, E., Mehlhorn, H., Müller, B.E.G.: Identifikation von Merozoiten der vier cystenbildenden Coccidien (*Sarcocystis*, *Toxoplasma Besnoitia*, *Frenkelia*) auf Grund feinstruktureller Kriterien. Z. Parasitenkd. **42**, 185–206 (1973)

Eingegangen am 25. August 1977