

# Salmonelloza u dorosłych lisów polarnych w okresie przygotowawczym do rozrodu

KRZYSZTOF KOSTRO, LESZEK KRAKOWSKI\*\*,  
ZBIGNIEW NOZDRYN-PŁOTNICKI\*, DOROTA LUFT-DEPTUŁA

Zakład Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych, \*Katedra Anatomii Patologicznej,  
\*\*Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

## Kostro K., Krakowski L., Nozdrzyn-Płotnicki Z., Luft-Deptuła D. Salmonellosis in adult polar foxes in pre-reproductive period

### Summary

Salmonella infections are common in polar foxes and they are detrimental for breeding and fur production. Subclinical infections dominate in adult animals but in young foxes at the age of 1-3 months a clinical form of salmonellosis is very often observed, mainly during the summer. However, generalized salmonellosis may also develop in adult polar foxes under risk. In a reproductive pack of 160 polar foxes a septic form of salmonellosis characterized by aphagia, fever (41.0-41.5°C), ataxia, jaundice and neurological disturbances developed in 65 (40.6%) of the animals. The disease was diagnosed on the basis of the isolation of Salmonella from serologic group B from the liver, gall bladder, kidneys, urinary bladder, spleen, brain and mesenteric lymph nodes, serological typing of the isolates and gross lesions. Salmonella was isolated according to the Polish Norm (PN ISO 6579: 1997). Serological typing was done by the slide agglutination test using reference antisera for somatic and pile antigen, phase I and II. The gross lesions were dominated by hyperemia and thickening of mucosal membranes, enlarged liver, spleen and kidney, small white necrotic foci in liver, petechiae and ecchymoses in the mucosa of the urinary bladder.

**Keywords:** salmonellosis, polar foxes, reproduction

Wśród czynników bakteryjnych będących przyczyną zaburzeń w rozrodzie lisów hodowlanych ważną rolę odgrywają zakażenia wywołane przez bakterie z rodzaju *Salmonella*. Głównym źródłem zakażenia pałeczkami rodzaju *Salmonella* dla lisów jest mięso i produkty mięsne pochodzące od zwierząt padłych na salmonellozę, zwierzęta chorujące bezobjawowo oraz ozdrowieńcy nosiciele salmonelli (2). U młodych zwierząt salmonelloza przebiega najczęściej wśród objawów zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego i ośrodkowego układu nerwowego oraz dość wysokiej śmiertelności. Natomiast u zwierząt dorosłych przebiega zwykle w formie utajonej lub bezobjawowej. Wyjątek stanowią samice ciężarne, u których występują ronienia, rodzenie martwych płodów oraz wysoka śmiertelność osesków w pierwszych dniach po urodzeniu (2, 6). Następstwem tego są duże straty ekonomiczne w hodowli. Występowanie salmonellozy w fermach zwierząt futerkowych stwarza również realne niebezpieczeństwo zanieczyszczenia tymi bakteriami środowiska naturalnego (9).

Przedstawiono dane epizootyczne, obserwacje kliniczne oraz wyniki badań bakteriologicznych i serologicznych przeprowadzonych w kierunku salmonellozy w fermie lisów polarnych, w okresie przygotowawczym do rozrodu.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono w fermie, w której w ostatnich dwóch sezonach hodowlanych wystąpiły zaburzenia w rozrodzie w postaci wysokiego odsetka samic niepokrytych lub samic bez potomstwa, ronień, wysokiej śmiertelności noworodków oraz niskiego wskaźnika odchowu szczeniąt. Stado podstawowe stanowiło 120 samic i 40 samców lisów polarnych w wieku 1-4 lat. Zwierzęta były utrzymywane indywidualnie, systemem klatkowym. Warunki sanitarno-higieniczne fermy oceniono jako niezadowalające. Lisy były żywione systemem tradycyjnym z uwzględnieniem dużej ilości surowych odpadów drobiowych z przewagą jelit oraz mięsa pochodzącego od zwierząt padłych i gotowanej śruty jęczmiennej. W przygotowanej na bazie tych surowców gotowej karmie nie uwzględniano dodatków mineralno-witaminowych. W okresie przygotowawczym do rozrodu (I połowa grudnia) lisom podano preparat przeciw pasożytniczy Foxverm, który stosowano zgodnie z zaleceniami producenta. W drugiej połowie grudnia zwierzęta uodporniono przeciwko nosówce oraz zakaźnemu zapaleniu mózgu i rdzenia przy użyciu biwalentnej szczepionki Canivac FH (Biowet Puławy) oraz parwowirozie, jadowi kiełbasianemu i pałeczce ropy błękitnej, stosując poliwalentną szczepionkę Febrivac 3plus (Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Germany).

W okresie przygotowawczym do rozrodu (przełom stycznia i lutego) u lisów stada podstawowego wystąpiły nagle zachorowania z objawami utraty apetytu, wzrostu tempera-

tury ciała w granicach 41-41,5°C, niechęci do ruchu, żółtaczki oraz zaburzeń ze strony ośrodkowego układu nerwowego w postaci ślinotoku, skurczów klonicznych i niedowładu zadu. Spośród 160 lisów dorosłych kliniczne objawy choroby wystąpiły u 65 (40,6%) zwierząt i po 7 dniach trwania procesu chorobowego padło 25 sztuk. Pozostałe 40 chorych lisów poddano ubojowi z uwagi na niepomysłne rokowanie zejścia procesu chorobowego oraz w pełni przydatną wartość futrzarską okrywy włosowej. Natomiast zwierzęta nie wykazujące klinicznych objawów poddano antybiotykoterapii. Lekowrażliwość wyizolowanych szczepów salmonelli oznaczono metodą krążkową (firmy Bio-Merieux) według załączonej przez producenta procedury w stosunku do streptomycyny, terramycyny, amoksycyliny, kolistyny, neomycyny, gentamycyny, ampicyliny, linkomycyny i enrofloksacyliny. Na podstawie uzyskanych wyników antybiogramu w terapii przyczynowej stosowano domięśniowo enrofloksacynę (Enroxil 5%) w dawce 1 ml/10 kg m.c. przez okres 5-6 dni.

Padłe lisy poddano badaniu anatomopatologicznemu, a następnie od 6 losowo wybranych zwierząt pobrano wycinki chorobowo zmienionych narządów wewnętrznych do badań bakteriologicznych i histopatologicznych. Zmienione makroskopowo wycinki narządów utrwalano w 10% buforowanej formalinie. Skrawki histologiczne sporządzano metodą parafinową i mrożeniową, a następnie barwiono hematoksylina i eozyną (12). W wątrobie i nerkach wykonano dodatkowo odczyny histochemiczne na obecność tłuszczów obojętnych według metody sudanowej Daddiego (12).

Badanie bakteriologiczne wykonano według Polskiej Normy (8). Próbkę chorobowo zmienionych narządów wewnętrznych (wątroba z woreczkiem żółciowym, nerka, pęcherz moczowy, śledziona, jelita, węzły chłonne krezkowe, mózg) oraz próbki mięśni przedramienia kończyny przedniej i podudzia z przeciwległej kończyny tylnej, a także węzły pachwinowe z pozostałych dwóch kończyn odważano i umieszczano w plastikowych woreczkach stomachera (Steward, Anglia), dodawano zbuforowaną wodę peptonową (Oxoid) w stosunku 1 : 10 (masa do objętości), a następnie całość poddawano homogenizacji w aparacie Stomacher (Lab System, Model 80, Steward, Anglia). Zawiesinę badanej próbki inkubowano w zbuforowanej wodzie peptonowej przez 20 godzin w temp. 37°C. Uzyskaną w etapie przednamnażania hodowlę bakteriologiczną przesiewano do dwóch płynnych pożywek selektywnych: 0,1 ml hodowli do 9,9 ml pożywki Rappaport-Vassiliadis (RV) z chlorkiem magnezowym i zielenią malachitową (Oxoid). Inkubację przeprowadzono w temp. 42°C przez okres 24-48 godzin oraz 1 ml hodowli do 9 ml bulionu z czterotianem sodu wg Muller-Kauffmanna (MK). Inkubację przeprowadzono w temp. 42°C przez okres 24-48 godzin (8).

Uzyskane hodowle na płynnych pożywkach selektywnych przesiewano na dwa podłoża stałe: BGA (agar z zielenią brylantową i czerwienią fenolową) oraz XLD (agar z ksylozą, lizyną i dezoksycholanem sodu). Hodowle inkubowano przez okres 24-48 godzin w temp. 37°C. Kolonie podejrzane o przynależność do rodzaju *Salmonella* poddawano identyfikacji biochemicznej przy pomocy zestawów API 20E (firmy Bio-Merieux). Badania serologiczne potwierdzające przeprowadzono metodą aglutynacji szkiełkowej z użyciem surowic swoistych (firmy Biomed Kraków) dla antygenów somatycznych oraz antygenów rzęskowych I i II fazy, po uprzedniej eliminacji szczepów autoaglutynacyjnych.

## Wyniki i omówienie

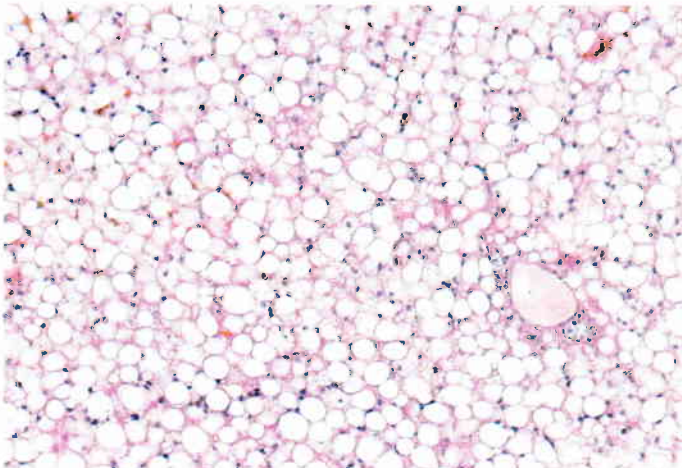
Badaniem sekcyjnym u 25 padłych lisów stwierdzono silne zażółcenie tkanki podskórnej, błon śluzowych, surowiczych i narządów wewnętrznych oraz liczne punkcikowate wybroczyny w błonach śluzowych oraz pod błonami surowiczymi. Węzły chłonne krezkowe były znacznie powiększone, przekrwione, na przekroju soczyste. Błona śluzowa jelit cienkich z rozległymi stanami zapalnymi była rozpułchniona, obrzękła i pokryta nadmierną ilością śluzu. Wątroba barwy gliniasto-żółtej była powiększona, konsystencji miękkiej z obecnością białych ognisk martwicy oraz pęcherzykiem nadmiernie wypełnionym ciagliwą żółcią. Charakterystyczną zmianą było wyraźne powiększenie śledziony, która była koloru ciemnoniebieskiego i tęgiej konsystencji. Nerki były nieznacznie powiększone, koloru szaro-czerwonego, z obecnością pod torebką licznych punkcikowatych wybroczyn. Natomiast pęcherz moczowy był najczęściej opróżniony z moczu i charakteryzował się obrzękiem i przekrwieniem błony śluzowej oraz znacznym przerostem ściany. U części padłych zwierząt stwierdzono obecność wybroczyn i wynaczynienia w błonie śluzowej pęcherza moczowego. Błona śluzowa układała się w liczne fałdy przebiegające w różnych kierunkach. W ośrodkowym układzie nerwowym stwierdzono pojedyncze ropnie w mózgowiu oraz silnie nastrzykane krwią naczynia opon mózgowych.

U wszystkich badanych lisów zmiany histopatologiczne stwierdzano głównie w wątrobie, nerkach oraz dodatkowo w pęcherzu moczowym. Po zabarwieniu preparatów hematoksylina i eozyną obserwowano w wątrobie gromadzenie się krwi w żyłach centralnych zrazików oraz częściową dysocjację układu beleczkowego komórek wątrobowych i występowanie w cytoplazmie hepatocytów drobnych lub większych wakuoli nadających zmienionym komórkom wygląd piankowy (ryc. 1). Barwienie Sudanem IV uwidoczniało nagromadzenie w tych komórkach związków tłuszczowych. Gromadzący się w nadmiarze w komórkach tłuszcz powodował spychanie jądra komórkowego na obwód, a niekiedy jego zanik (ryc. 2).

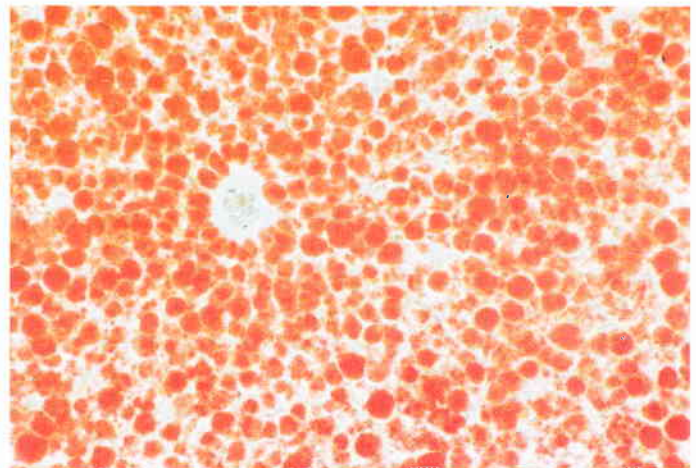
W badaniu histologicznym nerek obok przekrwienia żylnego stwierdzono znaczny stopień zwyrodnienia tłuszczowe nabłonka części wydzielniczej, szczególnie nabłonka cewek krętych I rzędu (ryc. 3). Barwienie Sudanem IV ujawniło stłuszczenie wielu komórek nabłonka cewkowego. Zmiany miały charakter wybiórczy i nie obejmowały swym zasięgiem wszystkich cewek krętych I rzędu (ryc. 4). Gromadzący się w komórkach tłuszcz powodował obwodowe ułożenie jądra komórkowego, a w niektórych komórkach również jego zanik.

W badaniu histologicznym pęcherza moczowego obok przekrwienia żylnego stwierdzono w błonie śluzowej obecność nabłonka przejściowego ulegającego nadmiernemu złuszczeniu, znacznego stopnia obrzęk i przekrwienie błony śluzowej oraz obecność wybroczyn.

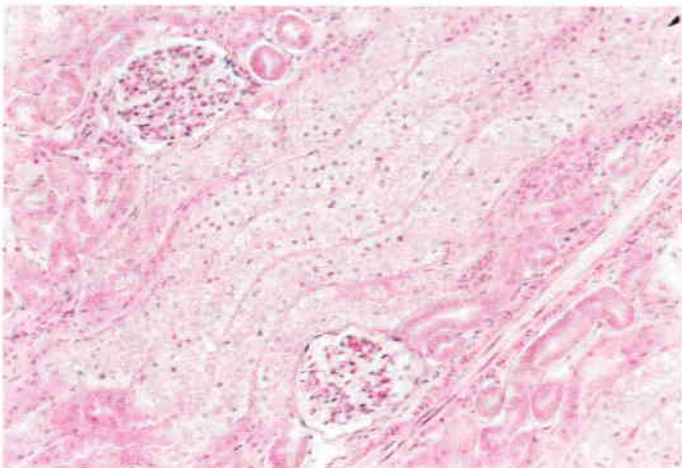
Badaniem bakteriologicznym z wycinków pobranych z chorobowo zmienionej wątroby i pęcherzyka żółciowego, nerki, śledziony, pęcherza moczowego, węzłów



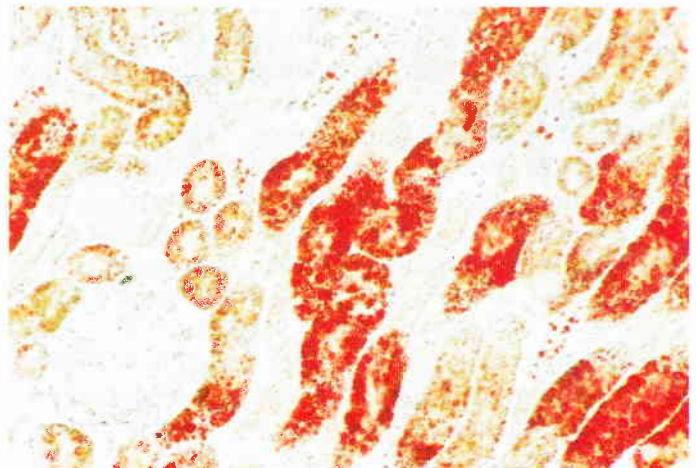
Ryc. 1. Rozlane stłuszczenie wątroby dużego stopnia. Barwienie HE. Pow. ok. 200 ×



Ryc. 2. Zwyródnienie tłuszczowe grubokropelkowe wątroby. Barwienie Sudanem IV. Pow. ok. 200 ×



Ryc. 3. Zwyródnienie tłuszczowe wybiórcze komórek nabłonka części wydzielniczej nerek. Barwienie HE. Pow. ok. 200 ×



Ryc. 4. Drobne i grube krople lipidowe w komórkach nabłonka cewkowego nerek. Barwienie Sudanem IV. Pow. ok. 200 ×

chłonnych krezkowych i pachwinowych oraz mózgu wyizolowano czystą hodowlę bakterii. Wyizolowany szczep posiadał wszystkie właściwości biochemiczne, dzięki którym w oparciu o test API 20E zaliczono go do bakterii z rodzaju *Salmonella*. Izolat w odczynie aglutynacji szkiełkowej reagował dodatnio ze swoistymi surowicami diagnostycznymi dla antygenów somatycznych oraz antygenów rzęskowych I i II fazy bakterii z rodzaju *Salmonella*, co pozwoliło zakwalifikowanie go do grupy serologicznej B.

U lisów hodowlanych przebieg zakażenia wywołanego pałeczkami rodzaju *Salmonella* zależy przede wszystkim od wieku i stanu odporności zwierząt, wielkości dawki zakaźnej, serowaru i zjadliwości szczepu zakażającego (2, 3). W warunkach naturalnych u lisów dorosłych przy sprawnie funkcjonujących mechanizmach odpornościowych oraz niewielkiej dawce zakaźnej salmonelli w karmie lub małej zjadliwości szczepu zakażającego może dochodzić nawet do całkowitej eliminacji zarazka z organizmu. Jednakże w większości przypadków zakażeń następuje bezobjawowe zasiedlanie błony śluzowej przewodu pokarmowego, krezkowych węzłów chłonnych, pęcherzyka żółciowego i jajników. Około 80-87% zwierząt, które przechorowały salmonellozę jest nosicielami i siewcami zarazka z ka-

łem przez wiele lat i stanowią najbardziej niebezpieczne źródło zakażenia (4, 9). W badanej fermie obserwowane w ostatnich latach niepowodzenia w rozrodzie lisów polarnych w postaci licznych ronień oraz niskiego wskaźnika odchowanych szczeniąt można, między innymi, wiązać z trwałym nosicielstwem pałeczek salmonelli u zwierząt stada podstawowego. W fermie tej zagrożenie zakażenia pałeczkami z rodzaju *Salmonella* było wysokie z uwagi na systematyczne skarmianie w stanie surowym dużej ilości odpadów drobiowych, szczególnie jelit oraz mięsa pochodzącego od zwierząt padłych, które stanowią zasadnicze źródło zakażenia dla mięsożernych zwierząt futerkowych i odgrywają główną rolę w transmisji zarazka. Pierwotnie sądzono, że przyczyną niepowodzeń w reprodukcji lisów jest głównie *Salmonella choleresuis* (6). Obecnie z dróg rodnych od samic roniących i poronionych płodów oraz padłych w pierwszych dniach życia osesków również izoluje się często serotypy *Salmonelli* z grupy B i C występujące głównie u drobiu (2). Fakt ten potwierdzają również wyniki badań własnych.

Drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* przy zaistnieniu czynników obniżających sprawność mechanizmów odporności naturalnej posiadają zdolność przełamania bariery jelitowej i wywołania zakażenia ogólnego, cze-

mu sprzyja zdolność namnażania się *Salmonelli* wewnątrz komórek fagocytujących, zwłaszcza w makrofagach wątroby i śledziony. Z danych uzyskanych w badaniach własnych wynika, że pod wpływem czynników ryzyka obniżających odporność organizmu, zwłaszcza lokalną błon śluzowych przewodu pokarmowego, jawna postać salmonellozy o charakterze posocznicowym występuje nie tylko u lisów młodych, które są najbardziej podatne na zakażenie, lecz również u zwierząt dorosłych. W badanej fermie przyczyną licznych padnięć dorosłych lisów stada podstawowego było skarmianie odpadów drobiowych i mięsa padłych zwierząt w stanie surowym, skażonych pałeczkami *Salmonella*, a także obniżeniem odporności przeciwważnej organizmu w wyniku nieprawidłowego żywienia i niedoborów mineralno-witaminowych. Na posocznicowy charakter choroby wskazuje izolacja z narządów wewnętrznych, pęcherza moczowego, jelit, kręzkowych i pachwinowych węzłów chłonnych oraz mózgu padłych lisów czystej hodowli pałeczek *Salmonella* z grupy serologicznej B.

Zdolność pałeczek *Salmonella* do kolonizacji błony śluzowej jelit, a także ich właściwości inwazyjne uwarunkowane są przede wszystkim obecnością antygenu lipopolisacharydowego (LPS), zlokalizowanego na zewnętrznej powierzchni ściany komórki bakteryjnej. Intensywne namnożenie się bakterii w przewodzie pokarmowym wywołuje rozległe stany zapalne błony śluzowej. Natomiast po pokonaniu bariery jelitowej i przeniknięciu zarazka do naczyń chłonnych i krwionośnych rozwija się zakażenie o charakterze posocznicowym. Głównym czynnikiem chorobotwórczego działania *Salmonelli* jest lipopolisacharyd (LPS) wywołujący procesy zapalne w narządach miękkich zakażonego organizmu, co prowadzi do ich dysfunkcji, a w efekcie do zejść śmiertelnych (1). Uszkodzenie narządów wewnętrznych może też być wynikiem działania inwazyjnego samych bakterii (*sepsis*) oraz zaburzeń troficznych (*ischaemia*) na skutek uszkodzenia naczyń krwionośnych (*thrombosis*), a także zaburzeń immunologicznych. W przebiegu zakażenia pod wpływem LPS uwolnionego przez *Salmonelle* dochodzi do zaburzeń czynności makrofagów, czego następstwem jest nadmierne uwalnianie cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) oraz wtórnych mediatorów zapalenia jako jednego z głównych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej (4, 5, 7, 10, 11). Wzrost wewnętrznej ciepłoty ciała oraz uszkodzenie naczyń krwionośnych jest głównie efektem działania interleukiny 1 (IL-1) oraz czynnika martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ), nadmierne uwalnianych w wyniku zaburzenia czynności makrofagów. Obserwowana w preparatach histologicznych wątroby i nerek padłych lisów wakuolizacja cytoplazmy hepatocytów i komórek nabłonka cewkowego jest typowa dla zwyrodnienia tłuszczowego i związana jest z nadmiernym gromadzeniem się lipidów, co potwierdzono barwieniem Sudanem IV. Zaleganie lipidów jest spowodowane niedostatecznym spalaniem tłuszczów, upośledzonym ich wydalaniem przez komórki wątroby, a także niedoborem niektórych aminokwasów w pożywieniu.

Na podstawie oceny sytuacji epizootologicznej i objawów klinicznych oraz zmian anatomo- i histopatologicznych, a także wyników badań bakteriologicznych, które wykazały w wątrobie i pęcherzyku żółciowym, nerkach, śledzionie, pęcherzu moczowym, węzłach chłonnych kręzkowych i pachwinowych oraz mózgu czystą hodowlę *Salmonelli* z grupy serologicznej B uznano, że przyczyną licznych padnięć dorosłych lisów polarnych w badanej fermie była salmonelloza o przebiegu posocznicowym. Mając na uwadze możliwość występowania u lisów dorosłych zarówno zakażeń bezobjawowych, jak i jawnej postaci salmonellozy, należy przestrzegać zasad sanitarno-weterynaryjnych, zwracając szczególną uwagę na higienę żywienia i pomieszczeń, jakość i warunki termiczne przechowywania karmy pochodzenia zwierzęcego oraz zasady obrotu zwierzętami. Karma mięsna, a szczególnie odpady drobiowe są w dużym stopniu zanieczyszczone pałeczkami *Salmonella* i systematyczne ich skarmianie bez uprzedniego poddania właściwej obróbce termicznej stanowi najważniejsze źródło salmonellozy dla lisów hodowlanych. W fermach, gdzie choroba występowała, należy okresowo przeprowadzać bakteriologiczne i serologiczne badania przesiewowe w celu wykrycia sztuk reagujących dodatnio i eliminować je z chowu, ponieważ stanowią one trudne do wykrycia źródło zakażenia. Szczególnie niebezpieczne jest nosicielstwo *Salmonelli* u samic ciężarnych, u których w wyniku uczynienia zakażenia utajonego, występują ronienia, rodzenie martwych płodów lub zejścia śmiertelne szceniąt w pierwszych dniach życia.

## Piśmiennictwo

1. Fierer J., Swancutt M. A., Heumann D., Golenbock D.: The role of lipopolysaccharide binding protein in resistance to *Salmonella* infections in mice. *J. Immunol.* 2002, 168, 6396-6403.
2. Gliński Z., Kostro K. (red.): Podstawy hodowli lisów i nerek. Profilaktyka i zwalczanie chorób. PWRiL, Warszawa 2002.
3. Jersey J. de., Bird P. H., Verna N. K., Bradley M. P.: Antigen-specific systemic and reproductive tract antibodies in foxes immunized with *Salmonella typhimurium* expressing bacterial and sperm proteins. *Reprod. Fertility Develop.* 1999, 11, 219-228.
4. Kirby A. C., Yrild U., Wick M. J.: The innate immune response differs in primary and secondary *Salmonella* infection. *J. Immunol.* 2002, 169, 4450-4459.
5. Madajczak G., Kizerwetter M., Binek M.: Zjawiska odpornościowe i immunoprofilaktyka w salmonellozie. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 287-292.
6. Malanowska T.: *Salmonella choleresuis* przyczynia się do ronienia u lisów. *Medycyna Wet.* 1963, 19, 396-401.
7. McSorley S. J., Asch S., Costalonga M., Reinhardt R. L., Jenkins M. K.: Tracking salmonella-specific CD4 T cells in vivo reveals a local mucosal response to a disseminated infection. *Immunity* 2002, 16, 365-377.
8. PN ISO 6579:1997 Mikrobiologia -- Ogólne zasady metod wykrywania pałeczek *Salmonella*.
9. Sławoń J., Saba L., Bis-Wencel H., Wencel C.: Pałeczki *Salmonella* w środowisku ferm mięsożernych zwierząt futerkowych. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 545-548.
10. Wieliczko A., Kuczkowski M., Mazurkiewicz M.: Zachowanie się subpopulacji limfocytów CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> u kurcząt w przebiegu zakażenia *Salmonella enteritidis*. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 527-530.
11. Wijburg O. L., Van Rooijen N., Strugnell R. A.: Induction of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes by *Salmonella typhimurium* is independent of *Salmonella* pathogenicity island 1-mediated host cell death. *J. Immunol.* 2002, 169, 3275-3283.
12. Zawistowski S.: Technika histologiczna, podstawy histologii oraz histologia. PZW Warszawa 1975.