

# Wpływ inwazji ptaszyńca *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu oraz wskaźników immunologicznych i hematologicznych u kur niosek

ANDRZEJ KOWALSKI, RAJMUND SOKÓŁ\*, MARIA JEDLIŃSKA-KRAKOWSKA

Zespół Patofizjologii Katedry Patologii i Farmakologii,  
\*Zespół Parazytologii Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych  
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

Kowalski A., Sokół R., Jedlińska-Krakowska M.

## Influence of red mite *Dermanyssus gallinae* invasions on corticosterone and haematological levels and immunological indices in egg-laying hens

### Summary

The aim of the study was to attempt an explanation of the physiopathological mechanism of decreased egg-laying and increased mortality in layers infested by mass red mite *Dermanyssus gallinae* invasions. The study was carried out on 20 cross-breed Lohman-Brown layers, divided into two groups: control (without parasites) and experimental (infested with red mite), taken from an industrial layer house which had been subjected to a mass invasion of the parasite. Birds were kept for 8 days under conditions eliminating chicken house stress factors except for the influence of red mite in the experimental group. Following this, they were slaughtered. Corticosterone levels, haematological indices (sedimentation rate, haematocrite, hemoglobin content, RBC, WBC, TBC, level of iron) and immunological indices (content of albumin and globulins  $\alpha, \beta, \gamma$ , and acute phase proteins – ceruloplasmin, haptoglobin, activity of lysozyme) were determined in the collected blood of the birds.

The studies indicated a 2,5 fold increase in corticosterone levels and the tendency of a decrease in  $\gamma$ -globulin in layers infested with red mite. It indicated the significance of stress mechanisms in decreasing the rate of egg laying and a higher mortality rate in chickens infested with *Dermanyssus gallinae*.

The level of corticosterone may be a useful index for investigating the pathophysiological mechanisms of red mites on layers.

**Keywords:** *Dermanyssus gallinae*, corticosterone, layers

Pomimo stosowania coraz efektywniejszych środków zwalczania inwazji ptaszyńca kurzego – *Dermanyssus gallinae* stanowi on wciąż istotne zagrożenie dla zdrowia i produktywności kur niosek. Dotyczy to głównie kur utrzymywanych w systemach wielkotowarowych, charakteryzujących się dużą koncentracją tych ptaków. Przeprowadzone dotychczas badania nie dają możliwości odpowiedzi na pytanie, jaki patofizjologiczny mechanizm powoduje obniżoną nieśność i zwiększa nawet do 6-8% śmiertelność stada podczas rozwoju inwazji. Opublikowane obserwacje i wyniki badań dotyczących tej problematyki można przyporządkować do kilku grup bardziej szczegółowych zagadnień, które dotyczą: biologii cyklu życiowego i warunków rozwoju ptaszyńca (3, 5, 12, 20-22), ptaszyńca jako wektora zakażeń i nosicielstwa mikroflory patogennej (4, 26, 29), wpływu ptaszyńca na zwierzęta i ludzi (2, 6, 10, 28, 31, 32) oraz metod zapobiegania i środków zwalczania inwazji (11, 21, 33).

Spośród autorów tych prac jedynie Pilarczyk i wsp. (27) przedstawili rzeczywisty stan wiedzy w zakresie

mechanizmu oddziaływania ptaszyńca na przebieg nieśności i wzmożoną śmiertelność. Autorzy ci, podobnie jak inni (11, 13, 14) zwrócili uwagę na towarzyszącą inwazji umiarkowaną anemię u ptaków, jednak nie traktowali jej jako podstawowej przyczyny zwiększonej śmiertelności.

Przedstawiony powyżej problem skłonił autorów tego opracowania do postawienia hipotezy, że inwazja ptaszyńca poprzez niepokojenie kur (27) wywołuje stan stresu odreagowywany przez nie zmianami w behawiorze (13, 21, 35). Wiadomo bowiem, że u kręgowców stres o charakterze chronicznym, a zwłaszcza stres umiarkowany, o chronicznym przerywanym przebiegu (17) charakteryzuje się aktywacją osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowonadnerczowej, której hormony działają supresyjnie na oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadową, odpowiedzialną za nieśność (30) i może być odreagowywany behawioralnie (7-9, 23). Stres zależnie od nasilenia, zwłaszcza u młodych zwierząt, może powodować mało uchwytnie zmiany fizjologiczne i patomorfologiczne, wpływające na obniżenie ogólnej kondycji oraz od-

porności ustroju i powodować podwyższenie wartości wskaźnika śmiertelności (1). Drugą, jakkolwiek mniej wiarygodną, hipotezą było założenie, że zmiany skórne o charakterze zapalnym, które mogą towarzyszyć inwazji ptaszyńca u zwierząt i ludzi są przyczyną znacznego osłabienia stanu zdrowia ptaków (2, 6, 13, 20, 31).

Stąd celem pracy było wykonanie badań poziomu kortykosteronu oraz wybranych wskaźników hematologicznych i biochemicznych u kur niosek podczas naturalnej inwazji ptaszyńca i na podstawie ich oceny potwierdzenie lub odrzucenie postawionych hipotez.

### Materiał i metody

Badania wykonano na 20 nioskach rasy lohman brown o masie ciała 1,8-1,9 kg, w wieku 27 tygodni życia i 11. tygodniu nieśności, podzielonych na dwie grupy po 10 sztuk, grupę doświadczalną zarażoną *Dermanyssus gallinae* i grupę kontrolną, którą pozbawiono pasożytów.

Przed doświadczeniem, ptaki przebywały w przemysłowej fermie kur niosek opartej na technologii firmy „Zuccami”. W kurniku utrzymywano ok. 75 000 szt. kur niosek, w klatkach bezściolowych o wymiarach  $0,5 \times 0,61 \times 0,41$  m, po 6 sztuk, w systemie bateryjnym, z automatycznie dostarczaną paszą własnej produkcji oraz pojeniem *ad libitum*. Odbiór jaj i usuwanie odchodów odbywało się mechanicznie. W kurniku, z którego pochodziły ptaki do doświadczenia, inwazję ptaszyńca monitorowano co tydzień. Stwierdzono, że pomimo zastosowania programu zwalczania ptaszyńca przed zasiedleniem kurami, ferma była objęta stopniowo narastającą inwazją tym pasożytem, którą w momencie rozpoczęcia doświadczenia określono jako wysoką (w 1 gramie osadu pobranego z podłogi stwierdzono ok. 2000 samic ptaszyńca).

Kury do badań wybrano losowo z różnych klatek i przewieziono je do zwierzętarni Zespołu Parazytologii Wydz. Med. Wet. w Olsztynie, w celu wyeliminowania miejscowych czynników zakaźnych oraz stresowych poza wpływem ptaszyńca. Umieszczono je w dwóch oddzielonych od siebie pomieszczeniach, odpowiednio dla grupy kontrolnej (bez ptaszyńca) i doświadczalnej (z inwazją ptaszyńca). Przed transportem do zwierzętarni kury stanowiące grupę kontrolną opryskano preparatem Butox w stężeniu 1 ml preparatu na 1 litr wody w celu pozbycia się pasożytów. Ten sam preparat w identycznym stężeniu zastosowano po 3 dniach.

Zwierzęta obu grup transportowano oddzielnie. Podczas doświadczenia kury utrzymywano po 5 sztuk w identycznych klatkach jak w fermie przez 8 dni. Były karmione paszą pochodzącą z macierzystej fermy oraz pojone wodą *ad libitum*. Podlegały również temu samemu programowi świetlnemu (światło od godz. 5.00 do 19.45). Obserwowano zachowanie się niosek.

Po 8 dniach dokonano uboju przez szybką dekapitację, w godzinach 9.30-10.30. Przed ubojem każdy ptak przebywał 5 minut w ciemnym pudle o wymiarach  $0,6 \times 0,6 \times 0,6$  m w celu eliminacji stresu związanego z manipulacją. Wykrwawienia dokonywano w ciągu kilkunastu sekund. Pobraną krew odwirowano w chłodzie i przeznaczano do dalszych badań laboratoryjnych.

W pobranej krwi oznaczono: poziom kortykosteronu metodą radioimmunologiczną (16) z użyciem przeciwciał wytworzonych w Zakładzie Fiziologii Zwierząt UWM w Olsztynie metodą Szafrąńskiej i wsp. (34), wskaźniki immunologiczne: zawartość albumin oraz globulin  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  standardową metodą elektroforezy bibułowej, stosując bufor medinalowo-weronalowy o pH 8,6 oraz poziom białek ostrej fazy: cerulo-

plazminy (metodą enzymatyczną Ravina z zastosowaniem fenylenodiaminy firmy Sigma Chemical) w modyfikacji Mazur-Gonkowskiej (18), haptoglobiny (metodą spektrofotometryczną Owena, Bettera i Hohana) (24) i aktywności lizozymu (metodą turbidymetryczną Perry'ego i wsp. (25) z użyciem *Micrococcus lysodeicticus* firmy Sigma Chemicals), wskaźniki hematologiczne: opad krwi, hematokryt, zawartość hemoglobiny, liczbę czerwonych krwinek, liczbę białych krwinek ogólnie przyjętymi metodami hematologicznymi, wskaźnik całkowitej zdolności wiązania żelaza (TBC) oraz poziomu żelaza w surowicy krwi przy użyciu metody kolorymetrycznej (zestaw diagnostyczny firmy BW Systems).

Pośmiertnie skórę ptaków poddano oględzinom w celu wykrycia zmian zapalnych. Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem t-Studenta (program Statgraphics).

Badania na zwierzętach wykonano zgodnie z wytycznymi ustawy o ochronie zwierząt i zaleceniami Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy UWM w Olsztynie (Opinia nr 28/N z dnia 29.04.2005 r.)

### Wyniki i omówienie

Poziom podwyższonej reaktywności na bodźce zewnętrzne, charakterystyczny dla kur w chowie fermowym, powodowany polietologicznym stresem „fermowym” u wszystkich ptaków z obydwu grup utrzymywał się do trzeciego dnia pobytu w nowych, zmienionych warunkach doświadczenia. W dalszym okresie tylko u kur grupy zarażonej ptaszyńcem obserwowano charakterystyczny behavior czyszczenia skóry i upierzenia (self-grooming), obserwowany również przez innych autorów (12, 13, 27). Wskazuje to na objawy niepokoju u kur tej grupy.

Pośmiertne oględziny skóry nie wykazały charakterystycznych cech zapalenia, co wyklucza hipotezę o wpływie tego odczynu na kondycję badanych zwierząt w tym doświadczeniu.

Wyniki analiz laboratoryjnych zamieszczono w tab. 1. Wartości wskaźników hematologicznych w grupie kur z inwazją ptaszyńca nie różniły się od analogicznych w grupie kontrolnej. Były bardzo zbliżone do poziomu wartości charakterystycznych dla danego wieku niosek (11), co wskazuje na brak anemii pod wpływem inwazji ptaszyńca i w tym przypadku wyklucza ten czynnik jako przyczynę zaburzeń nieśności i podwyższenia wskaźnika śmiertelności w stadzie.

Wskaźniki immunologiczne (frakcje białek surowicy krwi, jak i poziom białek ostrej fazy) nie wykazały istotnych różnic pomiędzy obydwoma grupami kur. Jedynie zwraca uwagę fakt obniżona, nieistotna statystycznie zawartość  $\gamma$ -globulin u kur zarażonych ptaszyńcem, wskazująca na tendencję do osłabienia odporności u tych ptaków. Brak zróżnicowania poziomu białek ostrej fazy – czyli wskaźników immunologicznej reakcji zapalnej (15, 19) – pomiędzy badanymi grupami potwierdza brak odczynu zapalnego skóry, stwierdzony zewnętrznymi oględzinami jej wyglądu, jak również brak innych odczynów zapalnych w ustroju. Jakkolwiek zapalenie skóry może towarzyszyć inwazji ptaszyńca, wyniki tych badań świadczą, że nie występuje ono w każdym przypadku, a zatem należy odrzucić hipotezę o terminalnym działaniu tego odczynu w każdym przypadku inwazji ptaszyńca.

**Tab. 1. Wyniki badań hematologicznych, immunologicznych i poziomu kortykosteronu we krwi kur niosek ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 10$ )**

| Wskaźnik       | Jednostki           | Grupa kontrolna | Grupa doświadczalna |
|----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| OB             | mm/h                | 2,90 ± 0,99     | 2,80 ± 0,67         |
| Ht             | %                   | 27,30 ± 1,57    | 27,10 ± 1,29        |
| Hb             | g/dcl               | 9,68 ± 0,64     | 9,38 ± 1,22         |
| RBC            | 10 <sup>6</sup> /μl | 2,08 ± 0,22     | 2,52 ± 0,31         |
| WBC            | 10 <sup>3</sup> /μl | 11,11 ± 3,45    | 12,69 ± 4,47        |
| TIBC           | μg/dcl              | 289 ± 53        | 377 ± 76            |
| Żelazo         | μg/dcl              | 218 ± 77        | 239 ± 50            |
| Albuminy       | % frakcji           | 30,57 ± 1,58    | 28,82 ± 1,80        |
| Globuliny α    | % frakcji           | 12,76 ± 0,63    | 15,76 ± 1,85        |
| Globuliny β    | % frakcji           | 15,94 ± 0,81    | 19,53 ± 2,41        |
| Globuliny γ    | % frakcji           | 40,73 ± 1,60    | 35,89 ± 2,40        |
| Ceruloplazmina | mg/dcl              | 7,03 ± 2,31     | 5,80 ± 3,97         |
| Haptoglobina   | mg/dcl              | 0,86 ± 0,24     | 0,74 ± 0,18         |
| Lizozym        | mg/dcl              | 2,42 ± 0,89     | 2,20 ± 1,07         |
| Kortykosteron  | ng/ml               | 3,47 ± 0,15     | 8,13 ± 0,52*        |

Objaśnienie: \* – istotność przy  $p \leq 0,01$

Poziom kortykosteronu w surowicy krwi wykazał znaczne różnicowanie pomiędzy obydwoiema grupami badanych ptaków. W grupie zarażonej ptaszyńcem wykazał niemal 2,5-krotnie wyższą wartość ( $p \leq 0,01$ ). Wskazuje to, że w warunkach, w których oprócz inwazji ptaszyńca wyeliminowano wszystkie czynniki stresowe, pasożyt ten wywołał reakcję stresu u kur opanowanych przez tego ektopasożyta. Jest to potwierdzenie postawionej hipotezy, że kury były w stanie stresu somatycznego (prawdopodobnie o chronicznym charakterze), charakteryzującego się wzrostem poziomu hormonów osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowonadnerczowej. Fakt ten może tłumaczyć patofizjologiczny mechanizm tendencji do obniżenia koncentracji  $\gamma$ -globulin, zmienionego behawioru, obniżenia nieśności oraz zwiększonej śmiertelności w stadzie kur niosek podczas masowej inwazji *Dermanyssus gallinae*.

Zastosowanie wskaźnika poziomu kortykosteronu okazało się obiecujące w celu wyjaśnienia patofizjologicznego mechanizmu wpływu inwazji *Dermanyssus gallinae* na obniżoną nieśność i zwiększoną śmiertelność kur niosek. Ponadto, zdaniem autorów, prace w tym kierunku powinny być kontynuowane w szerszym zakresie, ponieważ w dostępnym piśmiennictwie (oprócz przedstawionego doniesienia) nie ma badań uwzględniających czynnik stresu.

## Piśmiennictwo

- Armario A., Lopez-Calderon A., Jolin T., Balasch J.: Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. The specificity of adaptation. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1986, 3, 245-250.
- Beck W.: Landwirtschaftliche Nutztiere als Vektoren von parasitären Epizoonoseerregern und zoophilen Dermatophyten. *Hautarzt* 1999, 50, 621-628.
- Bruneau A., Dernburg A., Chauve C., Zenner L.: First in vitro cycle of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778), utilizing an artificial feeding device. *Parasitology* 2001, 123, 583-589.
- Chirico J., Eriksson H., Fossum O., Jansson D.: The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. *Med. Vet. Entomol.* 2003, 17, 232-234.

- Cruz M. D., Soler Vega Robles M. C., Jespersen J. B., Kilpinen O., Birkett M., Dewhurst S., Pickett J.: Scanning electron microscopy of foreleg tarsal sense organs of poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer) (Acari: Dermanyssidae). *Micron* 2005, 36, 415-421.
- Daniel M., Cerný V.: A case of a mass occurrence of the mite *Dermanyssus gallinae* in town flats. *Folia Parasitol.* 1971, 18, 364.
- Dantzer R.: Stress, stereotypes and welfare. *Behav. Processes* 1991, 25, 95-102.
- Dantzer R.: Behavioral, physiological and functional aspects of stereotyped behavior: a review and a re-interpretation. *J. Anim. Sci.* 1986, 62, 1776-1786.
- Dantzer R., Mormède P.: Stress in farm animals: a need for reevaluation. *J. Anim. Sci.* 1983, 57, 7-18.
- Haag-Wackemagel D.: Parasites from feral pigeons as health hazard for humans. *An. Appl. Biol.* 2005, 147, 203-210.
- Jungmann R., Ribbeck R., Eisenblätter S., Schematus H.: Zur Schädigung und Bekämpfung des *Dermanyssus gallinae* und Federlingsbefalls bei Legehennen. *Mtsh. Vetmed.* 1970, 25, 28-32.
- Kilpinen O.: Activation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (acari: Dermanyssidae), by increasing temperatures. *Exp. Appl. Acarol.* 2001, 25, 859-867.
- Kilpinen O., Roepstorff A., Permin A., Nørgaard-Nielsen G., Lawson L. G., Simonsen H. B.: Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Br. Poult. Sci.* 2005, 46, 26-34.
- Kirkwood A. C.: Anaemia in poultry infested with the red mite *Dermanyssus gallinae*. *Vet. Rec.* 1967, 80, 514-516.
- Kostro K., Wojcicka-Lorenzowicz K., Gliński Z., Krakowski L., Wrona Z.: Białka ostrej fazy jako ligandy komórek układu immunologicznego. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 929-933.
- Kokot F., Stupnicki R.: Radioimmunologiczne i radiokompetycyjne metody używane w klinice. PZWL, Warszawa 1985, 81-99.
- Ladewig J.: Endocrine aspects of stress: evaluation of stress reactions in farm animals, [w:] Wiepkema P. R., van Adrichem P. W. M. (wyd.): *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht 1987, 13-25.
- Mazur-Gonkowska B.: Białka ostrej fazy i inne parametry odporności nieswoistej u indyków zakażonych wirusem HE lub pałeczkami E. Coli. Praca dokt., Wydz. Medycyny Weterynaryjnej, UWM, Olsztyn 2001.
- Mazur-Gonkowska B., Koncicki A.: Białka ostrej fazy u ptaków – występowanie i charakterystyka. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 925-928.
- Nisbet A. J., Billingsley P. F.: A comparative survey of the hydrolytic enzymes of ectoparasitic and free-living mites. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30, 19-27.
- Nordenfors H., Höglund J.: Long term dynamics of *Dermanyssus gallinae* in relation to mite control measures in aviary systems for layers. *British Poult. Sci.* 2000, 41, 533-540.
- Nordenfors H., Höglund J., Uggla A.: Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J. Med. Entomol.* 1999, 36, 68-72.
- Oliverio A.: Endocrine aspects of stress: central and peripheral mechanisms, [w:] Wiepkema P. R., Van Adrichem P. W. M. (wyd.): *Biology of Stress in Farm Animals: an Integrative Approach*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht 1987, 3-12.
- Pawelski S.: Diagnostyka laboratoryjna w hematologii. PZWL, Warszawa 1983, 452-456.
- Perry L. M., Chandon L. C., Shahami K. M.: A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965, 119, 384-386.
- Petrov D.: Study of *Dermanyssus gallinae* as a carrier of *Pasteurella multocida*. *Vet. Med. Nauki* 1975, 12, 32-36.
- Pilarczyk B., Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pajak B.: Wpływ inwazji *Dermanyssus gallinae* na zdrowotność i produktywność kur niosek. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 874-876.
- Ramsay G. W., Mason P. C., Hunter A. C.: Letter: Chicken mite (*Dermanyssus gallinae*) infesting a dog. *N. Z. Vet. J.* 1975, 23, 155-156.
- Reshetnikov P. T.: The tick *Dermanyssus gallinae*-carrier of fowl spirochaetosis. *Veterinariia* 1967, 44, 48-49.
- Rivier C., Rivest S.: Review. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol. Reprod.* 1991, 45, 523-532.
- Rosen S., Yeruham I., Braverman Y.: Dermatitis in humans associated with the mites *Pyemotes tritici*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti* and *Androlaelaps calalis* in Israel. *Med. Vet. Entomol.* 2002, 16, 442-444.
- Skierska B.: Przypadek masowego zaatakowania ludzi przez roztocze ptasie *Dermanyssus gallinae* (Redi, 1674) (Gamasoidea, Dermanyssidae). *Wiad. Parazytol.* 1968, 14, 322-326.
- Soon-Il K., Jee-Hwan Y., Jun-Hyung T., Young-Joon A.: Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet. Parasitol.* 2004, 120, 297-304.
- Szafrańska B., Zięcik A., Okrasa S.: Primary antisera against selected steroids or proteins and secondary antisera against  $\gamma$ -globulins – an available tool for studies of reproductive processes. *Repr. Biol.* 2002, 2, 187-203.
- Turner C. A., Lewis M. H., King M. A.: Environmental enrichment: effects on stereotyped behavior and dendritic morphology. *Dev. Psychobiol.* 2003, 43, 20-27.

Adres autora: dr hab. Andrzej Kowalski, prof. UWM, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn; e-mail: ankow@uwm.edu.pl