

HENRYK LIS

Obserwacje nad salmonelozą kur z terenu woj. lubelskiego II. Nosicielstwo pałeczek *Salmonella* wśród kur w hodowlach przysagrodowych*)

Zakład Chorób Drobiu Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Kierownik: doc. dr S. STĘPKOWSKI

Tyfus ptaków jest chorobą, od dawna powodującą w naszym kraju stałe, niekiedy dość poważne straty (1, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 14).

Stale występowanie na terenie woj. lubelskiego upadków wśród kur wskutek salmoneloz wskazuje na istnienie rezerwuaru salmonel w środowisku. Ponieważ kury ze stwierdzonym zakażeniem *S. gallinarum* lub innymi salmonelami pochodzą zwykle z drobnych, przysagrodowych stad ptaków powzięto podejrzenie, że stada te są głównym rezerwuarem salmonel, chorobotwórczych dla dorosłych kur i indyków.

W celu potwierdzenia tej hipotezy i dla ewentualnego ustalenia stopnia rozprzestrzenienia się zakażeń salmonelami wśród kur w gospodarstwach chłopskich postanowiono przeprowadzić masowe badania krwi ptaków przy uwzględnieniu różnych terenów woj. lubelskiego. Żeby zwiększyć prawdopodobieństwo ujawnienia nosicielstwa salmonel w badaniach wykorzystano obok odczynów aglutynacji płytowej i aglutynacji probówkowej również odczyn hemaglutynacji pośredniej (OHP).

Materiał i metody

Antygeny do odczynów serologicznych sporządzono z 48 godz. hodowli agarowej *S. gallinarum* 71**) lub *S. typhimurium* ***) splukanej 0,9% roztworem NaCl z dodatkiem 0,5% fenolu. Techniki odczynów aglutynacyjnych oparto w zasadzie na odpowiednich instrukcjach Instytutu Wet.

Technikę OHP oparto na metodzie, opisanej przez Sieburtha (13), do 0,25 ml wzrastających rozcieńczeń surowicy (1:50, 1:100, 1:200 itd.) dodawano po 0,25 ml uczulonych krwinek i po wstrząśnięciu probówek pozostawiano je na 45–60 min. w temperaturze pokojowej. Wyniki odczytywano przez oglądanie dna probówek.

Wobec decyzji użycia w badaniach OHP zaszła konieczność wstępnego ustalenia u kur tzw. miana „fizjologicznego” w tym odczynie (2). W celu wyjaśnienia powyższego zagadnienia przebadano w OHP, stosując antygen sporządzony z *S. gallinarum*, krew 254 kur z ferm drobiu wolnych od salmoneloz oraz krew 38 ptaków zakażonych salmonelami, które reagowały pozytywnie w jednym lub w obu odczynach zlepnych.

Do właściwych badań użyto 1401 próbek krwi od kur, pochodzących z 18 powiatów woj. lubelskiego, przy czym z krwią tych ptaków wykonano aglutynację płytową, aglutynację probówkową oraz OHP przy użyciu antygenów *S. gallinarum*.

*) Praca oparta na dysertacji doktorskiej lekarza wet. H. Lisa.

**) Szczep otrzymany z Instytutu Weterynarii w Puławach.

***) Szczep wyizolowany w Zakładzie Chorób Drobiu WSR w Lublinie.

Ponadto w celu wyjaśnienia, jaka jest wykrywalność przy stosowaniu antygenów *S. gallinarum* zakażeń kur, wywołanych przez *S. typhimurium* przebadano w odczynach aglutynacji płytowej, probówkowej oraz OHP, stosując paralelnie antygeny obu gatunków salmonel — krew 19 ptaków zakażonych eksperymentalnie *S. typhimurium*. Do zakażenia kur użyto zawiesiny 24 godz. hodowli agarowej *S. typhimurium* 7 w 0,9% roztworze NaCl o zmętnieniu 10-krotnie większym od probówki nr 10 skali McFarlanda. Zawiesinę mieszano z 5% gastromucyną, a następnie wprowadzano ptakom do wola w ilości 2 ml przed rannym karmieniem, przez kolejne 3 dni. Krew do badań pobierano od ptaków w ciągu pierwszego miesiąca po zakażeniu co 7 dni, w ciągu następnych 2 miesięcy co 14 dni.

Wyniki

1. Próby określenia tzw. miana „fizjologicznego” i miana „chorobowego” w OHP.

Badania w OHP 245 surowic, pochodzących od kur zdrowych z ferm wolnych od salmoneloz wykazało: w 236 przypadkach (92,7%) reakcje negatywne już od pierwszego rozcieńczenia (1:100) surowicy, w 13 przypadkach (5,2%) reakcje pozytywne w mianie 1:100, w 4 przypadkach (1,6%) reakcje pozytywne do miana 1:200 oraz w jednym przypadku (0,41%) reakcję pozytywną do miana 1:400. Wszystkie surowice okazały się przy tym negatywne w aglutynacji probówkowej, a także — z jednym wyjątkiem — w aglutynacji płytowej (jedna z surowic negatywna w aglutynacji probówkowej i OHP zareagowała wątpliwie w aglutynacji płytowej, co jednak uznano za odczyn nieswoisty).

Badania w OHP 38 surowic aglutynacyjnie pozytywnych, wyselekcjonowanych spośród 100 próbek krwi, pobranych od kur z ośrodków zakażenia salmonelozą, wykazało we wszystkich przypadkach reakcje dodatnie w mianach od 1:400 — 1:12000 (tab. 1).

Tab. 1. Wynik badania w odczynie hemaglutynacji pośredniej (OHP) 38 surowic, reagujących pozytywnie w aglutynacji.

	Rozcieńczenie surowic								
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600
Liczba odczynów pozytywnych	0	0	6	9	11	4	4	3	0
%	0	0	15,7	23,7	28,9	10,5	10,5	7,8	0

Z uzyskanych rezultatów wynikało, że: 1) większość kur zdrowych reaguje w OHP do miana 1:200, a w przypadkach sporadycznych nawet do miana 1:400; 2) kury zakażone salmonelami z pozytywnym wynikiem aglutynacji, reagują w OHP przeważnie w mianach od 1:800 wzwyż, czasami w mianie 1:400.

Występowanie u ptaków o stwierdzonych aglutynacyjnie zakażeniach salmonelami jak też (sporadycznie) u ptaków zdrowych odczynów pozytywnych OHP w tym samym rozcieńczeniu surowic 1:400 utrudniało rozstrzygnięcie, jakie miano w masowych badaniach należy uznać za „fizjologiczne” a jakie za „chorobowe”. Ostatecznie przyjęto, że przypadki zlepiania się krwinek do rozcieńczenia surowicy 1:200 włącznie będą uznane za reakcje negatywne a od miana 1:800 wzwyż za pozytywne; w przypadkach wystąpienia hemaglutynacji w mianie 1:400 postanowiono uzależnić ocenę wyniku OHP od rezultatu aglutynacji przy zastosowaniu następujących kryteriów:

a) reakcja dodatnia OHP w mianie 1:400 przy ujemnych odczynach aglutynacyjnych — wynik negatywny,

b) reakcja dodatnia OHP w mianie 1:400 przy wątpliwym przynajmniej jednym z odczynów aglutynacyjnych — wynik wątpliwy,

c) reakcja dodatnia w mianie 1:400 przy dodatnim przynajmniej jednym z odczynów aglutynacyjnych — wynik pozytywny.

W związku z tym, że użyte w badaniach uzupełniających nad wykrywalnością stanów zakażenia *S. typhimurium* przy pomocy antygenów *S. gallinarum* 19 kur przed eksperymentalnym zakażeniem reagowały w OHP negatywnie już w mianie 1:100, przeto pojawienie się u tych ptaków po ich zakażeniu zjawiska hemaglutynacji w mianie 1:400 uznano za odczyn pozytywny.

2. Badania nad rozprzestrzenieniem się zakażeń salmonelami wśród kur z różnych terenów woj. lubelskiego.

Badania serologiczne 1401 surowic, pochodzących z drobnych stad przyzagrodowych wykazały:

a) w odczynie aglutynacji płytowej reakcje dodatnie w 402 przypadkach (28,6%), wątpliwe w 121 przypadkach (8,6%), ujemne 878 przypadkach (62,6%);

b) w odczynie aglutynacji probówkowej reakcje dodatnie w 389 przypadkach (27,7%), wątpliwe w 19 przypadkach (1,4%), ujemne 993 przypadkach (72,2%);

c) w OHP liczba reakcji pozytywnych w mianach powyżej 1:400 wyniosła 378 przypadków (26,9%), w mianie 1:400 — 315 przypadków (22,4%); przypadków negatywnych wzgl. pozytywnych do miana 1:200 było 708 (50,5%).

Po skonfrontowaniu rezultatów wszystkich trzech odczynów serologicznych ostatecznie za reagujące dodatnio uznano 502 surowice (35,8%), za reagujące wątpliwie 99 surowic (7,1%), za reagujące ujemnie 800 surowic (57,1%).

3. Próby określenia stopnia wykrywalności zakażeń, wywołanych u kur przez *S. typhimurium* przy pomocy antygenów *S. gallinarum*.

Rezultaty okresowych badań serologicznych krwi 19 kur, zakażonych eksperymentalnie *S. typhimurium* zestawiono w tab. 2. Z tab. 2 wynika, że na 171 wykonanych prób przy pomocy antygenów homologicznych *S. typhimurium* wykryto z aglutynacji płytowej o 8,1%, w aglutynacji probówkowej o 3,6% i w OHP (przy uznaniu każdej reakcji pozytywnej w mianie od 1:400 za „chorobową”) o 4,3% więcej odczynów dodatnich niż przy stosowaniu antygenów *S. gallinarum*.

Tab. 2. Wyniki okresowych badań serologicznych krwi 19 kur, zakażonych eksperymentalnie peros *S. typhimurium*

Kolejność badania	Dni po zakażeniu	Aglutynacja płytowa			Aglutynacja probówkowa			Odczyn hemaglutynacji posretniej	
		+	±	-	+	±	-	od 1:400 wzwyż	do 1:200
1	7	13/11	1/3	0/5	12/5	0/0	7/4	15/13	4/5
2	15	18/17	1/2	0/0	19/18	0/0	0/1	18/14	1/5
3	22	18/13	0/3	3/3	14/4	0/0	5/5	11/13	8/9
4	29	18/15	1/3	0/1	18/18	0/1	1/0	15/16	3/3
5	44	18/17	1/2	0/0	17/17	1/1	1/1	14/14	5/5
6	58	16/14	2/3	1/2	11/11	0/0	8/8	12/14	7/5
7	72	15/13	1/3	3/3	15/13	0/0	4/6	14/13	5/6
8	86	15/15	2/3	2/1	12/14	0/0	7/5	15/13	4/6
9	100	14/15	3/2	2/1	12/14	0/0	7/5	15/14	4/5
		145/131	12/24	16/16	130/124	1/2	40/35	130/124	41/47

Liczbn utamka przedstawia wynik odczynu z antygenem *S. typhimurium*, mianowicie z antygenem *S. gallinarum*

Zasługuje na uwagę fakt, że zjawisko większej liczby reakcji pozytywnych z antygenami *S. typhimurium* kształtowało się w bardziej przekonujący sposób tylko w pierwszym okresie po zakażeniu w przypadku aglutynacji probówkowej i OHP do 15 dni, w przypadku aglutynacji płytowej do 72 dni.

Omówienie wyników

Wyniki serologicznych badań z antygenami *S. gallinarum* 1401 surowic od kur, pochodzących z gospodarstw chłopskich 18 powiatów woj. lubelskiego wykazały dość wysoki odsetek (35,8%) reakcji pozytywnych. Istniały podstawy, ażeby sądzić, że w liczbie tej mieszczą się nie tylko przypadki zakażeń *S. gallinarum*, ale również wywołane przez inne salmonelle o tej samej budowie antygeny somatycznego „O”. Wiadomo bowiem, że występujące u *S. gallinarum* antygeny cząstkowe 1, 9, 12 wchodzi w skład antygeny „O” szeregu innych salmonel grupy D. Bliższego wyjaśnienia wydawało się natomiast wymagać zagadnienie wykrywalności przy pomocy antygenów *S. gallinarum* zakażeń u kur, powodowanych przez *S. typhimurium*. Skład antygenów cząstkowych „O” *S. typhimurium* odgiera od składu antygenowego *S. gallinarum*: brak jest antygeny 9, występują natomiast antygeny 4, 5, których z kolei nie posiada *S. gallinarum*. Można było przeto obawiać się, że użyte do odczynów serologicznych antygeny *S. gallinarum* nie będą reagować z surowicami kur, zakażonych *S. typhimurium*. Zagadnienie wydawało się o tyle ważne, że jak wykazały obserwacje Lisa (8) zakażenia, powodowane przez *S. typhimurium* co do częstości występowania u kur na terenie woj. lubelskiego zajmują drugie miejsce po zakażeniach *S. gallinarum*.

Jednakże wyniki badań, przeprowadzonych na 19 kurach, zakażonych doświadczalnie *per os S. typhimurium* nie wykazały większych różnic w wykrywalności reakcji dodatnich między antygenami homologicznymi (*S. typhimurium*), a antygenami heterologicznymi (*S. gallinarum*). Warto nadmienić, że podobne rezultaty uzyskali Marek i wsp. (10) u kur, uodpornionych domięśniowo i dożylnie zawieszoną *S. typhimurium*. W badaniach własnych antygeny homologiczne okazały się nieco czulsze jedynie w pierwszym okresie zakażeń, wykrywając pewien odsetek (3,6—8,1%) więcej reakcji pozytywnych. W miarę upływu czasu od zakażenia odsetki reakcji pozytywnych z antygenami homologicznymi i heterologicznymi wykazywały różnice tylko w sporadycznych badaniach.

Jest możliwe, że pewien, niewielki odsetek kur zakażonych salmonelami urzęsionymi, w miejsce reakcji dodatnich wykazał odczyn wątpliwy. W obserwacjach Semowa przy badaniach kur na pulorozę (12) tego rodzaju reakcji było ok. 2%. Można by przeto przyjąć, że odsetek dodatnich reagentów w obrębie 1401 kur był nieco wyższy niż wykazały badania.

Nie mniej 35,8% odczynów pozytywnych dowodzi dość dużego rozprzestrzenienia się zakażeń salmonelami w przyzagrodowych stadach kur. Wydaje się przeto, że byłoby celowe rozpoczęcie akcji stopniowego uwalniania drobnych, przyzagrodowych stad ptaków grzebiących od salmoneloz, co można by uzyskać przez rozszerzenie akcji masowego badania ptaków w kierunku pulorozy również na te stada. Wpłynęłoby to poważnie na obniżenie strat, spowodowanych przez tyfus i paratyfus u kur i indyków, a ponadto ułatwiłoby wyeliminowanie z łańcucha epizootycznego salmoneloz jednego z ważnych jego ogniw.

Wnioski

1. Wysoki odsetek (35,8%) dodatnich reagentów z antygenami *S. gallinarum*, stwierdzony wśród kur pochodzących z drobnych, przyzagrodowych stad ptaków wykazuje, że stada te są ważnym rezerwuarem salmonel, chorobotwórczych przede wszystkim dla dorosłego ptactwa grzebiącego, a niekiedy również dla innych gatunków zwierząt i dla człowieka.

2. Odczyn serologiczne z antygenami *S. gallinarum* wykrywają u kur znaczny odsetek zakażeń, spowodowanych przez *S. typhimurium*. Jedynie we wczesnych stadiach zakażenia *S. typhimurium* niewielki odsetek reakcji może być negatywny przy pozytywnych wynikach odczynów serologicznych z antygenami homologicznymi.

3. Odczyn hemaglutynacji pośredniej (OHP) wykonany wg metody Sieburtha umożliwia wykrycie zakażeń salmonelami u kur, przy czym w badaniach terenowych reakcje w miarach poniżej 1:400 należy traktować jako od-

czyny ujemne, powyżej 1:400 jako odczyn dodatnie; w przypadkach reakcji dodatnich w mianie 1:400 OHP wymaga badania uzupełniającego przy pomocy jednego z odczynów zlepnych.

4. W celu stopniowej likwidacji jednego z ważniejszych rezerwuarów salmonel, jakim są przyzagrodowe stada kur byłoby wskazane objęcie tych stad akcją masowych badań i zwalczania pulorozy.

Piśmiennictwo

1. Brill J., Ciura J., Skoczek A.: Wład. Weter. 181, 369, 1935.
2. Brill J., Gołębiowski S.: Roczn. Nauk Roln. 67 E, 25, 1955.
3. Brill J., Gołębiowski S.: Roczn. Nauk Roln. 67 E, 47, 1955.
4. Brill J., Gołębiowski S.: Med. Dośw. Mikrobiol. 2, 241, 1956.
5. Chwałibóg J.: Medycyna Wet. 2, 307, 1946.
6. Cygan Z.: Konsultacje ustne.
7. Grycz E.: Roczn. Nauk. Roln. 67 E, 267, 1955.
8. Lis H.: Medycyna Wet. 26, 663, 1970.
9. Marek K.: Salmonelle u drobiu w Polsce. Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln. PAN, Nr 33, 129, 1961.
10. Marek K., Truszczyński M., Służewska M., Różańska M.: Medycyna Wet. 24, 333, 1968.
11. Mendelewska J.: Medycyna Wet. 22, 739, 1966.
12. Semov P.: Vet. Med. Nauki, Sofia 1, 33, 1965.
13. Sieburth J. McN.: Am. J. Vet. Res. 19, 729, 1958.
14. Stryszak A.: Medycyna Wet. 4, 425, 1948.

Adres autora: dr Henryk Lis, Puławy-Biowet.

Лис Х. — Салмонеллез кур в Люблинском воеводстве. II. Носительство палочек *Salmonella* у кур из приусадебных хозяйств.

Исследования провели серологическим, применяя реакцию агглютинации (РА) на предметном стекле (ориентировочную — РАО), РА в пробирках (РАП) и реакцию пассивной геммагглютинации (по методу Sieburtha РГП); антигены готовили из культур *S. gallinarum*. Из 1401 исследованных взрослых кур положительно реагировали — 35,8%, сомнительно — 7,1%. В дополнительных исследованиях 19-ти кур зараженных перорально *S. typhimurium* установили, применяя антигена *S. gallinarum*, положительные реакции. Однако в первой стадии заражения (при РАП и РГТ — до 15 дней, при РАО — до 72 дней) небольшой процент птиц (3,6—8,1%) положительно реагирующих с антигенами *S. typhimurium* не реагировал с антигенами *S. gallinarum*. Автор приходит к выводу, что борьба с носительством салмонелл должна быть распространена также на мелкие приусадебные стада кур.

Lis H. — Observations on salmonellosis in hens in the Lublin voivodship. II. The carry state of salmonella in hens in small farms.

On the basis of serological examinations the author tried to determine the incidence of *Salmonella gallinarum* and other *Salmonella* sp. in adult hens in the Lublin voivodship. There were used the following tests: plate agglutination, tube agglutination and indirect haemagglutination test acc. to Sieburth. Antigens were prepared from *Salmonella gallinarum*. Out of 1401 hens under study 35.8% of birds showed positive reactions; 7.1% of hens reacted doubtfully and the rest negatively. In addition, the author found in 19 hens, experimentally infected *per os* with *Salmonella typhimurium*, to a large extent specific antibodies by the use of *Salmonella gallinarum* antigens. But in the first period after infection (up to 15 days in tube agglutination and indirect haemagglutination test, and up to 72 days in plate agglutination test) all the reactions with *S. typhimurium* antigens were positive. *S. gallinarum* antigens reacted with all the above sera also to a large extent, but 3.6—8.1% reactions were negative. The author suggests that the control of *Salmonella* carrier-state in hens should also include hens kept in small farms.