

ANTONI JAKUBCZAK, ALEKSANDRA PLATT-SAMORAJ, JAN SIEMIONEK,
ELŻBIETA TERECH-MAJEWSKA, ZBIGNIEW ANUSZ

Występowanie pałeczek z rodzaju *Yersinia* u zwierząt hodowlanych, domowych, dzików oraz ryb pochodzących z województwa olsztyńskiego

Katedra Epizootiologii z Kliniką Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR-T,
10-957 Olsztyn-Kortowo

Summary

The Presence of *Yersinia* in Breeding Animals, Domestic Animals, Wild Boars and fish the Olsztyn District

The objective of the study was to evaluate the presence of *Yersinia* in pigs, calves, minks, cats, wild boars and fish (carp, trout, whitefish) by means of two isolation techniques. The application of the fluid medium selectively multiplying ITC according to Wauters shortened the time of isolating *Yersinia enterocolitica* O:3 and increased the frequency of its isolating in comparison with the cold culture. The samples from 465 animals were examined. 70 strains were isolated including *Y. enterocolitica* O:3 — 22, *Y. enterocolitica* O:9 — 1, *Y. enterocolitica* 1A biotype — 39, *Y. frederiksenii* — 5 and *Y. intermedia* — 5. Pigs and wild boars serve as a reservoir of *Y. enterocolitica* strains potentially pathogenic for humans.

Celem badań była ocena występowania pałeczek rodzaju *Yersinia* u zwierząt hodowlanych, domowych, dzików oraz ryb przy zastosowaniu dwu technik izolacji.

Material i metody

Materiał do badań, przeprowadzonych w latach 1991—92, stanowiły wycinki migdałków pobieranych jałowo od 153 świń rzeźnych oraz 63 dzików. W tym samym czasie pobrano wycinki narządów wewnętrznych (wątroba, nerka) od 60 pstrągów, 100 karpia i 12 sielaw, pochodzących z obiektów hodowlanych województwa olsztyńskiego. Przedmiotem badań były również wymazy z odbytu, pochodzące od klinicznie zdrowych 50 macior, 8 cieląt, 10 norek oraz 9 kotów.

W celu izolacji pałeczek z rodzaju *Yersinia* zastosowano dwie metody hodowli. W pierwszej 1 ml homogenatu migdałków świń i dzików, narządów wewnętrznych ryb, wymazy dodawano do 9 ml płynnego podłoża ITC wg Wautersa (28). Jednocześnie te same próbki poddano tzw. zimnej hodowli, polegającej na hodowli w płynnym podłożu PSB (bufor fosforanowy o pH = 7,6 z dodatkiem 1% sorbitolu i 0,15% dezoksycholanu) w temp. 4°C (17). Po 48-godzinnej inkubacji próbek w temp. 24°C na podłożu ITC oraz 21 dniowej inkubacji w temp. 4°C na podłożu PSB, hodowle lęgowano, po czym 0,1 ml hodowli przesiewano na agar CIN (*Yersinia Selective Agar*) firmy Difco. Posiewy inkubowano 24 godz. w temp. 30°C, a na charakterystycznie rosnących koloniach mannitolododatnich przeprowadzono identyfikację gatunkową i biotypu wg kryteriów podanych przez Aleksica i wsp. (2). Potencjalną chorobotwórczość szczepów zakwalifikowanych do gatunku *Yersinia enterocolitica* badano w teście autoaglutynacji opisanym wcześniej (17). Typowanie serologiczne zostało wykonane w Pracowni Shigella Zakładu Mikrobiologii PZH w Warszawie.

Wyniki i omówienie

Częstość izolacji drobnoustrojów rodzaju *Yersinia* od zwierząt hodowlanych, domowych oraz ryb, pochodzących z woj. olsztyńskiego, przedstawiono w tab. 1.

Łącznie poddano badaniom próbki pochodzące od 465 zwierząt. Wyizolowano 70 szczepów, których 22 zakwalifikowano do serotypu O:3 biotyp 4 oraz jeden szczep należący do serotypu O:9 biotyp 2. W teście autoaglutynacji 6 szczepów wykazało potencjalną chorobotwórczość, co stanowi 26% szczepów wym. serotypu i biotypu. Wszystkie pozostałe szczepy w liczbie 47 na podstawie kryteriów biochemicznych stanowiły następujące gatunki: *Yersinia enterocolitica* biotyp 1A — 39; *Y. frederiksenii* — 5; *Y. intermedia* — 3. Szczepy *Y. enterocolitica* należące do biotypu 1A oraz gatunku *Y. frederiksenii* i *Y. intermedia* mają charakter saprofityczny, na co wskazują liczni autorzy (4, 7, 8, 15, 18).

W badaniach własnych *Y. frederiksenii* wyizolowano od dzika, świni, karpia i sielawy, *Y. intermedia* zaś od kota, karpia i sielawy. Pomimo, iż koty stanowią rezerwuariusz serotypów, które są chorobotwórcze dla ludzi,

Pałeczki *Yersinia enterocolitica* oraz *Yersinia enterocolitica*-podobne są często izolowane z ekosystemów lądowych i wodnych, w tym głównie od zwierząt, z żywności i wody (2, 4, 8, 9, 11, 27). Wśród zwierząt, od których izolowano chorobotwórcze dla ludzi szczepy *Y. enterocolitica*, należy wymienić świnię, bydło, owce, drób, psy, koty, małpy, szczury i myszy (3, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 24, 26). Dane piśmiennictwa wskazują na szereg przypadków, w których bezpośrednim źródłem zakażenia człowieka było chore zwierzę — koza, jelen, świnia i kot (2, 11, 14). Wyniki badań nad izolacją chorobotwórczych dla człowieka szczepów *Y. enterocolitica* ze środowiska określają jersiniozę jako saprozozozę. Przemawia za tym obecność tych bakterii w wodzie pitnej, powierzchniowej, ściekach, glebie oraz warzywach (8, 9, 11, 25).

Trudności z izolacją chorobotwórczych dla człowieka szczepów *Y. enterocolitica* z materiału pochodzącego od zwierząt czy środowiska wynikają m.in. z obecności w tego typu materiale szczepów należących do gatunków uważanych za niechorobotwórcze. Są one antagonistami szczepów chorobotwórczych i maskują ich obecność w badanej próbce. Należą do nich *Y. enterocolitica* biotyp 1A, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. aldovae*, *Y. rohdei*, *Y. mollahetti*, *Y. bercovierii* (1, 2, 3, 10, 12, 15).

W celu określenia wszystkich ogniw łańcucha epizootologicznego i epidemiologicznego trwają ciągle badania nad doskonaleniem metod pozwalających wykrywać w jak najkrótszym czasie *Y. enterocolitica* z badanego materiału. Wauters (28) zaproponował płynne podłoże selektywno-namnażające oparte na podłożu Rappaporta, zawierające jako czynniki hamujące florę towarzyszącą irgasan, tetracylinę oraz chloran potasu (podłoże ITC).

Tab. 1. Częstość izolacji *Yersinia* ssp. od zwierząt hodowlanych, domowych oraz ryb pochodzących z woj. olsztyńskiego

Zwierzęta	Liczba próbek	Liczba próbek dodatnich							
		ogółem	serotyp / biotyp				inne		
			O : 3/4	Aa	O : 9/2	Aa	Y.e. 1A	Y.f.	Y.i.
Dziki	63	12	2	1	—	—	9	1	—
Swinie — m	153	48	20	4	1	1	26	1	—
Swinie — o	50	1	—	—	—	—	—	1	—
Ciełeta	8	1	—	—	—	—	1	—	—
Koty	9	1	—	—	—	—	—	—	1
Norki	10	1	—	—	—	—	1	—	—
Pstrągi	60	1	—	—	—	—	—	1	—
Karpie	100	3	—	—	—	—	1	1	1
Sielawy	12	2	—	—	—	—	1	—	1
Razem	465	70	22	5	1	1	39	5	3

Objaśnienia: Aa — autoaglutynacja, Y.i. — *Yersinia intermedia*, Y.f. — *Yersinia frederiksenii*, Y.e. 1A — *Yersinia enterocolitica* biotyp 1A, m — młoda, o — wymazy z odbytu.

Tab. 2. Różnicowanie biochemiczne pałeczek z rodzaju *Yersinia* (wg 2) (inkubacja 22–28°C, 48 godz.)

Gatunek drobnoustroju	Ruch 28°C	Indol	V-P	Cyt Simons	ODC	Sacha-roza	Cello-bioza	Meli-bioza	Ram-noza	Sor-boza	Śluz	AA	PYZ
<i>Y. pestis</i>	—	—	—	—	—	—	—	d	—	—	—	nt	nt
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—
<i>Y. enterocolitica</i> Biotyp 1–4	+	d	d	—	+	+	+	—	—	d	—	d***	d
<i>Y. enterocolitica</i> Biotyp 5*	+	—	+	—	d	d	+	—	—	d	—	+	—
<i>Y. intermedia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	—	+
<i>Y. frederiksenii</i>	+	+	d	d	+	+	+	—	+	+	—	—	+
<i>Y. kristensenii</i>	+	d	—	—	+	—	+	—	—	+	d	—	+
<i>Y. aldovae</i>	+	—	+	d	+	—	—	+	+	+	d	—	+
<i>Y. rohdei**</i>	+	—	—	+	+	+	+	d	—	+	—	—	+
<i>Y. mollaretti</i>	+	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	+
<i>Y. bercovieri</i>	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	+	—	+
<i>Y. ruckeri</i>	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	nt

Objaśnienia: ODC — dekarboksylacja ornityny, AA — autoaglutynacja, PYZ — pyrazinamidaza, d — 10–90% wyników dodatnich, * — *Y. enterocolitica* Biotyp 5: trehaloza —, azotany —; ** — *Y. rohdei* biotyp 1: melibioza +, rafinoza +, biotyp 2: melibioza —, rafinoza —; *** — *Y. enterocolitica* biotyp 2, 3, 4, 5; AA +, PYZ —; biotyp 1A: AA —, PYZ +; biotyp 1B: AA +, PYZ —; nt — nie typowano.

dotychczas nie udało się wyizolować szczepów należących do tych serotypów. Szczepy wyizolowane od ciełeta i norki również miały saprofityczny charakter.

Od 172 ryb wyizolowano 2 szczepy należące do gatunku *Y. frederiksenii*, 2 — *Y. kristensenii* oraz 2 — *Y. enterocolitica* 1A. Wyniki badań autorów skandynawskich (18, 19) wskazują na ryby jako rezerwuuar tych gatunków bakterii. Ryby zakażają się prawdopodobnie zanieczyszczoną tymi gatunkami wodą, a układ pokarmowy ryb sprzyja namnożeniu się tych bakterii. W Norwegii (18) opisano zakażenie o charakterze gastroenteritis wywołane przez *Y. enterocolitica* u człowieka po spożyciu specjalnego dania skandynawskiego, składającego się z surowego łososia i przypraw.

Przy obecnym stanie wiedzy uważa się, iż tzw. środowiskowe gatunki rodzaju *Yersinia* nie są patogenne dla ludzi. Jednak ze względu na udowodniony fakt syntezy przez nie termostabilnej enterotoksyny w temp. 4°C, 22°C oraz 37°C mogą mieć one znaczenie jako czynniki intoksykacji (19). W latach osiemdziesiątych zaś opisano pierwsze przypadki izolacji *Y. intermedia* od chorych, u których występowała biegunka (24). Na uwagę zasługują również ostatnio opisane trzy nowe gatunki, tj. *Y. rohdei*, *Y. mollaretti* oraz *Y. bercovieri*. *Y. rohdei* po raz pierwszy wyizolowany został z wody i kału zdrowych psów w RFN (1). W USA zaś gatunek ten izolowano od chorych z objawami gastroenteritis

(cyt. 1). Istnieje hipoteza, że drobnoustroj ten jest naturalnym mieszkańcem wód. Zakażenia ludzi i zwierząt mogą wystąpić na skutek spożycia wody zanieczyszczonej tą bakterią.

Y. mollaretti i *Y. bercovieri* najczęściej izoluje się z gleby, wody, warzyw i żywności. W Japonii *Y. bercovieri* izolowano od chorych, a także stwierdzono stałe nosicielstwo u hodowców świń (cyt. 1). *Y. mollaretti* zaś izolowano również z kału ludzi zdrowych w RFN, Belgii i Holandii. Biochemiczne różnicowanie w ramach wszystkich znanych gatunków rodzaju *Yersinia* przedstawia tab. 2 wg Aleksic i Bockemuhl (2).

Po zaproponowaniu przez Wautersa i wsp. (28) nowego podłoża namnażającego do izolacji *Y. enterocolitica* O : 3 od trzody chlewnej pojawiły się doniesienia wskazujące na jego przydatność (6, 21, 23). W przeciwieństwie do innych technik przednamnażania i namnażania (3, 7, 9, 15) zastosowanie tego podłoża skraca czas selektywnego namnażania badanej próbki do 48 godzin. Wyniki badań wykazały, iż selektywność podłoża ITC polega na hamowaniu wzrostu gatunków saprofitycznych, tj. *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* i *Y. kristensenii* oraz *Y. enterocolitica* biotyp 1A w obecności chrobotwórczych szczepów *Y. enterocolitica* serotyp O : 3 (6, 12, 21, 28). Zastosowanie podłoża ITC w porównaniu z zimną hodowlą pozwoliło na dodatkową izolację 13 szczepów *Y. enterocolitica* O : 3. Poddanie zaś badanych

Tab. 3. Częstość izolacji *Yersinia* sp. po zastosowaniu dwu metod

Technika izolacji	Liczba próbek dodatnich					
	biotyp		serotyp		inne gatunki	
	1A	2	O:3	O:9	Y.i.	Y.f.
ITC — CIN	7	—	22	—	—	—
PSB — CIN	32	1	9	1	3	5

Objaśnienia: Y.i. — *Yersinia intermedia*, Y.f. — *Yersinia frederiksenii*.

próbek zimnej hodowli zwiększyła liczbę izolacji szczepów mających niechorobotwórczy charakter, z wyjątkiem szczepu należącego do serotypu O:9 biotypu 2 wyizolowanego od świni (tab. 3).

Zastosowanie płynnego podłoża ITC jako selektywnie namnażającego do izolacji *Y. enterocolitica* O:3 z żywności, a szczególnie z mięsa oraz z materiałów klinicznych, rekomendowane jest przez autorów europejskich i amerykańskich (6, 23). Z podłoży stałych, służących do izolacji *Y. enterocolitica* po namnożeniu badanej próbki na podłożu ITC, Wauters i wsp. (28) oprócz agaru CIN polecają agar SS uzupełniony 1% zawartością dezoksy-cholanu sodu oraz 0,1% CaCl₂. Niektórzy autorzy wykazali większy odsetek szczepów *Y. enterocolitica* O:3 izolowanych na agarze SSDC niż CIN po zastosowaniu podłoża ITC. Przegląd głównych kierunków badań nad doskonaleniem metod izolacji *Y. enterocolitica* podano w piśmiennictwie krajowym (16).

Wprowadzenie metody hybrydyzacji DNA-DNA do wykrywania *Y. enterocolitica* w badanej próbce skraca czas analizy oraz praktycznie eliminuje wyniki fałszywie dodatnie. Nesbakken i wsp. (23) porównując metodę hodowlaną zaproponowaną przez Wautersa (28) z metodą hybrydyzacji DNA-DNA, wykazali znacznie wyższą częstość wykrywania *Y. enterocolitica* przy zastosowaniu metody genetycznej.

Metoda hodowlana ITC-SSDC umożliwiła izolację tego drobnoustroju w 16% prób, podczas gdy w metodzie hybrydyzacji w 60% tych samych prób stwierdzono obecność *Y. enterocolitica*. Metody genetyczne mogą być

bardzo przydatne w określeniu łańcucha epizootyczno-epidemiologicznego.

Wnioski

1. Świnie oraz dziki stanowią rezerwuarnie potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka szczepów *Y. enterocolitica*.
2. Zastosowanie płynnego, selektywnie namnażającego podłoża ITC skraca czas i zwiększa częstość izolacji *Y. enterocolitica* O:3 z badanych próbek.

Piśmiennictwo

1. Aleksić S., Steigewalt A., Bockemuhl J., Huntley-Carter G., Don Brenner J.: Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 327, 1987.
2. Aleksić S., Bockemuhl J.: Immun. Infekt. 18, 178, 1990.
3. Anusz Z., Szveda W., Bielecka Z., Andziak J., Głowiński R.: Proc. VI International Congress Animal Hygiene, 14–17 June, Skara, Sweden, 776, 1988.
4. Bielecka Z.: Post. Mikrobiol. 4, 103, 1985.
5. Bulte M., Klein G., Reuter G.: Fleischwirtschaft 71, 1, 1991.
6. Boer E., Nouws J. F. M.: Int. J. Fd Microbiol. 12, 375, 1991.
7. Brewer R. A., Corbel M. J.: Hyg., Camb. 90, 425, 1983.
8. Chiesa C., Pacifico L., Cianfrano V., Midulla M.: Contr. Microbiol. Immunol. 9, 76, 1987.
9. Christensen S. G.: Contr. Microbiol. Immunol. 9, 93, 1987.
10. Fukushima H., Gomyoda M.: App. Environ. Microbiol. 51, 990, 1985.
11. Fukushima H., Hoshima K., Nakamura R., Ito Y., Gomyoda M.: Contr. Microbiol. Immunol. 9, 103, 1987.
12. Fukushima H.: J. Clin. Microbiol. 25, 1068, 1987.
13. Hariharan H., Bryenton: Can. Vet. J. 31, 179, 1990.
14. Hurrell B.: *Yersinia enterocolitica*. Wyd. E. J. Bottone, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1981, s. 145.
15. Ibrahim A., Mac Rae I. C.: J. Fd Sci. 56, 1524, 1991.
16. Jakubczak A., Maleszewski J.: Postępy w analizie żywności. Praca zbiorowa pod red. St. Tyszkiewicza, Warszawa 1990, s. 101.
17. Jakubczak A., Siemonek J., Anusz Z.: Medycyna Wet. 48, 313, 1992.
18. Kapperud G., Jonsson B.: Acta path. microbiol. scand. B 84, 66, 1976.
19. Kapperud G.: Acta path. microbiol. scand. B. 88, 287, 1980.
20. Kapperud G., Dommarsnes K., Skurnik M., Hornes E.: App. Environ. Microbiol. 58, 17, 1990.
21. Kuwaga J., Iversen J. O., Saunders R. J.: J. Fd Prot. 53, 1047, 1990.
22. Maleszewski J., Jakubczak A.: Medycyna Wet. 44, 734, 1988.
23. Nesbakken T., Kapperud G., Dommarsnes K., Skurnik M., Hornes E.: App. Environ. Microbiol. 57, 389, 1991.
24. Punsalang A., Edinger R., Nolte F. S.: J. Clin. Microbiol. 25, 859, 1987.
25. Shayerani M., Stone W. B., Deforte I., Root T., Parsons L., Maupin P.: App. Environ. Microbiol. 52, 129, 1986.
26. Snee K., Skillebeck N.: J. Clin. Microbiol. 30, 712, 1992.
27. Wauters G., Janssens M., Steigewalt A. G., Don Brenner J.: Int. J. Syst. Bacteriol. 38, 424, 1988.
28. Wauters G., Goossens V., Janssens M., Vandepitte J.: App. Environ. Microbiol. 54, 351, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Anusz, ul. Dybowskiego 7/109, 10-736 Olsztyn

HENE-MUTZ E. M., PITT S. R., BAIRDEN K., BAGGOTT D. G., ARMOUR J., BARTH D., CRAMER L. G.: Skuteczność abamectin w zwalczaniu nicieni bydła. (Efficacy of abamectin against nematodes in cattle). Vet. Rec. 132, 35–37, 1993 (2)

W ośmiu doświadczeniach przeprowadzonych na 96 krowach przebadano efektywność abamectin (mieszanina co najmniej 80% avermectin Bl_a z avermectin Bl_b) w zwalczaniu naturalnych i doświadczalnych zarażeń nicieniami żołądkowo-jelitowymi i nicieniami płucnymi. U 50% zwierząt zastosowano abamectin w dawce 200 µg/kg masy ciała jednorazowo w iniekcji podskórnej. Pozostałe nie leczone zwierzęta stanowiły kontrolę. Liczbę pasożytów określano po uboju 14 lub 21 dnia po leczeniu lub 28 dnia po sztucznym zarażeniu. Leczenie było bardzo efektywne w odniesieniu do stadium L4 i postaci dojrzałych *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus axei*, *Haemonchus contortus*, *Bunastomum phlebotomum*, *Cooperia* sp., *Oesophagostomum radiatum* i *Dictyocaulus viviparus*. W znacznym stopniu ulegały likwidacji zarażenia wywołane przez postacie dojrzałe *C. suinabada* i *Trichuris discolor*. W przypadku *Nematodirus helvetianus* efektywność leczenia wynosiła 89,8–99%. Abamectin chronił skutecznie zwierzęta przed zarażeniem *O. ostertagi*, *H. contortus*, *Cooperia* sp. i *O. radiatum* przez co najmniej 7 dni, a przeciwko *D. viviparus* przez co najmniej 14 dni po podaniu w formie iniekcji.

WENTINK G. H., BONGERS J. H., VOS J. H., ZAEUWEN A. A. P. A.: Zależność pomiędzy wynikiem ujemnym odczynu skór nego z joniną po szczepieniu a wynikami badań pośmiertnych. (Relationship between negative skin test with Johnin after vaccination and post mortem findings). Vet. Rec. 132, 38–39, 1993 (2).

W profilaktyce przeciwko chorobie Johnego coraz powszechniej są wykorzystywane szczepienia ochronne oparte o żywą, zmodyfikowaną lub inaktywowaną zawiesinę zarazka z dodatkiem adjuwantu olejowego. Szczepienia znacznie obniżyły odsetek bydła wybrakowanego z hodowli na skutek klinicznej postaci choroby. Celem wyjaśnienia zależności pomiędzy występowaniem alergii skórnej typu opóźnionego na joninę u cieląt w wieku 5–14 miesięcy życia, które zaszczepiono przeciwko chorobie Johnego w okresie do miesiąca życia a nasileniem zmian, przebadano 176 cieląt. Cielęta były szczepione inaktywowaną szczepionką zawierającą pełne komórki *M. paratuberculosis* z dodatkiem adjuwantu olejowego. Odczyn alergiczny przeprowadzono z joniną PPD. Dawka alergenu wynosiła 1,5 mg. Alergen podawano śródskórnie. *M. paratuberculosis* wyizolowano od 48 cieląt. Dodatkowo u 2 cieląt zakażenie *M. paratuberculosis* ustalono na podstawie wyników badania histologicznego. Dziesięć z 50 przypadków uznano za histologicznie pozytywne. Pięć z nich dotyczyło cieląt nie reagujących na joninę, a pięć zwierząt reagujących pozytywnie w odczynie alergicznym z joniną.

G.

G.