DOI <https://doi.org/10.18551/rjoas.2017-11.71>

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ РИЕМЕРЕЛЛЁЗА
ВОДОПЛАВАЮЩЕЙ ПТИЦЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

**CLINICO-MORPHOLOGICAL MANIFESTATION OF WATERFOWLS' RIEMERELLOSIS
AND BIOLOGICAL FEATURES OF DISEASE CAUSATIVE AGENT**

Лаишевцев А.И.* , Капустин А.В., научные сотрудники

Laishevtcev A.I., Kapustin A.V., Researchers

**Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии имени Я.Р. Коваленко, Москва, Россия**

All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine
named after Y.R. Kovalenko, Moscow, Russia

Пименов Н.В., Илиеш В.Д., профессора

Pimenov N.V., Iliesh V.D., Professors

**Московская государственная академия ветеринарной медицины и
биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия**

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology –
MVA named after K.I. Skryabin, Moscow, Russia

*E-mail: a-laishevtsev@bk.ru

АННОТАЦИЯ

В работе представлено описание первых официально зафиксированных случаев риимереллёза на территории Российской Федерации, а также особенности его клинико-морфологического проявления среди поголовья уток и гусей. Нами установлено, что основными клиническими признаками свойственными инфекции стали обильные носовые и глазные истечения, диарея, атаксия, потеря координации движения, западание глаз, опухание суставов, утолщение и уплотнение кожных покровов на спине или на брюшной стенке.

ABSTRACT

The paper describes the first officially recorded cases of riemerellosis in the territory of the Russian Federation, as well as features of its clinical and morphological manifestation among ducks and geese. We found that the main clinical signs associated with infection were abundant nasal and ocular discharge, diarrhea, ataxia, loss of coordination of motion, eye sagging, swelling of the joints, thickening and thickening of the skin on the back or abdominal wall.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Болезни водоплавающей птицы, внезапная гибель молодняка, инфекционный серозит уток, эпизоотическое благополучие.

KEY WORDS

Diseases of waterfowls, sudden death of young animals, infectious serositis of ducks, epizootic well-being.

Достижение продовольственной безопасности и обеспечение эпизоотического благополучия Российской Федерации должно являться приоритетной задачей для ветеринарных специалистов страны. При этом стоит обращать внимание на важность одновременного поддержания всех отраслей и направлений животноводческой деятельности, так как в случае возникновения эпизоотии, свойственной для воспроизводимого вида животных, имеется риск частичной или полной потери

объёмов производства, например при африканской чуме в свиноводстве, ящуре в скотоводстве, птичьим гриппом в птицеводстве и т.д. Для избежания данной ситуации в масштабах страны необходимым является внедрение и развитие новых направлений, в особенности птицеводства, так как именно данная отрасль позволяет это сделать. Так, в настоящее время в России активно развивается производство мяса индеек, перепелов, гусей, уток, фазанов, цесарок в промышленных масштабах [17, 18, 20]. Негативной стороной всенаправленного развития птицеводства является увеличение рисков возникновения новых инфекционных заболеваний, ранее не свойственных для Российской Федерации, что подрывает возможность обеспечения эпизоотического благополучия. В качестве примера стоит рассмотреть аризонизм индеек [6, 9, 11, 13, 16, 19], оспу перепелов или риимереллёз гусей, уток и индеек. Для минимизации рисков возникновения и распространения новых эпизоотий актуальной становится задача по получению структурированных отечественных научных данных о возможных инфекционных патологиях отдельных видов промышленной птицы.

Настоящая работа акцентирует внимание на риимереллёзе водоплавающей птицы, ввиду практического подтверждения циркулирования данной инфекции на территории РФ, а также отсутствия достаточных научных данных об этом заболевании и его возбудителе.

Цель исследования заключалась в изучении особенностей клинко-морфологического проявления риимереллёза водоплавающей птицы, зафиксированного на территории Российской Федерации, описание особенностей проведения лабораторной диагностики данного заболевания, а также изучение физико-биологических свойств изолятов возбудителя заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проводилось на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.П. Коваленко». Проведение клинического осмотра птицы, отбор клинического и секционного материала было реализовано на территории утиных и гусиных ферм республик Татарстан и Башкортостан в 2016-2017 году.

В работе использовали эпизоотологические, клинические, патолого-анатомические, бактериологические и молекулярно-биологические методы исследования. При проведении комплексной бактериологической диагностики инфекционных болезней были использованы следующие питательные среды: агар Эндо, агар Мак-Конки, агар Сабуро, агар Мюллер-Хилтона, бульон Сабуро, агар Шедлера, забуферная пептонная вода, бульон Раппапорта–Василиадиса, МПА, МПБ, MRS-агар, колумбия агар – основа для кровяного агара, цитратный агар, среда Кит-Тароцци, висмут-сульфитный агар, SS-агар, XLD-агар, хромогенный агар cm 1007, KF Streptococcal Agar, основа бульона с бромкрезоловым пурпурным M284.

Для идентификации культур использовали тест-системы Microbact Staphylococcus12S, HiStaph набор для биохимической идентификации стафилококков, HiIMViC набор для биохимической идентификации энтеробактерий, Microbact12E/A и 24E, STREPTOtest 16, а также углеводы: адонитол, арабинозу, галактозу, D-глюкозу, дульцитол, инозитол, инулин, ксилозу, лактозу, мальтозу, маннитол, маннозу, мелибиозу, раффинозу, рамнозу, салицин, сорбитол, сахарозу, трегалозу, фруктозу, целлобиозу фирмы Himedia, с использованием бромкрезолового пурпурного бульона в качестве индикаторной среды.

Для контроля питательных сред и диагностикумов использовали эталонные культуры микроорганизмов, находящихся в распоряжении лаборатории микробиологии с музеем типовых культур ФГБНУ ВИЭВ имени Я.П. Коваленко.

Дополнительно подтверждение видовой принадлежности культур *Riemerella* spp. проводили благодаря масс-спектрометрическому анализу MALDI-ToF на приборной базе ООО "Лаборатория Гемотест".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В течение 2016-2017 годов в лабораторию микробиологии с музеем типовых культур ФГБНУ ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко со стороны птицеводческих предприятий были неоднократные обращения по поводу внезапной массовой гибели птенцов уток и гусей. На выездных мероприятиях, направленных на изучение патологии, были зафиксированы клинико-морфологические признаки, одновременно свойственные для нескольких инфекционных заболеваний. Так, нами было определено, что заболеванию наиболее подвержен молодняк уток и гусей в возрасте от 14 до 40 дней. Смертность молодняка этой возрастной группы достигала 30-60 % в зависимости от своевременного назначения антибактериальной терапии. Массовая гибель птицы в возрасте более 40 дней не фиксировалась ни на одном из предприятий. Основными клиническими признаками заболевания молодняка птицы являлись обильные носовые и глазные истечения, диарея, атаксия, потеря координации движения, западание глаз, опухание суставов, утолщение и уплотнение кожных покровов на спине или на брюшной стенке. При этом инфекция наблюдалась у птиц не зависимо от степени их упитанности.

При проведении патологоанатомического исследования вынужденно убитой птицы, принадлежащей различным птицеводческим предприятиям, преобладающими признаками со стороны кожных покровов и подкожной клетчатки стало их уплотнение со стороны брюшной стенки и/или со стороны спины, наиболее чётко проявляющееся к 25-40 дневному возрасту [фото 1]. При этом в области поражения наблюдалась ускоренное отслоение частиц кожи, проявляемое в виде большого количества перхоти. В большинстве случаев отмечался отёк подкожной клетчатки с отложением студенистого инфильтрата в области грудной стенки [фото 2]. В отдельных случаях у птицы в возрасте 40-ти дней и более отмечалось скопление гнойного экссудата в подкожной клетчатке в области и брюшной стенки.

Фото 1 – Уплотнение кожных покровов со стороны спины у 25 дневного гусёнка с развитием гиперкератоза, алопеции и дерматита

Фото 2 – Отёк подкожной клетчатки с наличием студенистого инфильтрата грудной стенки

Общий вид внутренних органов больного гусёнка приведён на фото 3. Наиболее часто фиксируемыми изменениями в органах брюшной полости зафиксированы признаки застойной гиперемии печени с явлениями белково-зернистой дистрофии или жировой дистрофии [фото 5]. При этом увеличение печени с жировой дистрофией

было зафиксировано у птиц всех возрастных категорий и, ввиду интенсивности производственного цикла, это явление ассоциировалось с типом кормления птицы. Но в случаях белково-зернистой дистрофии речь вели исключительно об инфекционной или токсической этиологии заболевания, при этом данные патологоанатомические изменения фиксировались преимущественно у птицы в возрасте до 3-ёх месяцев. Белковая дистрофия также наблюдалась в почках.

Во всех случаях отмечали гиперемию и отек селезёнки.

Исследование органов пищеварительной системы показало превалирование среди всех признаков катарального воспаления желудка, кишечника с инъекцией сосудов и иногда кровоизлияниями [фото 4].

Фото 3 – Общий вид патологоанатомических изменений органов и тканей у вынужденно убитого гусёнка

Фото 4 – Острый катарально-геморрагический энтерит

При вскрытии грудной полости чаще всего фиксировали фибринозный перикардит и эпикардит, дряблость сердечной мышцы с явлениями дистрофии, с отложением фибрина [фото 6].

Со стороны органов респираторного аппарата выявили наиболее типичные признаки острого интерстициального отека лёгких, серозную пневмонию и серозно-фибринозный плеврит.

Приведённые клинические признаки и патологоанатомические изменения имели схожие черты с эшерихиозом, сальмонеллёзом, пастереллёзом и хламидиозом, поэтому данные инфекционные патологии должны быть исключены при диагностике лабораторными методами. Хламидиоз и вирусные заболевания, свойственные для данных видов птицы, исключали при проведении молекулярно-биологических исследований в ПЦР. Кроме того во всех обследуемых хозяйствах был исключён пастереллёз и сальмонеллёз микробиологическими исследованиями, но в большинстве случаев были выделены культуры *Escherichia coli*. В обследованных хозяйствах региональными лабораториями был поставлен диагноз эшерихиоз. Назначенный для борьбы с заболеванием антибиотик (колистин) не демонстрировал положительного терапевтического эффекта, поэтому для снижения смертности среди молодняка ветеринарными специалистами предприятий опытным путем были подобраны более эффективные антибактериальные средства. Применяли флорфеникол, доксициклин и энрофлоксацин. Но, не зависимо от длительности курса обработок, эффект наблюдался лишь при использовании антибиотиков, а при их отмене клинические признаки заболевания возобновлялись, что подтверждало

бактериальную природу и недостаточно установленный диагноз. Таким образом, основная задача заключалась в выявлении возбудителя болезни.

С целью постановки окончательного диагноза нами были осуществлены лабораторно-диагностические исследования клинического и секционного материала. При этом особое внимание было уделено установленной на практике возможности передачи возбудителя с обработанным перекисью водорода инкубационным яйцом. Для микробиологического исследования отбирали живых утят и гусят с признаками болезни в возрасте от 14 до 40 дней, а также инкубационное яйцо. От вынужденно убитых птиц после патологоанатомического исследования отбирали кусочки печени, сердца, лёгочных тканей, селезенка, кишечник и кровь из сердца.

Фото 5 – Белковая (зернистая) дистрофия и застойная гиперемия печени.

Фото 6 – Фибринозный эпи-перикардит у 25 дневного гусёнка

Для получения наиболее полных и достоверных результатов, бактериологические посевы проводили несколькими методами.

Во-первых, использовали посев-отпечаток на кровяной агар сердечной мышцы, легких, печени, селезенки.

Во-вторых, проводили бульонное накопление на сердечно-мозговом бульоне с последующим рассевом на дифференциально-диагностические питательные среды. Для выявления анаэробной микрофлоры кусочки печени и кишечника засевали в бульон Китт-Тароцци. Культивирование чашек с кровяным агаром проводили при 37 °C в условиях доступа кислорода и 5%-ной CO₂ атмосферы в течение 48 часов, с учётом результатов на первые и вторые сутки.

В результате проведённого комплексного микробиологического исследования тканей и органов уток и гусей в возрасте от 14 до 40 дней из обоих хозяйств был выделен широкий спектр видов микроорганизмов, а именно: *Escherichia coli*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas oryzae*, *Klebsiella mobilis*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus*, *Riemerella anatipestifer*, *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii*, *Aerococcus viridans*, *Acinetobacter lwoffii*, *Providencia alcalifaciens*, *Enterococcus faecalis* (все выделенные изоляты микроорганизмов были сохранены в коллекции ФГБНУ ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко с целью их последующего изучения). Таким образом, отмеченные клинико-морфологические проявления заболевания оказались наиболее свойственными для риемееллёза, возбудитель которого был выделен при диагностике.

Riemerella anatipestifer, в соответствии с современной классификацией относится к семейству *Flavobacteriaceae*. В ранней научной литературе данный вид имел синонимичные названия *Pfeifferella anatipestifer*, *Moraxella anatipestifer*, *Pasteurella anatipestifer* [1, 3, 4, 7, 10].

Riemerella anatipestifer представляет собой неподвижные грамотрицательные коккопалочки, не образующие капсулу и споры, расположенные в мазках одиночно, парно или в виде небольших цепочек [фото 7].

Фото 7 – Клетки *Riemerella anatipestifer* при окрашивании методом Грама (x100)

Как видно из фото 8, клетки *Riemerella anatipestifer* имеют схожие морфологические и тинкториальные свойства с бактериями рода *Pasteurella* и *Moraxella*, что и объясняет раннюю классификацию микроорганизма как *Pasteurella anatipestifer* и *Moraxella anatipestifer*.

Фото 8 – Рост отдельных колоний *Riemerella anatipestifer* на кровяной среде

Фото 9 – Сплошной рост *Riemerella anatipestifer* на кровяной среде

На плотных питательных средах при культивировании в 5%-ной CO_2 атмосфере в течение 48 и более часов и температуре 37°C , наблюдается рост гладких, непигментированных колоний, мукоидной консистенции. При культивировании на

средах, содержащих дефибрированную кровь барана, гемолиз может являться переменным свойством для описываемого вида бактерий. При этом в ходе выполнения работы было установлено, что рост *Riemerella anatipestifer* на агаризированных средах может проявляться в виде крупных отдельных колоний средним размером 2-5 мм на 2-ой день культивирования или в виде сплошного роста [фото 8, 9].

Выделенные изоляты *Riemerella anatipestifer* на кровяном агаре не имели гемолиза и не образовывали пигмент, культуры были оксидазо-, каталазо-, альфа-глюкоронидазо- и аргининдекарбоксилазо- положительными, бета-галактозидазо-, орнитин- и лизиндекарбоксилазо- отрицательными, образовывали индол и сероводород, разжижали желатин, не ферментировали арабинозу, глюкозу, маннозу, маннитол, мальтозу, сорбитол, сахарозу, трегалозу и ксилозу. Изоляты обильно росли в условиях CO₂ атмосферы в течение 48 часов и плохо росли в условиях без CO₂. В бульоне культура накапливалась плохо.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения исследования нами были установлены и изучены случаи риимереллёза среди поголовья уток и гусей на территории Российской Федерации. При этом то, что некоторыми авторами отмечают возможности инфицирования фазанов [2], кур [12], цесарок, перепелов [14] и куропаток [15], включает данные виды птиц в группу риска по рассматриваемой патологии. Помимо перечисленных видов птицы, возбудитель встречается у свободно живущих птиц, в частности, лебедей, крякв, чаек [5, 8], на основании чего они могут рассматриваться как источники распространения заболевания. Приведенные данные позволяют предположить наличие широкого циркулирования возбудителя на территории РФ.

Сложность борьбы с данной инфекционной патологией заключается в отсутствии современных отечественных данных по её распространённости, отсутствием регламентирующих документов по проведению лабораторно-диагностических исследований с целью подтверждения диагноза, а также отсутствием средств специфической профилактики. Для минимизации экономических затрат производителей и сохранения эпизоотического благополучия страны сотрудниками ФГБНУ ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко в настоящее время ведутся активные работы связанные с разработкой методических указаний по диагностике риимереллёза птицы, а также по изучению серотиповой распространённости *Riemerella anatipestifer* на территории различных регионов Российской Федерации с целью дальнейшей разработки первой отечественной вакцины против риимереллёза.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Bruner DW and Fabricant J. A strain of *Moraxella anatipestifer* (*Pfeifferella anatipestifer*) isolated from ducks. *The Cornell Veterinarian* (1954) 44, 461-464
2. Bruner DW, Angstrom CI and Price JI (1970) *Pasteurella anatipestifer* infection in pheasants. A case report. *The Cornell Veterinarian* 60, 491-494.
3. Hendrickson JM and Hilbert KF (1932) A new and serious septicaemic disease of young ducks with a description of the causative organism, *Pfeifferella anatipestifer*, N.S., *The Cornell Veterinarian* 22, 239-252.
4. Higgins D.A., Henry R.R., Kounev Z.V. Duck immune responses to *Riemerella anatipestifer* vaccines // *Developmental & Comparative Immunology*. 2000. T. 24. №2-3. С. 153-167.
5. Hinz K-H, Ryll M, Köhler B and Glünder G (1998) Phenotypic characteristics of *Riemerella anatipestifer* and similar micro-organisms from various hosts. *Avian Pathology* 27, 33-42.

6. Huang B., Kwang J., Loh H., Frey J., Tan H.M., Chua K.L. Development of an ELISA using a recombinant 41 kDa partial protein (p45n') for the detection of *Riemerella anatipestifer* infections in ducks // *Veterinary Microbiology*. 2002. T. 88. №4. C. 339-349.
7. Huang B., Subramaniam S., Frey J., Loh H., Tan H.-M., Fernandez C.J., Kwang J., Chua K.-L. Vaccination of ducks with recombinant outer membrane protein (OmpA) and a 41 kDa partial protein (P45N') of *Riemerella anatipestifer*//*Veter. Microbiol.*-2002.-Vol.84, iss.3.-P. 219-230.
8. Karstad L, Lusi P and Long JR (1970) *Pasteurella anatipestifer* as a cause of mortality in captive wild waterfowl. *Journal of Wildlife Diseases* 6, 408-413.
9. Lenev S., Laishevtsev A., Pimenov N., Semykin V., Pigorev I., Eremenko V., Sein O., Glinushkin A., Ali Shariati M. Improvement of allocation and identification of salmonella Entericabacteria of *Arizonae* subspecies // *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*. 2016. №5 (3). C. 342-348.
10. Pathanasophon P., Phuektes P., Tanticharoenyos T., Narongsak W., Sawada T. A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand//*Avian Pathol.*-2002.-Vol.31,N 3.-P. 267-270
11. Pimenov N.V., Laishevtcev A.I., Pimenova V.V. The identification of salmonella infection in hatching eggs and products of turkey-keeping // *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2015. T. 46. №10. C. 9-17.
12. Rosenfeld LE (1973) *Pasteurella anatipestifer* infection in fowls in Australia. *Australian Veterinary Journal* 49, 55-56.
13. Rubbenstroth D., Ryll M., Behr K.-P., Rautenschlein S. Pathogenesis of *Riemerella anatipestifer* in turkeys after experimental mono-infection via respiratory routes or dual infection together with the avian metapneumovirus//*Avian Pathology*. -2009. -Vol.38, N 6. -P. 497-507.
14. Sandhu TS (2008) *Riemerella anatipestifer* infection. In *Diseases of Poultry* 12th Edition, 2008, Ed Saif YM, Blackwell Publishing, 758-764.
15. Wyffels R and Hommez J (1990) *Pasteurella anatipestifer* geïsoleerd uit ademhalingsletsels bij grijze patrijzen (*Perdix perdix*). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 59, 105-106.
16. Пименов Н.В., Лаишевцев А.И. Совершенствование ветеринарно-санитарной экспертизы продукции индейководства, основанное на биохимических особенностях *Salmonella arizonae* // В сборнике: Сборник научных трудов международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы 2015. С. 244-248.
17. Пименова В.В., Петрова Ю.В., Пименов Н.В. Ветеринарно-санитарная характеристика мяса перепелов при применении бактериофагового препарата Фаговет. / Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017, №3 (23). – С. 24-26.
18. Татаренко Я.С., Пименов Н.В. Аспекты ветеринарно-санитарного благополучия в промышленном перепеловодстве. / Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017, №3 (23). – С. 60-62.
19. Пименов Н.В., Лаишевцев А.И., Пименова В.В. Особенности аризоноза индеек. Идентификация сальмонелла-инфекции в инкубационном яйце и продуктах индейководства. / *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. – 2015, №10(46). – Р. 9-17.
20. Пименов Н.В., Лаишевцев А.И. Современные аспекты борьбы с сальмонеллезной инфекцией в птицеводстве: Монография. – М.: Издательство «Старая Басманная», 2017. – 172 с.