

УДК УДК 636.5/6.09:616.9/-07(477)

О.В. ЦИНОВИЙ, кандидат біологічних наук,
Л.І. НАЛИВАЙКО, доктор ветеринарних наук, професор,
Г.В. БІЛЕЦЬКА, кандидат біологічних наук,
 старший науковий співробітник,
І.С. ДАНИЛОВА, кандидат ветеринарних наук,
О.О. КАТЕРИНИЧ, доктор сільськогосподарських наук,
 старший науковий співробітник,
 Державна дослідна станція птахівництва НААН, Україна,
Т.М. ДАНИЛОВА, кандидат сільськогосподарських наук, доцент,
 Державний біотехнологічний університет, Україна
 E-mail: tsynovalexvet@ukr.net

РІЄМЕРЕЛЬОЗ ПТИЦІ: епізоотологічні дані, виділення польових ізолятів збудника на території України та вивчення їх біологічних властивостей

Анотація. За літературними даними, в останні роки в країнах з розвиненим качківництвом і гусівництвом чималі проблеми створює *Riemerella anatipestifer* – збудник, який здатен викликати загибель 60-75% молодняку водоплавної птиці 1-8-тижневого віку.

Контроль цієї інфекції в Україні не проводиться, ступінь поширення збудника в Україні потребує вивчення, також як і вивчення його біологічних особливостей.

Мета нашої роботи – виділити польові ізоляти збудника ріємерельозу та вивчити їх біологічні властивості.

Епізоотологічне обстеження проводили у трьох господарствах серед гусенят і каченят 2-6-тижневого віку, у яких відмічали клінічні ознаки, що характеризувались нервовими розладами, атаксією, набряком підшкірних тканин навколо заплесневих суглобів, наявністю нальоту довкола ануса. Серед гусенят загибель становила 15%, каченят – до 30%.

Встановлено, що захворювання спостерігалось, в основному, в племінний період (лютий-квітень). Найбільше хворів молодняк віком від 14-и діб до 2-х місяців. У перехворілих особин відмічали розвиток казеозного або фібринозного сальпінгіту, ерозію суглобового хряща. Нами було виділено 2 ізоляти бактерій роду *Riemerella*. Ізоляти ріємерел мали типові для виду біохімічні властивості.

Згідно отриманих результатів, встановлено, що найбільш ефективними антибактеріальними засобами щодо ріємерел були: рифампіцин, амоксиклав, амоксицилін, доксициклін, лінкоміцин, цефуросим, хлорамфенікол.

Розроблено спосіб діагностики ріємерельозу водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень.

Перспективи подальших досліджень полягають у використанні розробленого способу діагностики ріємерельозу водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень для моніторингу даної інфекції птиці у птахогосподарствах України та визначення епізоотичної ситуації щодо цього захворювання.

Ключові слова: ріємерельоз, польові ізоляти, водоплавна птиця, біологічні властивості, птахогосподарства

Ріємерельоз (синонім: сепсис, анатипестицерний синдром, анатипестицерна септицемія, інфекційний сепсис) – інфекційна хвороба домашніх качок, гусей, індиків та інших видів птиці, яка проявляється у вигляді септицемії, фібринозного перикардиту, перигепатиту, аеросаккуліту, казеозного сальпінгіту і менінгіту.

Збудник хвороби відноситься до роду *Riemerella* і має назву *Riemerella anatipestifer*.

Riemerella anatipestifer – грамнегативна, нерухома, неспороутворююча паличка, яка у мазках із патологічного матеріалу розміщується поодинокі, парами або у вигляді ланцюжків. Розміри клітин становлять 0,2-0,4x1-5 мм, більшість яких фарбується біполярно фарбником Райта, капсулу можна виявити при фарбуванні індійськими чорнилами або за методом Бурі (Корнієнко та ін., 2012; Cortez et al., 2004).

У зв'язку з тим, що міграційні шляхи дикої та синантропної птиці проходять через Україну, а племінна (інкубаційні яйця) й товарна продукція птиці нерідко безконтрольно ввозиться з-за кордону в Україну, можна припустити наявність даного захворювання і в наших птахівничих господарствах.

Контроль цієї інфекції в Україні не проводиться, ступінь поширення збудника в Україні потребує вивчення, так як і вивчення його біологічних особливостей.

Оскільки в Україні на даний момент хворобу не віднесено до особливо небезпечних захворювань водоплавної і сільськогосподарської птиці, то відсутні дані щодо її поширеності, не описані особливості клініко-морфологічного прояву захворювання, немає відомостей про серотипову приналежність штамів збудника ріємерельозу, що циркулюють на території країни, не розроблені методичні вказівки, що регламентують послідовність лабораторної діагностики даного захворювання. Тому, **мета даної роботи** – вивчення епізоотологічних даних, виділення польових ізолятів збудника ріємерельозу на території України та вивчення їх біологічних властивостей.

Проблема ріємерельозу водоплавної птиці у світі вивчається з 1993 року. Довгий час збудника ріємерельозу відносили до пастерел із-за схожих клінічних та патологоанатомічних ознак. Захворювання у гострій формі протікає у молодняку качок і гусей до 8-тижневого віку, у дорослої птиці спостерігають хронічну форму, що призводить до появи великої кількості "несправжніх" несучок. Часто хвороба ускладнюється вторинною інфекцією, тому під час первинного виділення виникають труднощі з індикацією та ідентифікацією збудника. Для підтвердження діагнозу частіше за все використовують метод ПЛР (Magyar et al., 2018; Shancy et al., 2018; Soman et al., 2014; Wei et al., 2013) або часопротітну мас-спектрометрію (MALDI-TOF MS), але при цьому не виключається ізоляція збудника бактеріологічними методами, не дивлячись на вибагливість його культивування (Cyuris et al., 2017; Chikuba et al., 2016; Hess et al., 2013; Якімова, 2020; Корнієнко та ін., 2012).

Наразі відомо 15 серотипів ріємерели, що ускладнює розробку універсального засобу профілактики. Так, у Китаї розроблено тривалентну інактивовану вакцину проти даної інфекції, яка не завжди на 100% захищає птицю. Аналогічні дослідження проводились і в Росії – вакцина "РеймерДак-BIEB" при дворазовому введенні індукує у імунованих птахів утворення антитіл у титрі 1:160-1:192



Рис.1. Клінічна картина при ріємерельозі

та забезпечує збереженість молодняку на рівні 96,32% (Перез, 2014; Якімова, 2020).

Завданням нашої роботи було запропонувати алгоритм проведення досліджень, виявлення та діагностики ріємерельозу водоплавної птиці на базі патологоанатомічних, клінічних, бактеріологічних методів.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження були проведені на базі Державної дослідної станції птахівництва НААН. При епізоотологічному обстеженні на ріємерельоз птахогосподарств України застосовували клінічні та патологоанатомічні методи досліджень, виділення польових ізолятів проводили на кров'яному агарі в присутності 5% CO₂ за температури 37 °C, вивчення їх біологічних властивостей (ферментативна активність – використовували комерційні набори, середовища Гіса) та антибіотикорезистентність (з використанням дисків з антибіотиками) здійснювали за допомогою загальноприйнятих методів.



Рис.2. Патологоанатомічна картина при ріємерельозі

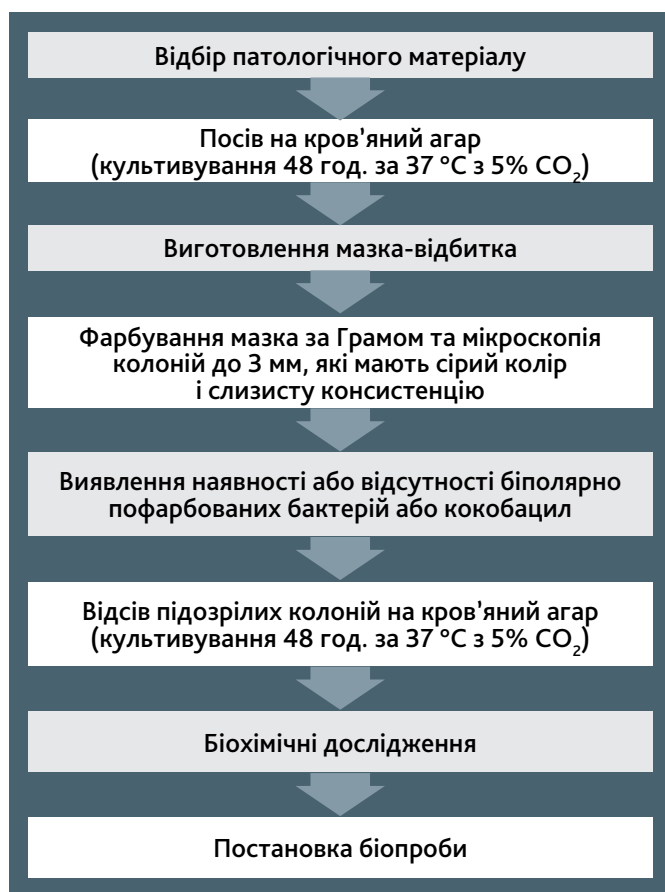


Рис.3. Схема проведення бактеріологічного дослідження клінічного та патологічного матеріалу для підтвердження діагнозу на ріємерельоз

1. Біохімічні властивості ізолюваних культур

Показник	Ізоляти	
	1	2
Каталаза	+	+
Оксидаза	+	+
Пігмент на кров'яному агарі	-	-
Розрідження желатини	+	+
Реакція Фогес-Проскауэра	+	+
Уреаза	-	+
Утворення індолу	+	+
Аргініндекарбоксилаза	-	-
Трипсин	+	-
Ферментація вуглеводів		
Глюкоза	+	+
Трегалоза	-	-
Сахароза	+	+
Мальтоза	+	-
Манніт	+	+
Декстроза	+	+

Результати досліджень. При проведенні епізоотологічного обстеження у трьох господарствах (в одному утримували гусей, а у двох інших – качок) Харківської, Полтавської та Сумської областей серед гусенят і каченят 2-6-тижневого віку відмічали клінічні ознаки, що характеризувались нервовими розладами: тремор голови та шиї, атаксія (втрата координації) – перевертання на спину з плавальними рухами лапок (рис.1), набряк підшкірних тканин навколо заплесневих суглобів, наявність нальоту навкруги ануса. Загибель становила серед гусенят 15%, а каченят – до 30%. Встановлено, що захворювання спостерігається переважно у племінний період (лютий-квітень). Найбільше хворів молодняк віком від 14-и діб до 2-х місяців. Загальними ознаками інфекції були слабкість, зниження рухливості, відмова від корму, підвищення температури тіла. У перехворілих особин відмічали розвиток казеозного або фібринозного сальпінгіту, ерозію суглобового хряща. У дорослої птиці хворобу не відмічали.

При патологоанатомічному розтині майже у 80% трупів було виявлено зміни, подібні ріємерельозу водоплавної птиці, а саме: жирову дистрофію печінки з застійною гіперемією, фібринозний перигепатит; фібринозний спленіт; катарально-геморагічне запалення кишечника з ін'єкцією судин; фібринозний перикардит та епікардит, дряблість серцевого м'яза з явищами дистрофії; серозну пневмонію, серозно-фібринозний плеврит, фібринозну бронхопневмонію та фібринозний аеросакулів (рис 2).

У подальшому нами були проведені лабораторні дослідження. Для цього, від загиблої птиці, а також при забої клінічно хворих гусенят і каченят, з відповідними ознаками відбирали легені, серце та кров з серця, кишечник, печінку, селезінку.

Оскільки ріємерельоз відноситься до маловивчених інфекцій, нами була розроблена схема проведення досліджень, яка і використовувалася нами для постановки діагнозу. Схему наведено на рисунку 3.

Використання даної схеми дозволило виділити 2 ізоляти, які подібні бактеріям роду *Riemerella*. На кров'яному агарі через 24 години утворювалися колонії гладенькі з відсутньою пігментацією розміром 0,5-1,0 мм, а через 48 годин культивування розмір колоній збільшувався до 2-5 мм.

Гемолітична активність у культур була відсутня. При мікроскопії виділеної культури у полі зору спостерігали грамнегативні кокопалічки.

Надалі нами були вивчені біохімічні властивості культур, які представлені у таблиці 1.

Як видно з представлених в таблиці 1 даних, ізоляти ріємерел мали типові для виду біохімічні властивості, що співпадають з даними інших джерел.

Для визначення оптимальної антибактеріальної терапії ріємерельозу обов'язковою умовою є визначення чутливості культур ріємерел до антибіотиків різних груп. Згідно отриманих результатів, найбільш ефективними антибактеріальними засобами щодо ріємерел були: рифампіцин, амоксилав, амоксицилін, доксициклін, лінкоміцин, цефуроксим, хлорамфенікол.

Патогенні властивості ріємерел вивчали на 10-добових мускусних каченятах. Разове внутрішньом'язове введення

збудника у концентрації 3×10^9 м. к./см³, в об'ємі 0,5 см³ призводило до загибелі піддослідної птиці протягом 24-96 годин після інфікування з наступною його реізоляцією з крові серця.

Клінічні ознаки хвороби та патоморфологічні зміни після інфікування відповідали даним, що отримані були нами раніше. При бактеріологічному дослідженні крові з серця каченят реізолювано культури ріємерелл, що свідчить про септичний характер захворювання.

У результаті проведених вищезазначених досліджень розроблено спосіб діагностики ріємерельозу водоплавної птиці. На основі отриманих даних оформлено аналітичну довідку та підготовлено матеріали для отримання патенту на корисну модель.

ВИСНОВКИ

1. Вперше на території України у 3-х присадибних господарствах Харківської, Полтавської та Сумської областей підтверджено циркуляцію збудника ріємерельозу водоплавної птиці віком від 14-и діб до 2-х місяців. Загибель серед гусенят становила 15%, каченят – до 30%.

**А.В. Циновий, Л.И. Наливайко,
Г.В. Белецкая, И.С. Данилова,
О.А. Катеринич, Т.Н. Данилова**

Риємереллєз птиці: епізоотологічні дані, виділення польових ізолятів возбудителя на території України та вивчення їх біологічних властивостей

Анотація. По літературним даним, в останні роки в країнах з розвинутим утківництвом та гусеводством невеликі проблеми створює *Riemerella anatipestifer* – збудник, здатний викликати загибель 60-75% молодня водоплавної птиці 1-8-тижневого віку. Контроль цієї інфекції в Україні не проводиться, ступінь поширення збудника в Україні потребує вивчення також, як і вивчення його біологічних особливостей. Мета нашої роботи – виділити польові ізоляти збудника ріємереллєза та вивчити їх біологічні властивості.

Епізоотологічне дослідження проводили в трьох господарствах серед гусей та утят 2-6-тижневого віку, у яких відзначали клінічні ознаки, характеризовані нервовими розладами, атаксией, набуттям набуттям шкіри навколо суглобів, наявністю набуття навколо ануса. Серед гусей загибель становила 15%, утят – до 30%. Встановлено, що захворювання відбувалось, в основному, в період племенної роботи (лютий-квітень). Більше боліло молодня в віці від 14-и днів до 2-х місяців. У переболевших особин відзначали розвиток казеозного або фибринозного сальпингита, ерозію суглобового хряща. Нами було виділено 2 ізоляти бактерій роду *Riemerella*. Ізоляти ріємереллєза мали типові для виду біохімічні

2. Розроблено методику лабораторно-діагностичних досліджень, завдяки якій бактеріологічними дослідженнями виділено 2 ізоляти збудника та вивчено їх біологічні властивості. Хворобу відтворено на мускусних каченятах.
3. Вивчено антибіотикорезистентність до виділених польових ізолятів. Встановлено чутливість до рифампіцину, амоксициліну, доксицикліну, лінкаміцину, цефуроксиму та хлорамфеніколу.
4. Розроблено спосіб діагностики ріємерельозу водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень. Підготовлена аналітична довідка щодо біологічних властивостей збудника ріємерельозу.

Перспективи подальших досліджень полягають у використанні розробленого способу діагностики ріємерельозу водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень для моніторингу даної інфекції птиці у птахогосподарствах України та визначення епізоотичної ситуації щодо цього захворювання. ■

своєвластивостями. Згідно отриманим результатам, встановлено, що найбільш ефективними антибактеріальними засобами в відношенні ріємереллєза були: рифампіцин, амоксицилін, доксициклін, лінкаміцин, цефуроксим, хлорамфенікол. Розроблено спосіб діагностики ріємереллєза водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень.

Перспективи подальших досліджень складаються в використанні розробленого способу діагностики ріємереллєза водоплавної птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень для моніторингу даної інфекції птиці в птахогосподарствах України та визначення епізоотичної ситуації цього захворювання.

Ключові слова: ріємереллєз, польові ізоляти, водоплавна птиця, біологічні властивості, птахогосподарства

O.V. TSINOVYI, Candidate of Biological Sciences,
L.I. NALIVAICO, Doctor of Veterinary Sciences,
Professor,
G.V. BILETSKA, Candidate of Biological Sciences,
I.S. DANILOVA, Candidate of Veterinary Sciences,
O.A. KATERINICH, Doctor of Agricultural Sciences,
State Poultry Research Station,
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
T.M. DANILOVA, Candidate of Agricultural Sciences
State Biotechnological University, Ukraine
E-mail: tsynovalexvet@ukr.net

Rimereliosis of birds:

epizootological data, illustration of field isolates pathogen on the territory of Ukraine and study of their biological

Abstract. According to the literature, in countries with developed duck breeding and goose breeding *Riemerella anatipestifer* – a pathogen that can cause the death of 60-75% of young waterfowl 1-8 weeks of age – creates considerable problems in recent years. This infection is not controlled in Ukraine. The extent of the pathogen in Ukraine needs to be studied, as well as the study of its biological features.

The aim of our work is to highlight field isolates of the pathogen *riemerellosis* and to study their biological properties.

Epizootological examination was conducted in three farms among goslings and ducklings 2-6 weeks of age. There were clinical signs characterized by nervous disorders, ataxia, edema of subcutaneous tissue around the mold joints, the presence of plaque around the anus. Among goslings, the death rate was 15%, ducklings – up to 30%. It was found that the disease was observed mainly in the breeding period (from February – till April). Most sick young animals aged 14 days to 2 months. In sick individuals,

the development of caseous or fibrinous salpingitis, erosion of articular cartilage was noted.

We have identified two isolates of bacteria of the genus *Riemerella*. *Riemerel* isolates had typical biochemical properties. According to the results, it was found that the most effective antibacterial agents against *riemerel* were: rifampicin, amoxiclav, amoxicillin, doxycycline, lincomycin, cefuroxime, chloramphenicol. A method for diagnosing *riemerellosis* of waterfowl with the use of clinical, pathological, bacteriological studies has been developed.

Prospects for further research consist in using the developed method for diagnosing *riemerellosis* of waterfowl based on clinical, pathological, bacteriological studies to monitor this infection of birds in poultry farms in Ukraine and determine the epizootic situation of this disease.

Key words: *riemerellosis*, field isolates, waterfowl, biological properties, poultry farms

Література

- Gyuris É., Wehmann E., Czeibert K., Magyar T. Antimicrobial susceptibility of *Riemerella anatipestifer* strains isolated from geese and ducks in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2017. Vol. 65. № 2. P. 153–165. doi: 10.1556/004.2017.016.
- Chikuba T., Uehara H., Fumikura Sh. *Riemerella anatipestifer* infection in domestic ducks in Japan, 2014. 2016. *Journal Veterinary Medicine and Science*. Oct; Vol. 78, №10. P. 1635–1638.
- Cortez J., Fulhorst D., Aldehoff D., Hafez, H.M. *Riemerella anatipestifer* in turkeys—case report. *Proceedings of the 5th International Symposium on Turkey Diseases*. Berlin, 2004. P. 333–337.
- Hess C., Enichlmayr H., Jandreski-Cvetkovic D., Liebhart D., Bilic I., Hess M. *Riemerella anatipestifer* outbreaks in commercial goose flocks and identification of isolates by MALDI-TOF mass spectrometry. *Avian Pathology*. 2013. № 42. P. 151–156.
- Корнієнко Л.Є., Наливайко Л.І., Недосєков В.В. Інфекційні хвороби птиці. Херсон, 2012. 528 с.
- Перез С. Риемереллез уток. *Животноводство России*. 2014. №11. С. 34–35.
- Magyar I., Gyuris É., Ujvári B., Metzner M., Wehmann E. Genotyping of *Riemerella anatipestifer* by ERIC-PCR and correlation with serotypes. *Avian Pathology*. 2018. Vol. 48. № 1. P. 12–16. doi: 10.1080/03079457.2018.1535693.
- Shancy C., Priya P.M., Sabnam V.S., Radhika Syam, Mini M. Rapid detection of *Riemerella anatipestifer* isolates using 16SrRNA based PCR and species – specific PCR assay. *International Journal of Science, Environment ISSN 2278-3687(O) and Technology*. 2018. Vol. 7. № 5. P. 1802–1812.
- Soman M., Nair S.R., Mini M., Mani B.K., Joseph S. Isolation and polymerase chain reaction-based identification of *Riemerella anatipestifer* from ducks in Kerala, India. *Veterinary World*. 2014. Vol. 7. № 9. P. 765–769. doi: 0.14202/vetworld.2014.765-769.
- Wei B., Cha S.-Y., Kang M., Park I.-J., Moon O.-K., Park C.-K., Jang H.K. Development and application of a multiplex PCR assay for rapid detection of 4 major bacterial pathogens in ducks. *Poultry Science*. 2013. № 92. P. 1164–1170. doi.org/ 10.3382/ps.2012-02823.
- Якимова Э.А. Биологические свойства штаммов возбудителя риемереллеза водоплавающих птиц, выделенных на территории Российской Федерации: дис. ... канд. вет. наук: 06.02.02. Москва, 2020. 118 с.

References

- Gyuris É., Wehmann E., Czeibert K., & Magyar, T. (2017). Antimicrobial susceptibility of *Riemerella anatipestifer* strains isolated from geese and ducks in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 65(2), 153–165. doi: 10.1556/004.2017.016. [in English].
- Chikuba, T., Uehara, H., & Fumikura, Sh. (2016). *Riemerella anatipestifer* infection in domestic ducks in Japan, 2014. *Journal Veterinary Medicine and Science*. 78 (10), 1635–1638. [in English].
- Cortez, J., Fulhorst, D., Aldehoff, D., & Hafez, H.M. (2004) *Riemerella anatipestifer* in turkeys—case report. *Proceedings of the 5th International Symposium on Turkey Diseases*. Berlin, Germany, 333–337. [in English].
- Hess, C., Enichlmayr, H., Jandreski-Cvetkovic, D., Liebhart D., Bilic I., & Hess M. (2013). *Riemerella anatipestifer* outbreaks in commercial goose flocks and identification of isolates by MALDI-TOF mass spectrometry. *Avian Pathology*, 42, 151–156. [in English].
- Korniyonko, L.N., Nalivaiko, L.I., & Nedosekov, V.V. (2012). Infektsiyni khvoroby ptytsi [Infections diseases of birds:]. Kherson. 528. [in Ukrainian].
- Perez C. (2014). Riemerellez utok [Riemerella ducks]. *Zhivotnovodstvo Rossii*. [Livestock in Russia], 11, 34–35. [in Russian].
- Magyar, I., Gyuris, É., Ujvári, B., Metzner, M., & Wehmann, E. (2018) Genotyping of *Riemerella anatipestifer* by ERIC-PCR and correlation with serotypes. *Avian Pathology*, 48 (1), 12–16. doi: 10.1080/03079457.2018.1535693 [in English].
- Shancy, C., Priya, P.M., Sabnam, V.S., Radhika, Syam, & Mini, M. (2018). Rapid detection of *Riemerella anatipestifer* isolates using 16SrRNA based PCR and species – specific PCR assay. *International Journal of Science, Environment ISSN 2278-3687(O) and Technology*, 7(5), 1802–1812. [in English].
- Soman, M., Nair, S.R., Mini, M., Mani, B.K., & Joseph, S. (2014). Isolation and polymerase chain reaction-based identification of *Riemerella anatipestifer* from ducks in Kerala, India. *Veterinary World*, 7(9), 765–769. doi: 0.14202/vetworld.2014.765-769. [in English].
- Wei, B., Cha, S.-Y., Kang, M., Park, I.-J., Moon, O.-K., Park, C.-K. & Jang, H.K. (2013). Development and application of a multiplex PCR assay for rapid detection of 4 major bacterial pathogens in ducks. *Poultry Science*, 92, 1164–1170. doi.org/ 10.3382/ps.2012-02823. [in English].
- Yakimova, E.A. (2020). Biologicheskiye svoystva shtammov vzbuditelya riyemerelloza vodoplavayushchikh ptits, vydelennykh na territorii Rossiyskoy Federatsii. [Biological properties of strains of the causative agent of riemerellosis waterfowl isolated on the territory of the Russian Federation]. (Doctor's thesis). Federal state budgutory scientific institution "Federal scientific center R - All-Russian Scientific Research Institute for experimental veterinary name K.I. Skryabin and Y.R. Kovalenko of the Russian academy of sciences". Moscow, 118. [in Russian].