

УДК 636.5/6.09:616.9/-07(477)

О. В. ЦИНОВИЙ, кандидат біологічних наук,
Л. І. НАЛИВАЙКО, доктор ветеринарних наук, професор,
І. С. ДАНИЛОВА, кандидат ветеринарних наук
Державна дослідна станція птахівництва НААН України, Бірки
E-mail: tsynovalexvet@ukr.net

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

Анотація. Хвороби бактеріальної етіології складають великий відсоток інфекційних патологій у птиці. Багато хвороб викликаються одразу декількома інфекційними агентами та діють в асоціації. До таких інфекційних агентів відносяться орнітобактерії. Особливістю орнітобактеріозу є те, що виявляється він лабораторними методами тільки на ранній стадії. 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 орнітобактеріозу та вивчити їх біологічні властивості.

Епізоотологічне обстеження птахогосподарств України на орнітобактеріоз проводили з використанням клінічних, патологоанатомічних і серологічних методів дослідження; виділення польових ізолятів збудника та вивчення їх біологічних властивостей здійснювали за допомогою бактеріологічних і біохімічних методів.

Дослідження проведено у чотирьох господарствах і відібрано птицю з характерними для орнітобактеріозу клінічними ознаками (чхання, набряк нижніх очних пазух і м'яких тканин голови, синусити, кашель) та патологоанатомічними змінами (аеросакуліти, пневмонії, пінисте скупчення рідини в грудній порожнині, анемічність, перикардити та трахеїти). Здійснено ІФА діагностику для раннього виявлення орнітобактеріозу. У двох партіях птиці було виявлено підвищений рівень титрів антитіл до орнітобактеріозу (у бройлерів та індиків). Вироблено схему для діагностики орнітобактеріозу, за допомогою якої, з використанням бактеріологічних (посіви на специфічні середовища) і біохімічних методів дослідження було виявлено два ізоляти, які за своїми властивостями відповідають бактеріям роду *Ornithobacterium*.

У результаті проведених досліджень розроблено спосіб діагностики орнітобактеріозу птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних методів.

Ключові слова: орнітобактеріоз, польові ізоляти, птиця, біологічні властивості, птахогосподарства

Актуальною проблемою у сучасному птахівництві є хвороби, що мають бактеріальну етіологію. Існує великий спектр інфекційних агентів бактеріального походження, що можуть викликати захворювання, як са-

мостійно так і в асоціації з іншими патогенами як вірусного, так і бактеріального походження (Корнієнко та ін., 2012; Gavrilović et al., 2016). До таких захворювань відноситься орнітобактеріоз (Ellakany et al., 2019a; Van Empel et al., 2005).

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

Тому, **мета даної роботи** – моніторинг птахогосподарств і виділення польових ізолятів збудника орнітобактеріозу на території України, вивчення їх біологічних властивостей.

Аналіз останніх досліджень і публікацій свідчить, що захворювання на орнітобактеріоз характерне для широкого спектра видів і типів птиці – на нього хворіють бройлери, кури, індки, можливе виникнення захворювання і у водоплавної птиці (Hassan et al., 2020; Hauck et al., 2015). Дуже часто цей патоген викликає захворювання в асоціації з іншими патогенами як вірусної (метаневмовірус), так і бактеріальної етіології. У такому випадку летальність від нього може збільшуватись у рази і досягатиме до 40%. При асоційованому перебігу хвороби респіраторні симптоми переважають. У результаті контамінації і розмноження у респіраторних органах орнітобактерій, можливий прояв інших інфекцій у дихальних шляхах птиці. Основною умовою самостійного виникнення орнітобактеріозу є неналежний зоогігієнічний стан господарства або імунodefіцит у птиці. Частіше хворіє птиця м'ясного напрямку – важкі кроси індичок, бройлери. Наявність антитіл до орнітобактеріозу виявляється у багатьох видів птиці та є доволі розповсюдженим явищем. Передача збудника можлива аерогенним, аліментарним, контактним шляхом, проте існує і вертикальний шлях передачі – через яйце (De la Rosa-Ramos et al., 2018; Ellakany et al., 2019b; Szabó et al., 2017).

У сучасних умовах найкращими методами діагностики є полімеразна ланцюгова реакція та імуноферментний аналіз (Veiga et al., 2019).

Для діагностики орнітобактеріозу потрібен комплексний аналіз, що включає в себе вивчення епізоотологічної ситуації, врахування клінічних і патологоанатомічних змін, використання сучасних серологічних та бактеріологічних методів, потрібно враховувати ще й те, що хвороба може бути виявлена лише на ранній стадії захворювання (Barbosa et al., 2019; Umali et al., 2018).

Завдання дослідження. Запропонувати алгоритм проведення досліджень щодо виявлення та діагностики орнітобактеріозу птиці на базі серологічних, патологоанатомічних, клінічних, біохімічних, бактеріологічних методів.

Матеріали і методи досліджень: Дослідження були проведені на базі Державної дослідної станції птахівництва НААН. При епізоотологічному обстеженні на орнітобактеріоз птахогосподарств України застосовували клінічні та патологоанатомічні методи досліджень, а також бактеріологічні та серологічні. Виділення польових ізолятів проводили на кров'яному агарі у присутності 5% CO₂ за температури 37 °C, диференціювання від колибактеріозу та пастерельозу здійснювали, використовуючи МПА (м'ясо-пептонний агар), середовище Ендо та середовище МакКонкі), вивчення їх біологічних властивостей (ензиматична активність) та антибіотикорезистентність виявляли за допомогою загальноприйнятих методів.

Результати досліджень. Проблема орнітобактеріозу в Україні не вирішена. Статистичних даних щодо орні-

тобактеріозу в офіційних джерелах немає, тому оцінка реальної епізоотичної ситуації можлива лише, якщо спиратися на власні результати. Було проведено епізоотологічне дослідження у чотирьох господарствах, та відібрано птицю з можливими клінічними ознаками орнітобактеріозу: чхання, набряк нижніх очних пазух і м'яких тканин голови, синусити, кашель, дефіцит повітря внаслідок запалення легень і повітроносних мішків. Серед неспецифічних ознак були прояви протрації, зниження апетиту.

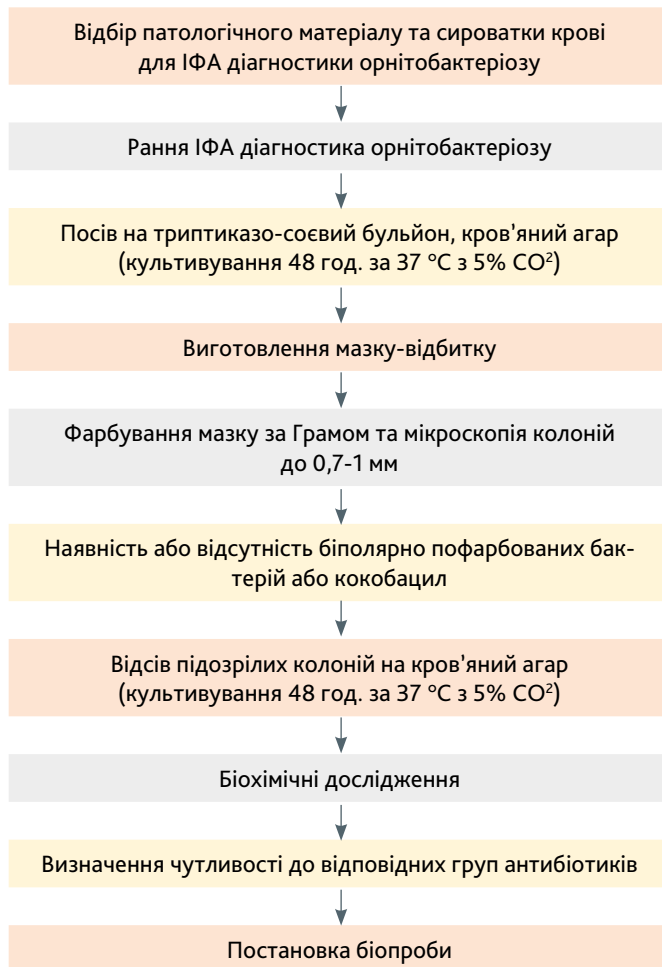


Рис.1. Схема проведення бактеріологічного дослідження клінічного та патологічного матеріалу для підтвердження діагнозу на орнітобактеріоз



Крім того, відмічалися локомоторні порушення у вигляді запалення сухожилкових чохла м'язів гомілки у поєднанні із запаленням суглобів лап.

1. Біохімічні властивості ізолюваних культур

Показник	Результати	
	1	2
Каталаза	-	-
Оксидаза	+	+
Пігмент на кров'яному агарі	-	-
Лізиндекарбоксилаза	-	-
Реакція з сірководнем	-	-
Уреаза	-	-
Утворення індолу	-	-
Аргініндекарбоксилаза	-	-
Орнітиндекарбоксилаза	+	+
Ферментація вуглеводів		
Лактоза	+	+
Глюкоза	+	+
Сахароза	+	+
Мальтоза	+	+
Манноза	+	+
Манніт	+	-
Арабіноза	-	-
Сорбіт	-	-
Фруктоза	+	+

Було проведено ІФА діагностику для раннього виявлення орнітобактеріозу. У двох партіях птиці титри антитіл до орнітобактеріозу були відповідно від 1000 і вище, що вказує на можливе клінічне протікання орнітобактеріозу. Далі для лабораторних досліджень від загиблої птиці, а також при забої птиці з відповідними клінічними ознаками було відібрано зразки: легені, серце, кишечник, печінка, селезінка, кров з серця. При патологоанатомічному розтині приблизно у 70% трупів птиці було виявлено патологоанатомічну картину, що подібна до орнітобактеріозу птиці. У загиблої птиці зареєстровано аеросакуліти, пневмонії, пінисте скупчення рідини у грудній порожнині, анемічність, перикардити та трахеїти.

Наразі цю хворобу не віднесено до особливо небезпечних захворювань сільськогосподарської птиці, відсутні дані щодо її поширеності, не описані особливості клініко-морфологічного прояву захворювання, немає відомостей про серотипову приналежність штамів збудника орнітобактеріозу, що циркулюють на території країни, не розроблені методичні вказівки, що регламентують послідовність лабораторної діагностики даного захворювання. У зв'язку з цим, нами була розроблена методика, яка і використовувалась у наших дослідженнях для постановки діагнозу. Схему наведено на *рисунку 1*.

Використання даної схеми дозволило виділити 2 ізоляти, які згідно літературних даних, подібні бактеріям роду *Ornithobacterium*.

Було відібрано проби з легень, серця і печінки птиці, а також відібрано кров з серця, матеріал було засіяно спочатку на триптиказо-соєвий бульйон, як накопичувальне середовище, а далі – на 5% кров'яний агар.

Для виготовлення кров'яного агару було використано: триптон-соєвий агар. Посіви на середовища було проведено за методикою Дригальського.

Кров для середовищ отримували від баранів, дефібрували її за загальнопринятою методикою та додавали безпосередньо при приготуванні агарів, також вводили в агар 0,5% фетальної сироватки телят.

Кров'яний агар у чашках Петрі з посівами інкубували при температурі 37 °С протягом 48-72 годин.

Для полегшення ідентифікації виділених бактерій підвищували рівень вуглекислого газу в камері інкубування до 5-7%. Після інкубування було відібрано колонії, які з нашого погляду відповідатимуть орнітобактеріозу – мілкі, напівпрозорі, круглі, блискучі, з рівними краями діаметром біля 0,5-0,7 мм.

Після відбору цих колоній проводили повторні посіви на кров'яні агари. Також було проведено посіви на середовища МПА, Ендо, середовище МакКонкі, у стандартних умовах, для диференційної діагностики від ешеріхіозу та пастерильозу птиці. Орнітобактерії на цих середовищах не росли, що вказує на диференціювання їх від колибактерій та пастерел.

Гемолітична активність у культур відсутня. При мікроскопії клітини збудника мали форму грамнегативних кокочайчиків. Біохімічні властивості культур представлені у таблиці 1.

Як видно з представлених у таблиці даних, ізоляти орнітобактерій мають типові для виду властивості.

Для визначення оптимальної антибактеріальної терапії орнітобактеріозу обов'язковою умовою є визначення чутливості культур орнітобактерій до антибіотиків різних груп. Згідно отриманих результатів, найбільш ефективними антибактеріальними засобами щодо орнітобактерій були: амоксилав, амоксицилін, доксициклін, левоміцетин, цефуроксим, енрофлоксацин.

Патогенні властивості орнітобактерій вивчали на 10-добових курчатах. Внутрішньом'язово вводили збудник у концентрації 3×10^9 м.к./см³, в об'ємі 0,5 мл з наступною їх реізоляцією з крові серця. Загибель курчат (3 голови) спостерігали протягом 7 діб, 7 голів відставали у рості після інфікування. Спостереження велось протягом 14 діб. Таким чином, нам вдалося відтворити захворювання, що характеризувалося розвитком пневмонії та відповідними респіраторними симптомами.

У результаті проведених вищезазначених досліджень розроблено спосіб діагностики орнітобактеріозу птиці.

ВИСНОВКИ

1. Вперше на території України у двох присадибних господарствах підтверджено циркуляцію збудника орнітобактеріозу птиці – у індиків і бройлерів.
2. Розроблено методику лабораторно-діагностичних досліджень, завдяки якій бактеріологічними дослідженнями виділено 2 ізоляти збудника та вивчено їх біологічні властивості. Хворобу відтворено на курчатах.
3. Встановлено чутливість збудників до амоксилаву, амоксициліну, доксицикліну, цефуроксиму, левоміцетину, енрофлоксацину.
4. Розроблено спосіб діагностики орнітобактеріозу птиці з використанням клінічних, патологоанатомічних, бактеріологічних досліджень та аналітична довідка щодо біологічних властивостей збудника орнітобактеріозу.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні поширення орнітобактеріозу в птахогосподарствах різних областей України. ■

O. V. Tsynovyi, Candidate of Biological Sciences,
L. I. Nalyvaiko, Doctor of Veterinary Sciences,
I. S. Danilova, Candidate of Veterinary Sciences
 State Poultry Research Station
 National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,
 Birkya
 E-mail: tsynovalexvet@ukr.net

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

Abstract. Bacterial etiology add up a great percentage of infectious pathologies in birds. A lot of ailments are called *odrazu decilecoma* by infectious agents and develop in association. Before such infectious agents, *ornitobacteria* can be seen. Particularly *ornitobacteriosis* are those that are detected by laboratory methods only at an early stage. Infection control in Ukraine is not carried out. The meta of our work is to see the sexual isolation

of the ornitobacteriosis and the viability of their biological power.

Methods – epizootological examination of the pathohological state of Ukraine for ornitobacteriasis were carried out using various clinical, pathoanatomical and serological methods of follow-up; the sighting of the sexual isolates of the health worker and the birth of their biological authorities were taken for the help of bacteriological and biochemical methods.

A follow-up was carried out in several states and a bird was selected with clinical signs characteristic of *ornitobacteriasis* (stomping, swelling of the lower ophthalmic sinuses and soft tissues of the head, sinusitis, cough) and pathoanatomical changes (aerosacculitis, pneumonia, foamy accumulation of fluid in the chest cavity, anemia, pericarditis and tracheitis).

IFA diagnostics for early detection of *ornitobacteriosis* was carried out. In two batches of birds, an increase in antibody titers to *ornitobacteriosis* was detected (in broilers and turkeys).

They gave a detailed scheme for the diagnosis of ornithobacteriasis, for the help of which, with the help of bacteriological (positing on specific media) and biochemical methods, two isolates were revealed, which, for their power, give birth to Ornithobacter bacteria.

As a result of the research, a method for diagnosing avian ornithobacteriasis was developed using different clinical, pathoanatomical, bacteriological methods.

Key words: ornithobacteriosis, field isolates, bird, biological properties, poultry farms

Література

- Корнієнко Л. Є., Наливайко Л. І., Недосеков В. В. Інфекційні хвороби птиці. Херсон, 2012. 528 с.
- Barbosa E. V., Cardoso C. V., Silva R. C. F., Cerqueira A. M. F., Halfen M., Liberal T., Castro H. C. *Ornithobacterium rhinotracheale*: An Update Review about an Emerging Poultry Pathogen. *Veterinary Sciences*. 2019. Vol.7, №3. doi:10.3390/vetsci7010003.
- De la Rosa-Ramos M. A., Muñoz-Solis K., Palma-Zepeda M., Gutierrez-Castillo A. C., Villegas E. O. L., Guerra-Infante F. M., Castro-Escarpulli G. Adherence of *Ornithobacterium rhinotracheale* to chicken embryo lung cells as a pathogenic mechanism. *Avian Pathology*. 2018. Vol.47, №2. P. 172-179. doi:10.1080/03079457.2017.1390208.
- Ellakany H. F., Abd-Elhamid H. S., Bekhit A. A., Elbestawy A. R., Abou-Ellif A. S., Gado A. R. Effect of mixed experimental infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Mycoplasma gallisepticum* in broiler chickens. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 2019. Vol. 61. №1. P. 168-178. doi: 10.5455/ajvs.297431.
- Ellakany H. F., Elbestawy A. R., Abd-Elhamid H. S., Gado A. R., Nassar A. A., Abdel-Latif M. A., Ghanima I. I. A., Abd El-Hack M. E., Swelum A. A., Saadeldin I. M., Ba-Awadh H. A., Alowaimeret A. N. Effect of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection along with live infectious bronchitis vaccination in broiler chickens. *Poultry Science*. 2019. Vol. 98, №1. P. 105-111. doi: 10.3382/ps/pey324.
- Gavrilović P., Gavrilović A., Vidanović D., Parunović J., Jovanović M.. Comparative pathomorphological, bacteriological and serological examination of broiler breeders and pheasants experimentally infected with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Avian Pathology*. 2016. Vol.45, №5. P. 513-519. doi: 10.1080/03079457.2016.1168514.
- Hassan A. K., Medhat M.-A., Shehata M. A., Bakheet A. A. Phenotypic and Molecular Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* Isolates in Broiler Chickens. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2020. Vol.10, № 4. P. 193-199.
- Hauck R., Chin R. P., Shivaprasad H. L. Retrospective study on the isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens and turkeys in Central California: 294 cases (2000-12). *Avian Diseases*. 2015. Vol.59, №1. P.130-137.
- Szabó R., Wehmann E., Makrai L., Nemes C., Gyuris É., Thuma Á., Maqyar, T. Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* field isolates from Hungary. *Avian Pathology*. 2017. Vol.46, № 5. P. 506-514.
- Umali D. V., Shirota K., Sasai K., Katoh H. Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial layer chickens in eastern Japan. *Poultry Science*. 2018. Vol.97, № 1, P. 24-29. doi: 10.3382/ps/pex254.
- Van Empel, P. C. M., Hafez, H. M. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. *Avian Pathology*. 2005. American Association of Avian Pathologists, United States. Vol.28, № 3. P. 217-227. doi: 10.1080/03079459994704. PMID: 26915377.
- Veiga I. M. B., Lüscho D., Gützer S., Hafez H. M., Mühlendorfer K. Phylogenetic relationship of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated from poultry and diverse avian hosts based on 16S rRNA and rpoB gene analyses. *BMC Microbiology*. 2019. Vol.19, №31. doi: 10.1186/s12866-019-1395-9.

References

- Barbosa, E. V., Cardoso, C. V., Silva, R. C. F., Cerqueira, A. M. F., Halfen, M., Liberal, T., & Castro, H. C. (2019). *Ornithobacterium rhinotracheale*: An Update Review about an Emerging Poultry Pathogen. *Veterinary Sciences*, 7(3). doi:10.3390/vetsci7010003. [in English].
- De la Rosa-Ramos, M. A., Muñoz-Solis, K., Palma-Zepeda, M., Gutierrez-Castillo, A. C., Villegas, E. O. L., Guerra-Infante, F. M., & Castro-Escarpulli, G. (2018). Adherence of *Ornithobacterium rhinotracheale* to chicken embryo lung cells as a pathogenic mechanism. *Avian Pathology*, 47(2), 172-179. doi:10.1080/03079457.2017.1390208. [in English].
- Ellakany, H. F., Abd-Elhamid, H. S., Bekhit, A. A., Elbestawy, A. R., Abou-Ellif, A. S., & Gado, A. R. (2019a). Effect of mixed experimental infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Mycoplasma gallisepticum* in broiler chickens. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 61(1), 168-178. doi: 10.5455/ajvs.297431. [in English].
- Ellakany, H. F., Elbestawy, A. R., Abd-Elhamid, H. S., Gado A. R., Nassar, A. A., Abdel-Latif, M. A. ...& Alowaimeret, A. N. (2019b). Effect of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection along with live infectious bronchitis vaccination in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(1), 105-111. doi: 10.3382/ps/pey324. [in English].
- Gavrilović, P., Gavrilović, A., Vidanović, D., Parunović, J., & Jovanović, M. (2016). Comparative pathomorphological, bacteriological and serological examination of broiler breeders and pheasants experimentally infected with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Avian Pathology*, 45, 513-519. [in English].
- Hassan, A. K., Medhat, M.-A., Shehata, M. A., & Bakheet, A. A. (2020). Phenotypic and Molecular Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* Isolates in Broiler Chickens. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 10(4), 193-199. [in English].
- Hauck, R., Chin, R. P., & Shivaprasad, H. L. (2015). Retrospective study on the isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens and turkeys in Central California: 294 cases (2000-12). *Avian Diseases*, 59(1), 130-137. [in English].
- Korniienko, L. Ye., Nalyvaiko, L. I., & Nedosiekov, V. V. (2012). Infektsiini khvoroby ptytsi [Infections diseases of birds]. Kherson, 528. [in Ukrainian].
- Szabó, R., Wehmann, E., Makrai, L., Nemes, C., Gyuris, É., Thuma, Á., & Maqyar, T. (2017). Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* field isolates from Hungary. *Avian Pathology*, 46 (5), 506-514. [in English].
- Umali, D. V., Shirota, K., Sasai, K., & Katoh, H. (2018). Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial layer chickens in eastern Japan. *Poultry Science*, 97(1), 24-29. doi: 10.3382/ps/pex254. [in English].
- Van Empel, P. C. M., & Hafez, H. M. (2005). *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review., American Association of Avian Pathologists, United States. *Avian Pathology*, 28(3), 217-227. doi: 10.1080/03079459994704. PMID: 26915377. [in English].
- Veiga, I. M. B., Lüscho, D., Gützer, S., Hafez, H. M., & Mühlendorfer, K. (2019). Phylogenetic relationship of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated from poultry and diverse avian hosts based on 16S rRNA and rpoB gene analyses. *BMC Microbiology*, 19(31). doi: 10.1186/s12866-019-1395-9 [in English].