

## СПИРОХЕТОЗА ПРИ ВОЛИЕРНО ОТГЛЕЖДАНИ ЯРЕБИЦИ (*PERDIX PERDIX*)

Теодора Попова

Лесотехнически университет – София

### РЕЗЮМЕ

Диагностицирана е спирохетоза при яребици-носачки (*Perdix perdix*) в стопанство за волиерно развъждане. Причинителят *Borrelia anserina* е наблюдаван микроскопски в препарати от кръвни и органи намазки от черен дроб, далак и бъбрек. Установена е цистна форма на спирохетите в еритроцитите. Тази форма е причина за значителни затруднения в диагностиката и терапията на заболяването.

Това е първи случай на установяване на спирохетоза при яребици в нашата страна.

Изследването доказва, че наблюдението на цистни форми в еритроцитите, както и в паренхимни клетки, е основание за поставяне на диагноза спирохетоза при яребиците. За успешно лечение е необходимо комбинирано приложение на подходящ антибиотик с нитроимидазолов препарат.

**Ключови думи:** *Borrelia anserina*, цистна форма, спирохетоза, яребици.

### Въведение

Яребиците са считани за твърде устойчиви към инфекции. При тяхното волиерно отглеждане обаче възникват проблеми, свързани с недобре проучената инфекциозна патология на тези диви птици. Постигането на успешно развъждане с минимални загуби изисква щателно проучване на чувствителността им към определени заболявания. Това би дало възможност за организиране на адекватна профилактика, бърза и сигурна диагностика и успешна терапия, особено при атипично протичане на инфекциите.

В литературата липсват данни за проучвания на заболяемостта от спирохетоза при свободно живеещи или изкуствено развъждани яребици. Единствено Roberts (1961) споменава, че тази инфекция е установена и при птици от този вид. В нашата страна обаче няма литературни съобщения за констатиране на спирохетоза яребици. Като кокошови птици яребиците са възприемчиви към повечето характерни за кокошките инфекции и са гостоприемник на преносителя на борелии *Argas persicus*. Известна е чувствителността на кокошките към инфекции с *Borrelia anserina*, която се среща в целия свят (Ataliba et al. 2003). Заразяването става трансмисивно, за нашата страна с участие предимно на *A. persicus*. Има данни за заболявания и при пуйки, гъски, патици, врани и др. (McNeil et al. 1949; Roberts et al. 1961).

Целта на настоящата работа е да се изследва възприемчивостта към спирохетоза при волиерно развъждани яребици (*Perdix perdix*) у нас и някои особености при диагностиката и терапията на това заболяване при този вид птици.

## Материали и методи

*Птици.* Изследванията са извършени в стопанство за волиерно отглеждане на яребици със стадо от 600 носачки, което няма контакт с други ферми. Аутопсирани и изследвани са 5 пресни трупа на яребици.

*Микробиологични изследвания.* Извършени са *микроскопски наблюдения* под имерсия на препарати, оцветени с боята на Романовски-Гимза в продължение на 70 min. Те са приготвени от кръвни намазки от периферна кръв и от такава от сърцето. Отпечатъчни препарати, оцветени по същия метод, са направени и от черен дроб, далак и бъбреци на изследваните птици. За *изолиране* на други микроорганизми са правени посевки от същите материали и от кръвни проби в бульон на Тароци, върху агари на Цайслер и на Ендо, както и на агар на Mueller – Hinton с 5 % кръв. Използваните среди са производство на НЦЗПБ – София. Посевките са култивирани при 37° С за 24–72 h при аеробни и анаеробни условия (с anaerob rack with palladium catalyst – H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> – НЦЗПБ – София).

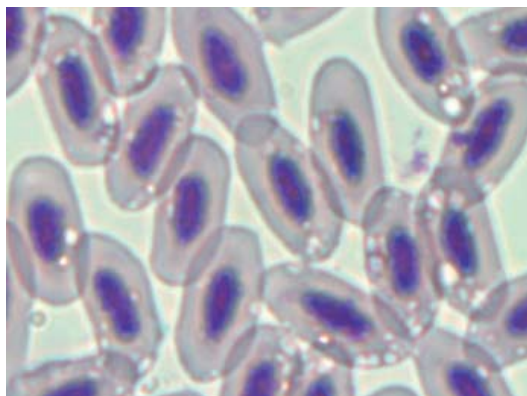
## Резултати

*Епизоотологични данни.* Установено е заболяване при 70 % от яребиците с влошаване на общото състояние и 6 % смъртност след около 10-дневно боледуване. В периода на заболяването не са открити ектопаразити, но преди това е имало инвазия с *Argas persicus*, своевременно отстранена чрез обезпаразитяване. Наблюдава се сезонност на заболяването, което е констатирано през пролетта (началото на месец май).

*Патологоанатомична находка.* При външния оглед на умрелите птици не се забелязват видими изменения. Те са с добър външен вид и нормална охраненост.

В далака, който е слабо увеличен, се наблюдават единични сиво-жълтеникави некротични възелчета с големина на просено зърно. Такива изменения се установяват и в черния дроб на някои от птиците, придружени с увеличение на жлъчния мехур.

*Микробиологична находка.* В *микроскопските* препарати от паренхимни органи се установяват единични спирохети с морфология на борелии, в по-голямо количество в далака. В кръвните намазки рядко се откриват такива форми и то само аглутинирани. В тях обаче привлича вниманието цитоплазмата на червените кръвни клетки. Тя е изпълнена с везикули (фиг. 1), ко-



Фиг. 1. Везикули в цитоплазмата на еритроцити от болни яребици (x 1000)

Fig. 1. Cyst forms of Spirochaetes in erythrocytes from sick partridges (x 1000)

ито на места притискат и деформират ядрата, придавайки им ромбовидна форма. Това създава впечатление за наличие на кръвни паразити. Единични цистни форми се откриват и извън еритроцитите. Наблюдават се и в паренхимни клетки от органните намазки.

В посявките не се установява растеж на микроорганизми.

Терапията е проведена с тилозин, приложен с водата за пиене първоначално в продължение на 7 дни. Резултатът е клинично излекуване, последвано от рецидив след около месец. Пълно излекуване е постигнато след приложение на тетрациклин и метронидазол за двуседмичен период, допълнено от витамини А, Д и Е. При контролно микроскопско изследване не се откриха спирохети в намазките от периферна кръв, нито цистни форми в еритроцитите.

Тези резултати дават основание да се постави диагноза спирохетоза при яребиците.

### Обсъждане

При дългогодишния опит във волиерното развъждане на яребиците спирохетозата не е била проблем. До този момент у нас това заболяване не е доказано микробиологично при тези птици. Резултатите от нашите изследвания обаче показаха инфекция със спирохети, морфологично идентични с патогенната за домашни птици *Borrelia anserina*. Заразяването очевидно се дължи на установената преди това инвазия с *A. persicus*. Макар и отстранена своевременно, тя е станала причина за инфектиране на част от птиците в стадото. Типичната за това заболяване сезонност, свързана с активността на преносителя, също е очевидна.

Отсъствието на спирохети в кръвта (откриват се само единични аглутинирани форми) вероятно е свързано с развитие на имунен отговор, както и с приложението на антибиотик преди момента на микробиологичното изследване поради поява на клинични признаци на инфекция. Това затруднява диагностиката, както и наличието на цистни форми в цитоплазмата на еритроцитите. Този факт може да насочи диагнозата в погрешна посока към съмнение за кръвни паразити, например от групата на бабезиите. Доказателство, че се касае единствено за спирохетоза, а не и за кръвни паразити, е клиничното оздравяване на птиците след терапията с тилозин. Масивното увреждане на еритроцитите вероятно е една от причините за смъртния изход.

Най-сигурен аргумент за етиологична диагноза безспорно би било изолирането на причинителя. Това обаче е трудно поради необходимостта от специалната среда на Barbour-Stoenner-Kelly (BSK), която е скъпа и своевременното ѝ набавяне при поява на заболяването е невъзможно. Трудното изолиране на причинителя от пациенти с хронични борелиози е известен проблем (Phillips et al. 1998). Ако се постигне успех, поради много бавното размножаване на спирохетите растежът им може да се установи едва след седмици. Това не е в интерес на своевременната диагностика. По тази причина за доказване на лаймска борелиоза например у

нас се използва американски ELISA-кит (Tsachev et al. 2007). Все още обаче липсват достъпни диагностикуми за серологично установяване на спирохетозата при птиците. Ето защо е важно диагностичната практика да разполага с възможности за бързо и сигурно микроскопско доказване, което е и достатъчно евтино.

Дори и при изолиране на причинителя сложните биологични особености на култивирането му не позволяват да се направи антибиотикограма по рутинния метод. Определянето на минималните подтискащи концентрации на антибиотици от различни групи също би било нецелесъобразно поради бавното развитие на борелиите. То обаче не е наложително, тъй като е известно, че от антимикробните средства най-висока активност срещу борелии проявяват тетрациклините, пеницилините и цефалоспорините. С оглед на интрацелуларната локализация на причинителя при този случай на инфекция бе избран тетрациклинът поради високата му активност към вътреклетъчно паразитиращи микроорганизми.

За наблюдение на интрацелуларни цистни форми в еритроцити от кокошки с признаци на спирохетоза в Судан, инвазирани с *A. persicus*, за пръв път съобщава Balfour още през 1911 г. Като доказателство, че се касае за спирохетни форми, той сочи изчезването им от еритроцитите на болните птици след приложение на салварзан (първият ефикасен химиотерапевтик за лечение на сифилис). Авторът наблюдава везикулите ултрамикроскопски. Установява, че при обикновено оцветяване по Романовски-Гимза не приемат боята и трудно се виждат, с което обяснява факта, че не се установяват при такъв диагностичен подход. Предполага, че са устойчиви форми, създаващи трудности в посока на пълно излекуване. По-късно обаче явлението е наблюдавано и при *B. burgdorferi* (Shoberg and Thomas 1995). Други автори (Schaller and Neubert 1994; Preac-Mursic et al. 1996; Brorson and Brorson 2002) доказват, че *B. burgdorferi* формира подобни вътре- и извънклетъчни цисти вследствие на приложение на антибиотици *in vitro* и *in vivo*, като в тези случаи ги считат за L-форми (без клетъчна стена). Brorson и Brorson (1998) установяват *in vitro* трансформация на *B. burgdorferi* от цистна в спирална форма при пренасяне от спинална течност в богатата среда BSK. Така те потвърждават предположението, че цистната форма е начин за преживяване на борелиите при неблагоприятни въздействия (недостатъци в условията на култивиране, наличие на антибиотици или специфични антитела). Считат, че на перзистирание в такава форма се дължи хронифицирането на лаймската болест и характерните рецидиви.

Чувствителността на борелиите към антибиотици и химиотерапевтици е проучена от Brorson and Brorson (1999, 2002, 2004, 2006). Те установяват, че упорити инфекции с *B. burgdorferi* могат да бъдат лекувани успешно посредством комбинации от нитроимидазолов препарат (метронидазол или тинидазол) и макролиден или друг антибиотик, които могат да ликвидират както мобилните, така и цистните форми на бактерията. Такъв резултат имат и комбинациите от хидроксихлороквин и макролиден антибиотик. Като особено ефективен срещу мобилните бактерии те определят новия кетолиден антибиотик телитромицин.

Яребиците се оказват чувствителни към спирохетоза. За отстраняване на рис-

ка от такава инфекция е важно провеждането на редовни мероприятия против ектопаразити. Тези мерки биха били важно условие за предотвратяване на опасността от трансмисивно заразяване с *B. anserina*, чийто междинен гостоприемник се явява характерният за кокошовите птици кърлеж *A. persicus*. При хронифициране на заболяването антибиотикотерапията трябва да се съчетава със средство от групата на нитроимидазолите.

### Изводи

В резултат на микробиологични изследвания за пръв път се установява спирохетоза при яребици у нас. Доказана е чувствителност на тези видове птици към това заболяване, което се причинява трансмисивно след инвазия с *Argas persicus*.

Установена е възможност за бърза микроскопска диагностика при цистна форма на спирохетоза след по-продължително оцветяване с боята на Романовски-Гимза.

За сигурен терапевтичен ефект при такава форма се препоръчва комбинация на подходящ пеницилинов или тетрациклинов антибиотик с нитроимидазолов препарат.

### Литература

1. Ataliba, A., J. Resende, N. Yoshinari, M. Labruna. 2003. Isolation and molecular characterization of a Brazilian strain of *Borrelia anserina*, the agent of fowl spirochaetosis. – *Research in Veterinary Science*, V. 83, № 2, 145–149.
2. Balfour, A. 1911. Infective granules. *The British Medical Journal*, 1, (Публ. в: Post 283 / 24 Feb 2008, Southern Illinois).
3. Brorson, O., S. H. Brorson. 1998. In vitro conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in bsk-h medium. – *Infection*, V. 26, № 3, 144–50.
4. Brorson, O., S. H. Brorson. 1999. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to metronidazole. – *APMIS*, V. 107, № 6, 566–576.
5. Brorson, O., S. H. Brorson. 2002. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine. – *International Microbiology*, V. 5, № 1, 25–31.
6. Brorson, O., S. H. Brorson. 2004. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. – *International Microbiology*, V. 7, № 2, 139–142.
7. Brorson, O., S. H. Brorson. 2006. An in vitro study of the activity of telithromycin against mobile and cystic forms of *Borrelia afzelii*. – *Infection*, V. 34, № 1, 26–28.
8. Phillips, S. E., L. H. Mattman, D. Hulinska, H. Moayad. 1998. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. – *Infection*, 26, 364–367.
9. Preac-Mursic, V., G. Wanner, S. Reinhardt, B. Wilske, U. Busch, W. Marget. 1996. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast L-form variants. – *Infection*, 24, 218–226.
10. Roberts, J. A. 1961. Experimental transmission of *Borrelia anserina* (Sakharoff 1891) by *Aedes aegypti*. – *Nature*, 191, 1225.

11. Schaller, M., U. Neubert. 1994. Ultrastructure of *Borrelia burgdorferi* after exposure to benzylpenicillin. – *Infection*, V. 22, № 6, 401–406.
12. Shoberg, R. J., D. D. Thomas. 1995. *Borrelia burgdorferi* vesicle production occurs via a mechanism independent of immunoglobulin M involvement. – *Infect. Immun.*, V. 63, № 12, 4857–4861.
13. Tsachev, I., R. Simeonov, V. Petrov. Infections with *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in a dog. – *Veterinarski glasnik*, 2007, 61, 3–4:201–210.

***SPIROCHAETOSIS IN AVIARY BREADED PARTRIDGES  
(PERDIX PERDIX)***

**Teodora Popova**

University of Forestry – Sofia

***SUMMARY***

Spirochaetosis in laying partridges (*Perdix perdix*) in aviary breeding farm has been established. Causative agent *Borrelia anserina* has been observed microscopically in preparations of blood and organ smears from livers, spleens and kidneys. Cystic forms of Spirochaetes in erythrocytes has been established. That form is cause for considerable difficulties in diagnostic and therapy of the disease.

It is the first case of detection of spirochaetosis in partridges in our country.

The investigation proves that the observation of cyst forms of Spirochaetes in erythrocytes, as well as in parenchime cells, is a reason for diagnose of spirochaetosis in partridges. According to our experience, combine application of appropriate antibiotic with nitroimidazole preparation is necessary for successful therapy.

**Key words:** *Borrelia anserina*, cystic forms Spirochaetes, partridges (*Perdix perdix*).