

Mortalität bei Humboldtpinguinen (*Spheniscus humboldti* Meyen, 1834) im Zoo Dresden - ein multifaktorielles Geschehen?

Extreme mortality in Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti* Meyen, 1834) at Zoo Dresden - a multifactorial event?

Widmer Dimitri, Ziemssen Eva

Смертность среди пингвинов Гумбольдта в зоопарке Дрездена – многофакторное событие?

Из журнала «Der Zoologische Garten, № 84» , выпуск 3-4 , 2015

Зоопарк Дрездена, Германия

Видмер Димитри, Зимссен Ева

Введение и описание

В конце 70–х годов прошлого столетия в зоопарке Дрездена группа пингвинов Гумбольдта содержались без каких-либо серьезных проблем и заболеваний. В ее состав входило 9 пингвинов.

В 1978 году группа пополнилась благодаря появлению потомства и передаче новых особей, и достигла в 2010 году численности в 30 голов. Средняя продолжительность жизни первого состава животных в Дрезденском зоопарке составляла 20,7 лет. За 15 лет содержания пингвинов с 1978 года по 1993 год не было зафиксировано никаких случаев смерти, в период с 1994 года по 2010 год в среднем умирало 1,3 взрослых пингвина (1-3 животных) в год. Всего вылупилось 75 птенцов, из которых 52% пережили первый год жизни.

Внезапно в 2011 году появились случаи очень высокой смертности среди поголовья пингвинов, в результате которой до лета 2012 года пало 29 из 32 животных. Случаи заболевания и падежа продолжались с января по сентябрь 2011 года с заметным сезонным увеличением с апреля по май. В 2012 году были отмечены случаи смертности с февраля по август, но и здесь с заметным увеличением в апреле. В течение 33 лет и 10 месяцев это коснулось всех пингвинов, не зависимо от их возраста. Проявления заболевания были не специфичными и преимущественно выражались в уменьшении и прекращении приема пищи в конечной стадии, ухудшении общего состояния, слабости, одышке и избегания сородичей. В отдельных случаях доходило до подострого течения болезни и внезапного смертельного

исхода. Почти у всех без исключения, павших животных был обнаружен ярко выраженный аспергиллез, причина которого была *Aspergillus fumigatus*. Кроме того, в анализах часто находили системные *Escherichia coli*, а также системные или локальные инфекции с другими бактериальными микроорганизмами, среди которых были *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Clostridium perfringens*, а также, *Pseudomonas aeruginosa*.

Несмотря на интенсивную ветеринарную терапию, ни одного пингвина из заболевших вылечить не удалось. Осенью 2012 года остались только три не заболевшие птицы, которых перевели в другие вольеры, а оставшийся пустым вольер пингвинов был частично санирован в течение года. В это время были проведены существенные мероприятия, которые касались внутренних вольеров и обновления крыши, облицовывания стен и пола заново, а также установления новой системы вентиляции, а внешний вольер оставался почти без изменения, кроме основательного очищения бассейна. Не было произведено замены фильтрационного материала или дезинфекции циркулирующей воды.

В 2013 году было возобновлено содержание пингвинов Гумбольдта вместе с новыми 16 особями из двух зоопарков. Первые восемь пингвинов прибыли в июле, остальные в сентябре были получены зоопарком Дрездена. Уже спустя несколько недель после прибытия второй группы опять появились случаи заболевания, а немного погодя и смертельный исход болезни. С сентября по ноябрь умерло четыре животных, девять других из вновь прибывших пали в период с февраля по июнь 2014 года. В 2014 году произошло существенное изменение после того, как в анализе осмотра у новой группы было обнаружено преобладание инфекционного заболевания с *A. fumigates*. У девяти вновь прибывших пингвинов была обнаружена очень тяжелая инфекция с полирезистентной *P. aeruginosa*, в большинстве случаев без участия других возбудителей. И в этом случае большинство инфицированных животных показало неспецифичные симптомы. К этому еще в отдельных случаях добавились воспаление солевых желез, помутнение роговицы, серозные выделения, а у одного животного также обнаружили спорадические симптомы расстройства центральной нервной системы с приступами судорог, дрожанием и потерей ориентации. Гистологический анализ показал тяжелое некротизирующее воспаление носовых пазух, клюва, глотки и трахеи, а также частично солевых желез. Трех из последних инфицированных пингвинов смогли успешно пролечить с помощью 10 мг\кг тобрамицина (Tobrazid® 40 mg/ml раствор для инъекций, Infectopharm

Arzneimittel и Consilium GmbH, 64646 Heppenheim) внутримышечно, один раз в день в течение десяти дней, 2 мг/кг марбофлоксацин (Marbocyl® 10%, Vetoquinol GmbH, 88212 Ravensbrueck) внутримышечно, один раз в день в течение десяти дней, и также были проведены поддерживающие мероприятия, и они полностью выздоровели. С начала лечения в июне 2014 года, эти животные были размещены исключительно во внутреннем помещении с подсолонной 1,2% водой в бассейне и оставались там и только в начале октября 2014 года снова были выпущены в открытый вольер. Там они уже не болели в течение семи месяцев до даты настоящего отчета.

Обсуждение

Из предыдущего сообщения неизбежно возникает вопрос, об обстоятельствах, которые привели к увеличению заболеваемости и смертности с 2011 года, хотя до этого в течение многих лет не было зарегистрировано никаких случаев проявления заболеваний, и не было найдено никаких явных изменений в кормлении животных или управлении животными. В этой связи можно обсудить разнообразие возможных факторов. Они включают в себя, в частности, первичную или предрасполагающую причину инфекции, а также возможное проникновение патогенов через всех вновь поступивших в коллекцию пингвинов, из-за воздействия плесени и токсинов на систему и окружающую среду, микробиологические и физико-химические параметры воды в бассейне, систему фильтров, подготовку рыбы и гигиену кормления, и стрессовые состояния.

Инфекционные возбудители и патологические исследования

Весной 2011 года в зоопарк Дрездена прибыли шесть пингвинов из французского зоопарка для пополнения к существующей группе пингвинов. В последующем была зафиксирована экстремальная смертность среди состава. Из этого первоначально возникло сильное подозрение о внедрении инфекционного возбудителя через прибывших животных. Тем не менее, шесть животных из коллекции зоопарка Дрездена обменяли на то же количество животных из французского зоопарка, которые не заболели там, хотя, они должны были также быть подвержены заражению в вольере от своих новых обитателей, а также из-за повышенного во время транспортировки стресса и акклиматизации к новому месту. При взаимодействии с патологическими исследованиями и фактами, что уже до прихода новых животных умерло два пингвина, и что новички были среди

первых случаев смерти, все это говорило против версии о передаче специфического возбудителя инфекции. Патологические исследования всех мертвых пингвинов в различных специализированных институтах показали отсутствие признака какого-то одного возбудителя болезни, помимо регулярных результатов экспертизы по аспергиллезу, часто встречающегося заболевания пингвинов (Ainsworth, 1949; Khan, Pal, Paliwal, & Damodaran, 1977; Eulenberger, 1995; Fowler & Fowler, 2001). Напротив, было обнаружено большое разнообразие бактериальных возбудителей, где речь шла в основном о случайных патогенных микроорганизмах. Исключением стали заболевшие в 2014 году пингвины, у которых преобладала инфекция слизистых оболочек верхних дыхательных путей с *P. aeruginosa*. В медицине человека *P. aeruginosa*, как одна из самых важных причин нозокомиальной инфекции, внушающей страх (Selbitz, 2007), представляет собой всемирно распространенного оппортунистического возбудителя, (Quinn, Carter, Markey, & Carter, 1994; Rafique, Andleeb, Ghous, Shahzad, & Shafique, 2012). Также неоднократно сообщалось о заболеваниях у пингвинов (Heidenreich & Hinz, 1977; Schröder, 1986). Уменьшение сопротивляемости организма является предпосылкой для инфекций у птиц (Samour, 2006).

Исследования на различные вирусные возбудители (*Bornavirus*, *Paramyxovirus*, *West-Nile-Virus*) проходили с отрицательным результатом, только в единичных случаях были найдены плазмодии (*Plasmodium relictum* или *P. elongatum*) путем цепной реакции полимеразы в анализах крови и имели, вероятно, второстепенное значение. Также в прошлые годы инфекции плазмодия не играли никакой существенной роли в зоопарке Дрездена, хотя профилактическое лечение не проводилось. Проведенное масштабное токсикологическое исследование тканей органов умерших животных не обнаружило специфический токсин и в питьевой воде, которой наполнялся бассейн, не обнаружили необычное содержание тяжелых металлов. Анализы крови отобранных пингвинов также не указали в итоге ни на какую-либо другую причину для предположения интоксикации цинком или свинцом. Заболевание из-за приема внутрь инородных тел диагностируется только в очень редких случаях.

Воздействие плесневых грибов

Департамент здравоохранения города Дрездена провел забор воздуха на наличие микроорганизмов снаружи и внутри вольера, который не дал никакого подтверждения серьезного воздействия плесневых грибов, особенно *A. fumigatus*. Повторные анализы воздуха в период наибольшей

смертности, в апреле и мае, по-прежнему не дали доказательства повышенного сезонного заражения плесневыми грибами в этот период. Были удалены потенциальные источники плесени в виде открытого контейнера с навозом недалеко от вольера, а также гнилой ствол дерева в вольере в конце 2013 года и проводилась более частая очистка и дезинфекция поверхностей и канализации, особенно во внутреннем вольере. Много раз в течение 2011 года проводили дезинфекцию с помощью опаливания огнем гнезд, множества мест, загрязненных плесенью, и с тех пор они стали уже не доступны для животных. Три уже упомянутых и успешно вылеченных пингвина после лечения в 2014 году в течение нескольких месяцев содержались исключительно во внутреннем вольере, и они там не заболели аспергиллезом, несмотря на ограниченные иммунные функции и, как ожидалось, на повышенное содержание загрязнения грибом по сравнению с открытым вольером. Эти факты говорят сами за то, что для установления причины заболевания, их следует искать скорее не внутри, а снаружи (вода, суша) и, во-вторых, вместе с результатами забора анализов на содержание микроорганизмов, а не на повышенное загрязнение вольера как причину аспергиллеза. Тем не менее, не исключается взаимосвязь между снижением инфекций с *A. fumigatus* в 2014 году и принятыми для этого мерами.



Фото 1. Вольер для пингвинов Гумбольдта в зоопарке Дрездена. Слева внутренний вольер, на заднем плане место подготовки корма.

Качество воды

Части внешней зоны, включая бассейны, были обновлены в 2005 году (фото 1). Резервуар заполняется водой, как и прежде, но теперь включает в себя гораздо больший объем около 150 м³ с проходимостью на глубине 1,50 м. Имеется подводный осмотр для посетителей, и он был оснащен фильтровальной установкой с озонированием. Соль в воду не добавляется и вода не хлорируется. Небольшой бассейн в помещении соединен каналом с внешним бассейном, и они могут быть разделены плотной перегородкой. Подробное описание внешнего и внутреннего вольера и системы фильтров можно получить у авторов статьи. Вольер был открыт в 2006 году, а систему фильтрации ввели в эксплуатацию в 2007 году. В последующие годы снова было получено потомство, и не было случаев заболевания, так что реконструкция в качестве непосредственной причины смертей изначально не кажется правдоподобной. Тем не менее, расширение водохранилища с помощью фильтровальной установки, с относящимися к этому системой трубопроводов, сливу, фильтр грубой очистки, цистерны, и т.д. – создает риск накопления микроорганизмов в случае неправильной эксплуатации или очистки этих частей. Необходимо добиваться в соответствии с основными рекомендациями по содержанию пингвинов Ассоциации Американских Зоопарков (AZA), чтобы вода в бассейне была хорошего оптического качества с низким содержанием бактерий, в частности кишечной палочки. Количество колиформных микроорганизмов более 1000 MPN (наиболее вероятное число) на 100 мл воды рассматривается как потенциально опасное (Консультативная Группа по Таксону Пингвин, AZA, 2014 год). Исследования воды в бассейне в зоопарке Дрездена различными учреждениями точно показали очень высокое содержание микроорганизмов, несмотря на идеальное визуальное качество воды по сравнению с более поздними измерениями. Так было измерено в 2014 году в несколько этапов до > 25000 колониеобразующих единиц (КОЕ) на 100 мл БГКП, а также повышенный уровень *P. aeruginosa* (45 КВЕ/100мл), *S. perfringens* (> 500 КВЕ/100мл), *Enterococcus sp.* (> 300 КВЕ/100мл) и *E. coli* (7270 КВЕ/100мл). До сих пор не была определена степень нанесения вреда пингвинам естественным путем. Однако стоит упомянуть в частности появление содержания *P. aeruginosa*, до предпосылок заражения этими микроорганизмами в 2014 году.

Количество бактерий в воде сразу же после запуска фильтра было действительно всегда очень низким, что говорит о хорошей работе системы фильтров, однако, увеличение количества бактерий в бассейне с водой могло

быть результатом слишком малой или неэффективной циркуляции воды. Существующая в зоопарке Дрездена система фильтров имеет расход 75 м³ в час, что соответствует примерно половине от общего объема. Согласно рекомендациям по содержанию пингвинов в АЗА, им необходим трехкратный – пятикратный объем воды, проходящий через фильтр за час. (Консультативная Группа по Таксону Пингвин, АЗА, 2014 год). Однако не найдено никаких сведений, сколько нужно пингвинов на такой объем воды по этой рекомендации.

Следует признать как упущение, что перед заселением в вольер в 2013 году не было проведено никаких мер по замене фильтра и дезинфекции циркуляции воды. В биопленке собираются бактерии, например в трубах, которые могут стать постоянным источником заражения и инфекции, и являются чрезвычайно живучими (Olson, Ceri, Morck, Buret, & Read, 2002; Arana & Yadav, 2008). Незначительная степень скорости фильтрации может способствовать прилипанию микробов, например, из-за слишком низкой скорости потока воды в системе труб, и что в конечном итоге может оказать влияние на здоровье животных.

Летом 2014 года наконец заменили фильтры. Были очищены по мере возможности от биопленки все поверхности и трубы, циркулирующая вода была неоднократно хлорирована, а также были проведены различные конструктивные меры. Так, среди прочего, за пределами вольеров были подняты повыше, расположенные отверстия для фильтра, подключенные перед фактическим фильтром грубой очистки, чтобы предотвратить проникновение сточных вод. Микробиологическое качество воды в бассейне без животных в течение нескольких месяцев стало тогда стабильным, и без каких-либо нареканий, так как все остальные пингвины были размещены во внутреннем помещении. Больше не было найдено никаких псевдомонад и анаэробных бактерий. Было достигнуто стабильное содержание микроорганизмов <100 КОЕ бактерий кишечной группы на 100 мл воды в бассейне. Эти значения не останутся в тех же границах с обновленным составом исключительно из трех пингвинов. Кроме того, еженедельные пробы в течение нескольких месяцев показали умеренное увеличение общего бактериального загрязнения и низкий уровень анаэробных бактерий и псевдомонад. Тем не менее, такие микроорганизмы как, например, псевдомонады могут присутствовать в кишечнике (Quinn и др., 1994), эти результаты вполне ожидаемы. Значение кислотности воды в бассейне постоянно, примерно 7,7 рН и обычно не требует регулирования путем добавки химических веществ. В дальнейшем полная замена воды с помощью

очистки и дезинфекции в установке через регулярные промежутки времени должна стать препятствием для накопления микробов и образования биопленок.

Температура воды

Средняя температура воды в летние месяцы доходила до 26°C. В середине октября 2014 года температура еще была 20°C и только в конце месяца опустилась примерно до 15°C. Это объяснялось отсутствием охладительной установки, а также циркуляцией воды без достаточной добавки охлажденной воды из источников и питьевой воды. Потери воды в бассейне, например, из-за испарения воды автоматически восполняются с помощью подачи питьевой воды с максимальным объемом 2 м³ в час. Для пингвинов максимально адекватной температурой считается температура воды от 4° до 18°C (Консультативная Группа по Таксону Пингвин, АЗА, 2014 год). Во всяком случае, видимых проявлений перегрева у животных не наблюдалось, и не было зафиксировано никаких смертельных случаев в течение летних месяцев. Однако повышенная температура воды в бассейне, вероятно, могла неблагоприятно влиять на содержание микроорганизмов в воде.

Гигиена кормления и добавки

Процесс таяния и скармливания рыбы был оптимизирован до разгара болезни, хотя не поступало никаких четких доказательств проблем в течение десятилетий практикуемого оттаивания рыбы в проточной и частично в стоячей воде. Сельдь атлантическая (*Clupea harengus* Linnaeus, 1758) от проверенного дилера (имя можно запросить у авторов), глубокой заморозки доставлялась и хранилась при температуре -20°C. После изменений процесс оттаивания теперь проходит при +4°C и возникающий конденсат регулярно удаляется.

Размороженная рыба проверялась на ощупь для определения ее качества и, ее скармливали в течение 48 часов. Непосредственно перед кормлением ее доставали порциями из холодильника. По-возможности пингвинов кормили каждого по-отдельности из рук, так что потом оставался минимум мяса в бассейне. Ведра из пластика были заменены на ведра из нержавеющей металла, и применялись исключительно только для кормления пингвинов, а затем эти ведра чистили и дезинфицировали.

Как и до этого пингвинам давали таблетки Fish Eater Tablets (Mazuri Zoo Foods, от Claus GmbH, 67117 Limburgerhof) в качестве дополнения питания, на одного пингвина в день по 1 таблетке. Возможная недостаточность витамина Е была у годовалого пингвина в 2011 году на фоне

обширной полинейропатии в отделах мозга. Однако при вскрытии других пингвинов не было обнаружено подобное поражение.

Стресс

С 2005 года в зоопарке Дрездена, а также частью в непосредственной близости от вольера пингвинов проводилось множество строительных работ и проектов. Непосредственно за кулисами вольера располагается хоздвор, а с 2008 года и новая кормокухня зоопарка – объект с повышенной шумностью и повышенной частотой проходимости техники, а также повышенной активности персонала. Исходя из этого не следует исключать хронические стрессовые ситуации, которые могли привести к понижению иммунитета животных (Koutos & Klasing, 2008). Возможно, что это стало результатом, который наблюдали: повышенная смертность среди птенцов.

Также изменения в составе групп могли привести к стрессовым ситуациям у животных (Консультативная Группа по Таксону Пингвин, АЗА, 2014 год). Как уже упоминалось, в 2011 году произошел обмен 6 животных из французского зоопарка, что вскоре напрямую привело к смертельным последствиям, когда среди первых умерших животных оказались вновь прибывшие животные. Однако уже в этом же году непосредственно перед прибытием новых животных были незначительные случаи смертей среди животных с подобными результатами вскрытия. В 2013 году после прибытия умерло два новых пингвина, сначала более старшего возраста, для организма которых транспортировка и привыкание к новым вольерам, а также введение в группу с чужими пингвинами возможно стало еще одним отягчающим фактором, намного тяжелее, чем для молодых пингвинов. Исходя из этого выяснилось, что транспортировка птиц в конце лета, несмотря на короткое расстояние, но из-за климатических условий не является оптимальным для пингвинов.

Возможно, в указанных примерах речь идет о случайных совпадениях, либо действительно есть взаимосвязь с повышенным стрессовым фоном, выяснится в заключительном диагнозе. Указания на повышенный стрессовую нагрузку было выявлено у погибшего в 2011 году пингвина, у которого было диагностировано увеличение надпочечников. Речь шла об уже упомянутом здесь годовалом животном, у которого кроме того диагностировали полинейропатию.

Окончательный диагноз

В целом, ни один фактор не может быть идентифицирован как причина болезни. Скорее, это похоже, на комбинацию из нескольких специфических факторов при содержании пингвинов в Дрезденском зоопарке, чей вес, возможно, изменялся со временем, что всегда приводит к подавлению иммунитета, и затем приводит к повышенной восприимчивости к болезням и быстрой потере численности. Тем не менее, авторы считают, что особое

значение имеет микробиологическое качество воды в бассейне. Регулярный отбор проб и соответствующие мероприятия, такие, как замена воды и дезинфекция водного цикла в настоящее время являются неотъемлемой частью управления. Необходимо еще найти эффективные способы охлаждения воды в бассейне. Могут представлять дополнительную нагрузку, воздействие которых остается неясным и другие факторы, такие, как недостатки в гигиене кормления, изменения в групповых структурах и другие факторы стресса, воздействие плесени, а также возможные заражения спорадическими плазмодиями.

Таким образом, остается выжидать принесет ли успех комбинация исследований и проведенных мероприятий – потому что еще продолжается содержание пингвинов Гумбольдта в зоопарке Дрездена после почти полугодового периода наблюдения за тремя оставшимися и все еще не зараженными животными, и продолжают наблюдения за новой группой пингвинов.

Резюме

Авторы рассказали о фазе значительного увеличения смертности среди пингвинов Гумбольдта (*Spheniscus humboldti* Meyen, 1834) в зоопарке Дрездена. В течение четырех лет пало 42 пингвина от инфекций с оппортунистическими микробами. Несмотря на широкомасштабные исследования, невозможно было выяснить ни одного фактора причинно-следственной связи, что могло бы объяснить высокий уровень заболевания. Скорее всего, это было сочетание факторов, как полагают, к которым нужно еще добавить первичные или потенциально предрасполагающие причины заражения, интоксикацию, содержание микробов в воздухе, микробиологическое и физико-химическое качество воды, стресс и аспекты гигиены, включая подготовку и обработку кормовой рыбы.

Перевод: **Соловьева Л.В.** (Калининградский зоопарк)