

Rola reowirusów w aviopatologii

WOJCIECH KOZDRUŃ, ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ, HANNA CZEKAJ

Pracownia Diagnostyki Chorób Wirusowych Drobiu

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Kozdruń W., Samorek-Salamonowicz E., Czekaj H.

Role of reoviruses in avian pathology

Summary

Avian reoviruses are members of the Orthoreovirus genus in the Reoviridae family. They were first isolated from the respiratory tract of chickens with chronic respiratory disease. Reovirus infections can spread horizontally by direct contact among infected birds or indirectly by water, feed and feces. In the case of chickens the viruses cause arthritis/tenosynovitis, reovirus, pericarditis, myocarditis, malabsorption syndrome, enteritis, hepatitis, atrophy of the bursa Fabricii and thymus, and acute and chronic respiratory tract diseases. Reoviruses are also isolated from turkeys with arthritis and malabsorption syndrome. In the case of geese and Muscovy ducks they cause diarrhoea and hepatitis. The viruses have an immunosuppressive ability and are frequently found in chickens with latent infections that were initially clinically normal. Prevention and control are achieved through vaccinating the parent flocks and broilers, as well as by disinfection.

Keywords: reoviruses, arthritis/tenosynovitis

Reowirusy ptasie należą do rodziny *Reoviridae*, rodzaju *Orthoreovirus* (10, 11). Od ptaków zostały po raz pierwszy wyizolowane w latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku od kurcząt z chronicznym zapaleniem układu oddechowego (CRD) (5, 16).

Reowirusy są wirusami RNA, bezotoczkowymi, o wielkości wirionu 70-75 nm i gęstości w gradiencie chlorku cezu wynoszącej 1,36-1,37 g/ml. Genom ich składa się z 10 segmentów podwójnie skręconego łańcucha ds RNA, kodujących białka strukturalne i niestrukturalne. Podwójny kapsyd ma symetrię dwudziestościnną. Zbudowany jest z 8 strukturalnych, specyficznych polipeptydów (10, 11).

Obecność podwójnego białkowego kapsydu zapewnia reowirusom znaczną oporność na działanie czynników środowiskowych, rozpuszczalników tłuszczowych, środowiska kwaśnego i wielu środków odkażających. W temperaturze 60°C przeżywają 8-10 h, w temperaturze 56°C – 22-24 h, w temperaturze 37°C – 15-16 tygodni, w temperaturze 22°C – 48-51 tygodni, w temperaturze 4°C około 3 lat, a w –20°C blisko 4 lata i 10 lat w temperaturze –63°C. Ogrzewanie w obecności chlorku magnezu w znacznym stopniu redukuje miano wirusa. Inaktywowane są przez 70% alkohol etylowy, 0,5% organiczne roztwory jodiny i 5% roztwór nadtlenku wodoru (11).

Replikacja reowirusów odbywa się w cytoplazmie komórki, do której przedostają się na drodze fagocytozy. Wiriony zostają częściowo strawione i ulegają fuzji z lizosomami, a materiał genetyczny stanowi matrycę do syntezy białek wirusowych. W cytoplazmie zakażonych komórek występują kwasochłonne ciała wtrętowe składające się z cząsteczek reowirusów w układzie krystalicznym (10, 11).

Antygeny grupowo-swoiste są wspólne dla wszystkich szczepów reowirusów ptasich. Wykrywa się je w odczynach: immunodifuzji w żelu agarowym (AGID), immu-

nofluorescencji i wiązania dopełniacza. Natomiast antygeny typowo-swoiste wykrywane są w odczynie seroneutralizacji (SN) i w teście immunoenzymatycznym ELISA. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy serotypami reowirusów ptasich a jednostkami chorobowymi lub narządami, z których zostały wyizolowane. Wydaje się, że reowirusy ptasie występują raczej jako antygenowe subtypy niż oddzielne serotypy (4, 7).

Reowirusy ptasie dobrze namnażają się w zarodkach kurzych inokulowanych do worka żółtkowego (YS) oraz na błonę kosmówko-omoczniovą (CAM), słabiej natomiast po wprowadzeniu do worka owodniowo-omoczniovego (CAS).

Wirusy te łatwo adaptują się do pierwotnych hodowli komórek. W komórkach nerki zarodka kurzego (CEK) lub kurcząt (CK), wątroby (CEL) oraz w fibroblastach (CEF) replikują się dobrze, osiągając wysokie miana infekcyjne. Można je zaadaptować również do ciągłych linii komórkowych, takich jak: nerki małpy zielonej (Vero), nerki noworodków chomika (BHK), nerki kota (CRFK), nerki królika (RK), nerki świni (PK). W hodowlach komórkowych powodują widoczny efekt cytopatyczny już po 24 h, polegający na tworzeniu wielojądrzastych komórek syncytialnych. Pod warstwą agaru tworzą łysinki różnej wielkości (11, 12).

Zakażenia reowirusami rozprzestrzeniają się poziomo przez kontakt bezpośredni z zakażonymi ptakami oraz pośredni przez zakażoną wodę, paszę i ściółkę. Najbardziej wrażliwe na zakażenie są jednodniowe pisklęta bez przeciwciał matczynych. Wrażliwość ta, podobnie jak w przypadku innych wirusów, zmniejsza się wraz z wiekiem kurcząt i rozwojem ich układu immunologicznego. Obecność reowirusów stwierdzono w narządach wewnętrznych ptaków klinicznie zdrowych. Są immunosupresorami (10, 11, 16).

Przebieg zakażenia reowirusami jest zależny od wielu czynników, takich jak: wrażliwość gospodarza, patogenność szczepu, droga zakażenia, wiek zakażonych ptaków, poziom przeciwciał matczynych, obecność innych zakażeń i czynników immunosupresyjnych, a także warunków utrzymania. Mogą być przyczyną zakażeń utajonych i na skutek procesu chorobowego spowodowanego przez inny czynnik, mogą się uaktywniać i namnażać. Większość zakażeń, zwłaszcza u ptaków starszych stwierdza się tylko na podstawie obecności przeciwciał lub izolacji wirusa z narządów wewnętrznych (6).

Najczęściej występują u kur, ale także są obecne u innych gatunków ptaków. U kurczątków są przyczyną zapalenia stawów, zapalenia osierdzia, mięśnia sercowego, syndromu złego wchłaniania (zakaźnego zahamowania wzrostu u brojlerów), stanów zapalnych jelit, zapalenia wątroby, atrofii torby Fabrycjusza i grasicy, ostrych i chronicznych chorób układu oddechowego. U indyków powodują stany zapalne stawów, syndrom złego wchłaniania oraz izolowane są z przypadków wysokiej śmiertelności indyczek. U gęsi i kaczek piżmowych są przyczyną biegunk i stanów zapalnych wątroby, prowadząc do zmniejszenia przyrostów masy ciała. Występowanie ich stwierdzono także u perliczek, przepiórek japońskich, ptaków dzikich i egzotycznych (10, 11).

Wirusowe zapalenie stawów i pochewek ścięgienowych u kur (viral arthritis/tenosynovitis)

Chorują głównie ptaki młode ras mięsnych w wieku 4-7 tygodni, chociaż do zakażenia dochodzi najczęściej w pierwszych dniach życia. Okres wylęgania choroby wynosi od kilku do kilkunastu dni w zależności od drogi zakażenia, patogenności wirusa i wieku ptaków. U chorych kurcząt obserwowane są obrzęki stawów, szczególnie stawu skokowego i ścięgien, obejmujące również poduszki stopy. Pojawia się jedno- lub obustronna kulawizna. Ptaki mają trudności w pobieraniu paszy i wody. Zaatakowane stawy są gorące, obrzękłe i bolesne, często dochodzi do rozerwania mięśnia brzuchatego łydki. Chore ptaki są skarlłowaciałe, obserwuje się u nich nastroszenie i zlepianie piór. Zachorowalność ptaków w stadzie jest wysoka i sięga nawet do 100%, natomiast śmiertelność dochodzi do kilkunastu procent (6, 8).

Zmiany anatomopatologiczne często dotyczą tylko stawu skokowego. Występuje zapalenie błon maziowych, a wewnątrz torebki stawowej stwierdza się nadmiar płynu wysiękowego barwy słomkowej lub z domieszką krwi. Przy powikłaniach mykoplazmami lub gronkowcami płyn stawowy jest mętny, czasem z obecnością kłacek. Obserwuje się zgrubienie i zapalenie błon maziowych, powierzchnia chrząstki jest czerwona i ścięczała, a w końcowym stadium choroby poszarpana z wyraźnymi ubytkami. Ścięgna są pogrubiałe, otoczone przezroczystą, żółtawą, galaretowatą masą. Często w ścięgnach widoczne są zmiany nekrotyczne (6).

Mikroskopowo w ścięgnach obserwuje się już w pierwszym tygodniu choroby wakuolizację komórek wewnętrznej warstwy ścięgna mięśnia brzuchatego łydki oraz hiperplazję komórek maziowych. W późniejszym okresie choroby następuje rozlane nacieczenie komórek jednojądrzastych. W chrząstkach stawowych stwierdzane są zmiany zwyrodnieniowe i nekrotyczne w postaci zmniej-

szenia lub rozpadu jądra komórkowego w chondrocytach. Zmiany mikroskopowe mogą występować również w narządach wewnętrznych ptaków i dotyczą wątroby, śledziony, torby Fabrycjusza oraz mięśnia sercowego (6, 15).

Syndrom złego wchłaniania (malabsorption syndrome)

Występuje u kurcząt brojlerów w wieku 1-3 tygodni. U ptaków obserwuje się zahamowanie wzrostu, ubytki w upierzeniu, biegunkę i trudności w poruszaniu się. Już w pierwszym tygodniu choroby 5-20% ptaków wykazuje zmniejszone przyrosty masy ciała. W krwi chorych ptaków stwierdza się wysoki poziom karotenoidów i wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej spowodowany uszkodzeniem kosmków jelitowych i zaburzeniami we wchłanianiu (3, 6).

W trakcie badania anatomopatologicznego obserwuje się w przewodzie pokarmowym zmiany nieżytowe. Jelita cienkie są rozdęte i wypełnione niestrawioną karmą. Ponadto stwierdza się stan zapalny mięśnia sercowego, atrofię trzustki i torby Fabrycjusza oraz zmiany w główce kości udowej (6).

Reowiroza kurcząt

Zwykle chorują kurczęta od 6. do 14. dnia życia, najczęściej w 6.-8. dniu życia. Reowiroza charakteryzuje się ostrym przebiegiem z gwałtownie wzrastającą śmiertelnością. Początkowo stwierdza się u kurcząt silną apatię, brak łaknienia, trudności w poruszaniu się, kulawizny, przysiadanie na skokach, a nawet objawy nerwowe w postaci skrętu szyi i głowy. Śmiertelność ptaków wynosi nawet do 80% w ostrej fazie choroby, a szczyt padnięć ma miejsce w 3.-5. dniu po zakażeniu. U ozdowieńców obserwuje się zahamowanie wzrostu.

W trakcie badania anatomopatologicznego widoczne jest powiększenie wątroby i śledziony. Oba te narządy mogą być przekrwione lub blade, z obecnością ognisk martwicy. Nerki są powiększone, w worku osierdziowym stwierdza się obecność płynu wysiękowego. Może dojść do zwyrodnienia mięśnia sercowego.

Mikroskopowo w wątrobie widoczna jest martwica hepatocytów, w śledzionie martwica miąższu oraz zanik miążgi białej, w nerkach martwica komórek nabłonka kanalików nerkowych, a w osierdziu i nasierdziu obfity naciek zapalny.

Ostra postać reowirozy kurcząt wystąpiła w Polsce w 1998 roku i charakteryzowała się bardzo dużymi stratami, sięgającymi nawet 80% stada. Po przechorowaniu ptaki w stadzie wykazywały bardzo duże różnicowanie w rozwoju. Wyniki badań laboratoryjnych wykazały pojawienie się szczepu reowirusa o bardzo wysokiej patogenności. Wprowadzenie szczepień stad reprodukcyjnych inaktywowaną szczepionką opartą na tym wyizolowanym szczepie reowirusa w skuteczny sposób ograniczyło liczbę przypadków tej choroby (9).

Reowiroza kaczek

Reowirusy były izolowane od różnych gatunków kaczek, w tym od kaczek Mullard (mieszkańców), kaczek piżmowych (Barbarie), zdrowych kaczek Pekin i chorych kaczek ozdobnych. W kraju reowirusy izolowano od kaczek Mullard (13).

Badania dotyczące struktury i biologicznej charakterystyki reowirusów wykazały, że różnią się one od innych ptasich reowirusów.

U kaczek piżmowych zachorowalność wynosi około 30%, a śmiertelność około 20%. Najczęściej chorują kaczęta w wieku między 2. a 8. tygodniem życia. Okres inkubacji choroby wynosi 5-15 dni. U zakażonych kacząt obserwuje się biegunkę, wypadanie piór, trudności w poruszaniu się, zahamowanie przyrostów masy ciała.

Sekcyjnie stwierdza się zapalenie worków powietrznych, zapalenie osierdzia, ogniska nekrotyczne w wątrobie i śledzionie, powiększenie nerek. Objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne szczególnie w wątrobie i sercu często przypominają zmiany notowane we wczesnej fazie choroby Derzsy'ego. Wydaje się, że w niektórych przypadkach zmiany anatomopatologiczne interpretowane jako zmiany powstające po zakażeniu wirusem choroby Derzsy'ego mogą być błędnie zdiagnozowaną reowirozą. Czasami te dwie jednostki chorobowe występują razem (13).

Immunosupresyjne działanie reowirusów

Zakażenie reowirusami ptaków może powodować immunosupresję mechanizmów odporności komórkowej, jak i humoralnej. Takie działanie reowirusów związane jest z miejscem ich pierwotnej replikacji, która odbywa się w torbie Fabrycjusza i upośledzeniu ulega produkcja limfocytów B. Obserwuje się także obniżenie odsetka subpopulacji limfocytów T w krwi obwodowej ptaków (2). Reowirusy hamują aktywność fagocytarną makrofagów. Są induktorami interferonu. Obniżają skuteczność szczepień profilaktycznych przeciwko chorobie Mareka, powodują także gorsze uodpornienie po szczepieniu przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu (ND). U kurcząt zakażonych wirusem choroby Gumboro (IBDV) i reowirusem stwierdzono nasilenie zmian atroficznych w torbie Fabrycjusza. Ponadto reowirusy zwiększają wrażliwość ptaków na zakażenia *E. coli*, mykoplazmami oraz pierwotniakami (11).

Diagnostyka laboratoryjna

Występowanie zakażeń reowirusami można wykazać bezpośrednio poprzez stwierdzenie obecności wirusa w narządach wewnętrznych lub płynach ustrojowych, a także pośrednio przez wykrycie obecności swoistych przeciwciał (11, 12).

Reowirusy izoluje się w zarodkach kurzych lub hodowlach komórek. Do wykrywania antygenu wirusowego służy metoda immunofluorescencji, immunoperoksydazowa, PCR, a także sondy molekularne.

Przeciwciała przeciwko reowirusom w surowicy ptaków wykrywa się w odczynie immunodysfuzji w żelu agarowym (AGID), w odczynie seroneutralizacji (SN) oraz testem immunoenzymatycznym ELISA (11, 12).

Diagnostyka różnicowa

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić zakażenia mykoplazmami, gronkowcami, pałeczkami *Salmonella*, włoskowcem różycy, zaburzenia mineralno-witaminowe, mikotoksyny, zakażenia wirusem choroby Mareka i wirusem reticuloendoteliozy (12).

Zapobieganie i zwalczanie

Jedyną formą zwalczania i zapobiegania zakażeniom reowirusowym są szczepienia profilaktyczne. Stosowane

są zarówno szczepionki żywe oparte na szczepach atenuowanych, jak i inaktywowane. Głównym celem szczepienia jest wytworzenie u niosek w stadach rodzicielskich wysokiego poziomu przeciwciał, które następnie przekazywane są na potomstwo i chronią go przed chorobą. Na terenach o dużym zagrożeniu epidemiologicznym ptaki przeznaczone na stada rodzicielskie są szczepione dwukrotnie żywą szczepionką w odstępach 4 tygodni, a następnie dwukrotnie szczepionką inaktywowaną w odstępach 4-6 tygodni. Jednakże liczba szczepień oraz rodzaj użytej szczepionki zależy od sytuacji epidemiologicznej na danym terenie.

Aktywna immunizacja może być prowadzona już od 1. dnia życia. Szczepionkę podaje się podskórnie. Jednakże tak podana szczepionka może interferować ze szczepionką przeciwko chorobie Mareka, jeżeli są stosowane jednocześnie (14).

W Polsce dostępne są szczepionki żywe i inaktywowane, monowalentne oparte głównie na szczepie S1133. Na rynku są też szczepionki biwalentne, triwalentne, a nawet czterowalentne, w których obok reowirusa występują szczepki szczepionkowe wirusa zakaźnego zapalenia torby Fabrycjusza, wirusa rzekomego pomoru drobiu oraz wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli.

Ze względu na znaczną oporność na czynniki fizykochemiczne oraz pionową i poziomą transmisję, eliminacja reowirusów jest dosyć trudna. Z tego powodu przed przeprowadzeniem dezynfekcji, pomieszczenia i sprzęt dla ptaków poddaje się dokładnej sanitacji. Do dezynfekcji stosowane są organiczne roztwory jodyny.

Piśmiennictwo

1. Clark F. D., Ni Y., Collison E. W., Kemp M. C.: Characterization of avian reovirus strain-specific polymorphism. *Avian Dis.* 1990, 34, 304-310.
2. Czekaj H., Samorek-Salamonowicz E., Kozdrun W., Bednarek D., Król K.: Analiza populacji limfocytów T metodą cytometrii przepływową u kurcząt zakażonych reowirusami. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 703-705.
3. Decaestecker M., Charlier G., Muelemans G.: Significance of parvoviruses, entero-like viruses and reoviruses in the aetiology of chicken malabsorption syndrome. *Avian Pathol.* 1986, 15, 769-782.
4. Desmukh D. R., Pomeroy B. S.: Avian reoviruses. IV. Relationship to human reoviruses. *Avian Dis.* 1996, 13, 516-524.
5. Fahey J. E., Crawley J. F.: Studies on chronic respiratory disease of chickens. II. Isolation of a virus. *Can. J. Comp. Med.* 1954, 18, 13-18.
6. Jones R. C.: Obraz zmian klinicznych i morfologicznych w przebiegu zakażeń reowirusowych u drobiu. *Mat. Konf. Nauk. „Rola reowirusów w patologii ptaków”* Wrocław 1998, 23-28.
7. Kawamura H., Shimizu F., Maeda M., Tsubahara H.: Avian reovirus: its properties and serological classification. *Nat. Inst. Animal Health Quart.* 1965, 5, 115-120.
8. Koutwenhoven B., Vertommen M., Goven E.: Investigation into the role of reovirus in the malabsorption syndrome. *Avian Pathol.* 1988, 17, 879-884.
9. Minta Z., Bugajak P., Daniel A., Mazurkiewicz M., Wieliczko A., Gawel A., Bartczak R., Kozaczynski W., Wierciński J.: Przypadki reowirusy u kurcząt brojlerów w Polsce. *Mat. Konf. Nauk. „Rola reowirusów w patologii ptaków”*, Wrocław 1998, 35-36.
10. McNulty M. S.: Reovirus. *Virus infections of birds*. Ed. Mc Ferran, McNulty. Elsevier Science Publishers B.V. 1993, 181-195.
11. Rosenberger J. K.: Reovirus infections. *Diseases of Poultry*, XI ed., Saif Y. M., Iowa State University Press 2003, 283-298.
12. Rosenberger J. K., Olson N. O., Heide van der L.: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. IV ed., American Association of Avian Pathologists. 1998, 207-210.
13. Samorek-Salamonowicz E., Czekaj H., Kozdrun W.: Choroby zakaźne występujące u drobiu wodnego. *Medycyna Wet.* 1998, 5, 305-307.
14. Samorek-Salamonowicz E., Kozdrun W., Czekaj H.: The influence of reovirus infection on the efficacy of vaccinations against Marek's disease. *Medycyna Wet.* 1999, 7, 455-466.
15. Walker E. R., Friedmann M. H., Olson N. O.: Electron microscopic study of avian reovirus that causes arthritis. *J. Ultrastruct. Res.* 1972, 41, 67-72.
16. Van der Heide L.: The history of avian reovirus. *Avian Dis.* 2000, 44, 638-641.

Adres autora: dr Wojciech Kozdrun, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: wkozdrun@piwet.pulawy.pl