

# Przypadek cirkowirozy u młodego żako

BEATA DOLKA, PAULINA SZCZUBEŁEK, PIOTR SZELESZCZUK,  
EWA KARPIŃSKA, RAFAŁ SAPIERZYŃSKI\*

Zakład Chorób Ptaków, \*Zakład Patomorfologii Zwierząt Katedry Nauk Klinicznych  
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Dolka B., Szczubelek P., Szeleszczuk P., Karpińska E., Sapieryński R.

Case of acute beak and feather disease in a juvenile African Grey Parrot

Summary

A case of acute beak and feather disease complicated with secondary fungal infection was diagnosed in a three-month-old female African Grey Parrot (*Psittacus erithacus*). Two days before the bird's death the owners observed its depression and diarrhea with excess urates. Despite symptomatic therapy the bird died after two days. In the course of the autopsy a large focus of fungi in the trachea bifurcation and left main bronchus was discovered. Also visible were strong congestion and areas of hepatization in the left lung, the enlargement of mottled liver and air sacculitis (abdominal air sacs). Histologically, no inclusion bodies in the hepatic cells and no lesions in the proventriculus were observed. Microbiological examination revealed numerous fungi as *Aspergillus* sp., *Streptomyces* sp. and *Candida* sp. In the PCR test presence of Psittacine Beak and Feather Disease Virus was detected. PCR tests for Pacheco's disease herpesvirus, avian Polyomavirus and *Chlamyphila psittaci* were negative.

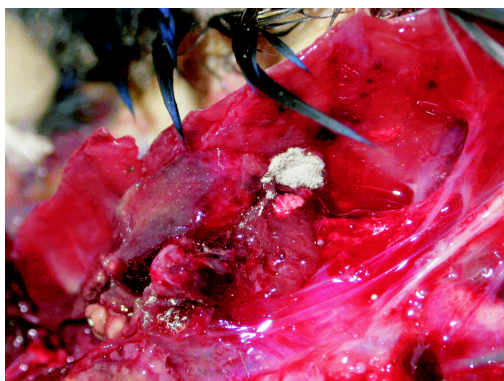
**Keywords:** parrot, Psittacine Beak and Feather Disease

Cirkowiroza papug tradycyjnie określana jako „choroba dzioba i piór” (Psittacine Beak and Feather Disease – PBFD) jest jedną z najgroźniejszych chorób papugowych (*Psittaciformes*), przebiegającą z silną immunosupresją i uszkodzeniem upierzenia. Po raz pierwszy choroba została zdiagnozowana w latach 80. u australijskich kakadu (10). PBFD wywołuje cirkowirus papug – Psittacine Beak and Feather Disease Virus – PBFDV należący do rodzaju *Circovirus*, rodziny *Circoviridae* (17).

Na zakażenie wirusem PBFD najbardziej wrażliwe są młode papugi (do 3. roku życia) Starego Świata, m.in. kakadu, nimfy, lory, aleksandretty, papużki nierozłączki, papużki faliste (1, 11, 17). W przebiegu klasycznej postaci PBFD dochodzi do przewlekłego, postępującego uszkodzenia i deformacji piór oraz utraty „pudru” (12, 13, 15). Pióra są zatrzymane w rozwoju, krótkie, krzywe, poskręcane, łamliwe, wypadają symetrycznie, powodując utratę lotności (4). Zmiany są nieodwracalne i uwidaczniają się przy pierzeniu. Może dojść do zmian w obrębie warstwy rogowej dzioba (martwica, przerost, pęknięcia, przebarwienia) i pazurów (zaburzenia wzrostu) (10). U ptaków z PBFD występuje hipogammaglobulinemia na skutek ubytku limfocytów B (9). Najczęściej dochodzi do upadków na skutek wtórnych zakażeń.

W piśmiennictwie opisywana jest także ostra postać PBFD z bardzo gwałtownym wystąpieniem obja-

wów i upadkami u żako (*Psittacus erithacus*), znana jako „zespół młodego żako” lub „syndrom żako” (3, 14). Pierwszy udokumentowany przypadek ostrego przebiegu PBFD u żako w Australii został opisany przez Doneleya w 2003 r. (3). U 16-tygodniowej papugi tego gatunku zaobserwowano nastroszenie piór, apatię, zwracanie z wola. Pomimo podjętej terapii antybiotykowej papuga padła w ciągu 36 godzin od pierwszych objawów. Druga papuga z tego stada również padła w ciągu 36 godzin. Podczas sekcji stwierdzono powiększenie i plamistość wątroby, splenomegalię, zapalenie worków powietrznych, rozszerzenie przedłożądka. W badaniu histopatologicznym wykazano wewnątrzcytoplazmatyczne i wewnątrzjadrowe bazofilne ciała wtrętowe w komórkach bursy Fabrycjusza, zanik tkanki limfatycznej, ogniska martwicy w narządach wewnętrznych. Wśród czynników wnikających u żako odnotowywano zakażenia adenowirusem oraz *Pseudomonas aeruginosa* jako ostateczną przyczynę zejścia. Schoemaker i wsp. (14) tę postać PBFD u żako opisują jako ostrą infekcję, przebiegającą z silną leukopenią, anemią, martwicą wątroby oraz z nadkażeniami bakteryjnymi i grzybiczymi. Upadki u zakażonych papug miały miejsce nie później niż w ciągu 3 tygodni od pojawienia się pierwszych objawów. Przy tej postaci u młodych żako nie stwierdza się nieprawidłowości dotyczących upierzenia i dzioba (3, 14). Terapia ptaków z PBFD ogranicza się do leczenia wtór-



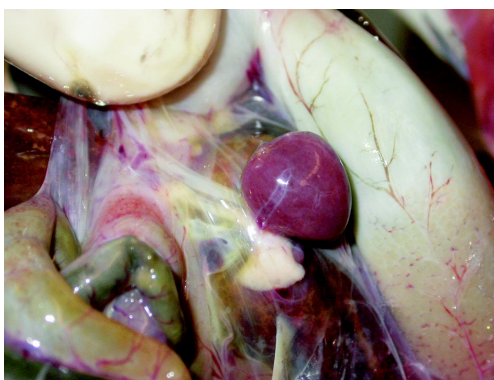
Ryc. 1. Ognisko grzybicze w płucach



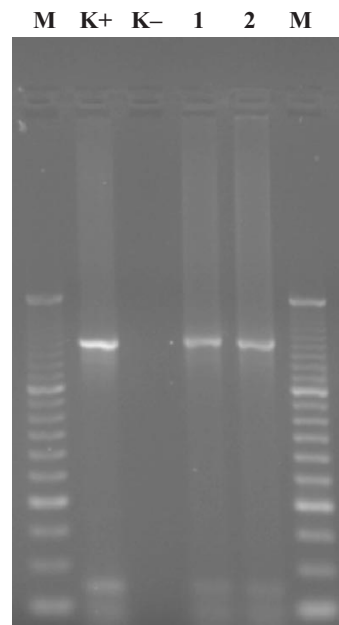
Ryc. 2. Zmiany w wątrobie



Ryc. 3. Zmętnienie worka powietrznego



Ryc. 4. Powiększenie śledziony



Ryc. 5. Elektroforeza w żelu agarowym produktów reakcji PCR: ścieżka M – marker 50bp DNA Ladder; K+ – kontrola pozytywna; K- – kontrola ujemna; 1-2 – próbki badane (wątroba)

nych infekcji, rokowanie jest złe. Wciąż trwają prace nad skuteczną szczepionką przeciwko zakażeniom cirkowirusowym papug, pozytywne efekty uzyskano u kakaadu po immunizacji szczepionką rekombinowaną (2).

Dotychczas w piśmiennictwie krajowym nie opisywano ostrego przebiegu cirkowirozy u żako.

### Materiał i metody

**Opis przypadku.** W marcu 2009 r. do Ambulatorium Zakładu Chorób Ptaków Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie dostarczono padłą trzymiesięczną samicę żako (*Psittacus erithacus*). Ptak został zakupiony dwa tygodnie wcześniej w lokalnym sklepie zoologicznym, do którego został importowany z jednej z czeskich hodowli. Zakupiona żako była jedynym zwierzęciem utrzymywanym w gospodarstwie domowym właścicieli. Papuga otrzymywała komercyjną karmę przeznaczoną dla tego gatunku, świeże owoce i warzywa. Właściciele zaniepokoiła osowiałość, która pojawiła się na 48 godzin przed śmiercią ptaka. Stwierdzili także rozrzedzenie kałomoczu z obecnością dużej ilości moczanów. Były to, ich zdaniem, jedyne zauważone niepokojące objawy. Zgodnie z zaleceniem lekarza weterynarii, do którego udali się posiadacze ptaka, papudze podawano preparat ziołowy Urosept (Herbapol, Poznań). Mimo terapii po dwóch dniach papuga padła.

**Badania patomorfologiczne.** W celu ustalenia przyczyny śmierci papugi wykonano sekcję zwłok ptaka, w trakcie której pobrano wycinki wątroby, śledziony oraz żołądka gruczołowego do badania histopatologicznego, utrwalano je w 10% zbuforowanej formalinie, odwadniano, a następnie zatapiano w bloczki parafinowe. Skrawki parafinowe o grubości 5 µm barwiono metodą przeglądową hematoksylina-eozyna (H-E).

**Badanie bakteriologiczne.** W trakcie sekcji pobrano wycinki płuc i wątroby do badania bakteriologicznego. Z mate-

riału wykonano preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama oraz posiewy na podłoża agarowe z krwią i MacConkeya.

**Badanie mikologiczne.** W trakcie sekcji pobrano wycinki płuc, worków powietrznych, tchawicy do badania mikologicznego. Z materiału wykonano preparaty bezpośrednie oraz posiewy na podłoża Sabourauda.

**Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR).** Ponieważ obraz kliniczny nie był jednoznaczny, na podstawie doświadczenia klinicznego w pierwszej kolejności zdecydowano o wykonaniu badania PCR w celu wykluczenia zakażenia herpeswirusem choroby Pacheca. Po wykonaniu badania sekcyjnego i stwierdzeniu zaawansowanej grzybicy układu oddechowego, które wskazywało na możliwą immunosupresję, zdecydowano się na dodatkowo na badanie w kierunku wykrycia zakażenia PBF. Ze względu na wartość padłej papugi i podejrzenie, że ptak był chory w chwili sprzedaży, wykonano także badanie w kierunku wykluczenia zakażenia polyomawirusem (*Avian polyomavirus*, APV) oraz *Chlamydomphila psittaci*. Wszystkie te badania wykonano techniką PCR według procedury stosowanej w Zakładzie Chorób Ptaków SGGW (5-7, 18).

W celu przeprowadzenia reakcji PCR w kierunku wykrycia cirkowirusa PBF, DNA przeznaczony do analizy ekstrahowano z próbek wątroby. Izolację DNA przeprowadzono przy użyciu zestawu Sherlock AX (A&A Biotechnology, Gdynia), zgodnie z procedurą podaną przez producenta. Do reakcji PCR wykorzystano następujące pary starterów 5'-AACCTACAGACGGCGAG-3', 5' TGGTACAAGG-AGGACTGTGAC-3'. (18). Amplifikację uzyskanego DNA przeprowadzono w 25 µl mieszaniny reakcyjnej zawierającej: 12,5 µl buforu, 9,5 µl wody, 25 pmoli każdego ze starterów oraz 2 µl matrycy. Po wstępnej denaturacji 96°C 5 min. profil termiczny amplifikacji obejmował 32 cykle (96°C przez

30 s, 60°C przez 30 s, 72°C przez 90 s) oraz elongację końcową 72°C przez 5 min. Uzyskany produkt reakcji PCR był analizowany metodą elektroforezy w 1% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Wielkość produktu amplifikacji (717 bp) określono w odniesieniu do wzorca masowego DNA ladder 50 bp (Fermentas) (18).

### Wyniki i omówienie

W trakcie sekcji stwierdzono zanieczyszczenie okolicy steku kałomoczem barwy białozielonkawej. U padłego ptaka występowała wyrażona w minimalnym stopniu hiperkeratoza części podeszwowej stóp. Podczas sekcji zwłok wykazano obecność dużego ogniska grzybiczego, barwy zielonkawoszarej w obrębie rozwidlenia tchawicy oraz w lewym oskrzeli głównym (ryc. 1). Stwierdzono silne przekrwienie oraz ogniskowe zwątrobień płuca lewego (ryc. 1), a także powiększenie narządu i liczne ogniska w wątrobie (ryc. 2). Odnotowano również zmiany zapalne worków powietrznych brzusznych (ryc. 3). Śledziona była powiększona z bardzo subtelnymi punkcikowatymi wybroczynami (ryc. 4).

W badaniu mikroskopowym nie stwierdzono obecności ciałek wtępowych w komórkach wątrobowych. Nie stwierdzono również zmian w obrębie badanych wycinków żołądka gruczołowego. Ponadto wykazano obecność nielicznych, drobnych ognisk martwicy hepatocytów oraz przerost ściany tętnic grudek śledzionowych.

Badanie mikologiczne. W preparacie bezpośrednim stwierdzono obecność licznych komórek drożdżopodobnych. W badaniu mikologicznym wyhodowano liczne drobnoustroje z rodzaju *Aspergillus*, *Streptomyces* oraz *Candida sp.*

Badanie bakteriologiczne wycinków płuc i wątroby dało wynik negatywny.

Badanie metodą PCR potwierdziło obecność materiału genetycznego wirusa PBFV (ryc. 5). Ponadto metodą tą wykluczono zakażenie badanego żako herpeswirusem choroby Pacheca (*Psittacine herpesvirus*, PsHV), polyomawirusem oraz zakażenie *Chlamydo-phila psittaci*.

W Polsce kliniczne przypadki klasycznej postaci PBFV są obserwowane sporadycznie od 1995 r. (8, 15). Badania epidemiologiczne przeprowadzone przez Piaseckiego i wsp. (11) potwierdzają, że „choroba dzioba i piór” stanowi istotne zagrożenie zdrowotne w krajowych hodowlach papug. Cytowani autorzy potwierdzili obecność materiału genetycznego PBFV u 47 spośród 225 badanych papug, co stanowiło 20,9%. W hodowlach amatorskich odsetek zakażonych papug był znacznie niższy (13,2%) niż w hodowlach profesjonalnych (24,2%) (11).

Ponieważ objawy kliniczne, ostry przebieg choroby i skąpe objawy kliniczne w opisywanym przypadku sugerowały chorobę Pacheca, a właściciele zamierzali wystąpić z roszczeniem rekompensaty straty papugi, zdecydowali się na wykonanie sekcji i badanie his-

topatologiczne w celu potwierdzenia obecności PsHV. Po stwierdzeniu w czasie sekcji grzybicy układu oddechowego, mając na uwadze gatunek ptaka, jego bardzo młody wiek i ostry przebieg choroby zdecydowano się na wykonanie badania w kierunku wykrycia materiału genetycznego PBFV. Badania histopatologiczne i PCR nie potwierdziły choroby Pacheca. Nie stwierdzono zmian sekcyjnych, histopatologicznych wskazujących na zespół neuropatycznego rozszerzenia żołądka gruczołowego (16). Uzyskano także negatywny wynik badania w kierunku polyomawirusów. W trakcie sekcji obserwowano silnie wyrażone zmiany w układzie oddechowym, zwłaszcza w workach powietrznych, ale badanie PCR nie potwierdziło w tym przypadku roli *Chlamydo-phila psittaci*. W piśmiennictwie zgodnie podkreśla się, że typowym następstwem immunosupresji w przebiegu „zespołu młodego żako” są powikłania innymi wirusami lub nadkażenia bakteryjne bądź grzybicze (3, 17).

Na podstawie danych wywiadu i przeprowadzonych badań potwierdzono zakażenie papugi żako cirkowirusem powikłane mieszanym zakażeniem grzybiczym.

### Piśmiennictwo

- Bert E., Tomassone L., Peccati C., Navarrete M. G., Sola S. C.: Detection of Beak and Feather Disease Virus (BFDV) and Avian Polyomavirus (APV) DNA in psittacine birds in Italy. *J. Vet. Med. B* 2005, 52, 64-68.
- Bonne N., Shearer P., Sharp M., Clark P., Raidal S.: Assessment of recombinant beak and feather disease virus capsid protein as a vaccine for psittacine beak and feather disease. *J. Gen. Virol.* 2009, 90, 640-647.
- Doneley R. J.: Acute beak and feather disease in juvenile African Grey parrots – an uncommon presentation of a common disease. *Aust. Vet. J.* 2003, 81, 206-207.
- Gerlach H.: Viruses, [w:] Ritchie B. W., Harrison G. J., Harrison L. R. (wyd.): *Avian Medicine: Principles and Application*. Wingers Publishing, Inc. Florida 1994, 895-903.
- Hewinson G., Griffiths P. C., Bevan B. J., Kirwan S. E. S., Field M. E., Woodward M. J., Dawson M.: Detection of Chlamydia psittaci DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 1997, 54, 155-166.
- Johne R., Knorath A., Krautwald-Junghans M. E., Kaleta E. F., Gerlach H., Müller H.: Herpesviral, but no papovaviral sequences, are detected in cloacal papillomas of parrots. *Arch. Virol.* 2002, 147, 1869-1880.
- Johne R., Müller H.: Avian polyomavirus in wild birds: genome analysis of isolates from Falconiformes and Psittaciformes. *Arch. Virol.* 1998, 143, 1501-1512.
- Kruszewicz A. G.: *Hodowla ptaków ozdobnych*. Multico, Warszawa 2000.
- Latimer K. S., Rakich P. M., Kircher I. M., Ritchie B. W., Niagro F. D., Steffens III W. L., Lukert P. D.: Extracutaneous viral inclusions in psittacine beak and feather disease. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1990, 2, 204-207.
- Pass D. A., Perry R. A.: The pathology of psittacine beak and feather disease. *Aust. Vet. J.* 1984, 61, 69-74.
- Piasecki T., Wieliczko A., Kuczowski M.: Zakażenia wirusem choroby dzioba i piór papug w Polsce. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 1220-1223.
- Rahaus M., Wolff M.: Psittacine beak and feather disease: a first survey of the distribution of beak and feather disease virus inside the population of captive psittacine birds in Germany. *J. Vet. Med. B* 2003, 50, 368-371.
- Ritchie B. W., Niagro F. D., Latimer K. S., Steffens W. L., Pesti D., Ancona J., Lukert P. D.: Routes and prevalence of shedding of psittacine beak and feather disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 1991, 52, 1804-1809.
- Schoemaker N. J., Dorrestein G. M., Latimer K. S., Lumeij J. T., Kik M. J., van der Hage M. H., Campagnoli R. P.: Severe leukopenia and liver necrosis in young African grey parrots (*Psittacus erithacus erithacus*) infected with psittacine circovirus. *Avian Dis.* 2000, 44, 470-478.
- Szeleszczuk P., Ledwoń A.: Cirkowiroza papug. *Życie Wet.* 2003, 78, 437-440.
- Szeleszczuk P., Ledwoń A.: Syndrom neuropatycznego rozszerzenia żołądka gruczołowego papug. *Życie Wet.* 2003, 78, 263-266.
- Todd D.: Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. *Avian Pathol.* 2000, 29, 373-394.
- Ypelaar I., Bassami M. R., Wilcox G. E., Raidal S. R.: A universal polymerase chain reaction for the detection of psittacine beak and feather disease virus. *Vet. Microbiol.* 1999, 68, 141-148.

Adres autora: dr hab. Piotr Szeleszczuk prof. nadzw. SGGW, ul. Mikławskiego 4/25, 02-776 Warszawa; e-mail: Piotr\_Szeleszczuk@sggw.pl