

Zakażenie wirusem polioma w stadzie kanarków

ALEKSANDRA LEDWOŃ, IZABELA DOLKA*, MONIKA ŁUKASIEWICZ**,
BEATA SIENKIEWICZ***, PIOTR SZELESZCZUK***

Zakład Patologii Zwierząt Egzotycznych, Laboratoryjnych, Nieudomowionych i Ryb, *Zakład Patomorfologii Zwierząt,
***Zakład Chorób Ptaków, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
**Zakład Hodowli Drobiu, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Wydział Nauk o Zwierzętach,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Otrzymano 18.12.2013

Zaakceptowano 24.02.2014

Ledwoń A., Dolka I., Łukasiewicz M., Sienkiewicz B., Szeleszczuk P.

Polyomavirus infection in a canary colony

Summary

Polyomavirus was diagnosed in a canary (*Serinus canaria*) colony with signs of debilitation and mortality among young (mostly six-weeks-old) and adult birds, which rarely survived longer than two years. The main pathological changes in necropsied canaries were splenomegaly, hepatomegaly, and kidney swelling. Microscopically, intranuclear inclusion bodies were observed in the liver and kidneys. Necrotic and inflammatory changes were also present in these organs. Less susceptibility was observed in red and black glosters, and in agate canaries. Concurrent infections, such as mycobacteriosis, coccidiosis, atoxoplasma, and bornavirus, were detected in individual birds. Diagnosis was confirmed by a nested PCR test. Polyomavirus appears to have been the primary etiological agent of the disease and immunosuppression.

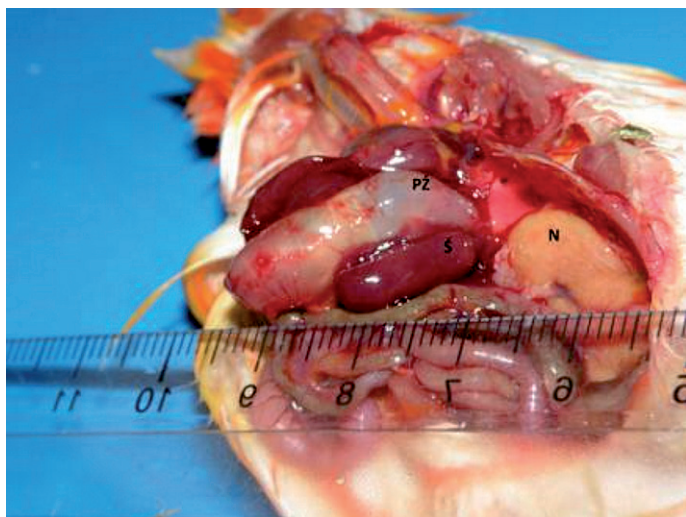
Keywords: canary diseases, *Serinus canaria*, polyomavirus

Zakażenia wirusami polioma u ptaków po raz pierwszy zdiagnozowano u papużek falistych, a towarzyszące im objawy nazwano chorobą opierających się papużek falistych (Budgerigar Fledgling Disease – BFD), ponieważ choroba występowała w okresie opierania się młodych (3, 5, 13). W przebiegu BFD obserwowano nagłe upadki ptaków z największym nasileniem w wieku od 7 do 10 dni i zaburzenia w rozwoju piór w wieku powyżej 3 tygodni. Wodobrzusze, znaczne powiększenie wątroby i *hydropericardium* były najczęściej obserwowanymi zmianami anatomopatologicznymi (7). W kolejnych latach zakażenia wirusem polioma (Avian Polyomaviruses – APyV) stwierdzano u innych gatunków papug łącznie z *Ara* sp. (6, 21). Dotychczas zakażenia tymi patogenami, poza papugami, opisano między innymi u arasari czarnogłowego (*Pteroglossus viridis*) (14), lelków kozodojów (*Caprimulgus europaeus*) (2), wron (*Corvus corone*) – (Crow Polyomaviruses – CPyV) i amadyńców (*Erythrura gouldiae*) – (Finch Polyomaviruses – FPyV). Zakażenia wirusami polioma są również przyczyną krwotocznego zapalenia nerek i jelit u gęsi i kaczek – (Goose Polyomaviruses – GPyV) (4, 8, 11). Wirusy te diagnozowano również u ptaków drapieżnych (10). U kanarków zakażenie wirusem polioma opisano po raz pierwszy w 2009 r. u ptaków zakażonych jednocześnie wirusem ospy (20). Halami i wsp. (9)

zdiagnozowali przypadek poliowirozy w stadzie kanarków, w którym głównymi objawami klinicznymi były: znaczny spadek liczby składanych jaj, a w kolejnym sezonie również spadek wylęgowości. W opisywanym stadzie w okresie 6 tygodni padało około 40% młodych ptaków. Za najbardziej charakterystyczne zmiany anatomopatologiczne uznano: wybroczyny w tkance podskórnej, znaczne powiększenie wątroby, śledziony i bursy Fabrycjusza. Autorzy wykazali pewną różnicę w budowie molekularnej wirusa papug i kanarków, ten ostatni wyodrębnili jako poliowirus kanarków (Canary Polyoma Virus – CaPyV) (9). Dotychczas nie opisano występowania zakażeń wirusem polioma w krajowych hodowlach kanarków.

Opis przypadku

W hodowli utrzymującej kilkadziesiąt par lęgowych w ostatnim sezonie lęgowym stwierdzono spadek wylęgowości o 5% u kanarków czerwonych i do 20% u kanarków o innym ubarwieniu oraz ciągle, niezwiązane z porą roku pierzenie. Jest ciekawe, że najrzadziej objawy chorobowe stwierdzano u glosterów czerwono-czarnych i kanarków agatowych. W latach poprzednich kłopoty z zamieraniem embrionów były mniejsze i po podaniu antybiotyku następowała poprawa. W ostatnim okresie u kanarków nowo zakupionych początkowo nie stwierdzano problemów z rozmnażaniem, lecz z czasem traciły one kondycję i zaczęły



Ryc. 1. Rozszerzenie przedżołądka (PŻ), powiększenie śledziony (Ś) oraz zastój moczanów w silnie obrzękniętych nerkach (N) u samicy kanarka padłej w trakcie obserwacji

pojawiać się upadki. Młode padały w wieku około 6 tygodni. Jest interesujące, że hodowca utrzymujący kanarki i papugi pięć lat wcześniej zlikwidował stado papużek falistych z powodu choroby opierzających się papużek falistych. Około trzy lata po likwidacji stada papużek wystąpiły problemy z przeżywalnością kanarków, które w tej hodowli na ogół nie żyją dłużej niż 2 lata. Typowymi objawami u tych ptaków było odwodnienie i poliuria. Do badania hodowca dostarczył od lutego do maja 2013 r. sześć kanarków, w tym trzy padłe (jeden podczas transportu) i trzy żywe. Jeden z dostarczonych kanarków żywych wykazywał przewlekłe zaburzenia oddechowe oraz średnioliczne *Macrorhabdus ornithogaster* w kale, a pozostałe dwa słabszą ogólną kondycję. Najslabszy kanarek (samica) padł, z poprzedzającymi śmierć objawami osowiałości, nastroszenia piór i poliurii. Dwa pozostałe kanarki żyją do chwili obecnej.

Badanie sekcyjne. Badaniu poddano dwa dwuletnie kanarki: jednego padłego w czasie transportu i drugiego, który padł podczas obserwacji oraz dwa dwumiesięczne padłe u hodowcy, dostarczone w stanie zamrożonym. U wszystkich badanych kanarków stwierdzono znaczne powiększenie wątroby, śledziony i nerek. U kanarka, który padł podczas transportu, stwierdzono ponadto pojedyncze ogniska martwicze w mięśniach piersiowych. U samicy padłej podczas obserwacji stwierdzono również rozszerzenie przedżołądka i pogrubienie ściany worka powietrznego międzyobojczykowego, ponadto u tego ptaka zmiany w nerkach były najsilniej wyrażone (ryc. 1). U jednego z ptaków dostarczonych w postaci zamrożonej stwierdzono silną inwazję kokcydiów, a pojedyncze wtręty *Izospora serini* były widoczne w badaniu cytologicznym u dwóch kanarków.

Badanie histopatologiczne. Do badania pobrano narządy tylko od kanarków, których zwłoki nie były zamrożone. Próbkę utrwalono w 10% buforowanej formalinie, następnie zostały one zatopione w parafinie. Skrawki poddano barwieniu hemotaksyliną i eozyną oraz metodą Ziehl-Neelsena.

U kanarka padłego w transporcie stwierdzono zaburzenie struktury miąższu wątroby, zanik i martwicę hepatocytów a w śledzionie zanik tkanki limfatycznej i rozplem makrofażów. W nerkach obok martwicy i złuszczenia komórek

kanalików stwierdzono obecność słabo bazofilnych ciałek wtrętowych w jądrach komórkowych. Poza tym w narządach badanego kanarka stwierdzono liczne bakterie kwasochłonne. U samicy padłej w trakcie obserwacji w wątrobie stwierdzono ogniskowe nacieki komórek jednojądrowych, kariomegalię oraz wewnątrzjądrowe kwasochłonne ciała wtrętowe. W śledzionie zaobserwowano pojedyncze złoże moczanów, umiarkowanego stopnia zanik utkania limfatycznego, w nerkach złoże moczanów, ogniskową martwicę komórek nabłonka kanalików z rozszerzeniem ich światła, ogniskowo homogenne, kwasochłonne lub krystaloidalne złoże w świetle kanalików, ogniskowo nacieki heterofili oraz amfofilne wtręty w komórkach nabłonka kanalików, karyomegalię komórek nabłonka kanalików i mezangium, ogniskowo zanik mezangium. W błonie śluzowej żołądka gruczołowego i mięśniowego stwierdzono ogniskowy nacieki komórek jednojądrowych, w błonie śluzowej żołądka gruczołowego rozszerzone cewki z amarantowymi złożami, zaś w jelicie cienkim zanik kosmków oraz umiarkowanego stopnia nacieki komórek jednojądrowych.

Badanie bakteriologiczne. Z próbek pobranych od kanarka padłego w trakcie transportu wykonano posiewy z wątroby, śledziony i jelit na podłoża Löwensteina-Jensena. Mimo kilkumiesięcznej inkubacji nie uzyskano wzrostu prątków.

Badanie PCR. Nested PCR wykrywający szerokie spektrum polyomawirusów wykonano według protokołu opisanego przez Johnę i wsp. (9, 11). DNA izolowano z wątrób, śledzion i nerek padłych kanarków za pomocą zestawu Scherlock AX (A&A Biotechnology). Próbkę DNA izolowane z narządów kanarka z mykobakteriozą zbadano również metodą qPCR w kierunku *M. genavense* i *M. avium* (15, 16). Dodatkowo wykonano badanie PCR w kierunku cirkowirusa kanarków CaCV (18). U kanarka z rozszerzonym przedżołądkiem wykonano również RT PCR w kierunku bornawirusa ptaków (12). Izolację RNA z mózgu, wątroby i jelita wykonano za pomocą zestawu Total RNA Mini (A&A Biotechnology), odwrotną transkrypcję wykonano za pomocą Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas).

W badaniu qPCR w kierunku *Mycobacterium genavense* uzyskano słabo dodatni wynik (16). W teście nested PCR w kierunku poliowirusów ptasich uzyskano wynik dodatni we wszystkich badanych próbkach. Test RT PCR w kierunku bornawirusów ptasich wykonany u kanarka z rozszerzeniem przedżołądka był dodatni dla próbki pobranej z mózgu. W badanych próbkach nie wykryto DNA cirkowirusa kanarków.

Omówienie

W badanym stadzie kanarków potwierdzono obecność wielu czynników chorobotwórczych, jednak na pierwszy plan wysunęły się zmiany wywołane przez poliowirusy i obecność tego czynnika chorobotwórczego potwierdzono u wszystkich badanych ptaków. W tym przypadku największe nasilenie zmian związanych ze śmiertelnością młodych następowało w wieku około 6 tygodni, co odpowiada przypadkom opisanym przez Halamię i wsp. (9). Za inny ważny objaw uznano krótką przeżywalność większości ptaków dorosłych

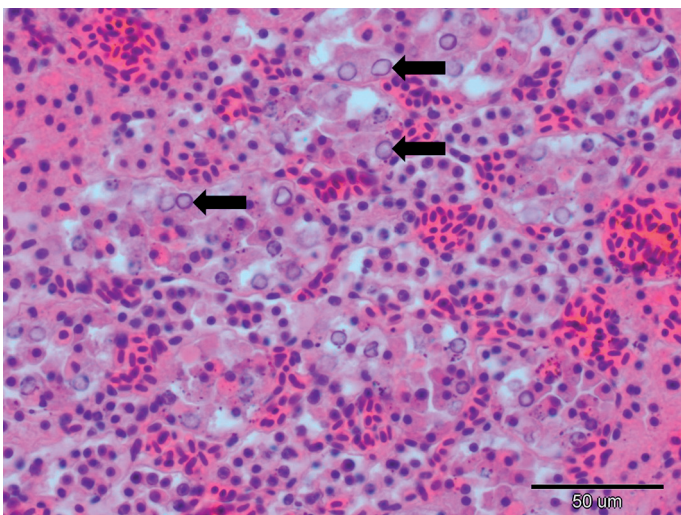
– jedynie do dwóch lat i zaawansowaną niewydolność nerek. Wśród przesłanych kanarków dominowała czerwona barwa upierzenia, jakkolwiek zaburzenia w rozmnażaniu u kanarków czerwonych przybierały mniejsze nasilenie w porównaniu z pozostałymi. U kanarków opisanych przez Halamię i wsp. (9) problem dotyczył tylko kanarków agatowo-żółtych opalizujących i agatowo-białych opalizujących, w badanym przez nas stadzie kanarki agatowe cechowały się stosunkowo wysoką opornością na zakażenie, a najmniej wrażliwe były glostery czerwono-czarne. W publikacji Shivaprasad i wsp. (20) zakażenie wirusem polioma kanarków wystąpiło łącznie z kliniczną postacią ospy, a zmiany dotyczyły kanarków w różnym wieku i o różnej barwie piór. W opisanym stadzie niezbyt nasilone objawy ospy skórnej obserwowano kilka lat wcześniej, ale aktualnie nie były stwierdzane. U kanarka padłego podczas transportu stwierdzono mykobakteriozę, której wystąpienie powiązać można z ogólnym osłabieniem odporności wywołanym przewlekłą infekcją wirusową. W przypadkach opisanych przez innych autorów w przebiegu zakażeń poliowirusami również obserwowano współistniejące infekcje wirusowe i inwazje pierwotniaki (9, 20). W badaniu histopatologicznym typowe ciała wtrętowe znaleziono w nerkach kanarka padłego podczas transportu, natomiast u kanarka padłego w trakcie obserwacji głównie w wątrobie, podczas gdy nerki wykazywały rzadko spotykany stopień nasilenia zmian (ryc. 2). W przypadku opisanym przez Shivaprasad (20) ciała wtrętowe, typowe dla zakażenia poliowirusem, znaleziono w grasicy, oskrzelach, przyoskrzelach i śledzionie. W śledzionie i nerkach ciała wtrętowe znaleziono u kanarków opisanych przez innych autorów (9). U amadyńców (*Erythrura gouldiae*) ciała wtrętowe typowe dla poliowirusów obserwowano w wątrobie (1). Zakażenie wirusem borna stwierdzono u kanarka padłego podczas obserwacji, a jedynym typowym objawem tej infekcji było rozszerzenie przed-

żołądka. W przypadkach opisywanych przez innych autorów klinicznymi objawami choroby były: apatia i wychudzenie, czasem również objawy niezborności wynikającej z predylekcji wirusa do tkanki nerwowej (19, 22). Zastanawiający jest fakt wcześniejszego problemu z kliniczną postacią BFD u papużek falistych utrzymywanych przez tego hodowcę. Jak wynika z piśmiennictwa, poliowirus ptasi był przyczyną upadków utrzymywanych w niewoli lelków kozodójów (2) i arasari czarnogłowego (14). U lelków i arasari stwierdzono zmiany martwicze w wątrobie i śledzionie oraz typowe wewnątrzjądrowe ciała wtrętowe w wątrobie, nerkach i śledzionie. U ptaków tych za źródło zakażenia uznano przebywające w sąsiedztwie papugi, u lelków stwierdzono 99% homologię wyizolowanego patogenu z poliowirusem papug (2, 14). W omawianym przypadku nie wydaje się jednak, aby poliowirus papużek falistych był przyczyną problemu, między innymi dlatego, że typowe objawy choroby u kanarków wystąpiły dopiero po pięciu latach od likwidacji hodowli papużek, mimo iż kanarki były przez cały ten okres hodowane. Wiadomo jednak, że wirus polioma jest bardzo odporny na niekorzystne warunki środowiskowe (17).

Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że wirus polioma mógł być pierwotną przyczyną osłabienia odporności kanarków w badanym stadzie, ponieważ do zakażenia tym wirusem u ptaków nie jest konieczna wcześniejsza immunosupresja, jak w przypadku zakażeń poliowirusami u ssaków (9), a obecność tylko tego patogenu była potwierdzona u wszystkich badanych kanarków. Znaczna liczba drobnoustrojów wikłających zakażenie ma zapewne związek z ciągłym dołączaniem do stada ptaków pochodzących z innych hodowli, w tym również zagranicznych, co powoduje rozprzestrzenianie się wielu czynników zakaźnych.

Piśmiennictwo

1. Alley M., Rasiah I., Lee E., Howe L., Gartrell B.: Avian polyomavirus identified in a nestling Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*) in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 2013, 61, 359-361.
2. Arroube A. S., Halami M. Y., John R., Dorrestein G. M.: Mortality due to polyomavirus infection in two nightjars (*Caprimulgus europaeus*). *J. Avian Med. Surg.* 2009, 23, 136-140.
3. Bozeman L. H., Davis R. B., Gaudry D., Lukert P. D., Fletcher O. J., Dykstra M. J.: Characterization of a papovavirus isolated from fledgling budgerigars. *Avian Dis.* 1981, 25, 972-980.
4. Corrand L., Gelfi J., Albaric O., Etievant M., Pingret J. L., Guerin J. L.: Pathological and epidemiological significance of goose haemorrhagic polyomavirus infection in ducks. *Avian Pathol.* 2011, 40, 355-360.
5. Davis R. B., Bozeman L. H., Gaudry D., Fletcher O. J., Lukert P. D., Dykstra M. J.: A viral disease of fledgling budgerigars. *Avian Dis.* 1981, 25, 179-183.
6. Deb A., Foldenauer U., Borjal R. J., Streich W. J., Lücken C., John R., Müller H., Hammer S.: A longitudinal study on avian polyomavirus-specific antibodies in captive Spix's macaws (*Cyanopsitta spixii*). *J. Avian Med. Surg.* 2010, 24, 192-198.
7. Gough J. F.: Outbreaks of budgerigar fledgling disease in three aviaries in Ontario. *Can. Vet. J.* 1989, 30, 672-674.
8. Guerin J. L., Gelfi J., Dubois L., Vuillaume A., Boucraut-Baralon C., Pingret J. L.: A novel polyomavirus (goose hemorrhagic polyomavirus) is the agent of hemorrhagic nephritis enteritis of geese. *J. Virol.* 2000, 74, 4523-4529.
9. Halami M. Y., Dorrestein G. M., Couteel P., Heckel G., Müller H., John R.: Whole-genome characterization of a novel polyomavirus detected in fatally diseased canary birds. *J. Gen. Virol.* 2010, 91, 3016-3022.



Ryc. 2. Obecność amfofilnych ciałek wtrętowych w jądrach komórek nabłonka kanalików nerkowych (strzałki). Barwienie hematoksylina-eozyną (H-E), pow. 400 ×

10. *Johne R., Müller H.*: Avian polyomavirus in wild birds: genome analysis of isolates from Falconiformes and Psittaciformes. *Arch. Virol.* 1998, 143, 1501-1512.
11. *Johne R., Wittig W., Fernández-de-Luco D., Höfle U., Müller H.*: Characterization of two novel polyomaviruses of birds by using multiply primed rolling-circle amplification of their genomes. *J. Virol.* 2006, 80, 3523-3531.
12. *Kistler A. L., Gancz A., Clubb S., Skewes-Cox P., Fischer K., Sorber K., Chiu C. Y., Lublin A., Mechani S., Farnoushi Y., Greninger A., Wen C. C., Karlene S. B., Ganem D., DeRisi J. L.*: Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. *Virol. J.* 2008, 5, 88.
13. *Krautwald M. E., Müller H., Kaleta E. F.*: Polyomavirus infection in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): clinical and aetiological studies. *Zentralbl. Veterinarmed. B* 1989, 36, 459-467.
14. *Lafferty S. L., Fudge A. M., Schmidt R. E., Wilson V. G., Phalen D. N.*: Avian polyomavirus infection and disease in a green aracarid (*Pteroglossus viridis*). *Avian Dis.* 1999, 43, 577-585.
15. *Ledwoń A., Sapiernyński R., Augustynowicz-Kopeć E., Kozak M., Szeleszczuk P.*: Experimental inoculation of BFDV positive budgerigars with *Mycobacterium avium* subsp. *avium* strains. *Proc. 1st International Conf. on Avian, Herpetological and Exotic Mammal Medicine.* 20-26 April, 2013 Wiesbaden, Germany, str. 485-487.
16. *Ledwoń A., Szeleszczuk P., Malicka E., Dolka I., Zwolska Z., Augustynowicz-Kopeć E., Zabost A.*: Mycobacteriosis caused by *Mycobacterium genavense* in lineolated parakeet (*Bolborhynchus lineola*). A case report. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 209-212.
17. *Nims R. W., Plavsic M.*: Polyomavirus inactivation – a review. *Biologicals* 2013, 41, 63-70.
18. *Phenix K. V., Weston J. H., Ypelaar L., Lavazza A., Smyth J. A., Todd D., Wilcox G. E., Raidal S. R.*: Nucleotide sequence analysis of a novel circovirus of canaries and its relationship to other members of the genus *Circovirus* of the family *Circoviridae*. *J. Gen. Virol.* 2001, 82, 2805-2809.
19. *Rubbenstroth D., Rinder M., Stein M., Höper D., Kaspers B., Brosinski K., Horie M., Schmidt V., Legler M., Korbel R., Staeheli P.*: Avian bornaviruses are widely distributed in canary birds (*Serinus canaria* f. *domestica*). *Vet. Microbiol.* 2013, 165, 287-295.
20. *Shivaprasad H. L., Kim T., Tripathy D., Woolcock P. R., Uzal F.*: Unusual pathology of canary poxvirus infection associated with high mortality in young and adult breeder canaries (*Serinus canaria*). *Avian Pathol.* 2009, 38, 311-316.
21. *Wainright P. O., Lukert P. D., Davis R. B., Villegas P.*: Serological evaluation of some psittaciformes for budgerigar fledgling disease virus. *Avian Dis.* 1987, 31, 673-676.
22. *Weissenböck H., Sekulin K., Bakonyi T., Högler S., Nowotny N.*: Novel avian bornavirus in a nonsittacine species (Canary; *Serinus canaria*) with enteric ganglioneuritis and encephalitis. *J. Virol.* 2009, 83, 11367-11371.

Adres autora: dr Aleksandra Ledwoń, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: aledwonn@yahoo.pl