

# Przypadki bornawirozy u kanarków rozpoznane w Polsce

ALEKSANDRA LEDWOŃ, IZABELLA DOLKA\*, BEATA DOLKA\*\*,  
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. Ciszewskiego 8, 02-787 Warszawa

Otrzymano 26.02.2014

Zaakceptowano 04.11.2014

Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Sienkiewicz B., Szeleszczuk P.  
**Cases of bornavirus infection in canaries recognized in Poland**

## Summary

Proventricular dilatation disease (PDD) is a fatal disorder that has been described in psittacine birds for a longer time, but bornavirus as the cause of that disease was only recognized recently. PDD is characterized by lymphoplasmacytic infiltration of the ganglia of the central and peripheral nervous system, leading to central nervous system disorders as well as motility of the gastrointestinal tract and associated degeneration. New research has revealed that bornavirus infection also occurs in other bird species, including the canary (*Serinus canaria*). Clinical and histopathological signs are similar in canaries as in psittacine birds, but regurgitation and whole seeds in feces were not observed in the presented cases as described by others. The three cases of canary bornavirus infection originate from different flocks in different parts of Poland; thus probably also in our country the virus can be widely distributed.

**Keywords:** bornavirus, canary viral diseases, neurological signs, proventricular dilatation disease

Bornawirusy od wielu lat znane są jako przyczyna choroby bornaskiej u koni i owiec (9). Choroba bornaska wystąpiła również u strusi (1, 11). Dopiero w 2008 r. bornawirusy ptaków zostały opisane jako przyczyna neuropatycznego rozszerzenia przedżołądka u papug – Proventricular Dilatation Disease (PDD) (6-8), mimo iż pierwsze przypadki PDD u papug opisano już w 1970 r. (4). Dzięki badaniom nad etiologią neuropatycznego rozszerzenia przedżołądka u papug zdiagnozowano tę chorobę także u innych ptaków, w tym u kanarków. Zakażenia bornawirusami stwierdzane były również u bernikli kanadyjskiej (*Branta canadensis*), dzwońca (*Carduelis chloris*), strojnoczuba długobrodego (*Cephalopterus penduliger*), węsala żółtookiego (*Lybius dubius*), warzęchy różowej (*Platalea ajaja*), sokoła wędrownego (*Falco peregrinus*) i tukanów (*Ramphastidae*) (3, 5, 14, 16, 17, 19). Dotychczas wyszczególniono 6 genotypów bornawirusów, ale nie stwierdzono różnic w obrazie klinicznym choroby wywołanej przez poszczególne typy (18). U kanarków wyodrębniono 3 podgrupy bornawirusów i tutaj również nie stwierdzono podobnej korelacji (15). Bornawirusy ptaków powodują uszkodzenie nerwów autonomicznych przełyku, wola, przedżołądka, żołądka i dwunastnicy. W badaniu

histopatologicznym stwierdza się nacieki limfoplasmacytyczne w obrębie zwojów nerwowych przewodu pokarmowego. Podobne nacieki mogą być również obserwowane w mózgu, rdzeniu kręgowym, nerwach obwodowych, tkance przewodzącej serca, mięśniach gładkich i mięśniu sercowym. Zmiany w badaniu histopatologicznym u kanarków są bardzo podobne do występujących u papug (2, 8, 10, 12, 17).

## Materiał i metody

Badane ptaki pochodziły z trzech różnych hodowli (tab. 1). Oznaczono je, odpowiednio, jako kanarek A, B i C według kolejności ich dostarczenia lub przesłania do ambulatorium przez hodowców. Kanarki A i B leczono, a wobec postępującego pogorszenia poddano eutanazji poprzez dożylnie podanie preparatu Morbital® (Biowet, Puławy). Trzeci kanarek (C) nie był leczony, padł po 2 tygodniach obserwacji. W trakcie badania sekcyjnego od badanych kanarków pobrano fragmenty mózgu, mózdzku, wątroby, śledziony, przedżołądka z żołądkiem i rdzenia kręgowego.

Materiał skierowany do badań histopatologicznych był utrwalany w 10% zbuforowanej formalinie, następnie odwodniony w szeregu alkoholi i zatopiony w parafinie. Skrawki parafinowe barwiono metodą przeglądową hematoxylina-eozyna (H-E).

Tab. 1. Opis badanych ptaków

Hodowla/ lokalizacja	Pochodzenie ptaka	Kanarek	Opis	Objawy neurologiczne	Terapia	Uwagi
MA/ Mazowieckie	Polska	A	ptak w typie kanarka harceńskiego, samiec w wieku 6 miesięcy	tak	tak	kanarek utrzymywany w hodowli z innymi ptakami, również papugami
MB/ Mazowieckie	Włochy	B	kanarek rasy Yorkshire, 2 letni samiec	tak	tak	utrzymywany w hodowli z innymi kanarkami, jeden raz przystępował do lęgów, padła samica i jeden młody (nie zauważono objawów neurologicznych), drugi młody klinicznie zdrowy
PC/ Pomorskie	Polska	C	kanarek w typie rasy norwik, samica w wieku około 1 roku	nie	nie	u tego osobnika, jak i innych kanarków w stadzie stwierdzono również zakażenie poliomawirusem

Ponadto pobrano próbki mózgu, wątroby, przedżołądka i śledziony do badania RT-PCR. Izolację RNA wykonano za pomocą zestawu Total RNA Mini Plus (A&A Biotechnology), odwrotną transkrypcję za pomocą RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific Fermentas, Finnzymes, Abgene).

Reakcję RT-PCR przeprowadzono wg Kistrel i wsp. (2008) z zastosowaniem DreamTaq™ Master Mix. – Thermo Scientific (Fermentas, Finnzymes, Abgene).

### Wyniki i omówienie

U kanarka A zaobserwowano zaprzestanie śpiewu i objawy postępującej niezborności (ryc. 1A). Apetyt początkowo zachowany, masa ciała 19 g. Objawy neurologiczne z czasem ulegały nasileniu, apetyt znacznemu osłabieniu. Z tego powodu kanarek był dokarmiany przez sondę pokarmem dla piskląt, mimo to masa ciała stopniowo się obniżała. Po trzech tygodniach ptak został poddany eutanazji przy masie ciała 14 g. W tej samej hodowli obserwowano jeszcze dwa podobne przypadki, obydwa kanarki padły, ale ich zwłok nie dostarczono do badań.

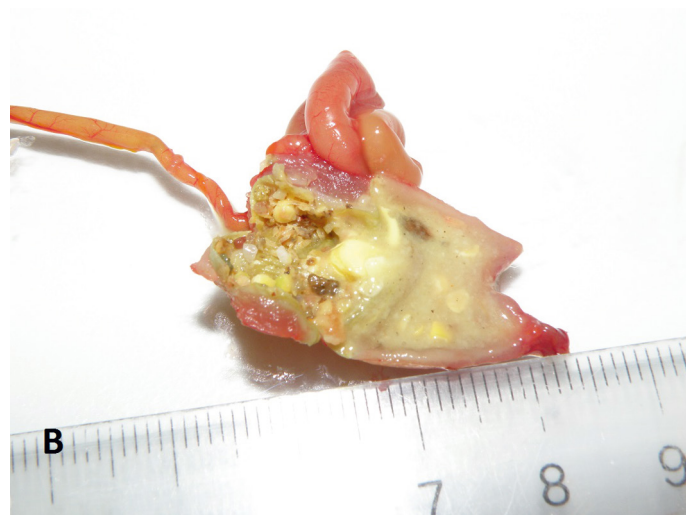
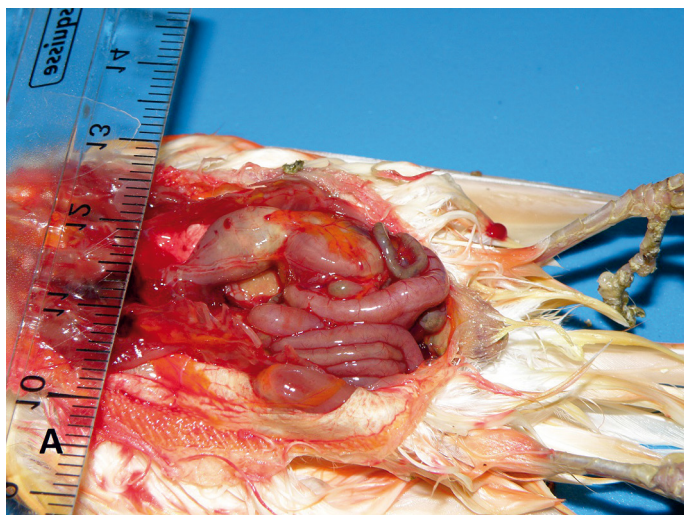
W badaniu anatomopatologicznym kanarka A stwierdzono wychudzenie oraz obecność w żołądku nieroztartego ziarna, bez widocznego rozszerzenia samego narządu. W badaniu histopatologicznym przedżołądka stwierdzono umiarkowany naciek komórek jednojądrowych w błonie podśluzowej, obejmujący również zwoje nerwowe i błonę surowiczą. Wokół

trzewnych zwojów nerwowych żołądka i naczyń krwionośnych stwierdzono pojedyncze komórki nacieku zapalnego. W mózgu obserwowano ogniskowo zwyrodnienie neuronów, neuronofagię, przekrwienie oraz ogniskowo wakuolizację istoty szarej. W mózdzku – zanik komórek Purkiniego. W rdzeniu kręgowym widoczny był ogniskowy zanik i cechy zwyrodnienia komórek zwojowych, a w obrębie zwojów otaczających stwierdzono naciek zapalny. Wynik badania RT-PCR w kierunku bornawirusów u tego osobnika był jednak ujemny.

Pierwsze objawy choroby zauważone przez właściciela kanarka B to ataksja – przewracanie się na boki lub na grzbiet, niezborne ruchy nóg, pozycja rozkroczna (ryc. 1B), spadek masy ciała mimo zachowanego apetytu. Badanie wymazu z wola wykazało obecność dość licznych *Trichomonas* sp. Podjęto leczenie farmakologiczne i dokarmianie. Początkowo uzyskano niewielką poprawę, ale po kilku dniach nastąpiło ponowne nasilenie objawów. Wobec braku poprawy stanu zdrowia kanarka poddano eutanazji po około 3 tygodniach od wystąpienia pierwszych objawów. U kanarka B stwierdzono rozszerzenie przelyku, przedżołądka (ryc. 2B), kloaki i umiarkowane dwunastnicy. W przelyku i przedżołądku był obecny pokarm, w żołądku częściowo rozrzucone ziarno. W badaniu mikroskopowym przedżołądka stwierdzono rozlany naciek komórek jednojądrowych w błonie śluzowej i podśluzowej, obejmujący widoczne zwoje



Ryc. 1. Objawy niezborności u kanarków zakażonych bornawirusem. A – kanarek A; B – kanarek B

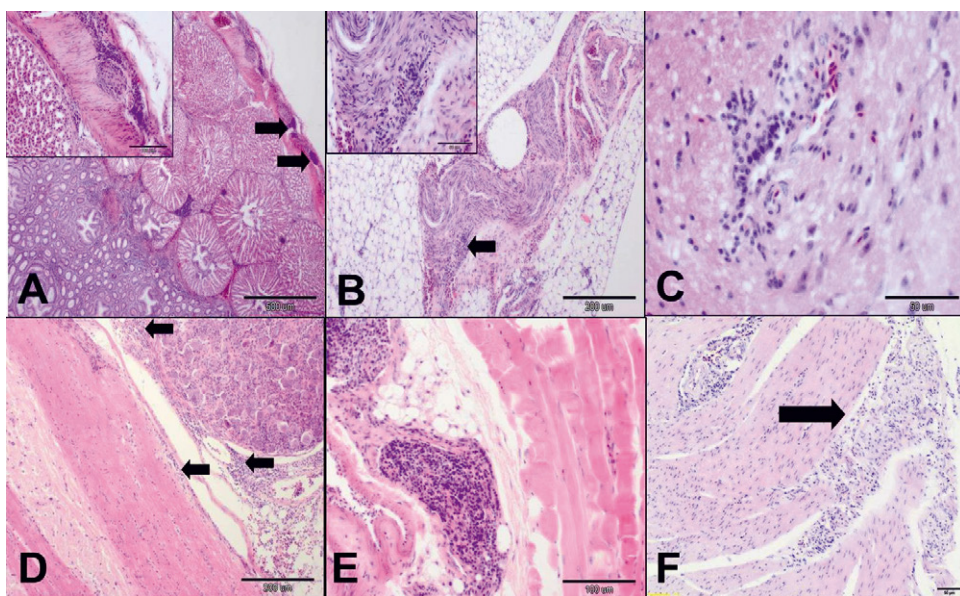


Ryc. 2. A – Rozszerzenie przedżołądka u kanarka C; B – zalegająca treść pokarmowa w przedżołądku kanarka B

nerwowe i błonę surowiczą. Stwierdzono również rozrost nabłonka gruczołów błony śluzowej. W żołądku mięśniowym pojedyncze komórki nacieku zapalnego widoczne były w trzewnych zwojach nerwowych i błonie surowiczej. W mózgu zaobserwowano ogniskowe zwyrodnienie komórek zwojowych, rozplem komórek glejowych, przekrwienie i pojedyncze komórki nacieku zapalnego. W nerwie kulszowym i splocie lędźwiowo-krzyżowym wykazano obecność nacieków zapalnych (ryc. 3). W mięśniu sercowym stwierdzono martwicę kardiomiocytów i naciek zapalny w obrębie zwojów i naczyń krwionośnych. Badanie RT-PCR (8) wykazało obecność RNA wirusa w narządach badanego ptaka. Kanarek przebywał z samicą, która padła około 2 miesiące wcześniej, po zniesieniu jaj. Samica nie wykazywała objawów neurologicznych. Z pierwszego lęgu przeżył 1 młody – do tej pory jest klinicznie zdrowy.

U kanarka C obserwowano stopniowe pogarszanie się kondycji ogólnej i poliurię, nie stwierdzano

natomiast objawów neurologicznych. W badaniu sekcijnym tego ptaka, oprócz uszkodzenia nerek, wątroby i powiększenia śledziony, stwierdzono również rozszerzenie przedżołądka z zalegającą w nim treścią (ryc. 2A). W badaniu histopatologicznym w błonie śluzowej żołądka gruczołowego i mięśniowego obecne były ogniskowe nacieki komórek jednojądrowych, w błonie śluzowej przedżołądka również rozszerzone cewki z amarantowymi złożami, a w jelicie cienkim zanik kosmków oraz umiarkowanego stopnia naciek komórek jednojądrowych. W mózgu stwierdzono przekrwienie, obrzęk, rozplem mikrogleju i neuronofagię. W badaniu RT-PCR mózgu (8) stwierdzono obecność RNA bornawirusa ptaków. U innych sekcjonowanych ptaków z tego stada nie wykazano zmian o podobnym charakterze, jednak z wywiadu wynika, iż występowały pojedyncze przypadki kanarków z zaburzeniami neurologicznymi, jak i zmianami w obrębie gałki ocznej przypominającymi zaćmę.



Ryc. 3. Nacieki komórek jednojądrowych w obrębie zwojów nerwowych (strzałki): A – żołądka gruczołowego; B – nerwu kulszowego; C – mózgu; D – splocu lędźwiowo-krzyżowego; E – mięśni szkieletowych; F – naczyń krwionośnych warstwy mięśniowej żołądka mięśniowego

Objawy kliniczne choroby bornaskiej u ptaków można podzielić na wynikające z uszkodzenia nerwów obwodowych – głównie w przewodzie pokarmowym oraz dotyczące centralnego układu nerwowego. W praktyce stwierdza się, że najczęściej występują one łącznie. Objawy dotyczące układu żołądkowo-jelitowego, pierwotnie opisywane u papug, to: osłabienie apetytu, regurgitacje, obecność niestrawionego pokarmu (np. całego ziarna) w kale. Z kolei symptomy wynikające ze zmian w centralnym układzie nerwowym to głównie: niezdolność, nienormalny chód, zaburzenia czucia głębokiego (4, 8). U nieleczonych ptaków dochodzi zwykle do śmierci, w niektórych

przypadkach u leczonych i dokarmianych pokarmem półpłynnym papug możliwe było utrzymanie ich przy życiu niekiedy przez dłuższy czas (4). U badanych przez nas jak i innych autorów (14, 15, 19) kanarków nie obserwowano problemu z obecnością całych ziaren w kałomoczu, jak i regurgitacji, apetyt początkowo był dobry, a nawet wzmożony (13), w miarę pogarszania się stanu ogólnego ulegał jednak osłabieniu. W pierwszych dwóch opisanych przez nas przypadkach dominowały objawy ze strony układu nerwowego, głównie ataksja, początkowo umiarkowana, pogłębiająca się w ciągu kilku tygodni. U kanarka C stwierdzono jedynie postępujące osłabienie i utratę kondycji. W przypadkach opisanych przez Rubbenstroth i wsp. (15) u kanarków naturalnie zakażonych bornawirusem również stwierdzono zróżnicowany obraz kliniczny: najczęściej obserwowano biegunkę i rozszerzenie przedżołądka widoczne na zdjęciach rtg, jak i pośmiertnie. Na krótko przed śmiercią u pojedynczych ptaków obserwowano zapalenie naczyń i siatkówki oka (*chorioretinitis*) oraz ostre zaburzenia neurologiczne – ruchy manewrowe, drgawki i konwulsje. W przypadku opisywanym przez Perpiñán i wsp. (14) obserwowane objawy to: polifagia, utrata masy ciała, osłabienie i ataksja. Badane przez nas kanarki nie wykazywały objawów drgawkowych ani zmian w obrębie gałki ocznej, jednak w jednej z hodowli zdarzały się przypadki zaćmy.

Podobnie jak w materiale własnym, tak i w danych z piśmiennictwa (15, 19) sekcyjnie stwierdza się występowanie rozszerzenia przedżołądka, jednakże w jednym przypadku, podobnie jak opisali Perpiñán i wsp. (14) rozszerzenie przedżołądka nie było widoczne mimo występowania zmian mikroskopowych. W przypadkach opisywanych przez innych autorów (19) w badaniu histopatologicznym mózgu stwierdzono ogniskowo umiarkowanego stopnia nacieki okołonaczyniowe złożone z komórek jednojądrzastych, szczególnie w rejonach sąsiadujących z komorami bocznymi, to znaczy hipokampem, strzępkami hipokampa, polem przyhipokampowym i w korze pośredniej (*meso pallium*). Zmianom tym towarzyszyły aktywacja i przerost astrocytów. Podobnie rozplem komórek glejowych miał również miejsce w przypadku kanarków B i C, dodatkowo u pierwszych dwu ptaków stwierdzono zwyrodnienie komórek zwojowych. Typową zmianą mikroskopową u badanych kanarków, opisywaną także przez innych autorów, był stan zapalny w obrębie trzewnych zwojów nerwowych przewodu pokarmowego (*myenteric ganglioneuritis*), zlokalizowanych w przedżołądku, żołądka i czasem dwunastnicy. Często nacieki zapalne rozszerzały się również na sąsiadującą tkankę łączną lub mięśniówkę gładką. Inne narządy (wątroba, płuca i nerki) nie wykazywały zmian histopatologicznych (14, 15, 19), jednak zaobserwowano je u kanarka C w związku z dodatkowym zakażeniem poliomyawirusem.

Test RT-PCR w kierunku bornawirusów u kanarka A wypadł ujemnie, może mieć to związek z degradacją RNA wirusa, która dość łatwo zachodzi szczególnie w wyniku nieprawidłowości w przechowywaniu próbek.

W Niemczech stwierdzono zakażenie bornawirusami w 40% badanych hodowli kanarków (15). Każdy z opisanych przez nas przypadków pochodził z innej hodowli, co może świadczyć o tym, iż problem bornawirozy kanarków w Polsce może być równie szeroko rozpowszechniony, także za sprawą powszechnego w ostatnich latach importu tych ptaków.

## Piśmiennictwo

1. Ashash E., Malkinson M., Meir R., Perl S., Weisman Y.: Causes of losses including a Borna disease paralytic syndrome affecting ostriches of one breeding organization young over a five-year period (1989-1993). *Avian Dis.* 1996, 40, 240-245.
2. Berhane Y. S. D., Newman S., Taylor M., Nagy E., Binnington B., Hunter B.: Peripheral neuritis in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Avian Pathol.* 2001, 30, 563-570.
3. Daoust P. Y., Julian R. J., Yason C. Y., Artsob H.: Proventricular impaction associated with nonsuppurative encephalomyelitis and ganglioneuritis in two Canada geese. *J. Wildl. Dis.* 1991, 27, 513-517.
4. Gregory C., Latimer K. S., Niagoro F., Ritchie B. W., Campagnoli R. P., Norton T. M., Greenacre C. B.: A review of proventricular dilatation syndrome. *J. Assoc. Avian. Vet.* 1994, 8, 69-75.
5. Gregory C. R., Ritchie B. W., Latimer K. S., Steffens W. L., Pesti D., Campagnoli R. P., Luckert P. D.: Progress in understanding proventricular dilatation disease. *Proc. Ann. Conf. Assoc. Avian. Vet.* 2000, s. 269-275.
6. Honkavuori K. S., Shivaprasad H. L., Williams B. L., Quan P. L., Hornig M., Street C., Palacios G., Hutchison S. K., Franca M., Egholm M., Briese T., Lipkin W. I.: Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, 14, 1883-1886.
7. Kirsi S., Honkavuori K. S., Shivaprasad H. L., Williams B. L., Quan P. L., Hornig M., Street C., Palacios G., Hutchison S. K., Franca M., Egholm M., Briese T., Lipkin W. I.: Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, 14, 1883-1886.
8. 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. *Virology.* 2008, 5, 88.
9. Lipkin W. I., Briese T.: Bornaviridae. [w:] Knipe D. M., Howley R. M. (wyd.): *Virology*. 5th ed. Lippincott, Williams&Wilkins, Philadelphia 2007, s. 1829-1851.
10. Lutz M. E., Wilson R. B.: Psittacine proventricular dilatation syndrome in an umbrella cockatoo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991, 198, 1962-1964.
11. Malkinson M., Weisman Y., Ashash E., Bode L., Ludwig H.: Borna disease in ostriches. *Vet. Rec.* 1993, 133, 304.
12. Mannl A., Gerlach H., Leipold R.: Neuropathic gastric dilatation in psittaciformes. *Avian Dis.* 1987, 31, 214-221.
13. Nam S. K., Im J., Kwak Y., Han N., Nam K. H., Seo A. N., Lee H. S.: Effects of fixation and storage of human tissue samples on nucleic acid preservation. *Korean J. Pathol.* 2014, 48, 36-42.
14. Perpiñán D., Fernández-Bellón H., López C., Ramis A.: Lymphoplasmacytic myenteric, subepicardial, and pulmonary ganglioneuritis in four nonpsittacine birds. *J. Avian Med. Surg.* 2007, 21, 210-214.
15. 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.
16. Shivaprasad H.: Proventricular dilatation disease in peregrine falcon (*Falco peregrinus*). *Proc. Annu. Conf. Assoc. Avian Vet.* 2005, s. 107-108.
17. Staeheli P., Rinder M., Kaspers B.: Avian bornavirus associated with fatal disease in psittacine birds. *J. Virol.* 2010, 84, 6269-6275.
18. Vice C. A.: Myocarditis as a component of psittacine proventricular dilatation syndrome in a Patagonian conure. *Avian Dis.* 1992, 36, 1117-1119.
19. Weissenböck H., Sekulin K., Bakonyi T., Högl S., Nowotny N.: Novel avian bornavirus in a nonpsittacine species (Canary; *Serinus canaria*) with enteric ganglioneuritis and encephalitis. *J. Virol.* 2009, 83, 11367-11371.

Adres autora: dr Aleksandra Ledwoń, ul. Ciszewskiego 8, 02-787 Warszawa; e-mail: aledwonn@yahoo.pl