

Polymavirusinfektionen bei exotischen Vögeln in der Schweiz

Autor(en): **Sandmeier, P. / Gerlach, H. / Johne, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **141 (1999)**

Heft 5

PDF erstellt am: **16.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-591465>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Kleintier- und Vogelpraxis Baden-Dättwil¹, Praxis für Tierpathologie Dr. von Bombard, München², und Institut für Virologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig³

Polyomavirusinfektionen bei exotischen Vögeln in der Schweiz

P. Sandmeier¹, H. Gerlach², R. Jobne³, H. Müller³

Zusammenfassung

Infektionen mit Polyomaviren wurden bei Wellensittichen, anderen Papageienartigen wie auch bei Singvögeln in verschiedenen Ländern beschrieben. In dieser Arbeit wird über ihr erstmaliges Auftreten in der Schweiz, in drei verschiedenen Vogelbeständen, berichtet. Es handelt sich dabei um je einen Bestand mit verschiedenen Singvögeln (*Passeriformes*), mit Sperlingspapageien (*Genus Forpus*) und schliesslich um einen mit gemischten Papageien (*Psittaciformes*), in dem nur ein neu zugekaufter Kea (*Nestor notabilis*) betroffen war. Die klinischen Symptome, die pathologisch-anatomischen Veränderungen sowie die histopathologischen Befunde werden beschrieben. Zur Sicherung der Diagnose wurde ein Virusnachweis mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt.

Schlüsselwörter: Aviäres Polyomavirus (APV) – Budgerigar Fledgling Disease (BFD) – Polymerase-Kettenreaktion (PCR) – Membranöse Glomerulopathie

Polyomavirus infections in exotic birds in Switzerland

Polyomavirus infections in budgerigars, in other parrots as well as in passeriformes have been described in many countries, but not in Switzerland so far. This paper reports on cases of polyomavirus infections in three different bird collections in Switzerland. The first outbreak occurred in a mixed collection of passeriformes, the second in a collection of parrotlets (*Genus Forpus*), and the third in a large group of parrots (*Psittaciformes*), of which only one recently acquired Kea (*Nestor notabilis*) was affected. The clinical symptoms, gross necropsy changes and histopathologic findings are described. The presence of avian polyomavirus was confirmed by the polymerase chain reaction (PCR).

Key words: avian polyomavirus (APV) – Budgerigar Fledgling Disease (BFD) – polymerase chain reaction (PCR) – membranous glomerulopathy

Einleitung

Polyomaviren gehören zusammen mit den Papillomaviren zur Familie der Papovaviridae. Erstere bilden 40–50 nm grosse, unbehüllte Viruspartikel (Abb. 1), die ein zirkuläres, doppelsträngiges Genom aus DNA enthalten. Durch Polyomaviren verursachte Erkrankungen bei jungen Wellensittichen wurden erstmals von Bernier et al. (1981) und Bozemann et al. (1981) als Budgerigar Fledgling Disease (BFD) beschrieben. Der Krankheitserreger wurde charakterisiert (Müller und Nitschke, 1986; Lehn und Müller, 1986) und zunächst als Budgerigar Fledgling Disease Virus (BFDV) bezeichnet. Heute ist die Bezeichnung

Aviäres Polyomavirus (APV) gebräuchlich (Jobne und Müller, 1998). Klinische Symptome, die im Zusammenhang mit BFD auftreten, sind subkutane Blutungen, Auftreibung des Abdomens, Ataxien und Tremor. Viele der befallenen Wellensittiche sterben in den ersten Lebenswochen, oft innerhalb von wenigen Stunden. Überlebende Jungvögel entwickeln Federmissbildungen, vor allem dystrophische Schwung- und Schwanzfedern oder fehlende Daunenfedern (Krautwald et al., 1989; Ritchie, 1995).

Polyomaviren, die andere Vogelspezies infizieren, sind morphologisch und hinsichtlich ihrer antigenen Eigenschaften dem BFDV weitgehend ähnlich (Stoll et al.,

1993; Johné und Müller, 1998), das klinische Bild hingegen kann verschieden sein. Perakute Todesfälle ohne vorausgehende klinische Symptome charakterisieren Polyomavirusinfektionen bei jungen Nicht-Wellensittich-Psittaziden (Gerlach, 1994), wobei hier auch adulte Tiere betroffen sein können. Antikörperbestimmungen lassen allerdings vermuten, dass viele Polyomavirusinfektionen bei Nicht-Wellensittich-Psittaziden subklinisch bleiben und die Immunantwort einen Krankheitsausbruch verhindert (Ritchie, 1995). Bei *Passeriformes* (Singvögeln) liegen verschiedene Berichte über Polyomavirusinfektionen vor (z. B. von Sironi et al., 1987; Garcia et al., 1994), wobei neben Todesfällen bei Jungvögeln auch Infektionen von adulten beschrieben werden.

Die Epizootologie der Polyomavirusinfektion wirft noch viele Fragen auf. Asymptomatische Adultvögel, die intermittierend Viren ausscheiden, werden für die Übertragung und Ausbreitung der Viren innerhalb der Vogelpopulationen verantwortlich gemacht. Experimentelle Daten zeigen, dass eine Übertragung sowohl horizontal als auch vertikal stattfinden kann. Viren wurden sowohl in Epithelzellen des Kropfes, der Lunge, der Niere und der Kloake als auch in Epithelzellen der Federfollikel nachgewiesen. Dies lässt eine direkte oder indirekte Übertragung durch Fütterung, Urin- und Kotausscheidung sowie durch Federstaub vermuten (Gerlach, 1994). Untersuchungen von Polyomavirusisolationen wildlebender Vögel deuten auf eine weite Verbreitung dieser Viren in unterschiedlichen Spezies der Wildpopulation mit der Möglichkeit einer wechselseitigen Übertragung hin (Johné und Müller, 1998).

Am lebenden Vogel zeigt der Nachweis virusneutralisierender Antikörper eine zurückliegende oder eine aktuelle Infektion mit Polyomaviren an. Polyomaviren ausscheidende Vögel können anhand eines DNA-Nachweises in einer Kloakentupferprobe mittels PCR erkannt werden. Allerdings ist zu bedenken, dass nicht alle Virus-träger ständige Ausscheider sind (Phalen et al., 1994; Niagro et al., 1990). Die PCR eignet sich auch zum viralen Genomnachweis in Federn erkrankter Jungvögel, die eine akute Infektion überlebt haben. Post mortem lässt sich mit Hilfe der PCR virale DNA auch in Formalin-fixierten Organen wie Herz, Leber und Niere nachweisen (Gerlach et al., 1998; Johné und Müller, 1998). Als weiteres Verfahren wurde eine DNA-Hybridisierung zum Nachweis des Polyomavirus-Genomes in Paraffin-eingebettetem Organmaterial entwickelt (Garcia et al., 1994). Das Virus lässt sich in aviären Zellkulturen anzüchten, in denen es einen typischen zytopathischen Effekt hervorruft. Als Standardsystem wird die primäre Hühnerembryofibroblasten-Kultur (HEF) verwendet, wobei allerdings auch ein Isolat beschrieben wurde, das sich in diesem System nicht vermehren lässt (Stoll et al., 1994).

Histopathologisch ist die Krankheit durch den Nachweis grosser, homogen aussehender, intranukleärer Einschlusskörperchen (Karyomegalie) charakterisiert, die sich nur blass basophil oder gar nicht gefärbt in der HE-Färbung darstellen. Betroffen sind Epithelzellen oder Zellen epithelialer Herkunft und Makrophagen. Bei Wellensit-

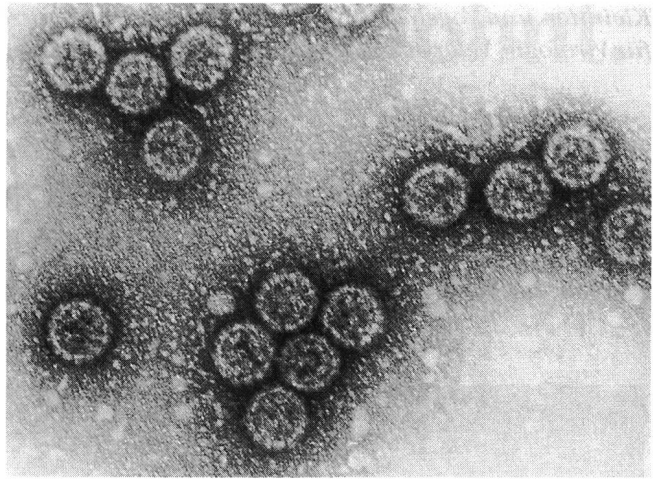


Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme von APV-Partikeln nach Negativ-Kontrastierung. Der Durchmesser der Viruspartikel beträgt ca. 45 nm

tich-Nestlingen sind diese Einschlüsse massenhaft in Haut, Federn, Niere, Leber und Gehirn anzutreffen und gelten als pathognomonisch. Bei Nestlingen von anderen Papageienartigen können sie nur vereinzelt aufgefunden werden. Alle anderen Veränderungen sind als unspezifisch einzustufen, obwohl kleine Hämorrhagien in verschiedenen Geweben als Hinweis auf eine Polyomavirus-Infektion dienen können. Bei Erwachsenen ist der Nachweis von Einschlusskörperchen noch schwieriger (in den Lieberkühnschen Krypten des Darmes oder in der Milz). Der Nachweis von Perjodsäure-Schiff (PAS) - positivem Material in Glomerulumschlingen und im Mesangium der Niere ist als Verdacht zu interpretieren, welcher bei Formalin-fixierten Organen zu ca. 70% mit der PCR bestätigt werden kann. Es handelt sich dabei um Immunkomplexe, die auch bei über drei Wochen alten Jungvögeln häufig nachweisbar sind. Morphologisch stellen diese Veränderungen eine membranöse Glomerulopathie dar, die bislang bei Ziervögeln bei noch keiner anderen Infektionskrankheit beobachtet wurde (Gerlach et al., 1998).

Methoden

Histologie

Das Organmaterial wurde in 10% Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und die ca. 3µ dicken Schnitte mit Hämatoxilin-Eosin (HE) wie üblich gefärbt. Die PAS-Reaktion wurde nach der Rezeptur von Sigma Diagnostics ausgeführt, zum intrazellulären Eisennachweis wurde die Turnbull-Blau-Reaktion angewendet. Bei beiden Verfahren handelt es sich um Standardmethoden.

Virusisolierung

Herz, Leber und Niere gestorbener Jungvögel wurden im Mörser mit Hilfe von Seesand in phosphatgepufferter

Kochsalzlösung (pH 7,2) mit Zusatz von Antibiotika (Penicillin 1000 IU/ml, Streptomycin 1000 µg/ml; Life Technologies) zu Organsuspensionen verrieben. Subkonfluente HEF wurden eine Stunde lang mit den Suspensionen inkubiert und danach mit frischem Medium versorgt. Nach fünf Tagen wurden die Zellen mit dem Mikroskop untersucht, danach dreimal gefroren und getaut und zur Beimpfung frischer HEF benutzt. Nach weiteren fünf Tagen wurden dann diese Zellen mit dem Mikroskop beurteilt und mit der PCR auf die Anwesenheit von APV-DNA untersucht.

DNA-Isolierung, PCR und Restriktionsverdau

Die Isolierung der DNA aus Organmaterial wurde durch Behandlung mit Proteinase K (Boehringer Mannheim) in einem Verdauerpuffer (50 mM Tris-HCl pH 8,5, 5 mM EDTA, 0,5% SDS) mit anschließender Phenol/Chloroform-Extraktion nach Standardprotokollen durchgeführt (Sambrook et al., 1989). Formalin-fixierte Proben wurden zuvor durch 5- bis 6malige Waschungen in Verbindung mit mehrstündigen Inkubationen mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 4 °C entformalinisiert.

Zur PCR wurden die Primer 5'-CAAGCATATGTCCTTATCCC-3' (entsprechend Nukleotid 4303 bis 4324) und 5'-CTGTTTAAGGCCTTCCAAGATG-3' (entsprechend Nukleotid 4612 bis 4591) verwendet, die in der frühen Region des APV-Genoms binden (Rott et al., 1988; Stoll et al., 1993; Johne und Müller, 1998). Die Reaktion wurde mit 2,5 U Taq-DNA-Polymerase (Life technologies) bei einer 1,5 mM MgCl₂-Konzentration in einem Peltier Thermal Cycler (Biozym) durchgeführt. Nach einer Denaturierung über 5 min bei 95 °C wurden 35 Zyklen mit je 30 sec bei 94 °C, 30 sec bei 60 °C und 30 sec bei 72 °C durchgeführt. Die abschliessende Kettenverlängerung erfolgte während 10 min bei 72 °C. Die Reaktionsprodukte wurden durch Elektrophorese in Ethidiumbromid-gefärbten, 2%igen Agarose-Gelen analysiert. Banden bei einer Grösse von 310 bp kennzeichneten eine positive PCR-Reaktion.

Jeweils 15 µl der PCR-Produkte wurden einer Restriktionsanalyse mit *Kpn*I (AGS) unterzogen. Das Enzym schneidet das erwartete PCR-Produkt von APV-DNA aller bekannten Stämme einmal, wodurch zwei Fragmente mit der Länge von 163 bp und 147 bp entstehen (Gerlach et al., 1998). Die Ansätze wurden über Nacht bei 37 °C inkubiert und anschliessend in der Agarose-Gelelektrophorese analysiert.

Fallberichte und Untersuchungsergebnisse

Fall 1

Der Vogelbestand liegt in der Zentralschweiz und weist einen gemischten Bestand von *Passeriformes* (Singvögeln) auf. Seit 1993 starben in jeder Zuchtperiode Jungvögel im Alter von vier Tagen bis ca. sechs Wochen. Klinisch trat bei den Jungvögeln Diarrhoe mit unangenehmem Geruch auf, die Körpertemperatur fiel ab, und die meisten Tiere starben innerhalb von 24 bis 48 Stunden. Die Mortalitätsrate lag bei über 80% innerhalb der befallenen Bruten. Folgende Vogelarten waren betroffen: Königsglanzstare (*Cosmopsarus regius*), Emeraldglanzstare (*Coccycolius iris*), Augenbrauenhäherlinge (*Leucodipteron canorum*), Roter Kardinal (*Cardinalis cardinalis*), Grauer Kardinal (*Paroaria coronata*), Papstfinken (*Passerina ciris*), Niltava Fliegenschwärmer (*Niltava sundara*), Japanblauschnäpper (*Cyanoptila cyanomelana*), Schamadrossel (*Copsychus malabaricus*), Singdrossel (*Cichloselys philomelos*), Weiss Scheitelrötel (*Cossypha niveicapilla*). Die Adultvögel des Bestandes zeigten keine klinischen Symptome, und die Anzahl der Eier sowie die Schlupfraten waren nicht geringer geworden als in früheren Jahren. Die Elternpaare der befallenen Bruten wurden alle zwischen 1982 und 1990 zugekauft. Jedes Jahr wurden mehrere Jungvögel zur Sektion eingeschickt, wobei nur unspezifische, vermutlich sekundäre Krankheiten wie *E. coli*-Wachstum im Darm oder leichtgradiger Kokzidienbefall diagnostiziert wur-

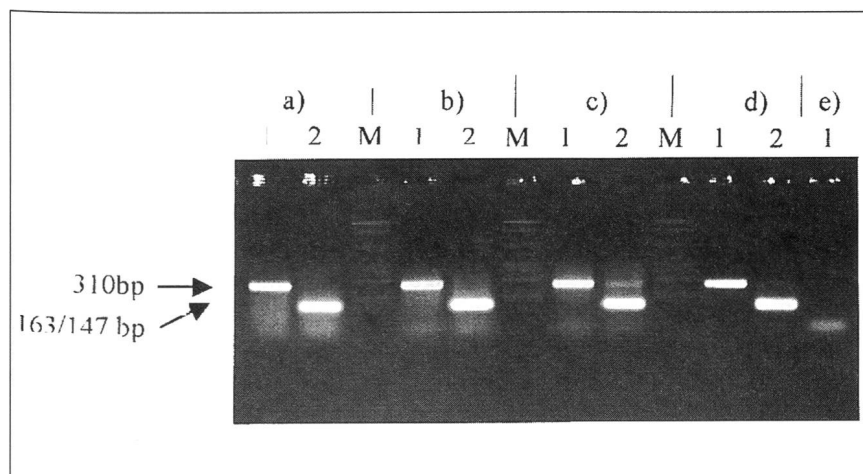


Abbildung 2: PCR-Produkte und deren Restriktionsanalyse nach Auftrennung im Agarose-Gel und Ethidiumbromid-Färbung. Spur 1: PCR-Produkt, Spur 2: *Kpn*I-Verdau des PCR-Produktes, Spur M: DNA-Längenmarker. Die Proben-DNA wurde gewonnen aus: a) Herz eines Königsglanzstares von Fall 1, b) Organen eines Sperlingspapageien von Fall 2, c) Organen eines Keas (Fall 3), d) APV-infizierter Zellkultur (Positivkontrolle), e) nicht infizierter Zellkultur (Negativkontrolle)

den. Die PCR-Untersuchung einer Kloakentupferprobe von Elternvögeln betroffener Bruten zum Nachweis einer aktuellen Ausscheidung von aviären Polyomaviren verlief negativ.

Als 1996 wiederum Todesfälle zu verzeichnen waren, wurde ein im Alter von neun Tagen gestorbener Königsglanzstar (*Cosmopsarus regius*) sezziert. Das makroskopische Sektionsbild war weitgehend unauffällig. Eine geringgradige Hepatomegalie mit Abstumpfung der Leberländer, eine helle Marmorierung der Niere sowie eine Ansammlung von Harnsäure in der Kloake konnten beobachtet werden. Die parasitologische Untersuchung und der Versuch zur aeroben Kultivierung von Bakterien aus Leber und Herzblut verliefen negativ. Daraufhin wurden Formalin-fixierte Organe histologisch untersucht.

Histologisch gab es nur vage Hinweise auf das Vorliegen einer Polyomavirus-Infektion. In der Niere zeigten sich Hyperämie und einzelne kleine Extravasate sowie Reste der extramedullären Hämatopoese (hier Heterophile). Die Glomerula sahen geschrumpft aus mit kleinem Mesangium und weitem Kapselspalt. In ganz wenigen Glomerula konnten im Mesangium grosse, bläuliche Zellkerne gefunden werden, die an Polyomavirus-Einschlüsse denken liessen. Die Basalmembranen waren bei der PAS-Reaktion dem Alter der Tiere entsprechend negativ. Es bestand eine schwere Tubulonephrose. Ein weiterer Hinweis fand sich in der Milz. Die Endothelzellen der Pinselarterien waren geschwollen, so dass das Lumen teilweise verschlossen erschien. In anderen Lumina lagen auch einzelne abgeschilferte Endothelzellen, manchmal auch die ganze Endothelauskleidung. Ein perivaskuläres Ödem liess sich regelmässig um solche Gefässe nachweisen (Ritchie, 1995). Sowohl die Hepatozyten als auch die Kupfferschen Sternzellen wiesen eine deutliche Eiseneinlagerung auf.

Da die histologische Untersuchung Hinweise auf eine Polyomavirusinfektion ergab, wurden aus den nächsten Bruten mehrere gestorbene Jungvögel tiefgefroren. Zur Virusisolierung wurden Herz, Leber und Niere entnommen, homogenisiert und auf HEF verimpft. Nach fünf Tagen konnten keine für APV spezifischen Veränderung der Zellkulturen festgestellt werden. Auch nach einer Passage in der Zellkultur konnte mittels PCR kein Polyomavirusnachweis geführt werden. Die Organe wurden daraufhin zur direkten Untersuchung mit der PCR in der beschriebenen Weise aufgearbeitet. So konnte bei allen Vögeln das APV-Genom im Herzen, bei einigen auch in Leber und Niere, nachgewiesen werden. Die Spezifität der PCR wurde durch Verdauung der PCR-Produkte mit dem Restriktionsenzym *KpnI* bestätigt (Abb. 2, Abschnitt a).

Fall 2

In einem Sperlingspapageienbestand (*Genus Forpus*) im Kanton Zürich starben im Mai 1997 nach einem Kälteeinbruch über zwei Drittel der Vögel. Alle gehaltenen Arten, nämlich Augeringsperlingspapageien (*Forpus*

conspicillatus), Gelbmaskensperlingspapageien (*Forpus xanthops*), Blauflügelperlingspapageien (*Forpus xanthopterygius*), Blaugenicksperlingspapageien (*Forpus coelestis*) sowie Grünbüzelsperlingspapageien (*Forpus passerinus*) waren betroffen. Die überlebenden Vögel waren im mittleren Alter, während alle Jungvögel von 1997 sowie ältere Vögel des Jahrgangs 1990 und 1991 starben. Im November 1996, also sieben Monate vor dem Krankheitsausbruch, waren Vögel aus Italien und im April 1997, ein Monat vor Krankheitsausbruch, Vögel aus Holland importiert worden.

Die Sektion zweier verstorbener Vögel zeigte, mit Ausnahme eines leichtgradigen Askaridenbefalls, keine makroskopischen Veränderungen. Aerobe Kulturen von Leber und Herzblut blieben ohne Koloniebildung. Auch in diesem Fall wurden Formalin-fixierte Organe histologisch untersucht.

Die Niere zeigte eine deutliche Hyperämie mit einigen Extravasaten. Es bestand eine PAS-positive membranöse Glomerulopathie mit weitem Kapselspalt, besonders der grossen Glomerula (Mammalier-Typ). Im Tubulusapparat waren Degeneration und Nekrose von Epithelzellen, vor allem der Sammelröhrchen sowie Zylinderbildung zu beobachten. Die proximalen Tubuli wiesen lumenseitig eine Eiseneinlagerung auf. Weitere Eiseneinlagerungen befanden sich in den Villi des Darmes und in Kupfferschen Sternzellen der Leber.

In der Haut waren im mehrschichtigen Plattenepithel disseminiert grosse «leer» aussehende Kerne feststellbar. In der Subkutis waren bakterielle Mikrokolonien ohne zellig-entzündliche Reaktionen zu sehen. In Zerebrum und Zerebellum bestand eine mässige Hyperämie, eine Erweiterung der Virchow-Robin-Räume und ein submeningeales Ödem. In der Milz liessen sich Gefässschädigungen wie bei dem oben genannten Königsglanzstar nachweisen. Es bestand ausserdem eine weitgehende Entspeicherung von Lymphozyten und eine starke Proliferation von Retikulumzellen. Als Todesursache wurde eine Myodegeneratio cordis angesehen.

Formalin-fixierte Organe (Herz, Leber, Niere) eines Vogels wurden als eine Probe aufgearbeitet und die DNA wie beschrieben isoliert. In der darauffolgenden PCR mit anschliessendem Restriktionsverdauung konnte das Genom von APV nachgewiesen werden (Abb. 2, Abschnitt b).

Fall 3

Als dritter Fall wurde ein sechs Monate alter Kea (*Nestor notabilis*) aus einem Bestand von ca. 50 Papageien verschiedenster Arten vorgestellt. Er wurde zusammen mit drei weiteren Jungkeas aus einer Schweizerzucht frisch zugekauft. Dieser Vogel zeigte Apathie, Anorexie sowie Biliverdinurie. Die drei anderen Jungvögel blieben klinisch unauffällig. Wegen der Verdachtsdiagnose einer Chlamydiose wurde eine Therapie mit Doxycyclin (Vibravenös, 75mg/kg i.m.) sowie eine Kropffütterung mit einem Papageienhandaufzuchtfutter eingeleitet. Die Dia-

agnostik umfasste eine Blutentnahme für eine Chlamydienserologie, einen Blutstatus und ein Chemogramm sowie eine Kloakentupferprobe für einen Chlamydienantigennachweis. Im Blutstatus wurde eine Leukozytose (34 000/ul) mit Neutrophilie (78%) und im Chemogramm eine Erhöhung der AST (301 U/l), eine Hypocalcämie (1,7 mmol/l) sowie eine Hypoproteinämie (25,6 g/l) festgestellt. Die Chlamydienserologie mittels solid phase immunoassay blieb negativ, ebenfalls der Chlamydienantigennachweis in der Kloakentupferprobe mittels IDEIA-ELISA. Trotz intensiver Pflege und Behandlung verstarb der Vogel nach sechs Tagen. Die durchgeführte Sektion zeigte Pilzgranulome in beiden Lungenflügeln sowie eine deutliche Hepatomegalie. Aerobe Kulturen von Leber und Herzblut zeigten kein bakterielles Wachstum.

Die Niere wies eine Hyperämie auf. Es bestand eine PAS-positive membranöse Glomerulopathie sowie Degeneration und Nekrose von Tubulusepithelzellen. In der hyperämischen Leber fiel eine Proliferation von Gallengangsepithelien auf, deren teilweise grossen Kerne «leer» erschienen. Weiter waren einige durch Riesenzellen unscharf demarkierte Nekroseherde nachweisbar. Die Milz wies durch wenig reife Lymphozyten und das Fehlen von Keimzentren Zeichen einer Immunsuppression auf. Die Lunge zeigte eine ausgedehnte Aspergillose (Sekundär-Infektion). Es bestand eine Myodegeneratio cordis mit vereinzelt herdförmiger nicht-eitriger Entzündung. Formalin-fixierte Organe des Vogels wurden als eine Sammelprobe aufgearbeitet und in der Polyoma - PCR mit anschliessender Restriktionsanalyse untersucht. Hierbei konnte DNA von APV nachgewiesen werden (Abb. 2, Abschnitt c).

Diskussion

Berichte über Polyomavirusinfektionen in den USA, Kanada, Japan, Italien, Deutschland, Ungarn, Südafrika und Australien (Ritchie, 1995) legen eine weltweite Verbreitung von aviären Polyomaviren nahe. Diese Arbeit beschreibt erstmals das Auftreten dieser Infektion in der Schweiz.

Der Verbreitungsgrad aviärer Polyomaviren in der Schweiz ist nicht bekannt. Da aber offenbar viele Adultvögel einen Viruskontakt ohne Krankheitssymptome überstehen, kann eine grössere Verbreitung von Polyomaviren auch in der Schweiz nicht ausgeschlossen werden. Die in vielen Wellensittichbeständen auftretenden «Renner» (Jungvögel, die Befiederungsstörungen und fehlende Schwungfedern aufweisen und deshalb nicht fliegen können) dürften in einigen Fällen ebenfalls auf Polyomavirusinfektionen im Sinne der BFD zurückzuführen sein. Eine Möglichkeit um den Durchseuchungsgrad der Schweiz zu erfassen, wäre mittels Nachweis von virus-neutralisierenden Antikörpern aus einer repräsentativen Anzahl von Blutproben. Das Vorhandensein eines positiven Antikörpertiters deutet auf eine vergangene oder aktuelle Infektion hin. Das Fehlen eines Antikör-

pertiters kann darauf hindeuten, dass der Vogel keine Infektion hatte, dass er in der Vergangenheit infiziert war und ein Antikörpertiter inzwischen nicht mehr nachweisbar ist, oder dass er infiziert ist, aber keinen Antikörpertiter entwickelt hat, was aber beim aviären Polyomavirus als selten betrachtet wird (Ritchie, 1995).

Die im ersten Fall aufgetretenen Todesfälle bei Jungvögeln, ohne Krankheitssymptome bei Adultvögeln, entsprechen dem typischen Verlauf einer Polyomavirusinfektion. Es muss davon ausgegangen werden, dass die Adultvögel symptomlose, intermittierende Ausscheider sind. Das negative Resultat eines Versuches zum Nachweis von Polyomavirus in einer Kloakentupferprobe stimmt mit der Beobachtung überein, dass eine konstante Virusausscheidung nicht stattfindet. Die Verdachtsdiagnose stützte sich bei dem Königsglanzstar-Küken neben der Anamnese auf die wenigen Einschlusskörperchen-ähnlichen Strukturen im Mesangium der Niere und die Endothelschäden in den Pinselarterien der Milz. Solche Läsionen sind nach Ritchie (1995) hinweisend auf eine Polyomavirus-Infektion, obwohl sie unspezifisch sind und nur die Störung der Gefässintegrität anzeigen.

Die Pathogenese der Eiseneinlagerung in die Leber (und evtl. auch in die Niere bzw. in die Villi des Darmes) ist besonders bei kleinen Küken, nicht ausreichend geklärt. Eisenablagerungen können jedoch regelmässig bei APV-Infektionen nachgewiesen werden.

Virale DNA war in allen Vögeln mittels PCR nachweisbar. Die Spezifität des Befundes konnte durch Restriktionsverdauung der PCR-Produkte mit *KpnI* dargestellt werden. Dennoch war es nicht möglich, infektiöses Virus aus den nicht mit Formalin fixierten Organen in HEF zu isolieren. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass der vorliegende Virusstamm nicht in HEF vermehrt werden kann. Beschrieben ist ein solches Verhalten bereits bei dem Isolat BFDV-3, das aufgrund einer einzelnen Mutation im Strukturprotein VP2/3 nicht mehr zur Replikation in HEF fähig ist, während eine Virusvermehrung in Entenfibroblasten möglich ist (Stoll et al., 1994). Die PCR ermöglicht es, das Genom von APV in Organen nachzuweisen, auch wenn der vorliegende Stamm in der Zellkultur nicht vermehrungsfähig ist.

Der klinische Verlauf im zweiten Bestand entspricht nicht dem typischen Bild einer Polyomavirusinfektion. Die Tatsachen, dass Vögel aller Altersgruppen betroffen waren und dass kurz zuvor Sperlingspapageien zugekauft worden waren, sprechen dafür, dass der Bestand bisher keinen Kontakt zu Polyomaviren hatte. Die vermutlich naive Immunitätslage begünstigte die erstmals in den Bestand eingeführten Polyomaviren, worauf Vögel aller Altersgruppen infolge der Infektion erkrankten und starben.

Die in diesem Fall beobachtete PAS-positive membranöse Glomerulopathie wies auf eine Polyomavirus-Infektion hin. Hyperämie und Ödeme in verschiedenen Organen (besonders im Gehirn) sind unspezifisch, können aber ebenfalls einen gewissen Hinweis geben. Verglichen mit den riesigen intranukleären Einschlusskörperchen in der Haut erkrankter Wellensittiche sind die bei

dem Sperlingspapagei beobachteten grossen «leeren» Zellkerne nicht ausreichend für eine definitive Diagnose.

Der Genomnachweis von APV konnte aus formalinfixiertem Organmaterial geführt werden. Da sich der Verdacht einer APV-Infektion oft erst nach einer histologischen Untersuchung ergibt, steht zum Nachweis in vielen Fällen nur Formalin-fixiertes Organmaterial zur Verfügung. DNA-Isolierung und PCR werden durch Formalin-Rückstände stark beeinträchtigt, so dass eine gute Entformalinisierung die Voraussetzung für einen sensitiven Nachweis darstellt. Im vorliegenden Fall konnte so ein eindeutiger APV-Nachweis mittels PCR erbracht werden, auch wenn bei formalinfixierten Materialien immer mit «falsch negativen» Ergebnissen gerechnet werden muss.

Im dritten Fall blieb es beim Tod eines Einzelvogels, obwohl der Züchter einen Bestand von über 50 Papageien hält. Das klinische Bild einer Biliverdinurie bei einem frisch zugekauften Vogel setzt die Chlamydiose zuoberst auf der Liste der Differentialdiagnosen. Weder Antikörper- und Antigennachweis noch die durchgeführte Sektion konnten jedoch diese Verdachtsdiagnose bestätigen. Als Ursache der Biliverdinurie wurde die histologisch nachweisbare Hepatopathie mit Degeneration und

Nekrose der Hepatozyten festgestellt. Zu welchem Zeitpunkt die Aspergillose als typische Sekundärkrankheit auftrat und schlussendlich zum Tode führte, bleibt unklar. Interessant ist die Tatsache, dass der Vogel zu keinem Zeitpunkt Anzeichen einer Dyspnoe zeigte.

Wie beim Sperlingspapagei war auch beim Kea die PAS-positive membranöse Glomerulopathie ein entscheidender Hinweis auf das Vorliegen einer Polyomavirus-Infektion. Die Veränderungen der Kerne in den Gallengangsepithelien sahen ähnlich aus wie die im Hautepithel des Sperlingspapageis. Auch in diesem Fall konnte der Nachweis von APV-Genom aus Formalinfixierten Organen in der PCR erbracht werden.

Zur Bekämpfung der Polyomavirusinfektion sind verschiedene Strategien denkbar. Die hohe Tenazität von Polyomaviren führt zu Problemen bei der Dekontamination von Volierenanlagen. Wirksam ist eine gründliche Reinigung und Desinfektion mit 5%iger Natriumhypochlorit-Lösung (Ritchie, 1995.) Um eine direkte oder eine indirekte Übertragung von APV zu verhindern, werden geschlossene Zuchtanlagen empfohlen. Der Zutritt von Besuchern, speziell zu Jungvögeln, sollte hier vermieden werden. Alle Vögel, die zu einem Bestand zugezogen werden, könnten während der Quarantäne durch einen Kloakentupfer mittels PCR auf Virusausscheidung untersucht werden. Da es allerdings nicht möglich ist, infizierte Träger, die das Virus zu diesem Zeitpunkt nicht ausscheiden, mit diesem Test zu erkennen, reichen die genannten Massnahmen nicht zur vollständigen Kontrolle der Infektion aus. Aus diesem Grunde wird der breitflächige Einsatz einer Vakzine zur Verhinderung der Infektion vorgeschlagen (Ritchie et al., 1993). In den USA ist seit 1995 eine Todvakzine im Einsatz. Am Institut für Virologie in Leipzig wird zurzeit an der Entwicklung einer Vakzine auf der Grundlage des Hauptstrukturproteins VP1 gearbeitet (Abb. 3), die auch die Unterscheidung geimpfter Tiere von infizierten Tieren mit Hilfe eines Serum-Tests erlauben soll.

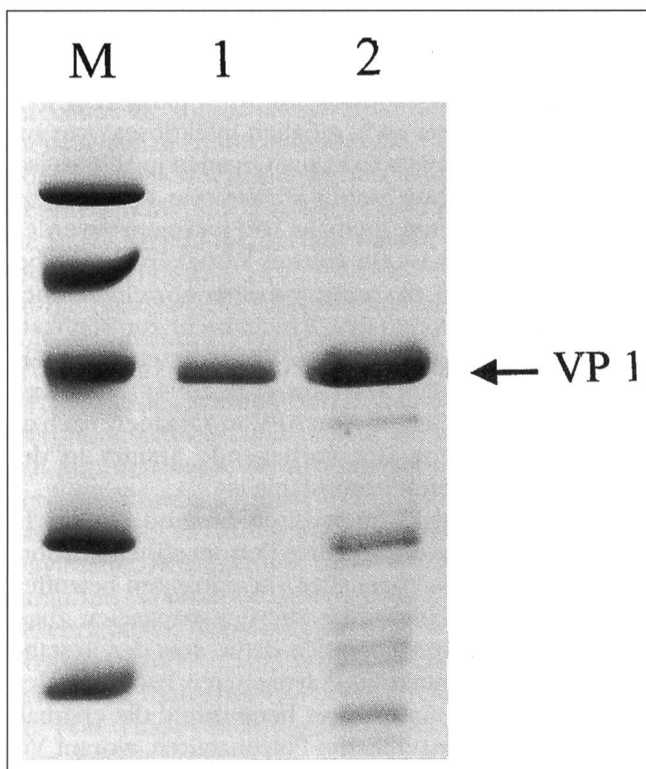


Abbildung 3: Darstellung der Strukturproteine von APV in der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (Färbung mit Coomassie brilliant blue). Spur M: Referenzproteine mit bekanntem Molekulargewicht; Spur 1: in *E. coli* gentechnisch hergestelltes VP1; Spur 2: APV (hier BFDV-1) nach Vermehrung in Hühnerembryofibroblasten, gefolgt von Reinigung und Konzentrierung durch Zentrifugation in Cäsiumchlorid-Gradienten

Dank

Die molekularbiologischen Untersuchungen erfolgten mit Unterstützung durch den Fonds der Chemischen Industrie.

Infection par la Polyomavirus chez des oiseaux exotiques en Suisse

Des infections causées par des Polyomavirus ont été documentées chez des perruches, chez d'autres psittacides ainsi que chez des oiseaux chanteurs dans plusieurs pays. Ce rapport décrit la première apparition en Suisse de ce virus dans trois groupes distincts d'oiseaux. Il s'agit d'un groupe de différents oiseaux chanteurs (*Passeriformes*), un groupe de petits perroquets (*Genus Forpus*) et finalement un groupe varié de perroquets (*Psittaciformes*), dans lequel seulement un kea (*Nestor notabilis*) nouvellement acquis était atteint. Les symptômes cliniques, les lésions macroscopiques ainsi que les observations histopathologiques sont décrites. Afin d'assurer le diagnostic, la détection du virus a été effectuée à l'aide de la réaction en chaîne de la polymérase (PCR).

Infezione con poliomavirus in uccelli esotici in Svizzera

Le infezioni con il poliomavirus sono state descritte in pappagallini ondulati, altre specie di pappagalli e passeracei in diversi paesi. In questo lavoro riportiamo per la prima volta l'apparizione del poliomavirus in tre diverse voliere. Si tratta di una voliera con diversi passeracei, di una con pappagalli del tipo *Forpus* e di una voliera con diverse specie di psittaciformi, nella quale però solo un nestore (*Nestor notabilis*), acquistato recentemente, era malato. I sintomi clinici, i referti patologico-anatomici ed istopatologici vengono descritti. L'accertamento del virus avveniva inoltre per mezzo della reazione a catena della polimerasi (PRC).

Literatur

Bernier G., Morin M., Marsolais G. (1981): A generalized inclusion body disease in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) caused by a papovavirus-like agent. *Avian Diseases* 25, 1083-1092.

Bozemann L.H., Davis R.B., Gaudry D., Lukert P.D., Fletcher O.J., Dykstra M.J. (1981): Characterisation of a papovavirus isolated from fledgling budgerigars. *Avian Diseases* 25, 972-980.

Garcia A., Latimer K.S., Niagro E.D., Norton T.M., Campagnoli R.P., Harmon B.G., Howerth E.W., Ritchie B.W. (1994): Diagnosis of polyomavirus infection in seedcrackers (*Pyrenestes* sp.) and blue bills (*Spermophaga haematina*) using DNA in situ hybridization. *Avian Pathology* 23, 525-537.

Gerlach H. (1994): Viruses. In: Ritchie, Harrison and Harrison. *Avian medicine: Principles and Application*. Wingers Publishing, Florida.

Gerlach H., Enders F., Casares M., Hänichen T., Jobne R., Müller H. (1998): Membranous glomerulopathy as indication of avian polyomavirus-infection in adult psittaciformes. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, im Druck.

Jobne R., Müller H. (1998): Avian polyomavirus in wild birds: genome analysis of isolates from Falconiformes and Psittaciformes. *Archives of Virology*, im Druck.

Krautwald M.-E., Müller H., Kaleta E.F. (1989): Polyomavirus infection in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): clinical and aetiological studies. *J. Vet. Med. B*, 36, 459-467.

Lebn H., Müller H. (1986): Cloning and characterization of budgerigar fledgling disease virus, an avian polyomavirus. *Virology* 151, 362-370.

Müller H., Nitschke R. (1986): A polyoma-like virus associated with acute disease of fledgling budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Medical Microbiology and Immunology* 175, 1-13.

Niagro E.D., Ritchie B.W., Latimer K.S., Lukert P.D., Steffens W.L. & Pesti D. (1990): Polymerase chain reaction detection of PBFD Virus and BFD Virus in suspect birds. *Proceedings of the 1990 Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians*, 25-37.

Phalen D.N., Wilson V.G. & Grabam D.L. (1994): A practitioner's Guide to avian polyomavirus testing and disease. *Proceedings of the 1994 Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians*, 251-257.

Ritchie B.W., Niagro E.D., Latimer K.S., Pesti D., Greenacre Cb., Lukert P.D. (1993): Efficacy of an inactivated avian polyomavirus vaccine. *Journal of the Association of Avian Veterinarians* 7(4), 187-192.

Ritchie B.W. (1995): *Avian Viruses. Function and control*. Wingers Publishing, Florida.

Rott O., Kröger M., Müller H., Hobom G. (1988): The genome of budgerigar fledgling disease virus, an avian polyomavirus. *Virology* 165, 74-86.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. (1989): *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory.

Sironi G., Rampin T. (1987): Papovavirus-like splenohepatic infection in greenfinches (*Carduelis chloris*). *Clinica Veterinaria* 110, 79-92.

Stoll R., Luo D., Kouwenhoven B., Hobom G., Müller H. (1993): Molecular and biological characteristics of avian polyomaviruses: isolates from different species of birds indicate that avian polyomaviruses form a distinct subgenus within the polyomavirus genus. *Journal of General Virology* 74, 229-237.

Stoll R., Hobom G., Müller H. (1994): Host restriction in the productive cycle of avian polyomavirus budgerigar fledgling disease virus type 3 depends on a single amino acid change in the common region of structural proteins VP2/VP3. *Journal of General Virology* 75, 2261-2269.

Korrespondenzadresse: Dr. med. vet. Peter Sandmeier, Kleintier- und Vogelpraxis, Täferstrasse 2, CH-5405 Baden-Dättwil
e-mail: sandmeier@kleintierpraxis.ch

Manuskripteingang: 4. Juli 1998

In vorliegender Form angenommen: 29. September 1998