

## **INFEZIONE DA *POLYOMAVIRUS* IN NIDIACEI DI DIAMANTE DI GOULD (*ERYTHRURA GOULDIAE*)**

Circella E.\*, Caroli A., Legretto M., Pugliese N., Bozzo G., Romito D., Camarda A.

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari “Aldo Moro”, S. P. per Casamassima km. 3, 70010, Valenzano, Bari.

\*Elena Circella, +39 080 5443829/+39 080 5443910; e-mail: elena.circella@uniba.it

### **Abstract**

Le infezioni da *Polyomavirus* sono state riscontrate in diverse specie di mammiferi tra cui il cavallo, il bovino, il coniglio, i roditori e l'uomo (Perez-Losada et al. 2006; Renshaw et al. 2012; Wong and Xagorarakis, 2011; Groenewoud et al., 2010). Colpiscono inoltre i volatili (Johns and Müller, 2007). Al contrario di quanto accade nei mammiferi in cui le infezioni vengono riscontrate in soggetti immunodepressi, nei volatili *polyomavirus* è in grado di indurre in soggetti non immunocompromessi gravi quadri clinici, i cui aspetti possono variare in funzione dello stadio virale coinvolto e della specie colpita.

Nei pappagalli, *polyomavirus* è responsabile della BFD (Budgerigars Fledgling Disease) (Bernier et al. 1981; Bozemann et al., 1981), grave patologia riscontrata inizialmente nei pappagalli ondulati (*Melopsittacus undulatus*) in cui è ben nota, ma evidenziata nel corso degli anni in numerose altre specie di psittacidi in tutto il mondo (Katoh et al. 2010). Tale patologia è caratterizzata da elevati tassi di mortalità nei giovani e dall'insorgenza di anomalie distrofiche del piumaggio (Gerlach, 1994). Tra i volatili di interesse zootecnico, *polyomavirus* (GHPV - Goose Hemorrhagic Polyomavirus) è noto come l'agente eziologico della HNEG (Hemorrhagic Nephritis and Enteritis of Geese) (Guerin et al. 2000), malattia caratterizzata da improvvisa ed elevata mortalità dei giovani, con riscontro in sede necroscopica di enterite e nefrite necrotica-emorragica (Lacroux et al. 2004; Palya et al., 2004).

*Polyomavirus* è stato identificato inoltre nella taccola e, tra i fringillidi, nel cardellino, nel ciuffolotto e nel canarino.

In questo lavoro viene riportato un grave caso di infezione da *polyomavirus* in un allevamento in cui venivano allevate specie diverse di volatili, tutte appartenenti alla famiglia *Estrildidae*. In particolare, un'elevata mortalità dei novelli è stata osservata in un flock costituito da: 15 coppie di Diamante di Gould (*Erythrura gouldiae*), 15 coppie di Diamante codarossa (*Neochmia ruficauda*), 5 coppie di Diamante di Tanimbar (*Erythrura tricolor*), 2 coppie di Diamante guttato (*Stagonopleura guttata*), 2 coppie di Diamante variopinto (*Emblema picta*), 2 coppie di Diamante codalunga (*Poephila acuticauda*), 2 coppie di Diamante di Kittlitz (*Erythrura trichroa*), 8 coppie di Diamante pappagallo (*Erythrura psittacea*). Inoltre, erano presenti 50 coppie di Passeri del Giappone (*Lonchura striata domestica*), utilizzate come balie per allevare i piccoli di Diamante.

Durante un'intera stagione riproduttiva 120 nidiacei (88.8%) sono morti a circa 25 giorni di età, quando erano prossimi allo svezzamento, dopo aver manifestato negli ultimi 2-3 giorni di vita apatia, anoressia e, in alcuni casi, diarrea ricca di urati. La patologia ha interessato inizialmente i Diamanti di Gould e solo nelle settimane successive le altre

specie allevate. Nessun segno clinico è stato evidenziato negli adulti di Diamante e nei Passeri del Giappone. Il gruppo è stato trattato in acqua da bere senza alcun esito con amoxicillina/acido (500 mg/L) e successivamente con enrofloxacin (200 mg/L).

9 nidiacei (5 D. Gould, 2 D. guttati e 2 D. variopinti), morti a distanza di almeno 7 giorni dai trattamenti antibiotici, sono stati utilizzati per le indagini diagnostiche. Alla necropsopia, sono state osservate le seguenti lesioni: decolorazione del cuore e del fegato (Figure 1a), aumento di volume della milza, deposito di urati a livello renale (Figure 1b and 1c). Gli esami batteriologici a partire da fegato, milza, e sangue del cuore hanno escluso un'infezione batterica. Analogamente, gli esami parassitologici dal contenuto intestinale hanno escluso una parassitosi intestinale. Gli esami istologici effettuati su sezioni di fegato di 4 soggetti diversi (2 D. Gould, 1 D. guttato e 1 D. variopinto) hanno invece evidenziato la presenza di una elevata quantità di corpi inclusi intranucleari di tipo Cowdry B (figure 2), indice in questa sede di una attività replicativa di virus a DNA. Pertanto, i campioni di fegato sono stati sottoposti a PCR per *Circovirus* e *Polyomavirus*. Le indagini volte alla ricerca di *Circovirus* sono risultate costantemente negative; al contrario le PCR per *Polyomavirus* hanno consentito di ottenere un amplificato dell'ampiezza attesa (266 bp). Tale positività è stata confermata anche nei campioni di milza e contenuto intestinale. Tre amplificati ottenuti da campioni di fegato (rispettivamente di Diamante di Gould, di Diamante guttato e Diamante variopinto) sono stati clonati e sequenziati. Le sequenze analizzate mediante BLAST sono risultate tra loro identiche. Queste, inoltre, presentavano un'identità del 100% con la sequenza di Finch *Polyomavirus* (GenBank accession number DQ192571) identificato nel ciuffolotto (*Pyrrhula pyrrhula griseiventris*). Pertanto, il virus identificato è stato confermato come membro del genere *Avipolyomavirus*.

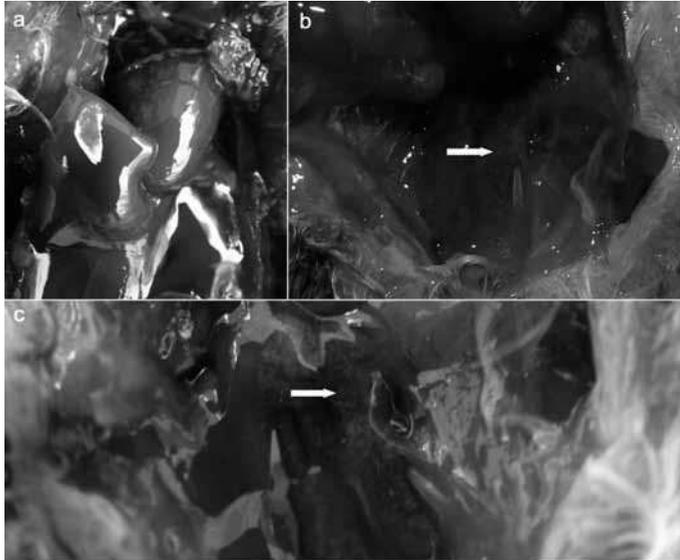
Quest'infezione tra gli *Estrildidi* era stata precedentemente segnalata solo una volta in un Diamante di Gould adulto, affetto da tumore delle cellule del Sertoli (Rossi et al. 2003). Pertanto, questo caso rappresenta la prima segnalazione di infezione associata ad elevata mortalità dei nidiacei in questa famiglia di volatili.

L'evoluzione del focolaio nel gruppo colpito ha mostrato similitudini con quanto riportato in caso di BFD nei pappagalli. Analogamente a quanto osservato nel caso descritto, in corso di BFD si osservano tassi di mortalità elevata e che possono raggiungere il 100% dei giovani, mentre gli adulti non presentano alcuna sintomatologia apparente. Inoltre, l'elevato accumulo di urati osservato nei nidiacei di Diamante esaminati richiama le glomerulonefriti che si riscontrano in corso di BFD nei pappagalli (Phalen et al. 1996; Gerlach et al. 1998).

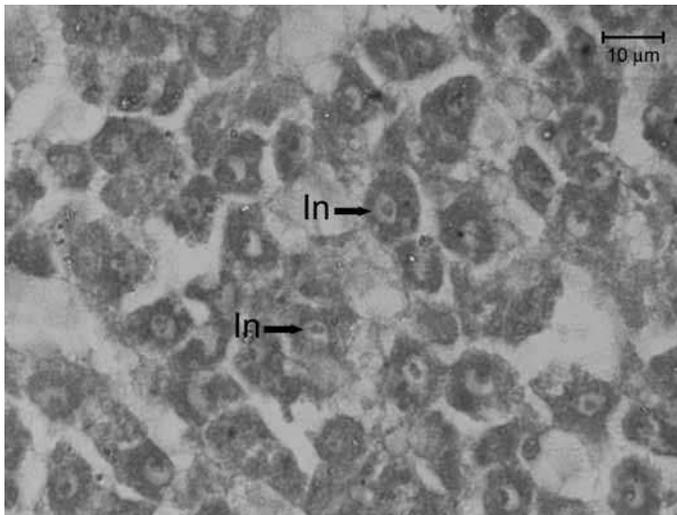
In altre specie di volatili non psittacidi, l'infezione è stata riscontrata in corso di coinfezione da *Salmonella* spp. nella taccola (*Corvus monedula*) (Johns et al. 2006) e da *Mycobacterium genavense* nel cardellino (*Carduelis carduelis*) (Manarolla et al., 2007). In questi casi, pertanto, il potenziale di patogenicità del virus risulta poco chiaro. Al contrario, *polyomavirus* è stato associato ad elevata mortalità dei nidiacei osservata per tre anni consecutivi in un flock di ciuffolotti (*Pyrrhula pyrrhula griseiventris*) (Johns et al., 2006) e ad elevata mortalità dei novelli intorno ai 40 giorni di vita nel canarino (*Serinus canaria*) (Halami et al., 2010).

Considerato il grave impatto che l'infezione può avere in un gruppo colpito e la mancanza di specifiche terapie, l'applicazione di corrette misure di profilassi diventa di estrema importanza. Tuttavia il vaccino, non disponibile in Italia, è registrato solo per i pappagalli e non vi sono dati relativi alla sua efficacia in specie diverse. Pertanto, una

misura efficace per ridurre il rischio di introduzione dell'infezione in un gruppo potrebbe essere lo screening in PCR di tutti i soggetti di nuova introduzione e dei riproduttori, considerando che gli adulti possono veicolare il virus asintomaticamente, eliminandolo nel gruppo attraverso le feci, gli urati, i secreti e per via verticale.



**Figura 1.** Lesioni macroscopiche. 1a: decolorazione del fegato e del cuore. E' presente solo il lobo destro del fegato in quanto il sinistro è stato prelevato per le indagini di laboratorio. 1b e 1c: accumulo di urati nel parenchima renale.



**Figura 2.** Sezione istologica di fegato. Corpi inclusi intranucleari Cowdry B (In) (frecche nere). Ematossilina-eosina. Ingrandimento 1000x.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bernier G, Morin M, Marsolais G. (1981). A generalized inclusion body disease in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) caused by a papova-like agent. *Avian Dis.* 25:1083-1092.
2. Bozemann LH, Davis RB, Gaudry D, Lukert P.D., Fletcher O.J., Dykstra M.J. (1981). Characterisation of a papovavirus isolated from fledgling budgerigars. *Avian Dis.* 25:972-980.
3. Gerlach H, Enders F, Casares M, Müller H., Johne R., Hanichen T. (1998). Membranous glomerulopathy as an indicator of avian polyomavirus infection in Psittaciformes. *J Avian Med Surg.* 12:248-254.
4. Gerlach H. Polyomavirus. In: Ritchie BW, Harrison J, Harrison LR, eds. *Avian medicine: principles and application.* (1994). Wingers Publishing, Lake Worth, pp. 888–902.
5. Groenewoud MJ, Fagrouch Z, van Gessel S, Niphuis H., Sasnauskas K., Warren K.S., Heeney J.L., Verschoor E.J. (2010). Characterization of novel polyomaviruses from Bornean and Sumatran orangutans. *J Gen Virol.* 91:653-658.
6. Guerin JL, Gelfi J, Dubois L, Vuillame A., Boucraut-Baralon C., Pingret J.L. (2000). A novel polyomavirus (goose hemorrhagic polyomavirus) is the agent of hemorrhagic nephritis of geese. *J Virol.* 74:4523-4529.
7. Halami MY, Dorrestein GM, Couteel P, Heckel G., Müller H., Johne R. (2010). Whole-genome characterization of a novel polyomavirus detected in fatally diseased canary birds. *J Gen Virol.* 91:3016-3022.
8. Johne R, Müller H. (2007). Polyomaviruses of birds: etiologic agents of inflammatory diseases in a tumor virus family. *J Virol.* 81:11554-11559.
9. Johne R, Wittig W, Fernandez-de-Luco D, Höfle U., Müller H. (2006). Characterization of two novel polyomaviruses of birds by using multiply primed rolling-circle amplification of their genomes. *J Virol.* 80:3523-3531.
10. Katoh H, Ogawa H, Ohya K, Fukushi, H. (2010). A review of DNA viral infections in psittacine birds. *J Vet Med Sci.* 72:1099-1106.
11. Lacroux C, Andreoletti O, Payre B, Pingret J.L., Dissais A., Guerin J.L. (2004). Pathology of spontaneous and experimental infections by goose hemorrhagic polyomavirus. *Avian Pathol.* 33:351-358.
12. Manarolla G, Liandris E, Pisoni G, Moroni, P., Piccinini, R., Rampin, T. (2007). Mycobacterium genavense and avian polyomavirus co-infection in a European Goldfinch (*Carduelis carduelis*). *Avian Pathol.* 36:423-426.

13. Palya V, Ivanics E, Glàvits AD, Mào T., Zarka P. (2004). Epizootic occurrence of haemorrhagic nephritis enteritis virus infection of geese. *Avian Pathol.* 33:244-250.
14. Perez-Losada M, Christensen RG, McClellan DA, Adam BJ, Viscidi RP, Demma JC, Crandall KA. (2006). Comparing phylogenetic codivergence between polyomaviruses and their hosts. *J Virol.* 80:5663-5669.
15. Phalen D.N., Wilson V.G., Graham D.L. (1996). Characterization of the avian polyomavirus-associated glomerulopathy of nestling parrots. *Avian Dis.* 40: 140-149.
16. Renshaw RW, Wise AG, Maes RK, Dubovi E.J. (2012). Complete genome sequences of polyomavirus isolated from horses. *J Virol.* 86:8903.
17. Rossi G, Ceccherelli R, Piersigilli A, Tarantino C. (2003). Sertoli cell tumor with polyomavirus infection in a Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*). *Avian Dis.* 47:240-3.
18. Wong K, Xagorarakis I. (2011). Evaluating the prevalence and genetic diversity of adenovirus and polyomavirus in bovine waste for microbial source tracking. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011:90:1521.