

ELŻBIETA MALICKA, EWA KARPIŃSKA*, PIOTR SZELESZCZUK*

Patomorfologia spontanicznej ospy kanarków

Katedra Patologii oraz *Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

S u m m a r y

Patomorphology of spontaneous canary pox infection

Light and electron microscopy examination of the trachea, lungs, liver and spleen of canaries that died or were euthanized during an outbreak of pox infection was carried out.

Clinically, pox infection was manifested by respiratory signs. In light microscopy tracheitis, pneumonia and acidophilic, cytoplasmic inclusion bodies in epithelial cells of trachea and bronchi were observed. In electron microscopy serious damage of organellae, type A and B inclusion bodies and pox virions in epithelial cells of trachea and bronchi were observed.

Od początku lat 90-tych obserwuje się w kraju wzrost zachorowań ptaków na ospę. Dotyczy to zwłaszcza gołębi jak również kanarków i kur (8, 15). Wirus wywołujący tę chorobę należy do rodzaju *Avipoxvirus* rodziny *Poxviridae* i jest największy wśród znanych wirusów klasycznych. Wiriony mają charakterystyczny kształt genomu, dwa ciała boczne oraz białkowo-lipidową otoczkę zewnętrzną. Średnica wirionu sięga 400 nm (4). Komórki nabłonka zaatakowane przez wirus wykazują tendencję do rozrostu, a w cytoplazmie ich obserwuje się kwasochłonne ciała wtrętowe.

W przebiegu ospy u gołębi i drobiu stwierdza się najczęściej formę skórną i mieszaną (skórno-dyfteroidalną) natomiast u ptaków ozdobnych i śpiewających może występować forma nadostra, oddechowa i skórna lub dyfteroidalna (1, 6). Dlatego szczególnie u tej ostatniej grupy ptaków rozpoznanie choroby na podstawie objawów klinicznych może powodować określone trudności (2, 7). Badania histopatologiczne przeprowadzone w mikroskopie świetlnym i elektronowym transmisyjnym oraz badania wirusologiczne dają gwarancję prawidłowego rozpoznania choroby.

W dostępnej literaturze brak jest opisów zmian patomorfologicznych zwłaszcza na poziomie ultrastruktury pojawiających się w przebiegu spontanicznego zakażenia wirusem ospy kanarków, dlatego celowe wydaje się przedstawienie obserwacji własnych dotyczących takiego przypadku.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły kanarki z prywatnych hodowli, w których obserwowano w czasie 2 miesięcy masowe zachorowania i zejścia śmiertelne. Dominującym objawem klinicznym były trudności w oddychaniu. Zastosowana chemioterapia nie poprawiła stanu zdrowia chorych ptaków, padło ok. 350 sztuk. Wykonano sekcję 20 padłych oraz chorych – uśpionych kanarków. Pobrano materiał do badań wirusologicznych, bakteriologicznych, parazytologicznych i histopatologicznych w mikroskopie świetlnym i w mikroskopie elektronowym transmisyjnym.

Do badania patomorfologicznego w mikroskopie świetlnym pobrano wycinki tchawicy, płuc, wątroby, śledziony, nerek i mięśnia sercowego. Materiał ten utrwalano w 8% buforowanej formalinie, skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną.

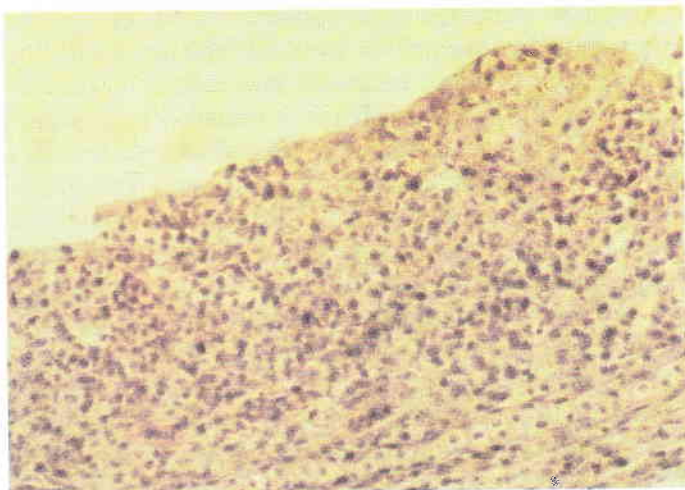
Badania w mikroskopie elektronowym dotyczyły fragmentów tchawicy, płuc, śledziony i wątroby od kanarków uśpionych. Wycinki te utrwalano w 2,5% aldehydzie glutarowym w buforze kakodylowym pH 7,4, wtórnice utrwalano w 1% czterotlenku osmu w tym samym buforze, następnie w sposób rutynowo przyjęty – odwadniano i zatapiano w Eponie 812. Dokumentację sporządzano w mikroskopie elektronowym transmisyjnym JEM 100C.

Wyniki i omówienie

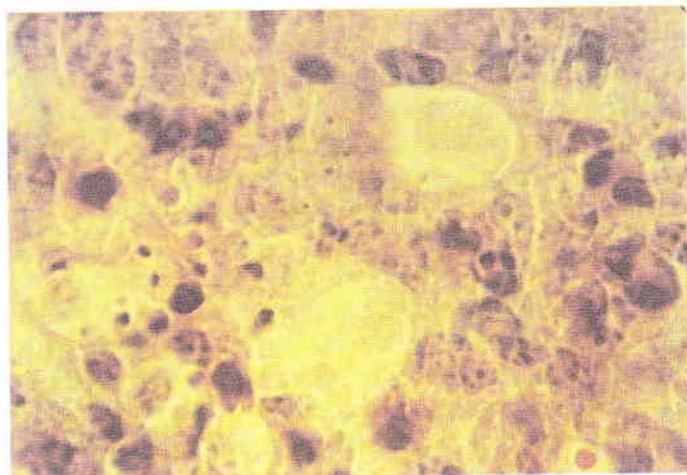
Badaniem anatomopatologicznym makroskopowym stwierdzano zapalenie nieżytowe ostre błony śluzowej tchawicy oraz cechy zapalenia płuc z obecnością szarozółtych ognisk martwicowych.

Badania bakteriologiczne i parazytologiczne dały wynik ujemny. Badanie wirusologiczne przeprowadzono na 10-dniowych zarodkach kurzych. Rozcier płuc i tchawic, pobranych od padłych kanarków wprowadzano na błonę kosmówkowo-omoczniową pod osłoną antybiotyków. Wykonano dwa ślepe 72-godzinne pasaże. W drugim pasażu na zgrubiałej błonie kosmówkowo-omoczniowej uzyskano liczne, zróżnicowane co do wielkości – większe i mniejsze, białawe ogniska ospowe.

Badanie w mikroskopie świetlnym. W tchawicy stwierdzono cechy zapalenia niejednokrotnie o dużym nasileniu ze znacznym uszkodzeniem komórek nabłonka. W cytoplazmie nielicznych komórek nabłonka obserwowano sporadycznie kwasochłonne ciała wtrętowe (ryc. 1, 2). W badaniu histopato-



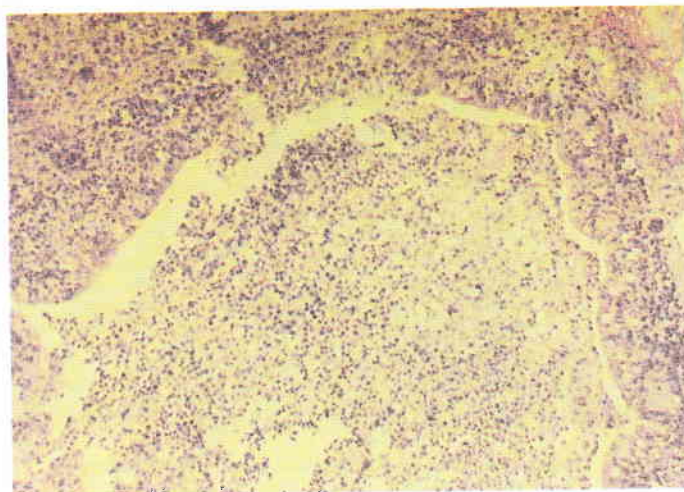
Ryc. 1. Tchawica kanarka – duży naciek zapalny
Pow. ob. 25× ok. 5 Barw. H-E



Ryc. 2. Tchawica kanarka. Komórki nabłonkowe z kwasochłonnymi ciałkami wtrętowymi w cytoplazmie
Pow. ob. 100× ok. 5 Barw. H-E

badanych) obserwowano zapalenie oskrzelików z zaznaczającym się w wielu przypadkach rozplemem komórek nabłonka oraz sporadyczne występowanie w ich cytoplazmie kwasochłonnych ciałek wtrętowych (ryc. 3). Zapalenie z oskrzelików niejednokrotnie rozprzestrzeniło się na miąższ płuc. U jednego kanarka stwierdzono ziarniniaki grzybicze. W pozostałych badanych narządach takich jak mięsień sercowy i wątroba obserwowano przekrwienie oraz zmiany o cechach uszkodzenia, w nerkach tylko przekrwienie, a w śledzionie ubytek limfocytów.

Badanie w mikroskopie elektronowym. W komórkach nabłonka oskrzelików widoczne były elektronowo gęste struktury z licznymi wirionami, które zależnie od płaszczyzny przekroju wykazywały charakterystyczny dla wirusów ospy kształt genomu. Struktury te morfologicznie odpowiadają ciałkom wtrętowym typu A. Ponadto widoczne były wiriony w obrębie cytoplazmy a także wakuolarnie twory z leżącymi na obwodzie wirionami. W niektórych komórkach widoczne były inne struktury odpowiadające morfologicznie ciałkom wtrętowym typu B. Liczne komórki wykazywały znaczne uszkodzenie organelli komórkowych, wakuolizację siateczki

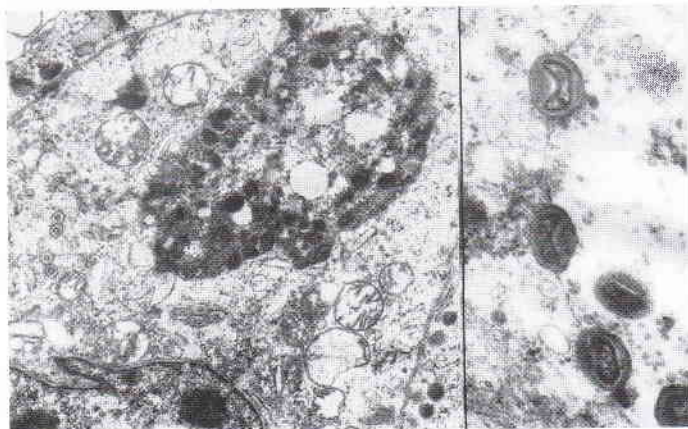


Ryc. 3. Płuca kanarka. Oskrzeliki z cechami zapalenia
Pow. ob. 10× ok. 5 Barw. H-E

śródpłazmatycznej, wakuole lipidowe i struktury mielinowe. Pomiedzy komórkami widoczne były elektronowo gęste masy włókna. Podobny obraz zmian obserwowano w komórkach nabłonka tchawicy (ryc. 4, 5, 6, 7).

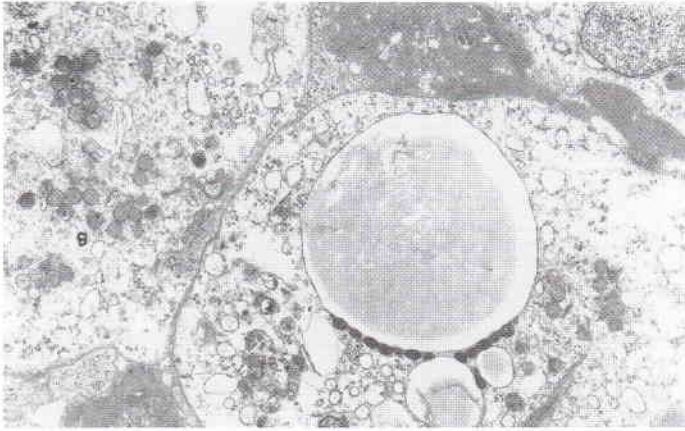
W preparatach wykonanych z wycinków wątroby – organelle komórek wątrobowych wykazywały cechy uszkodzenia (obrzęk mitochondriów, wakuolizacja siateczki).

Obserwowane w badaniach własnych kliniczne objawy zapalenia górnych dróg oddechowych i płuc oraz stwierdzona w badaniach mikroskopowych obecność ciałek wtrętowych w komórkach nabłonka są zgodne z obserwacjami innych autorów (6, 7, 9). W przebiegu zakażenia wirusem ospy w komórkach pojawiają się kwasochłonne ciałka wtrętowe (ATI – acidophilic type inclusions). W przypadku ospy ptaków uważa się, że zawierają one lipidy, dojrzałe wiriony i elektronowo gęste tubularne struktury białkowe. Lipidy te są zużywane w końcowym stadium dojrzewania wirionów i masowej produkcji wymienionych tubularnych struktur, które formują zewnętrzną otoczkę wirionu. Poza ciałkami tego typu (typ A), które widoczne są także w mikroskopie

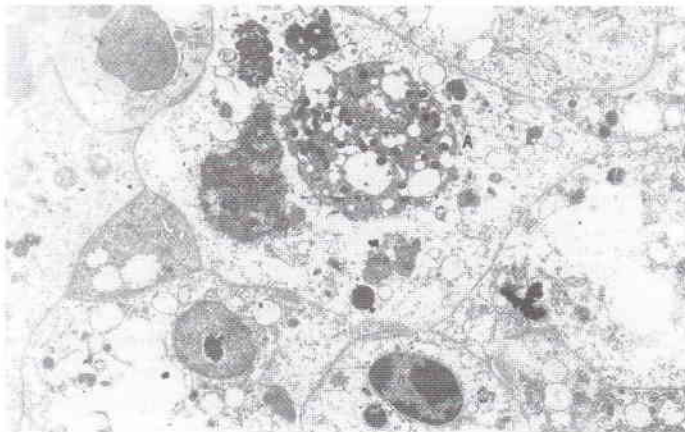


Ryc. 4-1. Płuco kanarka. Struktura odpowiadająca ciałku wtrętowemu typu A z wirionami ospy
Pow. 13 200×

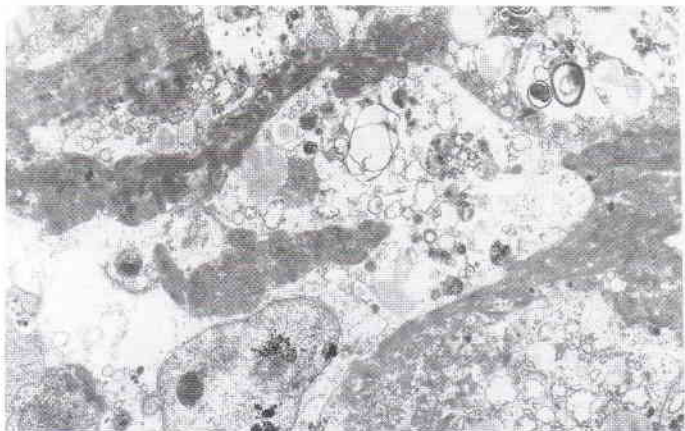
Ryc. 4-2. Wiriony ospy w wakuoli w komórce nabłonka oskrzelika
Pow. 50 000×



Ryc. 5. Tchawica kanarka. Liczne wakuolarnie struktury z wirionami i ciała typu B w komórkach nabłonka (B) Pow. 10 000×



Ryc. 6. Tchawica kanarka. Znaczne zmiany uszkodzeniowe w komórkach nabłonka, struktura odpowiadająca ciałku wtrętowemu typu A (A). Pow. 6600×



Ryc. 7. Tchawica kanarka. Wakuolizacje, figury mielinowe w komórkach nabłonka oraz elektronowo gęste masy włókna

A, jak i B. Wiriony są uwalniane z komórki po jej obumarciu w następstwie uszkodzenia organeli komórkowych lub też bezpośrednio przez błonę komórkową (5). Jak stwierdzano w badaniach doświadczalnych po zakażeniu błon kosmówkowo-omocznionych zarodków kurzych, wirusy ospy kanarków rosnące na CAM są zdolne do dojrzewania w dwóch formach: jak dojrzewające w ATI lub pączkujące bezpośrednio z komórki (12). Uważa się, że wiriony aby mogły wnikać do elektronowogęstych mas ciała wtrętowego muszą mieć na powierzchni tubularne białko, takie samo jak białka zewnętrznej warstwy poxwirusowej otoczki. Produkcja białka tubularnego jest genetycznie kontrolowana przez wirion (13). W opisywanym spontanicznym zakażeniu obserwowano wiriony mające cechy dojrzałych w ocenie morfologicznej w obrębie ATI oraz bardzo znaczne uszkodzenie komórek. Nie zauważono przechodzenia wirionów przez błonę komórkową, a znaczne uszkodzenie komórek sugeruje uwalnianie wirionów poprzez rozpad komórek. Obserwowane zmiany wykazują podobieństwo do zmian stwierdzanych w badaniach błon kosmówkowo-omocznionych (12), a także po zakażeniach eksperymentalnych u kanarków (11, 14).

W zakażeniu ektromelią u myszy obserwuje się formę płucną choroby w okresie pierwszej wirerii. Równocześnie obserwuje się też zmiany w wątrobie i śledzionie wraz z obecnością ciałek wtrętowych (10). W badaniach własnych zmian podobnych w wątrobie i śledzionie nie obserwowano, co może przemawiać za miejscowym procesem w drogach oddechowych.

W opisanym przypadku własnym objawy kliniczne oraz zmiany anatomopatologiczne znalazły pełne potwierdzenie w wynikach badań patomorfologicznych. Dlatego badanie w mikroskopie świetlnym i elektronowym jest ważną i czułą metodą polecaną w diagnostyce różnicowej chorób układu oddechowego kanarków.

Piśmiennictwo

1. Bigland C. H., Whenham G. R., Graesser F. E.: Can. Vet. J. 3, 347, 1962.
2. Cavill J. P.: Vet. Rec. 76, 463, 1964.
3. Fields B. N., Knipe D. M. i wsp.: Virology. Rowen Press, New York 1990 s. 2080-2099.
4. Hiller G., Weber K., Schneider L., Parajsz Ch., Jungwirth Ch.: Virology 98, 142, 1979.
5. Hofstad M. S., Barnes i wsp.: Diseases of Poultry. Iowa State Univ. Press, Ames. 1984, s. 524-532.
6. Johnson B. J., Castro A. E.: JAVMA 189, 1345, 1986.
7. Karpińska E., Malicka E., Szeleszczuk P.: Epizootia ospy w Polsce. VII Symp. Drobiarskie, Polanica Zdrój, 1993.
8. Loupal G., Schonbauer M., Jahn J.: Zbl. Vet. Med. B, 32, 326, 1985.
9. Montasir M., Rabin E. R., Philips C. A.: Am. J. Path. 48, 877, 1966.
10. Rampin T., Sironi G., Peccati C.: Clin. Vet. 3, 46, 1988.
11. Sadasiv F. C., Chang P. W., Gulka G.: Am. J. Vet. Res. 46, 529, 1985.
12. Shida H., Tanabe K., Matsumoto S.: Virology 76, 217, 1997.
13. Sironi G., Peccati C., Rampin T.: Clin. Vet. 3, 52, 1988.
14. Szeleszczuk P.: Mat. Konf.: Aktualny stan epidemiologiczny i immunoprofilaktyki chorób drobiu. Puławy 1995, s. 6.

Adres autora: prof. dr hab. Elżbieta Malicka, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

świetlnym, w komórkach występują ciała typu B. Są to małe nieregularne ciała zawierające elektronowo gęsty ziarnisty materiał, i są wyrazem wczesnego tworzenia się białek wiroplazmy. W mikroskopie świetlnym nie można ich obserwować (3, 13).

W badaniach własnych w komórkach nabłonka tchawicy i oskrzeli obserwowano struktury odpowiadające morfologicznie ciałkom wtrętowym typu