

## Infections with adenoviruses in bearded dragons

Szczepaniak K.<sup>1</sup>, Adaszek Ł.<sup>2</sup>, Sub-Department of Parasitology and Parasitic Diseases<sup>1</sup>, Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases<sup>2</sup>, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The purpose of this paper was to present a novel veterinary problem of viral infections in reptiles. Adenoviral infections occur in many captive reptiles also in bearded dragons often kept as companion animals. So far the most problematic is Agamid adenovirus 1 (AgAdV1), that has been reported in three species of these lizards: *Pogona barbata*, *Pogona vitticeps* and *Pogona henrylawsoni*. Premonitory signs of AgAdV1 infection are often non-specific, including loss of appetite, weight loss and weakness. Fatal gastroenteritis and hepatitis can occur in neonatal and young lizards. Usually, affected animals have secondary infections and also parasitic invasions. Histopathology can identify the intranuclear inclusion bodies associated with adenoviral infection which can be found mainly in hepatocytes and epithelial cells of intestinal mucosa. Their presence frequently accompanies severe pathological lesions and multiple hemorrhages in the liver. The diagnostic approach is difficult however, when performed ante-mortem. There are no effective treatments in these infections. Currently available PCR test improves the diagnostic procedure and allows detecting adenoviruses in cloacal washings or in feces of lizards. This is of critical importance in lizards colonies.

**Keywords:** Agamid adenovirus 1 infections, bearded dragons.

## Zakażenia adenowirusowe u agam brodatych

Klaudiusz Szczepaniak<sup>1</sup>, Łukasz Adaszek<sup>2</sup>

z Zakład u Parazytologii i Chorób Inwazyjnych<sup>1</sup> oraz Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych<sup>2</sup> Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Adenowiroza agam brodatych (*Pogona vitticeps*) jest wywołwana przez należący do rodziny *Adenoviridae* wirus Agamid adenovirus 1 (AgAdV1; 1). Rodzina ta skupia w sobie duże bezotoczkowe DNA-wirusy, o symetrii ikosaedralnej, charakteryzujące się stabilnością w środowisku zewnętrznym. Według NCBI (National Center for Biotechnology Information) obecnie w obrębie *Adenoviridae* rozróżnia się pięć rodzajów wirusów, z których najliczniejsze *Mastadenoviruses* oraz *Aviadenoviruses*, skupiają wirusy wywołujące zakażenia u ssaków oraz ptaków. Pozostałe trzy rodzaje to: *Siadenovirus*, gdzie sklasyfikowano wirusy chorobotwórcze dla drobiu i żab, *Ichtadenovirus*, do którego należy jeden gatunek wywołujący adenowirozę jesiotrów oraz rodzaj *Atadenovirus*, w którym umieszczono adenowirusy typowe dla przeżuwaczy oraz wszystkie znane obecnie gatunki występujące u gadów.

Zakażenia adenowirusami udokumentowano u co najmniej 26 różnych gatunków gadów, w tym także blisko spokrewnionych z *Pogona vitticeps*, takich jak agama brodatą karłowatą (*Pogona henrylawsoni*) oraz *Pogona barbata* (2, 3, 4, 5).

Badania molekularne nad adenowirusami izolowanymi od agam brodatych pochodzących z różnych hodowli wskazują, na genetyczne zróżnicowanie AgAdV1. Obecny podział wirusów z rodzaju *Atadenovirus*, wywołujących zakażenia agam brodatych przedstawia się następująco: Agamid adenovirus 1, Agamid atadenovirus Ben oraz Agamid atadenovirus Well (6).

## Występowanie

Zakażenia AgAdV1 występują powszechnie w hodowlach amatorskich agam brodatych na całym świecie. Nie wiadomo dokładnie jaki procent populacji tych zwierząt w niewoli jest nosicielami wirusa. Szacuje się, że adenowirusowe zapalenie wątroby jest najczęstszą przyczyną upadków u noworodków agam brodatych w USA. Dotychczas stwierdzono występowanie wirusa w hodowlach w Australii, Austrii, Belgii, Holandii, Japonii, Niemczech, Nowej Zelandii, Stanach Zjednoczonych, na Salwadorze i w Wielkiej Brytanii (3). W Polsce, pomimo licznej populacji tego gatunku zwierząt w hodowlach amatorskich, sytuacja epidemiologiczna zakażenia AgAdV1 jest nieznaną. Brak informacji o zakażeniach wirusem AgAdV1 u zwierząt zamieszkujących środowisko naturalne w krajach, gdzie agamy występują. Spowodowane jest to restrykcjami w prowadzeniu badań na żywych, wolno żyjących osobnikach, które np. od 1999 r. są prawnie chronione na terytorium Australii. Izolacja wirusa z padłych zwierząt znajdujących w środowisku naturalnym jest trudna, gdyż z reguły stan materiału uniemożliwia przeprowadzenie badań (7).

## Epidemiologia

W przeciwieństwie do adenowirusów patogennych dla ptaków i ssaków, adenowirusy gadów nie są dobrze scharakteryzowane. Do zakażenia dochodzi drogą pokarmową, a źródłem zarazka jest środowisko zanieczyszczone odchodami lub wydzielinami chorych zwierząt. Zakażenie może rozwijać się w następstwie bezpośredniego kontaktu osobników wrażliwych z chorymi i szerzyć poprzez układ oddechowy (8). Brak jest potwierdzonych informacji dotyczących transmisji wirusa z samicy



Ryc. 1. Zmiany anatomopatologiczne wątroby agamy brodatej w przebiegu adenowirozy

na potomstwo na poziomie jaj. Hipoteza odnośnie do pionowej drogi zakażenia ma jednak wielu zwolenników, zwłaszcza wśród badaczy, którzy izolowali AgAdV1 od kilkudniowych agam brodatych (8).

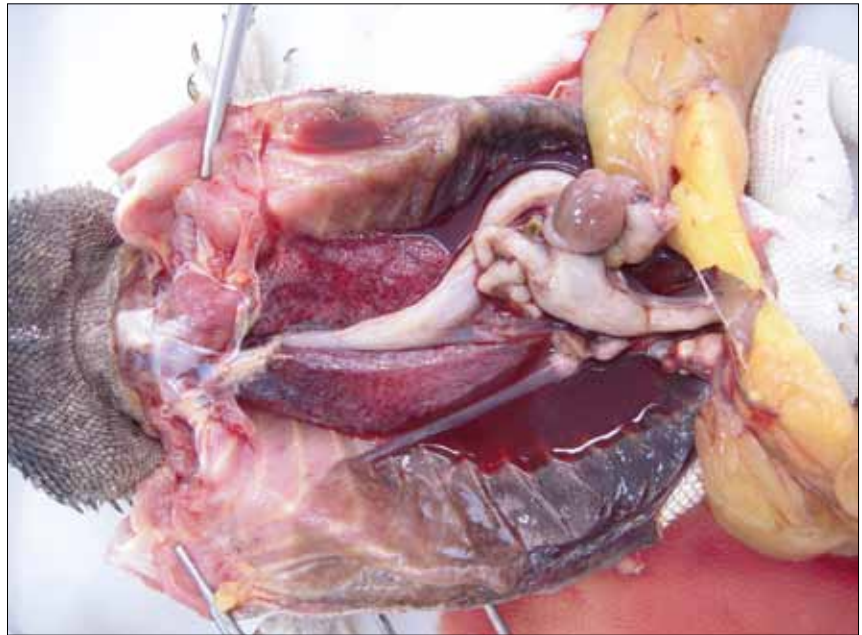
Nie są znane dane dotyczące czasu inkubacji choroby, współczynnika zachorowalności i śmiertelności w przebiegu adenowirozy. U młodych *Boa constrictor* po eksperymentalnym wprowadzeniu adenowirusa do jamy ciała dochodzi do martwicy wątroby, efektem czego są upadki notowane na ogół po upływie 14 dni od zakażenia (9). W dostępnym piśmiennictwie napotkać można bardzo zróżnicowane dane na temat potencjału chorobotwórczego i zdolności do wywoływania pierwotnej choroby przez wirus AgAdV1. Zakażenie adenowirusem często towarzyszy innym zakażeniom wirusowym i bakteryjnym, przyczyniając się do wzrostu śmiertelności zwierząt. U agam brodatych zakażonych adenowirusem notowano zwiększoną intensywność inwazji pasożytów wewnętrznych, takich jak kokcydia z rodzaju *Isoospora* i nicieni z nadrodziny Oxyuroidea (10, 11).

### Zmiany anatomopatologiczne

W obrazie sekcyjnym wątroba jest powiększona, blade, o konsystencji kruchej. Pęcherzyk żółciowy często jest pogrubiały i znacznie wypełniony żółcią (ryc. 1). Efektem uszkodzenia wątroby jest obecność wybroczyn i krwawych wylewów w tkance podskórnej, w ciele tłuszczowym i na błonach surowicznych jamy ciała (ryc. 2). W jelitach mogą wystąpić owrzodzenia oraz rozsiane przekrwienia błony śluzowej. U niektórych agam brodatych obserwowano także zmiany zapalne w nerkach, trzustce i płucach. DNA wirusa stwierdza się najczęściej w jądrach hepatocytów, komórkach nabłonka pęcherzyka żółciowego, komórkach Kupffera i w enterocytach. W zakażonych komórkach dochodzi do obrzęku i rozpadu jądra komórkowego. Badaniem histopatologicznym wątroby można stwierdzić zmiany tłuszczeniowe oraz obecność nacieków zapalnych i ognisk martwicy. Hepatocyty ulegają zwyrodnieniu balonowatemu. Charakterystyczną cechą zakażeń wirusem AgAdV1 jest występowanie bazofilnych ciałek wtrętowych widocznych w preparatach histologicznych z wątroby, pęcherzyka żółciowego i jelit. U innych gatunków gadów, od których izolowano adenowirusy, ciała wtrętowe stwierdzano także w: nerkach, śledzionie, nabłonku tchawicy i płucach (3, 5, 12).

### Objawy kliniczne

Wczesne objawy zakażenia są mało specyficzne, często występuje utrata apetytu,



Ryc. 2. Duża ilość płynu w jamie ciała, krwawe wylewy i wybroczyny związane z zakażeniem AgAdV1



Ryc. 3. Dziesięciomiesięczne agamy brodate. Wczesne objawy kliniczne adenowirozy – niska masa ciała oraz osłabienie widoczne u osobnika na pierwszym planie

spadek masy ciała i osłabienie (ryc. 3). Może wystąpić biegunka. Nagła śmierć jest częstym zjawiskiem u młodych osobników. U niektórych zwierząt upadki poprzedzone są opistotonusem i niedowładem kończyn. Zakażenie wirusem AgAdV1 dorosłych jaszczurek może przebiegać w postaci utajonej. U części dorosłych agam stwierdzono powiększenie powłok brzusznych, związane z uszkodzeniem wątroby i gromadzeniem się płynu w jamie piersiowo-brzusznej (3, 8; ryc. 4).

### Diagnostyka

Do metod najczęściej stosowanych w diagnostyce zakażeń AgAdV1 należy badanie

histopatologiczne. W preparatach z narządów wewnętrznych poszukuje się charakterystycznych bazofilnych ciałek wtrętowych. Bardziej swoistą i czułą metodą diagnostyczną jest hybrydyzacja *in situ*. Oba badania muszą być przeprowadzane na świeżych tkankach, stąd ich przydatność w diagnostyce pośmiertnej jest ograniczona. Obecność adenowirusów zarówno w tkankach, jak i w kale stwierdzić można za pomocą mikroskopii elektronicznej. Z obecnie dostępnych metod laboratoryjnych stosowanych w rozpoznawaniu adenowirusów agam najbardziej czułymi wydają się techniki biologii molekularnej. Największe zastosowanie znalazły dwie modyfikacje reakcji PCR: real-time PCR



**Ryc. 4.** Jeden z objawów zakażenia AgAdV1 – powiększone powłoki brzuszne w następstwie gromadzenia się płynu w jamie ciała

in nested PCR. Materiałem do izolacji wirusowego DNA może być kał, popłuczyny ze steku lub bioptat pobrany z wątroby. Z powodu rzadko występującej wirēmii w przebiegu zakażeń AgAdV1, krew nie jest dobrym materiałem diagnostycznym (12). Klasyczne metody wirusologiczne z powodzeniem stosowane w diagnostyce zakażeń adenowirusami ludzi i ptaków ze względu na czas, koszty i pracochłonność w przypadku gadów nie znalazły szerszego zastosowania. Nie opracowano dotąd komercyjnych testów, jak odczyn wiązania dopełniacza (OWD) czy metody immunoenzymatyczne (ELISA) do określania humoralnej odpowiedzi immunologicznej.

Interpretacja wyników badań laboratoryjnych nie jest łatwa, ponieważ nie wiadomo, czy siewstwo AgAdV1 jest stałe,

czy okresowe, ani przez jak długi czas wirus wydalany jest z organizmu zakażonych zwierząt. Dlatego nie ma pewności, czy jednorazowy negatywny wynik badania kału w kierunku obecności wirusa można traktować jako ostateczny, czy też należy badanie powtórzyć, a jeżeli tak, to po jakim czasie? Wiadomo, że wirus bywa stwierdzany u jaszczurek niewykazujących żadnych objawów klinicznych, stąd wynik dodatni może świadczyć jedynie o nosicielstwie (3, 5).

### Postępowanie

Jak do tej pory nie opracowano skutecznego leczenia. Nowo wprowadzane do hodowli agamy zaleca się poddawać kwarentannie i obserwacji. Agamy, u których

zostanie potwierdzone zakażenie powinny być wyłączone z hodowli.

### Piśmiennictwo

1. Wellehan J.F.X., Johnson A.J., Harrach B., Benko M., Pessier A.P., Johnson C.M., Garner M.M., Childress A., Jacobson E.R.: Detection and analysis of six lizard adenoviruses by consensus primer PCR provides further evidence of a reptilian origin for the atadenoviruses. *J. Virol.* 2004, **78**, 13366-13369.
2. Frye L., Munn R.J., Gardner M., Barten S.L., Hadfy L.B.: Adenovirus-like hepatitis in a group of related Rankin's dragon lizards (*Pogona henrylawsoni*). *J. Zoo Wildl. Med.* 1994, **25**, 167-171.
3. Jacobson E.R.: *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton 2007, s.401-402.
4. Julian A.F., Durham P.J.K.: Adenoviral hepatitis in a female bearded dragon (*Amphibolurus barbatus*). *N. Z. Vet. J.* 1982, **30**, 59-60.
5. Mader D. R. (edit.): *Reptile Medicine and Surgery*. Saunders Elsevier, St. Louis Missouri, 2006, s. 399-401.
6. Parkin D.B., Archer L.L., Childress A.L., Wellehan J.F.X. Jr.: Genotype differentiation of Agamid adenovirus 1 in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) in the USA by hexon gene sequence. *Infect. Genet. Evol.* 2009, **9**, 501-506.
7. Ladds P.W.: *Viral diseases in reptiles*. W: Ladds P.W. (edit.): *Pathology of Australian Native Wildlife*. CSIRO Publishing, Collingwood 2009, s. 53-61.
8. Kim D.Y., Mitchell M.A., Bauer R.W., Poston R., Cho D-Y: An outbreak of adenoviral infection in inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*) coinfecting with dependovirus and coccidial protozoa (*Isospora* spp.). *J. Vet. Diagn. Invest.* 2002, **14**, 332-334.
9. Ramis A., Fernandez-Bellon H, Majo N.: Adenovirus hepatitis in a boa constrictor (*Boa constrictor*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 573-576.
10. Dae Young K., Mitchell M.A., Bauer R.W., Poston R., Cho D.Y.: An outbreak of adenoviral infection in inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*) coinfecting with dependovirus and coccidial protozoa (*Isospora* spp.). *J. Vet. Diagn. Invest.* 2002, **14**, 332-334.
11. Jacobson E.R., Kopit W., Kennedy F.A.: Coinfection of a bearded dragon, *Pogona vitticeps*, with adenovirus- and dependovirus-like viruses. *Vet. Pathol* 1996, **33**, 343-346.
12. Moorman S.: Systemic adenovirus infection in bearded dragons (*Pogona vitticeps*): histological, ultrastructural, and molecular findings. *J. Comp. Path.* 2009, **141**, 78-83.

Lek. wet. Klaudiusz Szczepaniak, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: k.o.szczepaniak@gmail.com