

Pojavnost cirkovirusa u različitim vrsta papiga u zatočeništvu

Dorđević, Tessa

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:484300>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI STUDIJ
VETERINARSKA MEDICINA

DIPLOMSKI RAD

Tessa Đorđević

Pojavnost cirkovirusa u različitim vrsta papiga u zatočeništvu

Zagreb, 2024.

Tessa Đorđević

Odjel za veterinarsko javno zdravstvo i sigurnost hrane

Zavod za bolesti peradi s klinikom

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Željko Gottstein

Mentorice: doc. dr. sc. Maja Lukač

dr. sc. Liča Lozica

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Željko Gottstein
2. doc. dr. sc. Maja Lukač
3. dr. sc. Liča Lozica
4. doc. dr. sc. Dražen Đuričić (zamjena)

Rad sadržava 31 stranicu, 10 slika, 2 tablice i 38 literaturnih navoda.

Zahvala

Za početak bih se htjela zahvaliti svojim mentoricama doc. dr. sc. Maji Lukač i dr. sc. Liči Lozici za pomoć u odabiranju teme, izdvojenom vremenu, pomoći i podršci tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Hvala svim djelatnicima Zavodi za bolesti peradi s klinikom na podršci i strpljenju, ugodnom druženju te dodatnoj edukaciji u liječenju egzotičnih životinja tijekom mojih volonterskih dana. Hvala i svim volonterima koje sam upoznala na klinici, na svakoj dosadašnjoj suradnji, a nadam se i budućoj.

Hvala svim prijateljima koje sam upoznala tijekom studiranja, s kojima su studentski dani bili ispunjeni smijehom, veseljem i motivacijom tijekom ispitnih rokova. Posebno hvala prijateljima iz USVM "Equus" na svim projektima, ugodnom druženju i neprospavanim noćima, neopisivo ste mi uljepšali moje studenstke dane.

Hvala prijateljima iz Splita što su uvijek vjerovali u mene i što je naše prijateljstvo opstalo moju selidbu nakon toliko godina.

Posebno hvala mojoj obitelji, na svim stranama svijeta, na neopisivoj ljubavi i potpori i tijekom mojih najtežih dana studiranja.

Hvala Frani što me uvijek poticao da budem bolja, i što je vjerovao u mene i kada ja nisam.

POPIS PRILOGA

Slika 1. Prikaz geografske proširenosti objavljenih istraživanja o prisustvu BFDV-a u divljih papiga, te papiga u zatočeništvu u periodu od 1984. do 2015.

Slika 2. Prikaz badrljice pera zdrave tigrice i tigrice zaražene sa cirkovirusom.

Slika 3. Kakadu u kroničnom stadiju bolesti.

Slika 4. Žako zaražen s cirkovirusom.

Slika 5. Perje žakoa u kroničnom stadiju bolesti.

Slika 6. Prikupljeni uzorci perja i izmeta.

Slika 7. Prikaz učestalosti uzorkovanih papagaja iz uzgajivačnice.

Slika 8. Prikaz učestalosti uzorkovanih papagaja iz ambulante po vrstama.

Slika 9. Agarozni gel s PCR produktima nakon procesa elektroforeze.

Slika 10. Interpretacija uzoraka gel elektroforezom.

Tablica 1. Detaljan prikaz prikupljenih uzoraka za pretragu na prisustvo cirkovirusa iz Ambulante za ptice Veterinarskog fakulteta.

Tablica 2. Detaljan prikaz prikupljenih uzoraka za pretragu na prisustvo cirkovirusa iz uzgajivačnice papiga.

POPIS KRATICA U RADU

BFDV – virus bolesti kljuna i perja (engl. *beak and feather disease virus*)

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

PBFD – bolest kljuna i perja papiga (engl. *psittacine beak and feather disease*)

PCR – lančana reakcija polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
2.1. Svojstva cirkovirusa.....	2
2.2. Patogeneza i epidemiologija.....	4
2.3. Klinička slika.....	5
2.4. Patohistologija.....	9
2.5. Dijagnostika.....	10
2.6. Liječenje i profilaksa.....	11
3. MATERIJALI I METODE	12
3.1. Uzorci.....	12
3.2. Izolacija DNK.....	14
3.3. PCR.....	14
3.4. Gel elektroforeza.....	15
4. REZULTATI	17
5. RASPRAVA	21
6. ZAKLJUČCI	24
7. LITERATURA	25
8. SAŽETAK	29
9. SUMMARY	30
10. ŽIVOTOPIS	31

1. UVOD

Papagaji su skupina ptica koje pripadaju redu *Psittaciformes*. Karakteriziraju ih snažan, zakrivljen kljun i zigodaktilne noge. Smatra se da u svijetu postoji oko 410 vrsta papagaja. Vrlo su raznovrsne životinje s velikim razlikama u izgledu, veličini, ponašanju i životnim navikama. Najčešće vrste papiga koje se drže kao kućni ljubimci su ara (*Ara* spp.), kakadu (*Cacatuidae*), aleksandar (*Psittacula krameri*), žako (*Psittacus erithacus*), amazone (*Amazona* spp.), edel (*Eclactus roratus*), nimfa (*Nymphicus hollandicus*), tigrica (*Melopsittacus undulatus*) i agapornis (*Agapornis* spp.) (HARCOURT-BROWN, 2009; PRUKNER-RADOVČIĆ, 2010.).

Za razliku od pasa i mačaka, papige nisu domestificirane životinje, stoga dijele svoje ponašanje i fizionomiju s divljim papigama. No, papige u zatočeništvu ne mogu ispoljavati svoje prirodno ponašanje, kao što su dugi letovi, život u jatu te potraga za hranom (KELLY i sur., 2007.). ANTONIO i suradnici (2024.) navode kako ptice u zatočeništvu imaju slabiji imunski odgovor na antigene, zbog čega su sklonije razvoju zaraznih bolesti, kao što su virusne infekcije.

Prvi dokazi virusnih infekcija u papiga zabilježeni su 1970-ih godina, kada je u Njemačkoj izoliran poxvirus u agapornisa (ANTONIO i sur., 2024.). Najčešći virusi izdvojeni u papiga su adenovirusi, bornavirusi, cirkovirusi, koronavirusi, flavivirusi, herpesvirusi, orthomyxovirusi, polyomavirusi, poxvirusi i retrovirusi (GREENACRE, 2005.). Cirkovirus predstavlja posebnu opasnost kako u populaciji divljih papiga, tako i u papiga u zatočeništvu (SARKER i sur., 2014.). Uzrokuje bolest kljuna i perja (engl. *Psittacine beak and feather disease*, PBF). Bolest je izrazito kontagiozna i često fatalna, osobito u mladih ptica u akutnom tijeku. U kroničnom tijeku uzrokuje deformaciju perja i kljuna, rast nepravilnog i zakržljalog perja, nekrozu nepca, letargiju, depresiju i imunosupresiju, te smrt. Razvijenost bolesti, jačina kliničkih simptoma i ishod bolesti ovisi o vrsti papiga, virulenciji soja, imunskom odgovoru domaćina i stresnim faktorima (FOGELL i sur., 2016.).

Cilj ovog rada bio je istražiti pojavnost cirkovirusne infekcije kod papiga u zatočeništvu. Glavni interes istraživanja bio je prikupiti informacije o ispoljavanju kliničkih simptoma kod pozitivnih jedinki. Također, cilj je bio istražiti pojavnost cirkovirusne infekcije u uzgojima papiga, gdje se velika populacija ptica nalazi na jednom mjestu, i kako to utječe na širenje bolesti.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

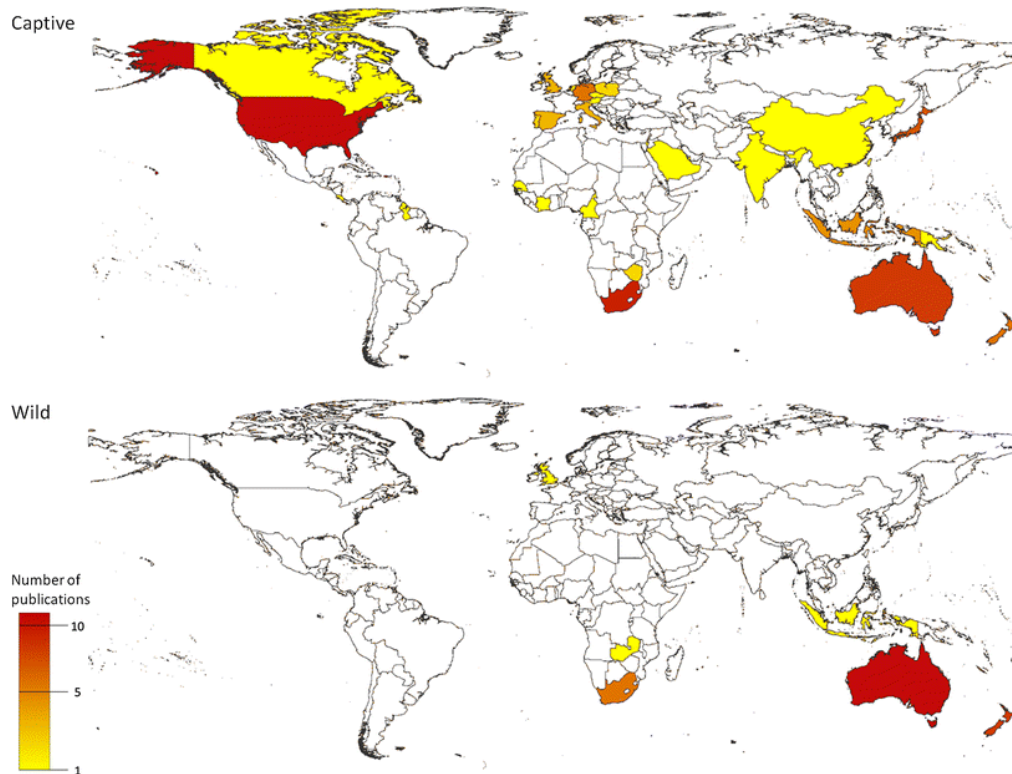
2.1. Svojstva cirkovirusa

Cirkovirusi spadaju u porodice malih virusa, veličine 15-30 nm, s okruglom, kovalentno zatvorenom jednolančanom DNK jezgrom. Uzrokuju imunosupresivne bolesti u sisavaca, ptica i riba. U domaćih i divljih ptica, te u peradi, najvažniji virusi iz ove porodice su virus bolesti kljuna i perja (engl. *Beak and feather disease virus*, BFDV) i cirkovirusna bolest golubova (WILLIAMS i sur., 2023.)

BFDV je među najmanjim i najjednostavnijim patogenim virusima na svijetu. Građen je kao ikozaedarski virion bez ovojnice, veličine od 14 do 16 nm i sadrži jednolančanu DNK (FOGELL i sur., 2016.; FENNER, 2017.). Izrazito je genetički raznolik i sklon mutacijama. Za razliku od drugih cirkovirusa, ima sposobnost hemagutinacije, te dokazano aglutinira eritrocite zamorčića, guski i mnogih vrsta papagaja. Genom kodira kapsidni protein (Cap) i protein replikaze (Rep), koji pomažu virusu ulazak u genom stanice domaćina i repliciranje tijekom mitotičke diobe (HEATH i sur., 2006.; FENNER, 2017.). Virus se ne može uspješno uzgojiti *in vitro*, stoga je proizvodnja cjepiva dosad bila neuspješna (RAIDAL, 2016.; MA i sur., 2019.).

Smatra se da je bolest prvi put opisana 1907. godine u južnoj Australiji, u populaciji pjevajućih papiga (*Psephotus haematonotus*) (ASHBY, 1907.). Ptice su bile opisane kao “naizgled zdrave, ali manjkavog perja”. Pretpostavlja se da je pojava ove bolesti dovela do pada populacije tih ptica u području južne Australije jer su bile sklone napadima predatora zbog nemogućnosti letenja. Bolest je prvi put prepoznata kao problem u avikulturi tijekom 1970-ih godina (PASS i PERRY, 1984.; RAIDAL, 2016.). U Australiji bolest i dalje predstavlja veliku opasnost kako papigama u zatočeništvu, tako i divljim populacijama. BFDV ima širok spektar domaćina te lako prelazi sa jedne vrste ptice na drugu. Izrazito je sklon genetskim mutacijama, pa se prilagođava imunosnom odgovoru bilo kojeg domaćina kojeg zarazi. Virus se počinje izlučivati u fecesu prije pojave kliničkih znakova, i rapidno širenje u divljini se vjerojatno događa preko kontaminiranih napuštenih gnijezda, s obzirom da virus može dugo preživjeti u okolišu (RAIDAL i PETERS, 2018.). Zbog svoje izrazite kontagioznosti i globalne trgovine papigama, bolest je proširena po cijelom svijetu, kako u divljim populacijama, tako i među papigama u zatočeništvu (Slika 1). Prema zapisima iz 2015. godine, prevalencija PBF-a je bila 23% u Australiji, 40,4 % u Njemačkoj, 8% u Italiji, 41,2% u Taiwanu te 3,5-4% u SAD-u (HAKIMUDDIN i sur., 2015.). Na Slici 1, gornja karta prikazuje broj objavljenih istraživanja provedenim na papigama u zatočeništvu, a donja karta broj objavljenih istraživanja na divljim

populacijama papiga. Prisustvo BFDV-a je potvrđena u svim državama koje su provele istraživanje, osim Senegala. Ujedinjeno kraljevstvo je jedina država u istraživanju koja nema prirodne divlje populacije papiga, no BFDV je potvrđen u divljim invazivnim populacijama.



Slika 1. Prikaz geografske proširenosti objavljenih istraživanja o prisustvu BFDV-a u divljih papiga, te papiga u zatočeništvu u periodu od 1984. do 2015.

Preuzeto iz: FOGELL i sur. (2016.)

Virus je izrazito stabilan u okolišu i može preživjeti do 18 mjeseci u organskoj tvari. Temperatura od 80°C na 30 minuta ne deaktivira virus i otporan je na isušivanje. Virus se može inkativirati korištenjem peroksidnih dezinficijensa te dezinficijensa na bazi klora ili kvarternih amonijevih spojeva, međutim trebaju djelovati barem 10 minuta prije ispiranja.

2.2. Patogeneza i epidemiologija

Infekciji cirkovirusom su podložne sve skupine papiga, ali virus zbog svoje izrazite kontagioznosti i sklonosti mutacijama može zaraziti i ostale vrste ptica poput onih iz reda vrapčarki (lat. *Passeriformes*) i sovki (lat. *Strigiformes*) (AMERY-GALE i sur., 2017.). Ipak, bolest najčešće zahvaća papige afričkog i australazijskog podrijetla. Najčešće obolijevaju ptice mlađe od 3 godine. Način širenja infekcije je horizontalan, no postoji teorija vertikalnog prijenosa jer je DNK virusa pronađen u embrijima zaraženih ženki. Izvor infekcije su zaražene ptice, koje virus izlučuju putem detritusa kože, fecesa i iznimno preko voljke tijekom hranjenja mladunčadi (RAIDAL, 2016.). Asimptomatske ptice mogu godinama širiti virus u okoliš (GREENACRE, 2017.). Bolest se širi direktnim kontaktom s oboljelom pticom, preko detritusa kože i fecesa, te indirektno preko kontaminiranih površina, obzirom da je virus izrazito stabilan u okolišu, ali i preko vektora kao što je *Knemidokoptes pilae*, koji uzrokuju šugu u ptica (PORTAS i sur., 2017.). Ulazna vrata su sluznica gastrointestinalnog trakta, putem kojeg se virus širi do limfoidnog tkiva i Fabricijeve burze. Primarna replikacija virusa se događa u limfoidnim organima, nakon čega se virus putem krvi širi do ostalih organa, kao što su jetra, timus, epidermis i ostala tkiva. Dolazi do atrofije Fabricijeve burze, timusa, deplecije koštane srži i nekroze jetre. Imunosupresija s posljedičnim sekundarnim infekcijama je glavni uzrok uginuća u mladim ptića (PENDL, 2016.). Ovom obliku bolesti su najpodložnije afričke sive papige, koje ugibaju u dobi od 6 mjeseci do godinu dana zbog izrazite leukopenije, anemije i nekroze jetre (SCHOEMAKER i sur., 2000.). Virus je hepatotoksičan i smatra se da je jetra jedno od glavnih mjesta replikacije virusa (RAIDAL i CROSS, 1995.). Nekroza jetre može dovesti do diskoloracije perja zaraženih ptica, zelena pera postaju žuta, jer se određeni pigmenti stvaraju u jetri. Iako, diskoloracija pera može biti i zbog nutritivnih deficita (SCHMIDT i LIGHTFOOT, 2006.) Osim anemije i leukopenije, virus napada i B stanice limfnog sustava, uzrokujući limfocitopeniju. Virus također napada brzoreplicirajuće stanice, kao što su stanice kljuna, kandži te folikuli perja, pa u kroničnom obliku bolesti uzrokuju poremećaj rasta i deformaciju kljuna i kandži, te naglo opadanje i distrofičan rast pera (RITCHIE i sur., 2007.; HAKIMUDDIN i sur., 2015.). Inkubacijski period je 21 dan, no vrijeme varira ovisno o infekcijskoj dozi, starosti ptice i imunološkom statusu ptice. Odrasle ptice su sklonije infekciji kod produljenog izlaganja virusu i stresu (RADIAL, 2012.).

2.3. Klinička slika

Od bolesti najčešće oboljevaju juvenilne i mlade ptice, no sve dobne skupine i vrste ptica se mogu zaraziti. Bolest se može očitovati akutnim ili kroničnim tijekom. Akutni tijek bolesti je češći u mladim ptica gdje nastupa smrt tjedan dana nakon pojave kliničkih simptoma, ili iznimno bez kliničke manifestacije s naglim uginućem, najčešće u žakoa (SCHOEMAKER i sur., 2000.). Češće se susrećemo s kroničnim oblikom bolesti, od kojeg oboljevaju ptice starije od 2, a najčešće one starosti 5 godina (RAIDAL, 2016.).

U akutnoj fazi bolesti dolazi do nagle pojave kliničkih znakova. Ptice postanu depresivne, letargične, razviju proljev zelenkaste boje. Dolazi do leukopenije, anemije, biliverdinurije i hepatičke nekroze. Ptice regurgitiraju hranu i naglo mršave. Krila i pernati folikuli postanu bolni i edematozni zbog upale i vaskulitisa. U jetri i žuči poraste titar virusa te neke ptice mogu uginuti od nekroze jetre bez vanjskih znakova bolesti. S obzirom na stadij razvijenosti pernatog pokrova ptica, može doći do naglog gubitka zahvaćenog perja, ili opadanja samo letnog perja. Perje u rastu može pucati u kalamusu s popratnim krvarenjem, ili može doći do nekroze perja prije potpunog presvlačenja (Slika 2). Smrt nastupa tjedan dana od pojave kliničkih znakova (RAIDAL, 2012.).



Slika 2. Prikaz badrljice pera zdrave tigrice (lijevo) i badrljice pera papige tigrice zaražene cirkovirusom (desno). Zaražena badrljica je krvava, s predebelom hiperkeratoznom ovojnicom i deformirana. Izvor: <https://www.birds-online.de/wp/en/birds-online-english/health-and-diseases/plumage-disorders-and-molt/pbfd/>



Slika 3. Kakadu u kroničnom stadiju bolesti. Uočava se bilateralan gubitak perja, novo perje je distrofično i hiperkeratozno a kljun je deformiran, predugačak i nepravilnog oblika.

Izvor: <http://blogs.thatpetplace.com/thatbirdblog/2011/10/29/understanding-psittacine-beak-and-feather-disease-pbfd/>

Pbfd se češće razvije u kronični oblik bolesti. Tijekom mitarenja, zdravo i snažno perje zamjenjuje se distrofičnim i slabim pernatim pokrovom te ptica postepeno gubi perje, bez očitih drugih kliničkih znakova bolesti. Obrazac gubitka perja je u korelaciji s mitarenjem, najčešće bilateralno simetrično (GREENACRE, 2017.). Zahvaćeno perje je kratko, zavijeno, sa zadebljalom keratinskom ovojnicom ili ovojnica potpuno izostaje, te je prisutno krvarenje u kalamusu. Perje može biti bez sjaja, s gubitkom primarne boje i diskoloracijom (RAIDAL, 2016.). U kakadua, osim uobičajene kliničke slike simetričnog gubitka perja, prvi klinički znak je gubitak prirodnog pernatog pudera. Bolest prvo zahvaća paperje zbog čega ptica prvo gubi paperje, a time i puder. Kljun i kandže su tada glatki i sjajni. Kakadui su također često sklone deformaciji kljuna, češće nego ostale vrste papiga (Slika 3). Zbog hiperkeratoze dolazi do preraštanja kljuna, a kasnije i frakture kljuna (PHALEN, 2006.). Većina infekcija virusom u agapornisa prolazi asimptomatski, a neke ptice čak izluče virus iz organizma nakon nekoliko godina. No, ako se razvije klinički oblik bolesti, najčešće vidimo prestanak rast perja nakon mitarenja (PHALEN, 2006.). Klinički znakovi će se ponekad manifestirati lokalnim promjenama kao što su periokularne upale s minimalnim gubitkom perja (SCHMIDT i LIGHTFOOT, 2006.). Edeli imaju sličnu kliničku sliku kao i agapornisi, no edeli su izrazito

skloni sekundarnim infekcijama nakon infekcije cirkovirusom, pogotovo polyomavirusom (PHALEN, 2006.). Nimfe su se dugo vremena smatrale rezistentnima na cirkovirus zbog nedostatka literature i prikaza slučajeva infekcije kod njih (SHEARER i sur., 2008.). SHEARER i suradnici (2008.) su proveli istraživanje kojim su različitim dijagnostičkim metodama dokazali da nimfe također mogu oboljeti od cirkovirusne infekcije, iako je ona uzorkovana specifičnim sojem koji se serološki i genetski razlikuje od cirkovirusa u drugih vrsta ptica, zbog čega su mogući lažno negativni nalazi (SHEARER i sur., 2007.; SHEARER i sur., 2008.). U žakoa je specifična crvena zonalna diskoloracija pera odraslih jedinki koje su se rano inficirale s cirkovirusom (REAVILL i DORRESTEIN, 2018.) (Slika 4 i 5). Kljun postaje mekan ili krhak, deformira se oblik te izbijaju frakture po cijeloj površini. U ekstremnim slučajevima može doći do nekroze gornjeg nepca i osteomijelize lubanje. Kandže su zahvaćene zadnje, slično kao i kljun, gube čvrstoću i deformiraju se. Izložena koža može biti hiperpigmentirana, stvoriti ulceracije, pogotovo na zglobovima krila i nogu. Zbog imunosupresije, ptice lako podliježu sekundarnim bakterijskih ili gljivičnim infekcijama. Najčešći uzrok uginuća su anoreksija zbog nemogućnosti uzimanja hrane i sekundarne infekcije (RAIDAL, 2012.).



Slika 4. Žako zaražen s cirkovirusom. Vidi se distrofično letno perje i crvena zonalna diskoloracija pokrovnog perja. Izvor: T. Đorđević



Slika 5. Perje žakoa u kroničnom stadiju bolesti. Vidi se zonalna diskoloracija originalne boje. Izvor: T. Đorđević

2.4. Patohistologija

U kožnim lezijama uočavaju se multifokalne nekroze epitelnih stanica, nekroza i krvarenje u batrljku pera, epidermalna hiperplazija i hiperkeratoza (WELLEHAN i sur., 2016.). Moguća je infiltracija heterofila i limfocita u sami kalamus pera. U bazalnom i intermedijalnom sloju kljuna uočava se nekroza i degeneracija epitelnih stanica. Moguća je prisutnost bakterija i upale u epitelu kljuna (RAIDAL, 2016.).

Dolazi do kongestije jetre s multifokalnim žarištima nekroze različite jačine. U Kupfferovim stanicama se mogu pronaći bazofilne inkluzije. Fabricijeva burza i timus su atrofirani i s određenim stupnjem nekroze (RAIDAL, 2016.; WELLEHAN i sur., 2016.).

Imunohistokemijski se može dokazati prisustvo antigena na PBFĐ u različitim tkivima i organima, no najbolje su se pokazali Fabricijeva burza, folikuli perja, jednjak, voljka i slezena. (RAIDAL, 2016.; WELLEHAN i sur., 2016.).

2.5. Dijagnostika

Klinička dijagnostika PBF-a je moguća zbog jedinstvenih kliničkih simptoma, pogotovo u kroničnom stadiju bolesti. No bolest se uvijek mora potvrditi dodatnim laboratorijskim pretragama da se isključe bolesti sličnih kliničkih manifestacija, kao što je infekcija polyomavirusom ili kronični hipotireoidizam (RAIDAL, 2016.). Diferencijalno treba također isključiti čupanje perja i samoozljeđivanje kao posljedica poremećaja ponašanja, te nedostaje li perje na mjestima gdje se ptica ne može sama čupati. Nedostatak perja samo na glavi može biti dobar pokazatelj virusne infekcije jer se ptica tu ne može sama čupati. Moguće je koristiti biopsiju kože kako bi se patohistološki dokazao uzročnik, no pretraga nije dovoljno osjetljiva stoga se rijetko koristi (RAIDAL, 2016.).

Serološkim pretragama mogu se dokazati protutijela na cirkovirus. Iako postoje ELISA testovi za detekciju protutijela na cirkovirus, ne koriste se često jer još nije poznato kako imunoglobulini Y od različitih vrsta papagaja međusobno reagiraju u unakrižnoj reakciji, stoga se ne može potvrditi valjanost testa kada se koriste uzorci različite vrste. Bolja serološka pretraga za detekciju protutijela je inhibicija hemaglutinacije (RAIDAL, 2016.).

U većini država test lančane reakcije polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) smatra se zlatnim standardom za dijagnostiku cirkovirusnih infekcija. Na tržištu su dostupni univerzalni setovi početnica za cirkoviruse i specifični setovi za detekciju BFDV-a. S obzirom da su univerzalne početnice manje specifične, za dijagnostiku se obično koriste početnice za detekciju proteina replikacije specifičnog za BFDV.

Uzorci za PCR mogu biti krv, perje, bris kloake ili izmet u živih jedinki, a postmortalno možemo uzimati uzorke organa kao što su voljka, crijevo, koža, jetra i slezena. Ukoliko se uzimaju perje ili izmet, velika se važnost predaje pravilnom skupljanju i pakiranju uzoraka kako ne bi došlo do kontaminacije i lažno pozitivnih odnosno lažno negativnih rezultata (RAIDAL, 2016.). Ako su rezultati PCR pretrage pozitivni, a ptica ne pokazuje kliničke znakove bolesti, preporučuje se ponovno testiranje za 30-90 dana (ROMAGNANO, 2012.).

2.6. Liječenje i profilaksa

Ne postoji specifični lijek, ni terapija za PBFD. Jednom zaražene ptice postaju doživotni kliconoše i mogu zaraziti ostale ptice. Potporna i simptomatska terapija može pomoći, kako pticama u akutnom, tako i u kroničnom stadiju bolesti. Ukoliko je ptica zaražena cirkovirusom, mogu se poduzeti mjere za poboljšanje kvalitete života, pogotovo ako se još nisu razvili klinički znakovi bolesti. Mnoge ptice u latentnoj fazi mogu poživjeti dugi niz godina uz pravilne mjere, kao što su održavanje higijene kaveza, pravilna prehrana, smanjivanje stresa i podizanje imuniteta (YAMAMOTO, 2022.; MANUCY, 2022.).

Zaražene ptice treba držati bez prisustva drugih ptica, kako ne bi dalje širile infekciju, no kako bi se i njih zaštitilo od sekundarnih infekcija. Također treba izbjegavati stresne situacije koje mogu potaknuti simptome bolesti (RICH i AXELSON, 2023.). Pravilna prehrana je važna zbog održavanja dobrog imunološkog odgovora domaćina. Često i pravilno čišćenje kaveza i okoline smanjuje mogućnost sekundarnih infekcija. Redovito kupanje omekšava kožu i perje kako bi se mitarenje pravilno odvijalo (YAMAMOTO, 2022.; MANUCY, 2022.). Novo nabavljene ptice trebale bi proći karantenu tijekom koje se provodi i testiranje na cirkoviruse (RAIDAL, 2016.).

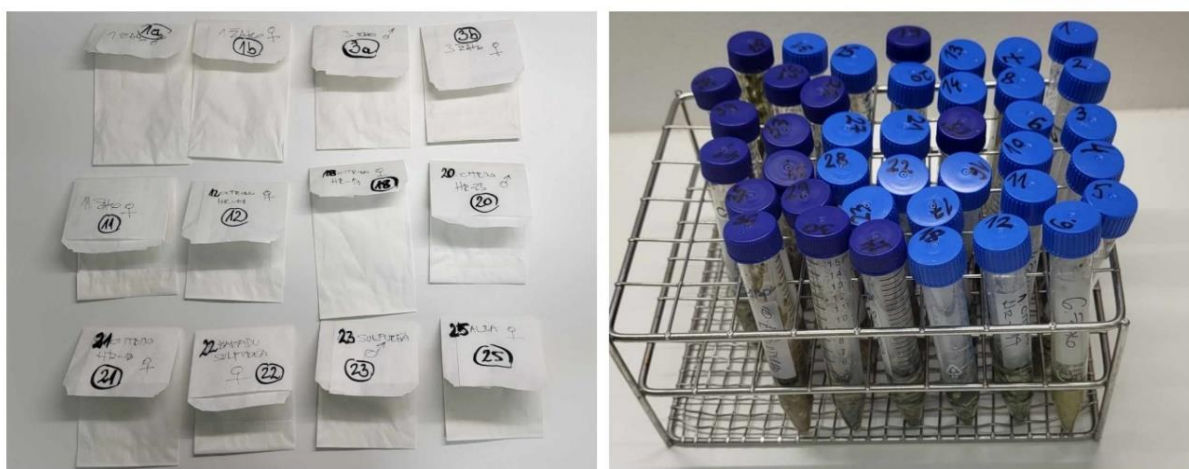
Zasad ne postoji efektivno cjepivo protiv cirkovirusa zbog nemogućnosti izdvajanja virusa *in vitro* (MA i sur, 2020.). Eksperimentalna cjepiva koja koriste inaktivirani virus ili rekombinantne proteine su zasada bili efektivni. No takva cjepiva nisu zaustavila infekciju virusom niti replikaciju virusa u domaćina, samo su ublažili simptome bolesti (RAIDAL, 2016.).

3. MATERIJALI I METODE

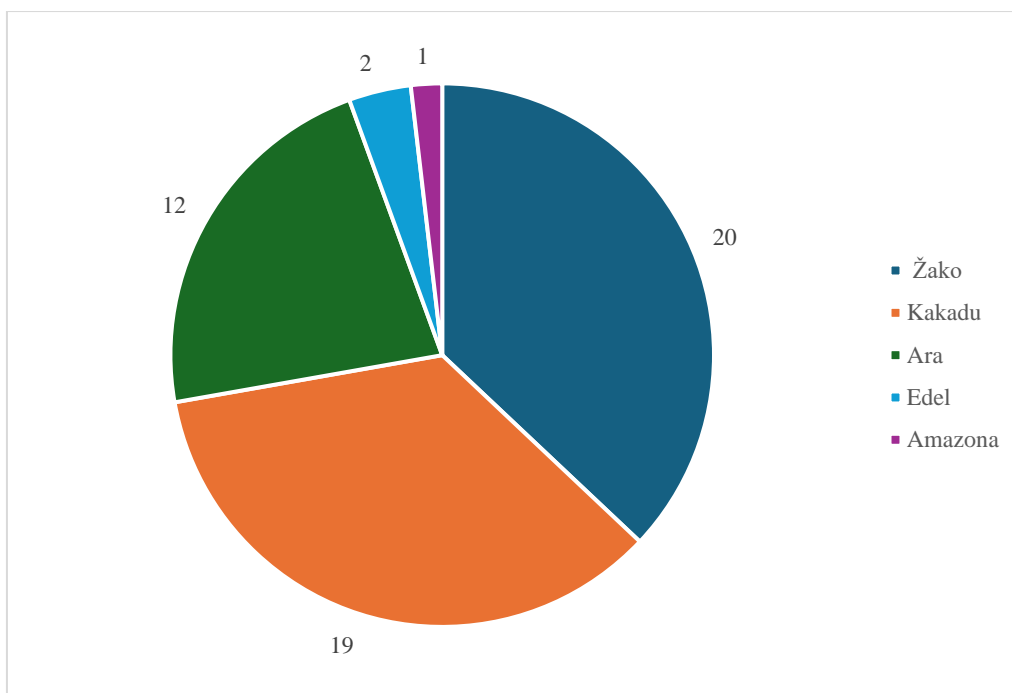
3.1. Uzorci

U istraživanju je analiziran sveukupno 131 uzorak zaprimljen u Ambulanti za ptice Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i prikupljen iz jedne uzgajivačnice papiga. Uzorci iz Ambulante za ptice su prikupljeni od ptica koje su pokazivale simptome cirkovirusne infekcije ili od novonabavljenih ptica čiji su vlasnici htjeli isključiti zarazu cirkovirusom. Uzorkovano je 36 jedinki od kojih je prikupljeno ukupno 47 uzoraka, te je prikupljeno 8 skupnih uzoraka. Prikupljeno je 20 uzoraka izmeta, 24 uzorka perja, 2 obriska kloake, te 9 uzoraka organa (voljka, jetra, koža i crijevo) od tri uginule ptice. Iz uzgajivačnice je prikupljeno 40 uzoraka izmeta i 36 uzorka perja od istih ptica, tijekom jednog izlaska na teren u siječnju 2024. godine (Slika 6). Uzorci iz uzgajivačnice su analizirani u svrhu procjene pojavnosti i raširenosti cirkovirusa, na zahtjev uzgajivača. Ukupno 13 uzoraka izmeta je bilo skupno, podrijetlom od ptica koje su bile u direktnom kontaktu (parovi). Svi uzorci izmeta, brisevi i uzorci perja iz Ambulante za ptice obrađeni su unutar 24 sata od prikupljanja, dok su uzorci perja iz uzgajivačnice i uzorci tkiva bili zamrznuti na -20°C do daljnje obrade.

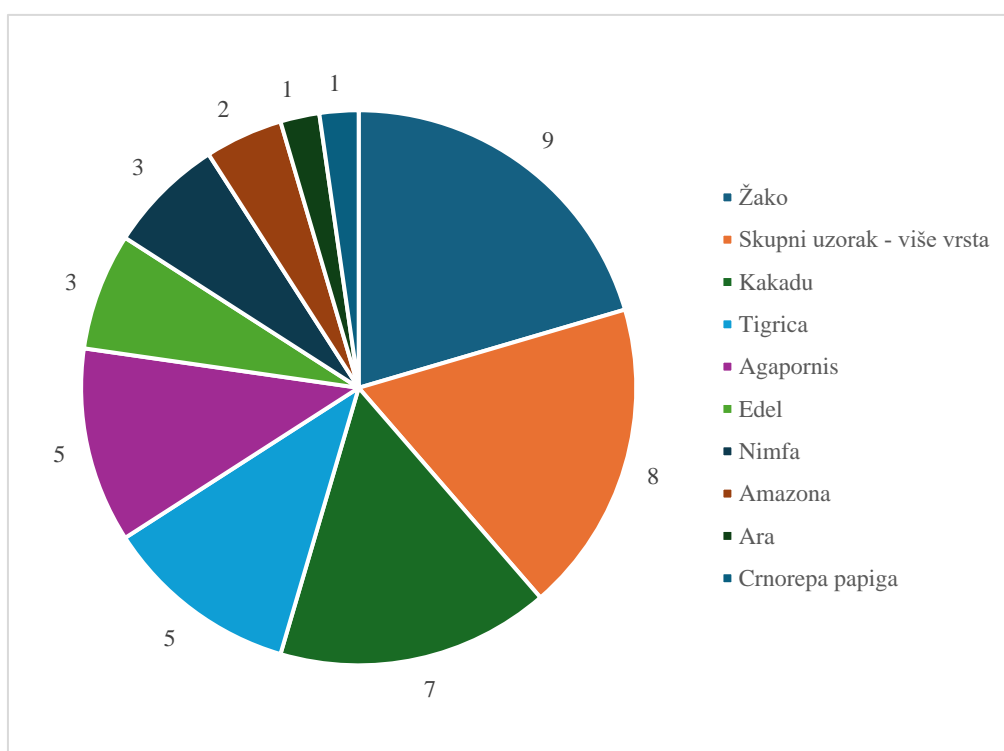
Prema podacima iz Ambulante za ptice, najčešća vrsta papagaja od koje su uzeti uzorci za pretragu na PBFĐ je bio žako (9 jedinki), te kakadu (7 jedinki). Sličnu učestalost smo uočili i u uzgajivačnici, gdje smo prikupili uzorke od 20 jedinki žakoa i 19 jedinki kakadua. Raspoređenost ostalih vrsta uzorkovanih vrsta papagaja je prikazana u slikama.



Slika 6. Prikupljeni uzorci perja i izmeta.



Slika 7. Prikaz učestalosti uzorkovanih papagaja iz uzgajivačnice.



Slika 8. Prikaz učestalosti uzorkovanih papagaja iz ambulante po vrstama.

3.2. Izolacija DNK

Izolacija DNK provedena je korištenjem Wizard Genomic DNA Purification kita (Promega, Madison, WI, SAD) i NucleoSpin DNA RapidLyse (Macherey-Nagel, Düren, Njemačka) prema uputama proizvođača uz manje izmjene. Uzorci izmeta (~2 g po uzorku) su pripremljeni na način da je u svaki uzorak dodana sterilna injekcijska voda u omjeru 1:1, nakon čega je svaki uzorak pojedinačno vorteksiran 30-60 sekundi do homogenizacije. Ukoliko je u uzorku bilo ostataka sjemenki ili piljevine, dodana je veća količina vode da bi omogućili da se uzorak bolje homogenizira. Od svakog uzorka izdvojeno je po 0,5 ml homogenata koji je dalje korišten u procesu izolacije DNK. Nakon inicijalne inkubacije od 2,5 sata pri 55°C, uzorci koji su imali značajnu količinu taloga su centrifugirani 2 minute na 13000 rpm te je korišten samo supernatant u nastavku procesa izolacije.

Svaki uzorak perja sastojao se od 5-6 pera počupanih s prsne muskulature. Za izdvajanje DNK korištene su badrljice perja usitnjene na komadiće veličine 0,5-1 mm. Iz obrisaka kloake DNK je izolirana na način da je vrh brisa aseptički odrezan, nakon čega je inkubiran 1 sat u puferu za lizu s dodatkom proteinaze K pri 56°C. Nakon inkubacije, bris je uklonjen te je proces izolacije nastavljen prema uputama proizvođača.

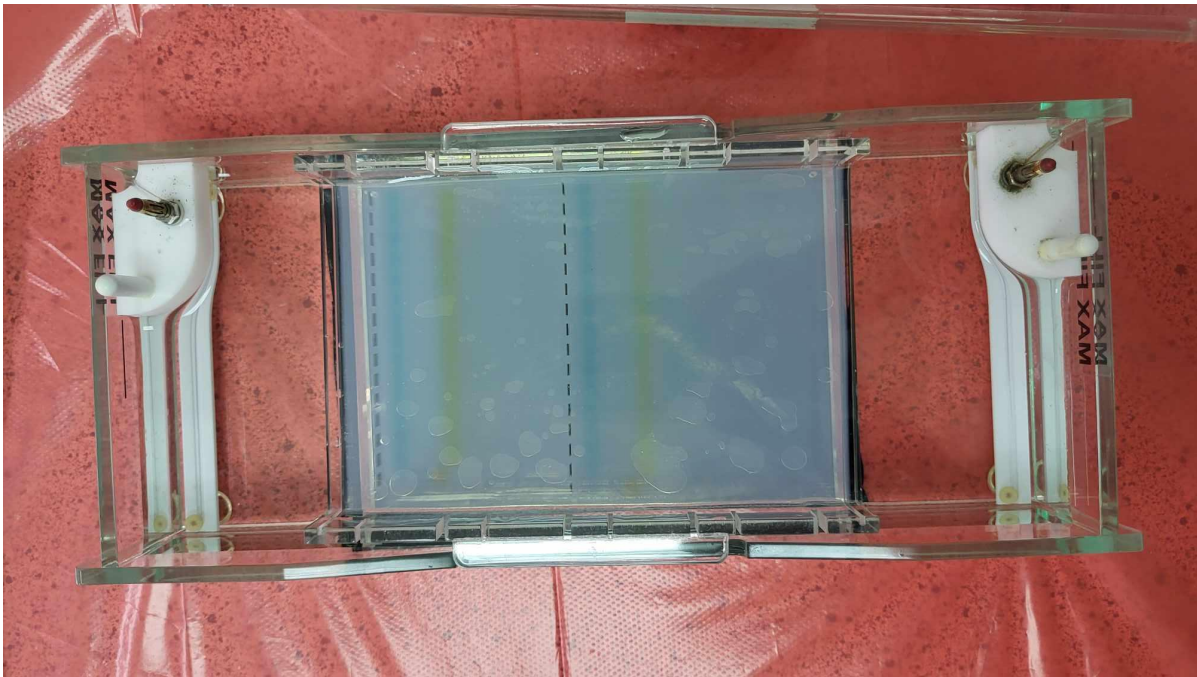
Od svakog uzorka organa otprilike 60 mg tkiva je aseptički homogenizirano nakon čega je homogenat korišten u procesu izolacije prema uputama proizvođača.

3.3 PCR

U svakoj reakciji korištene su uzvodne (PBFD-F: 5'-AACCCTACAGACGGCGAG-3') i nizvodne (PBFD-R: 5'-GTCACAGTCCTCCTTGTACC-3') početnice specifične za ORF1 regiju BFDV-a. Reakcijska smjesa sastojala se od 4 µl GoTaq® Green Master Mix (Promega, Madison, WI, SAD), 0,3 µl svake početnice, 1,5 µl DNK i 3,9 µl vode slobodne od nukleaza (Promega, Madison, WI, SAD), te je ukupan volumen iznosio 10 µl. Reakcije izvedene su prema protokolu YPELAAR i sur. (1999.): aktivacija na 96°C 5 min, zatim 40 ciklusa: denaturacija na 96°C 30 sek, vezanje na 60°C 30 sek i elongacija na 72°C kroz 90 sek.

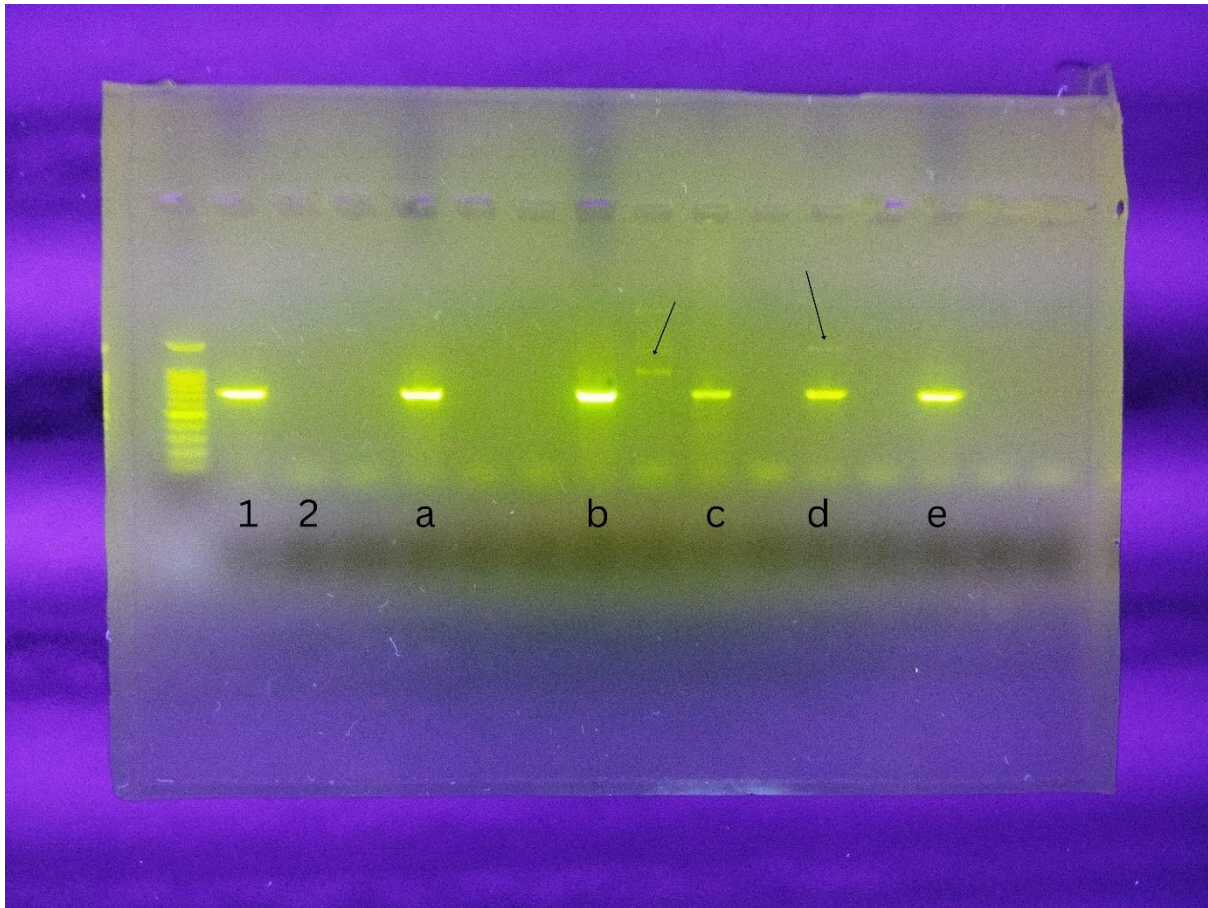
3.4. Gel elektroforeza

Za vizualizaciju PCR produkata, pripremljen je 1,5% -tni agarozni gel (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, SAD) s Midori Green Advance bojom (Nippon Genetics Europe GmbH, Düren, Njemačka) (Slika 9 i 10). Korišten je BenchTop 100 bp DNA ladder (Promega, Madison, WI, SAD) kao standard za određivanje veličine PCR produkata. Odvajanje se izvodilo 50 minuta na 60 V i 40 mA. Očekivana veličina umnožaka pozitivnih uzoraka bila je 717 bp.



Slika 9. Agarozni gel s PCR produktima nakon procesa elektroforeze.

Izvor: T. Đorđević



Slika 10. Interpretacija uzoraka gel elektroforezom. Brojem 1 na slici je označena pozitivna kontrola, umnožena na 717 bp, a brojem 2 negativna kontrola. Slovima a, b, c, d i e su označeni pozitivni rezultati uzoraka. Strelicama su označeni nespecifično umnoženi odsječci.

Izvor: T. Đorđević

4. REZULTATI

Od uzorkovanih papagaja iz uzgajivačnice, 8 uzoraka perja imalo je makroskopski vidljive promjene. Simptomi koji odgovaraju kliničkoj slici cirkovirusne infekcije prijavljeni su u 20 (55,56%) papagaja iz ambulante. Njih 17 (47,2%) je imalo problema s perjem, kao što je usporen ili poremećen rast perja, pretjerano čupanje ili perje loše kvalitete, dok je u 3 (8,3%) papagaja uočen problem s kljunom u obliku deformacije ili loše kvalitete kljuna. Od 36 testiranih jedinki iz ambulante, njih 16 (44,4%) bilo je pozitivno na infekciju cirkovirusom. Nasuprot toga, od 76 uzoraka iz uzgajivačnice, 5 (6,58%) se pokazalo pozitivnim na cirkovirus. Rezultati provedenih pretraga na prisustvo BFDV-a od preuzetih uzoraka iz Ambulante za ptice i uzgajivačnice su prikazani u tablicama 1 i 2.

Tablica 1. Detaljan prikaz prikupljenih uzoraka za pretragu na prisustvo cirkovirusa iz Ambulante za ptice Veterinarskog fakulteta.

Vrsta	Uzorak	Promjene na perju	Promjene na kljunu	Rezultat
Tigrica	Voljka, crijevo, koža, jetra	- ¹	-	+ (voljka, crijevo, koža)
Tigrica	Voljka, crijevo, koža, jetra	-	-	+ (voljka, crijevo, koža)
Tigrica	Perje	Da	Ne	-
Tigrica	Perje	Da	Ne	-
Tigrica	Perje	Ne	Ne	+
Edel	Perje	Da	Ne	+
Edel	Perje	Da	Ne	+
Edeli	Izmet (skupni uzorak)	Da	Ne	-
Edel	Izmet, perje	Da	Ne	-
Kakadu	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	Bris kloake	Ne	Ne	+
Kakadu	Izmet	Ne	Ne	+
Kakadu	Jetra	Ne	Ne	-
Kakadu	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	Izmet, perje	Da	Ne	+
Are	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	-

Ara	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	Perje	Da	Ne	+
Žako	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	Perje	Da	Ne	-
Žako	Izmet, perje	Da	Ne	-
Žako	Perje	Da	Ne	-
Žako	Perje	Da	Ne	-
Žako	Izmet, perje	Da	Ne	+
Žako	Perje	Da	Ne	-
Žako	Perje	Da	Ne	-
Nimfa	Perje	Da	Ne	+
Nimfe	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	-
Nimfa	Perje	Ne	Ne	+
Nimfa	Izmet, perje	Da	Ne	+
Amazona	Izmet	Da	Da	-
Amazona	Perje	Da	Da	-
Agapornis	Bris kloake	Da	Ne	+
Agapornis	Perje	Da	Ne	+
Agapornis	Perje	Da	Ne	+
Agapornis	Perje	Da	Ne	-
Agapornis	Perje	Ne	Da	-
Crnorepa papiga	Perje	Da	Ne	-
Tigrice, nimfe, zebe	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	+
Tigrice, nimfe, kanarinci	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	+
Tigrice, nimfe, kanarinci	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	+
Tigrice, nimfe, kanarinci	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	+
Tigrice, nimfe, kanarinci	Izmet (skupni uzorak)	Ne	Ne	+

¹Podaci nisu dostupni.

Tablica 2. Detaljan prikaz prikupljenih uzoraka za pretragu na prisustvo cirkovirusa iz uzgajivačnice papiga. Označeni parovi su držani zajedno, te se njihov izmet prikupljao kao skupni uzorak.

Vrsta	Spol	Par	Uzorak	Promjena na perju	Promjene na kljunu	Rezultat
Žako	M ¹	Par 1	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 1	Izmet, perje	Ne	Ne	+
Žako	M	Par 2	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 2	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	M	Par 3	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 3	Izmet, perje	Da	Ne	-
Žako	M	Par 4	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 4	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 5	Izmet, perje	Ne	Ne	+
Žako	M	Par 5	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	M	- ²	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 6	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	M	Par 6	Izmet, perje	Da	Ne	-
Žako	M	Par 7	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 7	Izmet, perje	Da	Ne	-
Žako	M	Par 8	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 8	Izmet	Ne	Ne	-
Žako	Ž	Par 9	Izmet, perje	Ne	Ne	+
Žako	M	Par 9	Izmet, perje	Da	Ne	-
Žako	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	np ³	-	Izmet, perje	Da	Ne	-
Kakadu	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	M	-	Izmet	Da	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Da	Ne	-
Kakadu	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	M	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	M	-	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-

Kakadu	M	Par 10	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	Par 10	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	M	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	Ž	-	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Kakadu	np	-	Perje	Ne	Ne	-
Ara	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Ara	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Ara	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Ara	Ž	Par 11	Izmet, perje	Da	Ne	-
Ara	M	Par 11	Izmet, perje	Ne	Ne	+
Ara	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Ara	Ž	Par 12	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Ara	M	Par 12	Izmet, perje	Ne	Ne	+
Ara	Ž	Par 13	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Ara	M	Par 13	Izmet, perje	Ne	Ne	-
Ara	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Ara	M	-	Izmet	Ne	Ne	-
Edel	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Edel	np	-	Izmet	Ne	Ne	-
Amazona	M	-	Izmet	Ne	Ne	-

¹M – mužjak, ²Ž – ženka; ²- – pojedinačna jedinka; ³np – nema podataka.

5. RASPRAVA

Cirkovirus predstavlja jednu od najvažnijih bolesti papiga, kako u divljini, tako i u zatočeništvu. U zemljama gdje postoji velika populacija divljih papiga, predstavlja ekološki problem zbog smanjenja populacije divljih ptica (RAIDAL i sur., 2015.). U Australiji, odakle virus i potječe, ulažu velike napore u očuvanju divljih vrsta papiga te sprječavanju daljnjeg širenja virusa (RAIDAL i PETERS, 2018.).

Prema podacima prikupljenim u Ambulanti za ptice Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 47 uzoraka od 36 jedinki i 8 skupnih uzoraka testirani su na prisustvo cirkovirusa. U 20 (55,56%) jedinki su prijavljeni simptomi koje upućuju na moguću virusnu infekciju, a 23 ih je imalo promjene na perju. Šesnaest jedinki je bilo pozitivno na cirkovirus, što je 44,4 % pregledanih jedinki. Osam (22,2%) papiga koje su imale simptome nalik cirkovirusu su bile pozitivne, kao i osam (22,2%) papiga koje nisu pokazivale nikakve simptome. Od 23 jedinke koje su imale nekakve patološke promjene na perju, 13 ih je negativno na pretragu cirkovirusa. S druge strane, četiri papige bez ikakvih promjena na perju ili prijavljenih simptoma su pokazale pozitivan rezultat na cirkovirus. Nadalje, tri papige koje su imale deformaciju ili probleme s kljunom su sve bile negativne na cirkovirus. Četiri od osam skupnih uzoraka je bilo pozitivno na BFDV, zbog čega je vlasnicima preporučeno odvojiti jedinke i testirati svaku zasebno. No za pretpostaviti je da su sve ptice iz pregledanih skupina zaražene ako žive u bliskom kontaktu.

Dvije od tri uginule jedinke bile su pozitivne na cirkovirus, iako se mora naglasiti da se ptice dostavljene u Ambulantu u svrhu patomorfološke pretrage ne pretražuju na cirkovirus ukoliko ne pokazivale specifične kliničke simptome i lezije ili ako vlasnik to ne zatraži. Obzirom da u akutnom obliku bolesti često dolazi do naglog uginuća, može se pretpostaviti da je realan broj pozitivnih ptica značajno veći.

Sve tri pregledane nimfe su pokazale pozitivan rezultat pretrage na cirkovirus, što je zanimljivo obzirom da se smatra da nimfe obolijevaju od specifičnog soja cirkovirusa (SHEARER i sur., 2007.; SHEARER i sur., 2008.). Takav rezultat ukazuje na to da su početnice korištene u ovom radu specifične za BFDV, ali i dovoljno univerzalne za detekciju genetski različitih sojeva. Tigrice i agapornisi su imali po tri pozitivne jedinke od pet pregledanih, dok su dva od tri edela bila pozitivni. Tri od sedam kakadua je bilo pozitivno na cirkovirus, te dva od devet žakoa, dok su sve pregledane are i amazone bile negativne.

Ovi rezultati pokazuju da postoji povezanost između patoloških promjena perja i cirkovirusne infekcije, no ne možemo odmah pretpostaviti da su problemi s perjem ili kljunom

rezultat cirkovirusne infekcije. Štoviše, čak polovica pozitivno testiranih jedinki nije pokazivala nikakve kliničke znakove bolesti. Papige koje imaju kliničke promjene, a negativne su na pretrage trebalo bi testirati i na druge bolesti koje mogu uzrokovati probleme sa perjem ili kljunom, kao što su polyomavirus, gljivične infekcije ili metaboličke bolesti. Za papige čiji su uzorci pozitivni na cirkovirus, a nemaju nikakve kliničke simptome, može se pretpostaviti da su u latentnom stadiju bolesti, no svakako je preporučljivo ponovno testiranje za 1-3 mjeseca kako bi se potvrdio pozitivan rezultat. Također moramo pretpostaviti da takav rezultat može biti zbog kombinacije više bolesti. Promjene na perju i kljunu mogu nastati zbog sekundarnih infekcija gljivicama kojima su ptice sklone zbog imunosupresije. Ptica može čupati perje i zbog poremećaja ponašanja, ali stres koji je uzrokovao takav poremećaj može biti okidač za razvoj kliničke slike cirkovirusne infekcije kod latentno inficiranih ptica. Ukoliko na drugom testiranju jedinka i dalje pokazuje pozitivan rezultat, savjetuje se napraviti dodatne krvne pretrage kako bi se utvrdilo sveukupno zdravlje papige, te je li virus uzrokovao imunosupresiju ili hepatotoksičnost. Takvim jedinkama se zdravstveno stanje mora kontinuirano pratiti, što uključuje redovne kontrole i dijagnostičke pretrage, pogotovo u slučaju pogoršanja općeg stanja ili pojave novih simptoma.

U uzgajivačnici od pregledane 54 jedinke, pet ih je bilo pozitivno na infekciju cirkovirusom. No, nijedna pozitivna jedinka nije imala promjene na perju. Također, sve pozitivne jedinke su držane u paru s drugom rasplodnom jedinkom, i u svih parova je druga ptica bila negativna na cirkovirus. Ovaj podatak je zanimljiv, jer znamo da se cirkovirus vrlo lako širi zrakom i izmetom, pa je za pretpostaviti da će ptice držane skupa obje biti zaražene. Razlog ovome bi mogao biti način držanja pojedinih parova ptica tijekom uzgoja, kada najčešće dolazi do zaražavanja. Ukoliko ptice ne hrane roditelji, već ih uzgajivač ručno othranjuje u svrhu bolje kontrole napretka i pripitomljavanja budućih kućnih ljubimaca, tada je manja mogućnost širenja virusa. Također, ptice u uzgoju mogu biti izdvojene na način da nemaju direktni kontakt s drugim parovima, što dodatno smanjuje mogućnost transmisije. Preporuka bi svakako bila ponovno testiranje i negativnih jedinki koje su držane s pozitivnom jedinkom, i ponovno testiranje pozitivnih jedinki bez simptoma. Za ptice koje su testirane negativno na cirkovirus, a imaju promjene na perju, preporučuje se testiranje na ostale bolesti koje utječu na perje kao što je polyomavirus.

Iako smo dobili pet pozitivnih uzoraka iz uzgajivačnice, svi pozitivni uzorci su bili od uzorkovanih perja, dok su svi uzorci izmeta su bili negativni. Pretpostavlja se da pozitivne ptice izlučuju cirkovirus preko izmeta u okoliš. Razlog negativnim rezultatima može biti manja količina virusa u izmetu u trenutku prikupljanja uzorka, zbog čega virus nije uspješno

detektiran pretragom. No, nepravilna izolacija DNK, odnosno primjena neadekvatnog komercijalnog kita ili protokola koji nije dovoljno prilagođen vrsti uzorka, također je mogla dovesti do lažno negativnih rezultata.

Trenutno ne postoji nikakva zakonska regulativa, niti propisane mjere za praćenje pojavnosti cirkovirusa u Hrvatskoj. No, visok postotak pozitivnih papiga, pogotovo kućnih ljubimaca primljenih u ambulantu, pokazuje da se bolest i kod nas širi velikom brzinom. Znamo da virus lako prelazi s jednog domaćina na drugog, stoga zatvorene populacije ptica, i ptice držane u istom prostoru, imaju veliki značaj za pojavu i širenje bolesti. Iako bolest nije zoonoza, određene regulativne mjere bi se trebale uvesti kako bi se spriječilo daljnje širenje bolesti. Jedino kontinuiranim monitoringom i čestim testiranjem, pogotovo u uzgajivačnicama, možemo dobiti relevantne podatke koliko točno je proširen PBFD u Hrvatskoj. Nakon određivanja prevalencije cirkovirusa na našim prostorima, može se izraditi prijedlog program nadzora kojim bi bile definirane mjere kontrole pojavnosti i daljnjeg širenja virusa među papigama u regiji. Kako smo već ranije spomenuli da virus može zaraziti i ptice koje ne spadaju u red papagaja, potrebno je razmisliti i o ekološkoj opasnosti daljnjeg širenja cirkovirusa među divljim pticama na našem području. Biosigurnost u uzgajivačnicama i trgovinama kućnih ljubimaca, karantena novonabavljenih životinja, godišnje testiranje uzgojnih jedinki te izlučivanje iz uzgoja pozitivnih jedinki su prvi koraci koje bi trebali razmatrati za kontroliranje širenja cirkovirusa u Hrvatskoj.

6. ZAKLJUČCI

1. Cirkovirus predstavlja jednu od važnijih bolesti kako divljih tako i papiga u zatočeništvu.
2. Virus se iz Australije trgovinom i razmjenom ptica proširio po cijelom svijetu, pa tako i u Hrvatskoj.
3. Od 36 testiranih jedinki u Ambulanti za ptice Veterinarskog fakulteta, 16 je bilo pozitivno na infekciju cirkovirusom, što je 44,4% jedinki.
4. Polovica jedinki koje su testirane pozitivno nisu imale nikakve simptome koje upućuju na infekciju virusom, što može upućivati da su u kroničnoj fazi bolesti.
5. Pet od 54 pregledane jedinke iz uzgajivačnice bile su pozitivne na cirkovirus, što je vrlo zanimljiv podatak obzirom da uzgojni par s kojim su držani nisu bili pozitivni. Preporuka je ponoviti uzorkovanje jedinki iz uzgajivačnice.
6. Obzirom na visok broj pozitivnih jedinki iz Ambulante za ptice, preporuča se uvođenje mjera za kontinuirano praćenje i regulaciju pojavnosti cirkovirusa u Hrvatskoj, s naglaskom na monitoring uzgajivačnica i trgovina kućnim ljubimcima.

7. LITERATURA

AMERY-GALE, J., M. S. MARENDA, J. OWENS, P. A. EDEN, G. F. BROWNING, J.M. DEVLIN (2017): A high prevalence of beak and feather disease virus in non-psittacine Australian birds, *J. Med. Microbiol.* 66, 1005-1013.

ANTONIO, E. S., R. E. FRAGA, J. G. SILVA (2024): Viral Diagnosis in Psittacine Birds: A scientometric and systematic review of 47 years. *Animals.* 14, 1546.

ASHBY, E. (1907): Parrakeets moulting. *Emu.* 6, 193-194.

FENNER, F. J. (2017): *Circoviridae and Anelloviridae*. U: *Fenner's Veterinary Virology*. Fifth Edition (Fenner, F. J.), Academic Press, Oxford, UK, str. 259-268.

FOGELL, D. J., R. O. MARTIN, J. J. GROOMBRIDGE (2016): Beak and feather disease in wild and captive parrots: an analysis of geographic and taxonomic distribution and methodological trends. *Arch. Virol.* 161, 2059-2074.

GREENACRE, C. B. (2005): Viral diseases of companion birds. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 8(1), 85-105.

GREENACRE, C. B. (2017): *Avian and Exotic Animal Dermatology*. U: *Small Animal Dermatology*. Fourth Edition (Hnilica, K. A., A. P. Patterson), Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 508-574.

HAKIMUDDIN, F., F. ABIDI, O. JAFER, C. LI, U. WERNERY, C. HEBEL, K. KHAZANEHDARI (2015): Incidence and detection of beak and feather disease virus in psittacine birds in the UAE, *Biomol. Detect. Quantif.* 6, 27-32.

HARCOURT-BROWN, N. H. (2009): *Psittacine Birds*. U: *Handbook of Avian Medicine*. Second edition (Tully, T. N., G. M. Dorrestein, A. K. Jones), Saunders, Philadelphia, PA, str. 138-168.

HEATH, L., A. L. WILLIAMSON, E. P. RYBICKI (2006): The capsid protein of beak and feather disease virus binds to the viral DNA and is responsible for transporting the replication-associated protein into the nucleus. *J. Virol.* 80 (14), 7219-7225.

KELLY, D., J. RAE, K. MENZEL (2007): *The True Nature of Parrots*, Avian Welfare Coalition

<https://www.avianwelfare.org/issues/articles/truenature.htm> (4.6.2024.)

- MA, J., Y. TIAN, M. ZHANG, W. WANG, Y. LI, F. TIAN, Y. CHENG, Y. YAN, J. SUN (2019): Identification and characterization of novel genotypes of psittacine beak and feather disease virus from budgerigar in China. *Transbound Emerg. Dis.* 66(5), 1827-1833.
- MA, Y, X. CHEN, K. CHEN, X. ZENG, S. YANG, W. CHANG, Y. TANG, X. CHEN, S. WANG, J. L. CHEN (2020): Identification and characterization of a distinct strain of beak and feather disease virus in Southeast China, *Viol. Sin.* 35 (1), 43-51.
- MANUCY, T. (2022): Psittacine Beak and Feather Disease. PetMD https://www.petmd.com/bird/conditions/skin/c_bd_Psittacine_beak_and_feather_disease (7.6.2024.)
- PASS, D. A., R. A. PERRY (1984): The pathology of psittacine beak and feather disease. *Aust. Vet. J.* 61, 69-74.
- PENDL, H., I. TIZARD (2016): Immunology. U: Current Therapy in Avian Medicine and Surgery. First edition (Speer, B. L.), Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 400-432.
- PHALEN, D. N. (2006): Implications of Viruses in Clinical Disorders. U: Clinical Avian Medicine. Volume 1 (Harrison, G. J., T. L. Lightfoot), Spix Publishing, Inc. Palm Beach, Florida, str. 721-727.
- PORTAS, T., B. JACKSON, S. DAS, S. SHAMSI, S. R. RAIDAL (2017): Beak and feather disease virus carriage by *Knemidocoptes pilae* in a sulphur-crested cockatoo (*Cacatua galerita*). *Aust. Vet. J.* 95 (12), 486-489.
- PRUKNER-RADOVČIĆ, E. (2010): Bolesti ptica kućnih ljubimaca, Medicinska naklada, Zagreb, str. 3-5.
- RAIDAL, S. R., G. M. CROSS (1995): Acute necrotizing hepatitis caused by experimental infection with psittacine beak and feather disease virus. *J. Avian Med. Sur.* 9 (1), 36-40.
- RAIDAL, S. R. (2012): Avian Circovirus and Polyomavirus Diseases. U: Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine. Volume 7 (Miller, R. E., M. Fowler), Saunders, St. Louis, Missouri, str. 297-303.

RAIDAL, S. R., S. SARKER, A. PETERS (2015): Review of psittacine beak and feather disease and its effect on Australian endangered species, *Aust. Vet. J.* 93(12), 466-470.

RAIDAL, S. R. (2016.): Psittacine beak and feather disease, *Infectious diseases. U: Current Therapy in Avian Medicine and Surgery*. First edition (Speer, B. L.), Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 51-57.

RAIDAL, S. R., A. PETERS (2018): Psittacine beak and feather disease: ecology and implications for conservation. *Emu*. 118(1), 80-93.

REAVILL, D. R., G. DORRESTEIN (2018): Psittacines, Coliiformes, Musophagiformes, Cuculiformes. *U: Pathology of Wildlife and Zoo Animals* (Terio, K. A., D. McAloose, J. St. Leger), Academic press, Oxford, UK, str. 775-798.

RICH, G., R. AXELSON (2023): Psittacine Beak and Feather Disease in Pet Birds, VCA Animal Hospital

<https://vcahospitals.com/know-your-pet/psittacine-beak-and-feather-disease-in-pet-birds> (11.6.2024.)

RITCHIE, B.W., C. R. GREGORY, K. S. LATIMER, D. PESTI, R. CAMPAGNOLI, P. D. LUKERT (2007): A review of the most common viruses affecting Psittaciformes. *Int. Zoo Yearb.* 37(1), 257-273.

ROMAGNANO, A. (2012): Psittacine incubation and pediatrics. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 15(2), 163-182.

SARKER, S., S. A. GHORASI, J. K. FORKWOOD, S. J. BENT, A. PETERS, S. R. RAIDAL (2014): Phylogeny of beak and feather disease virus in cockatoos demonstrates host generalism and multiple-variant infections within Psittaciformes. *Virology* 460-461, 72-82.

SCHMIDT, R. E., T. L. LIGHTFOOT (2006): Integument. *U: Clinical Avian Medicine*. Volume 1 (Harrison, G. J., T. L. Lightfoot), Spix Publishing, Inc. Palm Beach, Florida str. 395-402.

SCHOEMAKER, N. J., G. M. DORRESTEIN, K. S. LATIMER, J. T. LUMEJI, M. J. KIK, M. H. VAN DER HAGE, R. P. CAMPAGNOLI (2000): Severe leukopenia and

liver necrosis in young African grey parrots (*Psittacus Erithacus Erithacus*). Avian Dis. 44, 2, 470-478.

SCHULEMANN-MAIER, G. Viral plumage disease (Pbfd). Birds Online

<https://www.birds-online.de/wp/en/birds-online-english/health-and-diseases/plumage-disorders-and-molt/pbfd/> (21.7.2024.)

SHEARER, P. L., N. BONNE, P. CLARK, M. SHARP, S. R. RAIDAL (2007): Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) have their own beak and feather disease virus (BFDV). AAVAC, 213-222.

SHEARER, P. L., N. BONNE, P. CLARK, M. SHARP, S. R. RAIDAL (2008): Beak and feather disease virus infection in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). Avian Pathol. 37(1), 75–81.

WELLEHAN, J. F. X., M. LIERZ, D. PHALEN, S. R. RAIDAL, D. K. STYLES, L. CROSTA, A. MELILLO, P. SCHNITZER, A. LENNOX, J. T. LUMEIJ (2016): Infectious diseases. U: Current Therapy in Avian Medicine and Surgery. First edition (Speer, B. L.), Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 22-106.

WILLIAMS, R. A. J., C. J. SÁNCHEZ-LLATAS, A. DOMÉNECH, R. MADRID, S. FANDIÑO, P. CEA-CALLEJO, E. GOMEZ-LUCIA, L. BENITEZ (2023): Emerging and novel viruses in passerine birds. Microorganisms, 11(9), 2355.

YAMAMOTO, N. (2022): Pbfd prevention 101: All you need to know to keep your parrot safe (ebook). Seiko Giken Inc.

<https://www.seiko-giken.jp/en/blog/pbfd> (7.6.2024.)

YPELAAR, I., M. R. BASSAMI, G. E. WILCOX, S. R. RAIDAL (1999): A universal polymerase chain reaction for the detection of psittacine beak and feather disease virus. Vet. Microbiol. 68 (1-2), 141-148.

7. SAŽETAK

POJAVNOST CIRKOVIRUSA U RAZLIČITIH VRSTA PAPIGA U ZATOČENIŠTVU

Tessa Đorđević

Bolest kljuna i perja papiga predstavlja jednu od najvažnijih bolesti kako u ptica u divljini tako i kod ptica u zatočeništvu. Uzrokuje promjene na perju, kljunu i kandžama, iako može biti smrtonosna, pogotovo u mladim ptica, dok kod starijih uzrokuje kronični oblik bolesti koji uvelike smanjuje kvalitetu života ptici. Uzrokovana je cirkovirusom koji je imunosupresivan i hepatotoksičan, što posljedično vodi do razvoja sekundarnih infekcija i uginuća. Bolest je proširena po cijelom svijetu zahvaljujući izrazitoj kontagioznosti virusa. Cilj ovog istraživanja bio je odrediti pojavnost cirkovirusa kod papiga u zatočeništvu u Hrvatskoj analizirajući uzorke zaprimljene u Ambulanti za ptice Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i prikupljene iz jedne uzgajivačnice ptica. Sakupljen je ukupno 131 uzorak podrijetlom od različitih vrsta papiga - 20 uzoraka izmeta, 24 uzorka perja, 9 uzoraka organa i 2 brisa kloake (=55) iz Ambulante, dok je u uzgajivačnici prikupljeno 40 uzoraka izmeta i 36 uzoraka perja (=76). Utvrdili smo pozitivan rezultat u 16 od 36 (44,4%) pregledanih jedinki iz Ambulante. Polovica pozitivnih jedinki nije pokazivala nikakve kliničke znakove koji bi upućivali na infekciju cirkovirusom. Zanimljiv podatak je da smo u uzgajivačnici utvrdili pozitivan rezultat u 5 od 54 (9,26%) pregledanih jedinki, te je svih pet jedinki držano u paru s pticom koje su pokazale negativan rezultat. S obzirom na dobivene rezultate, preporuča se uvođenje mjera za kontinuirano praćenje i regulaciju pojavnosti cirkovirusa u Hrvatskoj, s naglaskom na monitoring uzgajivačnica i trgovina kućnim ljubimcima.

Ključne riječi: papige, cirkovirus, PBFD, BFDV, bolest kljuna i perja

8. SUMMARY

PREVALENCE OF CIRCOVIRUS IN DIFFERENT PARROT SPECIES IN CAPTIVITY

Tessa Đorđević

Psittacine beak and feather disease represents one of the most important diseases in wild birds, as well as in pet birds. It affects feathers, beaks and claws of the birds, although it is often a fatal disease, especially in young birds, while in adult birds it can cause chronic problems which significantly diminishes the quality of life in the infected birds. It is caused by circovirus that is immunosuppressive and hepatotoxic, which consequently leads to secondary infections and death. The disease is distributed all around the world thanks to its high contagiousness. The purpose of this study was to determine the prevalence of circovirus in parrots in captivity through analyzing samples obtained from the Bird Clinic at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, and from a parrot breeder. We have collected 131 sample originating from various psittacine species – 20 fecal samples, 24 feather samples, 2 cloacal swabs and 9 organ samples (=55) were collected from the Clinic, while 40 fecal samples and 36 feather samples (=76) were collected from the breeder. We have determined that 16 out of 36 (44,4%) examined birds from the Clinic tested positive for PBFD. Half of the positive birds did not show any clinical signs of PBFD. Interestingly, we have determined 5 out of 54 (9,26%) positive birds from the breeder, and all positive birds were paired with birds which tested negative for PBFD. Considering the results of this research, it would be beneficial to introduce regulatory measures for continuous monitoring of circovirus presence and transmission in Croatia, with emphasis on breeders and pet shops.

Key words: parrots, circovirus, PBFD, BFDV, beak and feather disease

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 03.01.1996. godine u Splitu. Završila sam srednju školu Marko Antun de Dominis, smjer opća gimnazija 2014. te nakon toga upisujem Veterinarski fakultet. Postajem aktivni član Udruge studenata veterinarske medicine "Equus" 2015. te sudjelujem u brojnim projektima udruge kao organizator, kao što su Reptilomanija +, Noć muzeja i Farmica. Od 2016. do 2018. sam volontirala u Glodari, a od 2022. sam postala volonter u Ambulanti za ptice Veterinarskog fakulteta. Na petoj godini studija upisujem smjer "Kućni ljubimci". 2023. sam osvojila Rektorovu nagradu za organizaciju prve izložbe "Farmica". Stručnu praksu sam završila u veterinarskoj ambulanti Best Friends u Zagrebu.