

## **Inclusion body hepatitis as a primary disease**

Inclusion body hepatitis (IBH) is a global problem in the poultry industry and serotype 8b is increasingly becoming the major serotype affecting poultry in North America and across the globe. This serotype is now considered a primary pathogen that can cause IBH in chickens in the absence of IBD, CAV or other predisposing immunosuppressive factors.  
By Kevin Amini, Boehringer Ingelheim

According to [Dr Holly Sellers](#), professor of Virology at the Poultry Diagnostic and Research Center (PDRC), University of Georgia, US, there has been a significant increase in IBH case submissions coming into the PDRC lab. The number of case submissions in 2018 doubled compared to the previous 4-5 years, when requests for IBH diagnostic testing were sporadic. The number of IBH case submissions in 2021 tripled relative to 2018. These submissions to the PDRC lab have been from numerous companies in different geographic regions of the US.

Dr Sellers adds that the surge in the IBH problem doesn't appear to be solely a domestic issue in the US, as she has also noticed an increase in international case submissions to the PDRC. Taking a closer look at the breakdown of the adenoviruses that were isolated or detected with polymerase chain reaction (PCR), we can see a shift: with the pre-2018 case submissions, FAdV group E serotype 8a, or FAdV group D serotype 11 both used to be isolated. Since 2018 the primary adenoviruses are FAdV group E serotype 8b.

Data presented by [Dr Davor Ojkic](#), adjunct faculty virologist and immunologist at the Animal Health Laboratory, at the University of Guelph, Canada, concurs with these findings. Positive diagnostic submissions of IBH have been on the rise in Canada since 2016 with the FAdV 8b serotype forming the majority of positive cases.

Dr Guillermo Zavala, senior consultant at Avian Health International, LLC and former professor of Poultry Medicine at the [University of Georgia](#), US, also holds that IBH is a global problem in the poultry industry and can be seen in just about every area of the world – from the Americas to Europe, Africa, Central Asia and Southeast Asia. And that serotype 4 of FAdV continues to be present but not as prevalent as it was in the 1980s. He adds that serotype 8b is now by far the most prevalent serotype, globally. He also maintains that although traditionally FAdVs were considered opportunistic pathogens that take advantage of immunosuppression caused primarily by infectious bursal disease (IBD) and Marek's disease, as well as chicken anaemia virus (CAV), in recent years there has been considerable evidence that FAdV 8b is also a primary pathogen that can cause IBH in chickens in the

absence of IBD or other predisposing immunosuppressive factors. However, it is important to note that the clinical presentation of IBH can be exacerbated by immunosuppression. Other non-infectious immunosuppressive factors in the field, including mycotoxins and other stressors, should not be ignored and must also be accounted for in the diagnostic process.



*IBH is an acute liver disease that typically occurs in broiler chickens between 2-6 weeks of age. Photo: Henk Riswick*

### ***IBH explained***

Inclusion body hepatitis (IBH) is a viral disease that is commonly diagnosed in commercial chickens worldwide. The disease is caused by fowl avian adenovirus (FAdV) group I, which is a member of the *Adenoviridae* family of viruses. The disease is characterised by the presence of intranuclear inclusion bodies in the liver, spleen and kidney of affected birds.

IBH is an acute disease that typically occurs in broiler chickens between 2-6 weeks of age. In commercial poultry farms this disease is most commonly seen in large flocks with high stocking densities. The virus is transmitted vertically and horizontally, and is spread via the faecal-oral route with infected birds shedding the virus in their faeces. When the disease is transmitted vertically, clinical symptoms and mortality usually appear between 16-18 days of age, while when it is transmitted horizontally, it usually presents after 25-26 days of age.

There are 5 different species of FAdV (A to E) with different genotypes and 12 serotypes (1 to 8a, 8b to 11). Some geno or serotypes are known to induce hepatitis hydropericardium syndrome (HHS) (known to be caused by serotype 4 – common in some parts of the world), inclusion body hepatitis (IBH) and adenoviral gizzard erosion (AGE). Anti-FAdV antibodies can be measured either by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (broad cross-detection) or by neutralization assay (serotype specific). Clinical symptoms of IBH include depression, appetite loss, diarrhoea and decreased water intake. The liver is frequently swollen, enlarged, with a yellowish discolouration and many pale and/or red (hemorrhagic) foci. Occasionally the kidneys may be involved. Mortality rates can range from 0% to 30%, depending on the severity of the outbreak.

### ***Primary vs secondary IBH***

A study was carried out in 2006 in Saskatchewan, Canada, to examine a possible association between IBH and infectious bursal disease virus (IBDV) and chicken infectious anemia virus (CAV) infections in Western Canada, and to identify the adenoviruses involved in outbreaks. The results of polymerase chain reaction (PCR) and sequencing identified high percentages of the virus FAdV-7, FAdV-8a, FAdV-8b and FAdV-11. ELISA serology titers showed that antibody response to vaccinations against IBDV and CAV was at expected levels in all broiler flocks, and therefore IBH outbreaks in the flocks were not due to inadequate levels of antibodies against IBDV and CAV. Moreover, the researchers did not find a correlation between occurrences of IBH outbreaks in broilers and their IBD or CAV titers at the time of processing. Another study in Ontario demonstrated that pathogenic genotypes of FAdV serotypes FAdV-02, FAdV-08 and FAdV-11 constituted 39.38% of the isolates and similarly showed that there was no significant association between flock exposure to FAdV and exposure to CAV or IBDV.



*Liver pathology caused by inclusion body hepatitis (IBH) in chickens. Photo: Boehringer Ingelheim*

Historically speaking, in the decades that followed the initial discovery of an avian adenovirus in 1949, adenoviruses were isolated from both healthy and sick birds in various geographical locations. The ability of IBDV and CAV to aggravate the clinical symptoms of FAdV was later demonstrated. The primary pathogenicity of FAdVs was initially questioned because of the sporadic incidence of IBH, the widespread prevalence of FAdVs in chicken flocks and the importance of immunosuppression in inducing IBH. Based on initial field data and experimental infections, the general perception for a long time was that co-infection with an immunosuppressive virus (either IBDV or CAV, or both) was needed for a clinical FAdV-induced disease to manifest, mainly IBH and HHS.

However, more recent laboratory and field reports from several regions in the world, including Canada, Australia, the Middle East, Japan and elsewhere, have demonstrated the primary role of FAdV, arguing for the need to re-evaluate the virus's virulence although earlier reports had also pointed in the same direction.

Moreover, experimental studies have shown that the outcome of an infection is mostly influenced by the virulence of a specific FAdV strain rather than the additive effects of concurrent infections. This is corroborated by a comparison of various infection studies that have been conducted using FAdVs of the same serotype, as significant differences in virulence between strains has been observed.

This has been demonstrated in the field by the growing problems associated with FAdV, and several studies on the pathogenicity of the virus following outbreaks have confirmed that certain strains play a key aetiological role in distinct clinical disorders. As previously mentioned, 2 Canadian studies demonstrated no statistically significant correlation between flocks exposed to FAdV and co-infected with CAV or IBDV, indicating that the prevalence of FAdV does not correspond with the presence of IBDV or CAV.

Two findings from a 2021 study in Spain have suggested that FAdVs seem to be primary pathogens in the vast majority of IBH cases: (1) opportunistic CAV and IBDV have been successfully controlled in commercial meat-type poultry in the country by vaccination of broiler breeders; and (2) IBH-suspected cases have also been screened for CAV, with consistently negative results. These observations build upon existing evidence that FAdV may be a primary pathogen of IBH.

The emergence of hepatitis hydropericardium syndrome (HHS) and adenoviral gizzard erosion (AGE) in Europe, on the other hand, has also raised awareness of FAdVs as primary aetiologic agents, highlighting the importance of FAdV infections particularly in young chickens, especially broilers. There have also been more frequent reports of IBH outbreaks in various parts of the world over the last 2 decades.

It is important, however, to note that although strains from the same serotype can vary in their pathogenicity, immunosuppression is still a significant trigger for IBH, HHS and AGE and therefore particular care should be taken to protect birds accordingly. FAdVs are frequently isolated from chickens that have suffered from immunosuppression due to infectious agents such as IBDV, CAV, Marek's disease and, less commonly, reovirus or parvovirus. Several researchers have also reproduced FAdV diseases of greater severity following experimental immunosuppression with chemicals or [mycotoxins](#). The role of physical and other types of stressors (e.g. suboptimal temperatures, stocking density, etc.), increased risk. Raising chickens in brand new barns, short

downtimes between flocks, high viral load in the barn, poor litter management, the co-existence of other infectious diseases, like necrotic enteritis, also need to be considered.

A tendency towards more epidemic, rather than sporadic, FAdV outbreaks has been seen in many countries, especially over the past 2 decades. The most recent evidence on the emerging potential of the disease is currently provided by mounting reports of severe adenoviral outbreaks in China. This change may be explained by more recent reports indicating the emergence of recombinant FAdVs in the field which, in turn, may explain the appearance of more pathogenic strains of FAdV within serogroups (e.g. 4 or 8b) which are capable of causing primary disease.

## **Wtrętowe zapalenie wątroby jako choroba pierwotna**

Wtrętowe zapalenie wątroby (IBH) jest globalnym problemem w przemyśle drobiarskim, a serotyp 8b staje się coraz częściej głównym serotypem atakującym drób w Ameryce Północnej i na całym świecie. Serotyp ten jest obecnie uważany za pierwotny patogen, który może powodować IBH u kurcząt przy braku IBD, CAV lub innych predysponujących czynników immunosupresyjnych.

**Autorzt: Kevin Amini, Boehringer Ingelheim**

Według dr Holly Sellers, profesora wirusologii w Poultry Diagnostic and Research Center (PDRC) na Uniwersytecie Georgia w USA, nastąpił znaczny wzrost liczby przypadków IBH zgłaszanych do laboratorium PDRC. Liczba zgłoszeń przypadków w 2018 r. podwoiła się w porównaniu z poprzednimi 4-5 latami, kiedy próśy o testy diagnostyczne IBH były sporadyczne. Liczba zgłoszeń przypadków IBH w 2021 r. potroiła się w porównaniu z 2018 r. Zgłoszenia do laboratorium PDRC pochodziły od wielu firm z różnych regionów geograficznych USA.

### **Rozkład adenowirusów na czynniki pierwsze**

Dr Sellers dodaje, że gwałtowny wzrost problemu IBH nie wydaje się być wyłącznie kwestią krajową w USA, ponieważ zauważyła również wzrost liczby międzynarodowych zgłoszeń przypadków do PDRC. Przyglądając się bliżej rozkładowi adenowirusów, które zostały wyizolowane lub wykryte za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), możemy zauważyć zmianę: w przypadku zgłoszeń przypadków sprzed 2018 r. izolowano serotyp 8a grupy E FAdV lub serotyp 11 grupy D FAdV. Od 2018 roku głównymi adenowirusami są FAdV grupy E serotyp 8b.

Dane przedstawione przez dr Davora Ojkica, adiunkta wirusologa i immunologa w Laboratorium Zdrowia Zwierząt na Uniwersytecie w Guelph w Kanadzie, zgadzają się z tymi ustaleniami. Liczba pozytywnych zgłoszeń diagnostycznych IBH rośnie w Kanadzie od 2016 roku, a serotyp FAdV 8b stanowi większość pozytywnych przypadków.

### **IBH - problem globalny**

Dr Guillermo Zavala, starszy konsultant w Avian Health International, LLC i były profesor medycyny drobiu na University of Georgia w USA, również twierdzi, że IBH jest globalnym problemem w przemyśle drobiarskim i można go zaobserwować w prawie każdym obszarze świata - od obu Ameryk przez Europę, Afrykę, Azję Środkową i Azję Południowo-Wschodnią. Serotyp 4 FAdV jest nadal obecny, ale nie tak powszechny jak w latach 80-tych. Dodaje, że serotyp 8b jest obecnie zdecydowanie najbardziej rozpowszechnionym serotypem na świecie. Utrzymuje również, że chociaż tradycyjnie FAdV były uważane za patogeny oportunistyczne, które wykorzystują immunosupresję spowodowaną głównie zakaźną chorobą kaletki maziowej (IBD) i chorobą Marka, a także wirusem niedokrwistości kurcząt (CAV), w ostatnich latach pojawiły się znaczące dowody na to, że FAdV 8b jest również pierwotnym patogenem, który może powodować IBH u kurcząt przy braku IBD lub innych predysponujących czynników immunosupresyjnych. Należy jednak zauważyć, że objawy kliniczne IBH mogą być zaostrzone przez immunosupresję. Inne niezakaźne czynniki immunosupresyjne w terenie, w tym mikotoksyny i inne czynniki stresogenne, nie powinny być ignorowane i muszą być również uwzględnione w procesie diagnostycznym.



*IBH to ostra choroba wątroby, która zwykle występuje u kurcząt brojlerów w wieku 2-6 tygodni.  
Zdjęcie: Henk Riswick*

## **Wyjaśnienie IBH**

**Wtrętowe zapalenie wątroby (IBH) jest chorobą wirusową, która jest powszechnie diagnozowana u kurcząt komercyjnych na całym świecie. Choroba wywoływana jest przez adenowirus ptactwa domowego (FAdV) grupy I, który jest członkiem rodziny wirusów Adenoviridae. Choroba charakteryzuje się obecnością wewnątrzjądrowych ciałek inkluzyjnych w wątrobie, śledzionie i nerkach chorych ptaków.**

**IBH jest ostrą chorobą, która zwykle występuje u kurcząt brojlerów w wieku od 2 do 6 tygodni. W komercyjnych fermach drobiu choroba ta jest najczęściej obserwowana w dużych stadach o wysokim zagęszczeniu hodowli. Wirus jest przenoszony pionowo i poziomo, a rozprzestrzenia się drogą fekalno-oralną, gdy zakażone ptaki wydalają wirusa z kałem. Gdy choroba jest przenoszona pionowo, objawy kliniczne i śmiertelność pojawiają się zwykle między 16-18 dniem życia, natomiast gdy jest przenoszona poziomo, zwykle pojawia się po 25-26 dniu życia.**

**Istnieje 5 różnych gatunków FAdV (od A do E) z różnymi genotypami i 12 serotypów (od 1 do 8a, od 8b do 11). Wiadomo, że niektóre genotypy lub serotypy wywołują zespół wodno-osierdziowego zapalenia wątroby (HHS) (znany jako wywoływany przez serotyp 4 - powszechny w niektórych częściach świata), wtrętowe zapalenie wątroby (IBH) i adenowirusową erozję żołądka (AGE). Przeciwciała przeciw wirusowi adenowirusa mogą być mierzone za pomocą testu immunoenzymatycznego (ELISA) (szerokie wykrywanie krzyżowe) lub testu neutralizacji (specyficzne dla serotypu). Objawy kliniczne IBH obejmują depresję, utratę apetytu, biegunkę i zmniejszone spożycie wody. Wątroba jest często obrzęknięta, powiększona, z żółtawym przebarwieniem i wieloma bladymi i/lub czerwonymi (krwotocznymi) ogniskami. Czasami może dojść do zajęcia nerek. Śmiertelność może wynosić od 0% do 30%, w zależności od nasilenia epidemii.**

**W 2006 r. w Saskatchewan w Kanadzie przeprowadzono badanie w celu zbadania możliwego związku między IBH a zakażeniami wirusem zakaźnego zapalenia torby Fabrycjusza (IBDV) i wirusem niedokrwistości zakaźnej kurcząt (CAV) w zachodniej Kanadzie oraz w celu zidentyfikowania adenowirusów zaangażowanych w ogniska choroby. Wyniki reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) i sekwencjonowania zidentyfikowały wysoki odsetek wirusów FAdV-7, FAdV-8a, FAdV-8b i FAdV-11. Miana serologiczne ELISA wykazały, że odpowiedź przeciwciał na szczepienia przeciwko IBDV i CAV była na oczekiwanym poziomie we wszystkich stadach brojlerów, a zatem ogniska IBH w stadach nie były spowodowane niewystarczającym poziomem przeciwciał przeciwko IBDV i CAV. Co więcej, naukowcy nie znaleźli korelacji między występowaniem ognisk IBH u brojlerów a ich mianami IBD lub CAV w**

czasie przetwarzania. Inne badanie przeprowadzone w Ontario wykazało, że patogenne genotypy serotypów FAdV FAdV-02, FAdV-08 i FAdV-11 stanowiły 39,38% izolatów i podobnie wykazało, że nie było istotnego związku między narażeniem stada na FAdV a narażeniem na CAV lub IBDV.



*Patologia wątroby spowodowana wtrętowym zapaleniem wątroby (IBH) u kurcząt. Zdjęcie: Boehringer Ingelheim***Dane historyczne**

Historycznie rzecz biorąc, w dziesięcioleciach, które nastąpiły po pierwszym odkryciu ptasiego adenowirusa w 1949 r., adenowirusy izolowano zarówno od zdrowych, jak i chorych ptaków w różnych lokalizacjach geograficznych. Później wykazano zdolność IBDV i CAV do nasilania objawów klinicznych FAdV. Pierwotna patogenność FAdV była początkowo kwestionowana ze względu na sporadyczne występowanie IBH, powszechne występowanie FAdV w stadach kurcząt oraz znaczenie immunosupresji w wywoływaniu IBH. W oparciu o wstępne dane terenowe i infekcje eksperymentalne, przez długi czas panowało ogólne przekonanie, że współzakażenie wirusem immunosupresyjnym (IBDV lub CAV lub obydwoma) było konieczne do wystąpienia klinicznej choroby wywołanej przez FAdV, głównie IBH i HHS.

Jednak nowsze raporty laboratoryjne i terenowe z kilku regionów świata, w tym Kanady, Australii, Bliskiego Wschodu, Japonii i innych miejsc, wykazały główną rolę FAdV, argumentując za potrzebą ponownej oceny zjadliwości wirusa, chociaż wcześniejsze raporty również wskazywały na ten sam kierunek.

Co więcej, badania eksperymentalne wykazały, że na wynik infekcji wpływa głównie zjadliwość konkretnego szczepu FAdV, a nie addytywne skutki równoczesnych infekcji. Potwierdza to porównanie różnych badań infekcji, które zostały przeprowadzone przy użyciu FAdV tego samego serotypu, ponieważ zaobserwowano znaczne różnice w zjadliwości między szczepami.

Zostało to wykazane w terenie przez rosnące problemy związane z FAdV, a kilka badań nad patogennością wirusa po wybuchu epidemii potwierdziło, że niektóre szczepy odgrywają kluczową rolę etiologiczną w różnych zaburzeniach klinicznych. Jak wspomniano wcześniej, dwa kanadyjskie badania nie wykazały statystycznie istotnej korelacji między stadami narażonymi na FAdV i współzakażonymi CAV lub IBDV, wskazując, że częstość występowania FAdV nie odpowiada obecności IBDV lub CAV.



Dwa wyniki badań przeprowadzonych w Hiszpanii w 2021 r. sugerują, że FAdV wydają się być pierwotnymi patogenami w zdecydowanej większości przypadków IBH: (1) oportunistyczne CAV i IBDV były skutecznie zwalczane u komercyjnego drobiu mięsnego w tym kraju poprzez szczepienia hodowców brojlerów; oraz (2) przypadki podejrzewane o IBH były również badane pod kątem CAV, z konsekwentnie negatywnymi wynikami. Obserwacje te opierają się na istniejących dowodach, że FAdV może być głównym patogenem IBH.

Z drugiej strony, pojawienie się zespołu wodno-osierdziowego zapalenia wątroby (HHS) i adenowirusowej erozji żołądka (AGE) w Europie również podniosło świadomość na temat FAdV jako pierwotnych czynników etiologicznych, podkreślając znaczenie zakażeń FAdV, szczególnie u młodych kurcząt, zwłaszcza brojlerów. W ciągu ostatnich dwóch dekad pojawiły się również częstsze doniesienia o ogniskach IBH w różnych częściach świata.

Należy jednak zauważyć, że chociaż szczepy z tego samego serotypu mogą różnić się pod względem patogenności, immunosupresja jest nadal istotnym czynnikiem wywołującym IBH, HHS i AGE, dlatego należy zachować szczególną ostrożność, aby odpowiednio chronić ptaki. FAdV są często izolowane od kurcząt, które cierpiały na immunosupresję z powodu czynników zakaźnych, takich jak IBDV, CAV, choroba Marka i, rzadziej, reowirus lub parwowirus. Kilku badaczy odtworzyło również choroby FAdV o większym nasileniu po eksperymentalnej immunosupresji za pomocą chemikaliów lub mikotoksyn. Rola czynników fizycznych i innych rodzajów stresorów (np. nieoptymalne temperatury, gęstość obsady itp.) zwiększa ryzyko. Należy również wziąć pod uwagę hodowlę kurcząt w nowych kurnikach, krótkie okresy przestoju między stadami, wysokie obciążenie wirusem w kurniku, złe zarządzanie ściółką, współistnienie innych chorób zakaźnych, takich jak martwicze zapalenie jelit.

W wielu krajach, zwłaszcza w ciągu ostatnich dwóch dekad, zaobserwowano tendencję do pojawiania się ognisk FAdV o charakterze epidemicznym, a nie sporadycznym. Najnowsze dowody na pojawiający się potencjał choroby są obecnie dostarczane przez rosnącą liczbę doniesień o poważnych ogniskach adenowirusowych w Chinach. Zmianę tę można wyjaśnić najnowszymi doniesieniami wskazującymi na pojawienie się rekombinowanych FAdV w terenie, co z kolei może wyjaśniać pojawienie się bardziej patogennych szczepów FAdV w obrębie serogrup (np. 4 lub 8b), które są zdolne do wywoływania pierwotnej choroby.