

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <http://www.researchgate.net/publication/259533821>

# The nephropathogenic infectious bronchitis virus: a review

ARTICLE *in* VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT · JANUARY 1990

Impact Factor: 0.42

---

READS

19

1 AUTHOR:



Hans J Nauwynck

Ghent University

418 PUBLICATIONS 7,697 CITATIONS

SEE PROFILE

## HET NEFROPATHOGEEN INFECTIEUS BRONCHITIS VIRUS (NIBV): EEN OVERZICHT

The Nephropathogenic Infectious Bronchitis Virus (NIBV): a review

Nauwynck H., Pensaert M.

Laboratorium voor Virologie en Immunologie der Huisdieren,  
Faculteit van de Diergeneeskunde, R.U.G., Casinoplein 24, B-9000 Gent

### SUMMARY

**Outbreaks due to nephropathogenic strains of infectious bronchitis virus have been reported in countries all over the world, Belgium included. They can cause serious financial losses in poultry. The present article gives a review on the state of knowledge about the nephropathogenic infectious bronchitis virus (NIBV), supplemented with results of own experiments. The NIBV is a coronavirus which first replicates in the conjunctiva, trachea and air sacs and then spreads to the kidneys. Destruction of the epithelium in these organs leads to various symptoms. Respiratory signs are observed during the first week after which some animals die as a result of nephrosis and nephritis. The rate of mortality is influenced by several factors such as sex, age, breed, virus strain, feed, environment and immunity.**

**Virus excretion occurs via the expired air during two weeks. This aerogenic transfer causes a fast spread of the NIBV within and between farms. The faeces are a second source of infection. The virus excretion in the faeces can last several months. This is the reason why an infected group of animals can be a continuous danger for virus transmission.**

**The curative addition of a special mixture of electrolytes decreases the rate of mortality. Prophylactically, several vaccines are used. Vaccination with the heterologous H120 vaccine provides a partial protection. Vaccinations with homologous attenuated vaccines appear to afford almost full protection.**

### SAMENVATTING

Uitbraken ten gevolge van nefropathogene infectieuze bronchitis virusstammen werden gerapporteerd in verschillende landen, verspreid over de gehele wereld, waaronder ook België. Ze gaan soms gepaard met zware financiële verliezen voor de pluimvee-industrie. Dit artikel geeft een overzicht van de huidige kennis van het nefropathogene infectieuze bronchitis virus (NIBV), aangevuld met gegevens uit eigen experimenten.

Het NIBV is een coronavirus dat zich primair vermeerderd ter hoogte van de conjunctiva, de trachea en luchtzakken en vervolgens verspreidt naar de nier. Destructie van het epitheel in deze organen geeft aanleiding tot de symptomatologie. Ademhalings symptomen worden waargenomen gedurende één week, waarna een gedeelte van de dieren sterft ten gevolge van een nefrose en nefritis. Het sterftecijfer wordt beïnvloed door verschillende factoren zoals geslacht, leeftijd, ras, virusstam, voeding, omgeving en immuniteit.

Het NIBV wordt uitgescheiden gedurende twee weken via de lucht. Deze aërogene overdracht zorgt voor een snelle verspreiding van het virus binnen en tussen bedrijven. De faeces vormen een tweede infectiebron. De uitscheiding via de faeces duurt verschillende maanden, waardoor een besmette toom een continu gevaar betekent voor zijn omgeving. Curatief kan het toevoegen van een speciaal samengesteld elektrolytenmengsel in het drinkwater leiden tot een geringere uitval. Preventief worden verschillende vaccins gebruikt. Vaccinatie met het heterologe

H120 vaccin geeft slechts een partiële bescherming. Vaccinaties met homologe verzwakte vaccins blijken daarentegen een bijna volledige bescherming te geven.

**KEY WORDS : Nephropathogenic strains - Infectious bronchitis - Nephrosis - Nephritis - Poultry.**

### INLEIDING

De benaming « Infectious Bronchitis » werd voor het eerst gebruikt door Schalk en Hawn in 1931, tijdens een uitbraak van acute ademhalingsproblemen op een Amerikaans mestkuikenbedrijf. De isolatie van het etiologisch agens, infectieus bronchitis virus (IBV) genaamd, gebeurde zes jaar later op eieren door Beaudette en Hudson (1937). Dit betekende de start van een intens onderzoek naar de aard en het belang van dit virus. Hierbij werd duidelijk dat het IBV verspreid was over de gehele wereld en is gebleken dat het niet enkel oorzaak kan zijn van respiratoire problemen maar ook van een legdaling bij kippen en nefritis bij mestkuijken. De benaming « infectieus bronchitis » geeft dus geen compleet beeld van de totale pathologie.

De eerste uitbraken met nefritis werden beschreven in Amerika in 1941 (Cumming, 1969a). Alhoewel uit de aangetaste nieren een ultrafiltrateerbaar agens kon geïsoleerd worden, werd verder onderzoek gestaakt wellicht doordat het aantal uitbraken tijdelijk was teruggevallen.

In 1962 werd uit nieuwe nefritis gevallen in Amerika en Australië, het nefropathogene IBV (NIBV) geïsoleerd, meer bepaald de « Gray » en « Holte » stammen in Amerika (Winterfield en Hitchner, 1962) en de « T-strain » in Australië (Cumming, 1963). Hierna werden er ook meldingen gemaakt uit Italië (Rinaldi *et al.*, 1966), Maleisië (Chong en Omar, 1967), Canada (Julian en Willis, 1969) en Japan (Hirai en Shimakura, 1971). Meer recent, namelijk in de winter van 1983-1984, werden ook verscheidene gevallen vastgesteld in het noord-westen van Frankrijk (Picault *et al.*, 1987) en in het aanpalend Belgisch grensgebied, met name het zuiden van West-Vlaanderen (Froyman *et al.*, 1985).

In België steeg het aantal nefritis gevallen ten gevolge van het NIBV tijdens de winters 1984-1985 en 1985-1986, waarna een maximum bereikt werd gedurende de winter 1986-1987. Gedurende deze winters was het gebied, waar de nefropathogene infectieus bronchitis (NIB) uitbraken plaatsvonden, gevoelig uitgebreid. Meldingen kwamen uit alle streken van de provincies Antwerpen, West- en Oost-Vlaanderen. In de loop van 1987 en 1988 werd een terugval van het aantal gevallen geconstateerd.

## HET INFECTIEUS BRONCHITIS VIRUS

Het IBV behoort tot de familie Coronaviridae. Het is een pleomorf virus dat centraal een enkelstrengige RNA-molecule bevat. Het RNA is geassocieerd met interne eiwitten (nucleoproteïnes) en omgeven door een membraan. Aan de binnenkant van het membraan en partieel ermee verweven, bevinden zich de matrix-moleculen die instaan voor de rigiditeit. Op het oppervlak van het partikel bevinden zich peplomen, de zogenaamde «spikes», die onder andere verantwoordelijk zijn voor adhesie aan celreceptoren en voor de hemagglutinatie.

De IB virussen worden onderverdeeld op basis van diverse criteria.

Vooreerst kunnen de IBV isolaten ingedeeld worden volgens hun biologische eigenschappen in respiratoire en nefropathogene stammen. Deze indeling is echter verwarrend. Zo induceren de nefropathogene stammen ook ademhalings symptomen in het acuut ziektestadium en kunnen respiratoire stammen, zoals de Massachusetts 41 stam, nefritis veroorzaken (Chong en Apostolov, 1982; Chandra, 1986). Enige voorzichtigheid is dus geboden bij het interpreteren van deze benamingen.

Een tweede indeling is gebaseerd op zogenaamde «protectotypes». Na inoculatie van verschillende IB-stammen wordt de bescherming van kuikens nagegaan na een challenge met homologe en heterologe stammen. Zijn de dieren volledig beschermd dan behoren de stammen tot hetzelfde type. Omdat verschillende criteria worden aangewend in verschillende studies voor de beoordeling van de protectie zijn onderlinge vergelijkingen moeilijk te maken. Een standaardisatie van de criteria is dus wenselijk.

Kruisreacties, uitgevoerd in het laboratorium door middel van verschillende serologische testen, liggen aan de basis van de derde indeling. Tot op heden werd gebruik gemaakt van een seroneutralisatietest uitgevoerd op eieren, nierculturen of trachea-orgaanculturen, van een hemagglutinatie-inhibitietest en van een ELISA. Met deze technieken werd een grote antigene verscheidenheid vastgesteld onder de IB virusisolaten, zelfs binnen de nefropathogene isolaten. Zo werden Australische, Amerikaanse, Franse en Italiaanse NIBV stammen van elkaar onderscheiden (Winterfield en Hitchner, 1962; Hopkins, 1974; Wadey en Faragher, 1981; Picault *et al.*, 1987). Door middel van de seroneutralisatietest op eieren werden Italiaanse NIBV stammen gedurende de laatste twee decennia zelfs onderverdeeld in meer dan 7 serotypes (Zanella *et al.*, 1988). Door deze grote antigene variabiliteit is het moeilijk een eenvoudige classificatie van de IB virussen op te stellen.

Een laatste manier van indelen is gebaseerd op moleculaire verschillen, nl. van moleculair gewichten van de structurele eiwitten, RNA fingerprinting en nucleotide-sequentiebepalingen. Deze technieken zijn echter nog te complex om routinematig isolaten te typeren.

## PATHOGENESE

Een pathogenese studie werd uitgevoerd (Nauwynck en Pensaert, 1988) met een Belgisch NIBV isolaat, aangeduid als de 1648 stam (Meulemans *et al.*, 1987). Na aërosol-inoculatie greep primaire virusvermeerdering plaats in de epitheelcellen van de conjunctiva, infraorbitaal sinus, trachea, syrinx, primaire bronchen en luchtzakken. In praktisch al de epitheelcellen van deze structuren werden virale antigenen aangetroffen met de immunofluorescentietechniek, 18 uren *post inoculationem* (PI). Enkele uren

later kwamen deze cellen los van de onderliggende propria. Overblijvende basaalcellen vormden vervolgens snel een nieuw hyperplastisch epitheel. Dit epitheel verkreeg zijn normale hoogte terug 8 dagen PI. Uit de trachea en de wanden van luchtzakken werd virus geïsoleerd gedurende respectievelijk 16 en 11 dagen PI. Hoe het virus vanuit het ademhalingsstelsel de nieren bereikt is tot op heden onvoldoende gekend. Een overdracht via het bloed is waarschijnlijk. Vierentwintig uur PI werd immers virus uit het bloed geïsoleerd. Virale antigenen werden met de immunofluorescentietechniek enkel bij 40 % van de dieren teruggevonden in het cytoplasma van epitheelcellen van de niertubuli tussen de zesde en negentiende dag PI. De epitheelcellen, die virale antigenen bevatten, verloren het contact met het basaal-membraan en kwamen los te liggen in het lumen van de tubuli. De gedesquameerde cellen degenererden, waarbij de fluorescentie in intensiteit verzwakte.

Vroegere studies hebben aangetoond dat de destructie van de epitheelcellen in verschillende niertubuli aanleiding geeft tot fysiopathologische veranderingen (Heath, 1969a; Condron en Marshall, 1985). De resorptie van de gefiltreerde natriumionen daalt, waardoor de uitscheiding van deze ionen verhoogt en een osmotische diurese ontstaat. Het dier deshydrateert en tracht dit te compenseren door meer te drinken. Ondanks deze polydipsie is het mogelijk dat de waterbalans negatief blijft. Ten gevolge hiervan wordt het intracellulair water gemobiliseerd. De deshydratietoestand kan bij enkele dieren zodanig evolueren dat compensatoir de doorbloeding van verschillende organen, waaronder de nier, sterk gaat dalen. Als gevolg van de nierblokkade daalt de excretie van bepaalde producten zoals kalium en urinezuur waardoor een stijging van deze stoffen in het bloed ontstaat. Door een verminderde vorming van urine stijgt de concentratie van natrium en kalium hierin wat een precipitatie veroorzaakt van het urinezuur. Onder normale omstandigheden wordt het urinezuur in de urine door mucoïed materiaal in een stabiele colloïdale oplossing gehouden. Terminaal sterft het dier ten gevolge van een circulatoire collaps.

De duur van de virusuitscheiding werd reeds onderzocht in enkele studies. In de pathogenesestudie uitgevoerd met de Belgische 1648 NIBV stam (Nauwynck en Pensaert, 1988) werd geen virus meer geïsoleerd uit de nier vanaf 19 dagen PI. Daarentegen werd het virus tot op de laatste dag van afslachten, nl. 34 dagen PI, teruggevonden in de caeca-inhoud. In een onderzoek van Alexander en Gough (1977), dat specifiek de chronische uitscheiding behandelde, werd het NIBV aangetroffen in de caeca en faeces tot 144 dagen PI. Het NIBV slaagt er dus in om te persisteren in een immuun organisme. De afkomst van het virus in de caeca-inhoud is echter onduidelijk. Er kunnen immers met de immunofluorescentietechniek geen virale antigenen teruggevonden worden in de caeca wanden (Chong en Apostolov, 1982).

## KLINIEK

De klinische verschijnselen die optreden in de praktijk werd reeds beschreven door Froyman *et al.* (1985). Op twee mestkuikenbedrijven werden uitbraken gevolgd. Ademhalings symptomen traden eerst op. Vijf tot zeven dagen later, wanneer deze respiratoire ziekte tekens sterk waren verminderd, werd de eerste sterfte genoteerd ten gevolge van nefrose en nefritis. De mestkuikens zaten opeengedrongen en hadden een verhoogde drankopname. Natte uitwerpselen waren de oorzaak van de zeer vochtige bedding. Stervende kuikens zaten lusteloos met een

opgezet vederkleed en een donker gekleurde kam. Tijdens dit ziekteverloop kenden de dieren een verminderde groei en een slechte voederconversie. Gedurende twee weken werd een mortaliteit vastgesteld op de twee bedrijven van respectievelijk 8 en 20 %.

Het klinisch verloop verkregen bij 4 groepen Witte Leghorn SPF kuikens na experimentele aerosolinoculatie op de leeftijd van 4 weken met de Belgische 1648 NIBV stam (Nauwynck en Pensaert, 1988) was gelijkaardig aan deze gezien in de praktijk. Na de incubatieperiode van 18 uren werden de eerste respiratoire stoornissen gezien, nl. rochelen, snotteren en ademhalen met licht geopende bek. Deze symptomen waren het meest uitgesproken 24 uren PI, waarna ze terug afnamen in intensiteit. Zes tot acht dagen PI, wanneer de respiratoire ziekte tekens nog sporadisch te bemerken waren, begon een tweede ziektefase gekenmerkt door lusteloosheid, waterige ontlasting en verhoogde wateropname. De polydipsie startte negen dagen PI en duurde drie weken. Tijdens deze tweede ziektefase stierven 22 tot 57 % van de dieren. De laatste sterfte trad op 15 dagen PI.

Experimentele inoculaties met Amerikaanse, Australische, Italiaanse en Franse NIBV isolaten gaven een gelijkaardig ziektebeeld (Winterfield en Hitchner, 1962; Cumming, 1963; Chandra, 1986; Picault *et al.*, 1987). Het tijdstip waarop de eerste sterfte optreedt als gevolg van nefritis en de totale mortaliteit variëren sterk. Verschillende factoren worden hiervoor verantwoordelijk gesteld.

- Vooreerst werden verschillen opgemerkt in **geslacht**. Na inoculatie van de Australische «T strain» bleken de mannelijke kuikens gevoeliger te zijn dan de vrouwelijke (Cumming, 1969b; Chubb, 1973). Dit onderscheid kon niet bevestigd worden met de Belgische 1648 NIBV stam.
- Een tweede factor is de **leeftijd**. De sterfte bij seronegatieve ééndagskuikens en één week oude dieren lag hoger dan bij oudere dieren (Shimakura en Hirai, 1970; Albassam *et al.*, 1985; Meulemans *et al.*, 1987).
- Daarnaast heeft het **ras** ook effect op het sterftecijfer. Zo bewees Cumming (1969b) dat White Leghorns gevoeliger zijn dan Australorps of White Rocks en dat kruisingen tussen beide rassen een intermediaire gevoeligheid hebben.
- De graad van nieraantasting bleek eveneens afhankelijk te zijn van de gebruikte **NIBV stammen**. Enkele stammen werden reeds onderling vergeleken door verschillende onderzoeksteams (Ratanasethakul en Cumming, 1983; Albassam *et al.*, 1985; Chandra, 1986). De Australische «T strain» veroorzaakte de ergste lesies in de nier, gevolgd door een Italiaanse NIBV stam en de Amerikaanse Gray en Holte stammen. De Australische vaccinstammen «A3» en «S» en de respiratoire Massachusetts 41 waren in staat een lichte nefritis op te wekken.
- Bepaalde **voedings- en omgevingsfactoren** beïnvloeden eveneens de uitval. Zo werd met Australische stammen bewezen dat het verhogen van de gehalten aan eiwit en vleesmeel en het verlagen van de temperatuur aanleiding kunnen geven tot het stijgen van de mortaliteit (Heath, 1969b; Ratanasethakul en Cumming, 1983).

## PATHOLOGIE

Dieren die sterven gedurende de polydipsiefase vertonen blauwe koppen en donker verkleurde spieren. De maagdarminhoud is in volume gereduceerd. In de cloaca, ureters en niertubuli zijn uraatkristallen overvloedig aanwezig (Cumming, 1963; Purcell *et al.*, 1976; Froyman

*et al.*, 1985; Picault *et al.*, 1987; Nauwynck en Pensaert, 1988).

Histopathologische veranderingen beschreven in de trachea en in de primaire en secundaire bronchi na inoculatie van NIBV-isolaten werden identiek bevonden aan de veranderingen die optreden na inoculatie met respiratoire IBV van het «Massachusetts» type (Purcell en Mc Ferran, 1972; Siller en Cumming, 1974; Purcell *et al.*, 1976).

Histopathologische veranderingen in de nieren werden door verschillende onderzoeksteams beschreven (Pohl, 1974; Siller en Cumming, 1974; Purcell *et al.*, 1976; Froyman *et al.*, 1985; Chandra, 1986; Picault *et al.*, 1987). Op het einde van de eerste week na de inoculatie van het NIBV wordt in verschillende tubuli van de cortex en medulla een degeneratie van epitheelcellen teruggevonden. De aangetaste tubuli zitten volgepropt met epitheliaal celdebris en polymorfonucleairen. In het interstitium wordt een ontstekingsbeeld opgemerkt met een infiltratie van monomorfonucleairen en heterofielen. PAS-positieve granules zijn verspreid in het epitheel en in het lumen van de distale *tubuli contorti en ductus colligentes* en in de plasmacellen. Gedurende de tweede week PI worden granulaire cylinders en ook uraatneerslagen gezien in enkele tubuli. In regenererende tubuli zijn veel mitotische figuren aanwezig. Lymfocyten en plasmacellen zijn in dit stadium de voornaamste afweercellen t.h.v. het interstitium. In de derde week PI worden de lymfefollikels gevormd en vermindert het aantal plasmacellen en niet-follikel-gebonden lymfocyten. De tubuli zijn volledig geregenereerd.

## IMMUNITEIT

De specifieke afweer of immuniteit die door de gastheer wordt opgebouwd is een samenwerking van een humoraal en een celgemedieerd onderdeel.

Antistoffen zijn reeds terug te vinden in de trachea en in het serum één week PI (Mockett en Cook, 1986; Lütticken *et al.*, 1987). De opbouw van deze humorale immuniteit is noodzakelijk voor een volledig herstel. Immers het wegnemen van de bursa Fabricii, die bij de kip verantwoordelijk is voor de productie van B-lymfocyten, resulteert in ergere nierlesies. Het dier slaagt er zelfs niet meer in de nier vrij te krijgen van het NIBV. In de chronische fase worden dan nog altijd histologische lesies gezien, met een positieve virusisolatie (Chandra, 1988). Omtrent de invloed van de gevormde serum antistoffen op de protectie van de nier na challenge bestaan tegenstrijdige resultaten. Enerzijds werd een goede bescherming van de nier verkregen nadat immuunserum intraveneus werd toegediend (Mc Donald *et al.*, 1981). Anderzijds toonde Chubb (1974) aan dat het onderdrukken van de antistofrespons door middel van cyclofosfamide niet resulteerde in een verergering van de nierletsels na challenge.

Een celgemedieerde reactie na inoculatie met een NIBV werd aangetoond door Chubb *et al.* (1987). Eén, twee en drie weken na inoculatie troffen zij cytotoxische cellen aan in de milt. Of deze cellen ook voorkomen in de nier werd niet nader bepaald. Na challenge werden deze cytotoxische cellen vrijgezet in de bloedsomloop. Verondersteld werd dat deze cellen snel op de plaats terecht komen waar het virus wordt gevormd (Chubb *et al.*, 1987).

## DIAGNOSE

Een uitbraak ten gevolge van het NIBV kan vooreerst vermoed worden aan de hand van de symptomatologie.



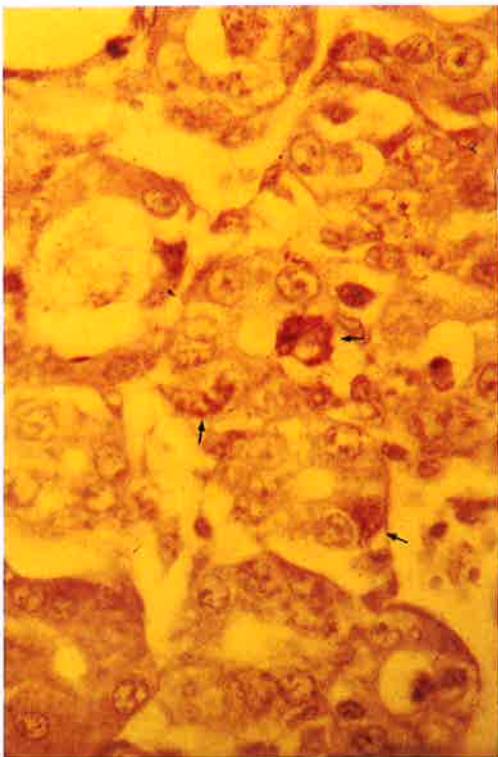
**Fig. 1:** Letsels bij een mestkuiken, gestorven t.g.v. een NIBV infectie :  
 \* Vergrote nieren met een lijntekening, gevormd door uraatneerslag in de tubuli  
 \* De cloaca zit volgepropt met uraten.

*Lesions in a broiler which died following a NIBV infection:  
 \* Enlarged kidneys with a line-drawing of precipitated urates in the tubules  
 \* The cloaca is filled with urates.*



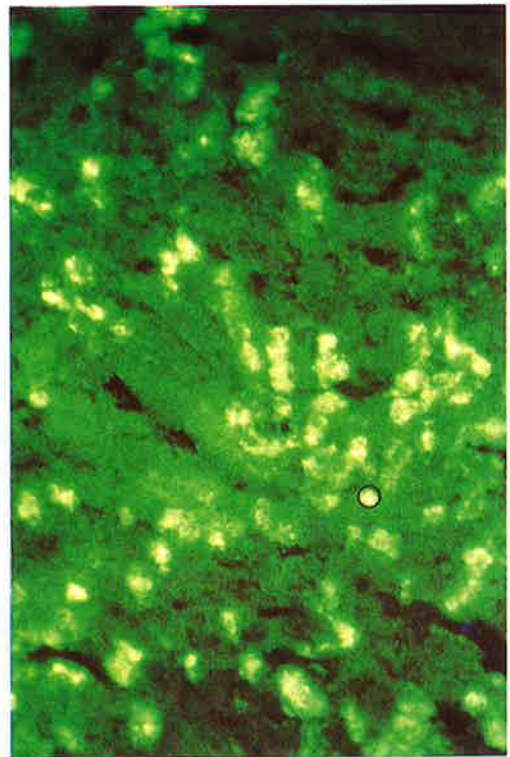
**Fig. 2:** Stereomicroscopisch zicht op de nieren, aangetast door NIBV. Bemerkt de witte uraatneerslagen in de tubuli.

*Stereomicroscopical view on kidneys affected by the NIBV. Note the white precipitated urates in the tubules.*



**Fig. 3:** PAS-kleuring van de nier: PAS-positieve granules zijn aanwezig in tubulus epitheel (pijlen). Vergroting  $\times 400$ .

*PAS-staining of the kidney: PAS-positive granules are present in the epithelium of the tubules (arrows). Magnification  $\times 400$ .*



**Fig. 4:** Lokalisatie van NIB virale antigenen in de nier. Fluorescerende tubuli liggen verspreid tussen niet fluorescerende tubuli. Vergroting  $\times 100$ .

*Localization of NIB viral antigens in the kidney. Fluorescing tubules are dispersed among non-fluorescing tubules. Magnification  $\times 100$ .*

Hoofdzakelijk mestkuikens op de leeftijd van twee tot zes weken worden aangetast. De aandacht van de pluimveehouder wordt getrokken door een verhoogd waterverbruik, het vochtig worden van de bedding en een verhoogde mortaliteit die kan oplopen tot 20 %. Meestal zal hij bevestigen dat zijn dieren een week voordien ademhalingsproblemen hebben doorgemaakt.

Bij pathologisch onderzoek van pas gestorven, gedehydrateerde dieren vallen de sterk gezwollen nieren op met uraatneerslagen in tubuli, ureters en cloaca (Fig. 1 en 2). Histopathologisch wordt een degeneratie opgemerkt van epitheelcellen van verschillende tubuli, vergezeld van een interstitiële nefritis. Ook worden PAS-positieve granules teruggevonden in het epitheel van niertubuli (Fig. 3) en in plasmacellen.

Isolatie van het IB virus uit de nieren kan gebeuren door inoculatie van nierhomogenaat op bebroede eieren, op trachea-orgaanculturen en op niercelculturen. De inoculatie in de allantoïsholte van negen dagen oude, geëmbryoneerde eieren is de methode die het meest frequent wordt gebruikt. Twee dagen na inoculatie kan de diagnose reeds gesteld worden. Op dit tijdstip kunnen met behulp van immunofluorescentie virale antigenen opgespoord worden in allantoïse-epitheelcellen, die afgecentrifugeerd worden uit allantoïsvloeistof (Clarke *et al.*, 1972). Eveneens kan de diagnose gebeuren aan de hand van pathologische veranderingen van het embryo en de schaalvlieszen, negen dagen na de inoculatie (Loomis *et al.*, 1950). De amnionmembraan is verdikt en het amnionvocht sterk gereduceerd in volume. Het embryo is kleiner dan normaal («dwarfing») en is zodanig opgekruld («curling») dat de tenen boven de kop komen te liggen. De veders zijn minder goed ontwikkeld. De levers vertonen een afwijkende kleur. Bij isolatie van IB virus uit de nier moet men er attent op zijn dat een contactbesmetting vanuit de abdominale luchtzakken, waar het virus ook in vermeerderd, kan gebeuren met een vals positief resultaat als gevolg. Deze luchtzakken bedekken immers de ventrale zijde van de nier en worden samen met deze uit het karkas weggenomen.

De immunofluorescentietechniek is de meest aangewezen methode voor de diagnose van het NIBV. Het is een snel en eenvoudig uit te voeren techniek. Niercoupes worden gefixeerd met aceton, waarna ze gekleurd worden met een fluoresceïne isothiocyanaat geconjugeerd hyperimmuun serum. De coupes worden vervolgens bekeken met de fluorescentiemicroscopie. Het beeld dat hierbij verkregen wordt is weergegeven in Fig. 4. Door het lokaliseren van de virale antigenen kan duidelijk vastgesteld worden of het virus zich in de nier bevindt dan wel ter hoogte van het luchtzakkepitheel.

#### DIFFERENTIAAL DIAGNOSE

Een differentiaal diagnose moet vooral gesteld worden met infectieuze bursitis (Gumboro ziekte). Deze virale ziekte geeft eveneens aanleiding tot waterige uitwerpselen en tijdens de lijkschouwing worden ook regelmatig uraatneerslagen in de niertubuli en ureters aangetroffen. Spierbloedingen en ontstoken of atrofische bursae Fabricii daarentegen zijn letsels die enkel waargenomen worden met het infectieuze bursitis virus. Verdere indicaties omtrent de etiologie kunnen verkregen worden door middel van een histopathologisch onderzoek. Een uitgebreide interstitiële ontstekingsreactie wordt immers enkel teruggevonden bij dieren, gestorven ten gevolge van het NIBV. Een virologisch onderzoek moet tenslotte aangevraagd worden om de pathologische bevindingen te bevestigen.

Praktijkuitbraken waar zowel het NIBV en het infectieus bursitis virus worden geïsoleerd, zijn reeds beschreven door Monreal *et al.* (1974) en Goryo *et al.* (1984). Pathologisch werden bij de gestorven dieren kenmerken van beide ziekten teruggevonden.

#### BEHANDELING EN PREVENTIE

Voldoende water moet beschikbaar gesteld worden omdat door de nieraantasting veel vocht verloren gaat. Dit kan de negatieve waterbalans enigszins verbeteren.

Electrolyten worden frequent toegediend in de praktijk. Het nut hiervan wordt betwijfeld door Froyman *et al.* (1985), na het uitblijven van een gunstig effect tijdens een NIB uitbraak. Experimenteel constateerden Australische onderzoekers echter wel een verbetering. Praktisch gezien worden 15.4 gram natriumchloride en 8.3 gram kaliumcitraat opgelost in 100 ml gedistilleerd water. Vijfentwintig ml van deze oplossing worden toegevoegd per liter drinkwater (Cumming en Chubb, 1988).

Om de slachtwaarde van de dieren op peil te houden is het noodzakelijk in de besmette hokken voldoende vers strooisel aan te brengen met het oog op een drogere bodem. Hierdoor worden minder borstblaren en mestvlekken gevormd, twee belangrijke redenen van afkeuring aan de slachtlijn.

Verschillende vaccins werden reeds uitgetest. In de twee landen die reeds sedert lang te kampen hebben met NIB problemen, nl. Australië en Italië, werden plaatselijke nefropathogene stammen door middel van seriep passages verzwakt en als vaccin gebruikt. In Italië werd een geattenuëerde stam bekomen na 100 seriep passages op eieren. In combinatie met H120, gaf deze homologe stam een reductie van de mortaliteit van 10 % tot minder dan 0.5 % (Zanella *et al.*, 1988). In Australië zijn verschillende vaccinstammen commercieel beschikbaar. De meeste vaccins vertonen echter nog een restpathogeniciteit voor de nier, zodat ze af te raden zijn. Twee vaccins vormen hierop een uitzondering, nl. de «A3» en de «2032-10» stammen. Beide zijn «cold attenuated» stammen, die bekomen zijn door seriep passages van NIBV veldisolaten op eieren bij 31 °C. De kuikens gevaccineerd op hun eerste levensdag met één van deze 2 stammen bleken goed beschermd te zijn op 3 weken leeftijd, na een challenge met 3 virulente NIBV veldisolaten (Klieve en Cumming, 1988). In België worden de mestkuikens gewoonlijk gevaccineerd met de H120 stam op hun eerste levensdag door middel van een spray. Deze vaccinatie geeft een goede bescherming tegenover respiratoire IBV stammen, verwant met de Massachusetts 41 stam. Aan het beschermingseffect van dit vaccin bij kuikens tegenover NIBV stammen kan echter getwijfeld worden. Veel NIB doorbraken komen immers voor in gevaccineerde tomen. Experimenteel werd echter bewezen dat bij intraoculair H120 gevaccineerde eendagskuikens de mortaliteit, na een intraoculaire challenge op de tiende of veertiende dag met de 1648 NIBV stam, gereduceerd werd van 47 % tot 6 % in proeven beschreven door Bijmens *et al.* (1987) en van 30 % tot 10 % in proeven van Meulemans *et al.* (1987). Ook Darbyshire (1980) zag een partiële bescherming na challenge met de virulente Holte en Gray NIB virussen wanneer de dieren gevaccineerd waren met het H120 vaccin. Deze vaccinatie kan dus toch als nuttig aanzien worden voor het drukken van de verliezen veroorzaakt door het NIBV. Vaccinatie met verzwakte homologe NIBV stammen is duidelijk te verkiezen in probleemsituaties.

## LITERATUUR

- Albassam M.A., Winterfield R.W., Thacker H.L. (1985). Comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus. *Avian Dis* **30**, 468-476.
- Alexander D.J., Gough R.E. (1977). Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens. *Res Vet Sci* **23**, 344-347.
- Beaudette F.R., Hudson C.B. (1937). Cultivation of the virus of infectious bronchitis. *J Am Vet Med Ass* **90**, 51-60.
- Bijnens B., Devos A., Derijcke J. (1987). Nierpathogeniteit van enkele infectieuze bronchitis virusstammen (IB stammen) bij pluimvee en vaccinatieproeven tegen een nierpathogene IB-stam geïsoleerd in België. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr* **56**, 221-225.
- Chandra M. (1986). Comparative nephropathogenicity of different strains of infectious bronchitis virus in chickens. *Poultry Science* **66**, 954-959.
- Chandra M. (1988). Comparative nephropathogenicity of infectious bronchitis virus in bursctomised and non bursctomised chickens. *Am J Vet Res* **49**, 831-834.
- Chong S.K., Omar A.R. (1967). Recent studies in animal diseases in Malaysia. *Proc 2nd Symp Sci Technol Res in Malaysia and Singapore*, 73.
- Chong K.T., Apostolov K. (1982). The pathogenesis of nephritis in chickens induced by infectious bronchitis virus. *J Comp Pathol* **92**, 199-211.
- Chubb R.C. (1973). The effectiveness of vaccination against the Australian infectious bronchitis nephritis before two weeks of age. *Vet Rec* **93**, 249-252.
- Chubb R.C. (1974). The effect of the suppression of circulating antibody on resistance to the Australian avian infectious bronchitis virus. *Res Vet Sci* **17**, 169-173.
- Chubb R.C., Huynh V., Law R. (1987). The detection of cytotoxic lymphocyte activity in chickens infected with infectious bronchitis virus or fowl pox virus. *Avian Pathol* **16**, 395-404.
- Clarke J.K., McFerran J.B., Gay F.W. (1972). Use of allantoic cells for the detection of avian infectious bronchitis virus. *Arch Ges Virusforsch* **36**, 62-70.
- Condron R.J., Marshall A.T. (1985). Pathogenesis of infectious bronchitis nephritis. 2. Studies of water and electrolyte balance in colostomised chickens. *Avian Pathol* **14**, 509-520.
- Cumming R.B. (1963). Infectious avian nephrosis (uraemia) in Australia. *Aust Vet J* **39**, 145-147.
- Cumming R.B. (1969a). What has happened to avian mononucleosis? *World's Poultry Science Journal* **25**, 218-222.
- Cumming R.B. (1969b). The control of avian infectious bronchitis/nephrosis in Australia. *Aust Vet J* **45**, 200-203.
- Cumming R.B., Chubb R.C. (1988). The pathogenesis of nephritis is evoked by Australian IB viruses. *Proc First Int Symp Infect Bronchitis*, 129-137.
- Darbyshire J.H. (1980). Assessment of cross-immunity in chickens to strains of avian infectious bronchitis virus using tracheal organ cultures. *Avian Pathol* **9**, 179-184.
- Froyman R., Derycke J., Meulemans G., Vandermeersch R. (1985). Infectious bronchitis associated nephritis in broilers. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr* **54**, 78-83.
- Goryo M., Umemura T., Itakura C. (1984). Concurrence of nephrosis-nephritis due to infectious bronchitis virus and infectious bursal disease in broiler chickens. *Avian Pathol* **13**, 191-200.
- Heath B.C. (1969a). Chemical pathology of nephrosis induced by an infectious bronchitis. *Avian Dis* **14**, 95-106.
- Heath B.C. (1969b). The effect of unilateral ureteral ligation on mortality in chickens experimentally infected with nephrosis inducing infectious bronchitis virus. *Austr Vet J*, **45**, 225-227.
- Hirai K., Shimakura S. (1971). Isolation and characteristics of avian nephrosis-inducing infectious bronchitis virus (coronavirus). *Jpn J Vet Sci* **33**, 209-216.
- Hopkins S.R. (1974). Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque purified isolates. *Avian Dis* **18**, 231-239.
- Julian R.J., Willis N.G. (1969). The nephrosis-nephritis syndrome in chickens caused by a Holte strain of infectious bronchitis virus. *Can Vet J* **10**, 18-19.
- Klieve A.V., Cumming R.B. (1988). Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines. *Avian Pathol* **17**, 829-839.
- Loomis L.N., Cunningham C.H., Gray M.L., Thorp F. (1950). Pathology of the chicken embryo infected with infectious bronchitis virus. *Am J of Vet Res* **40**, 245-251.
- Lütticken P., Rijke E.O., Loeffen A.H.C. (1987). Systemic and local antibody response in chickens after infection and vaccination with infectious bronchitis virus. *Avian Immunol*, 321-330.
- Meulemans G., Carlier M.C., Gonze M., Petit P., Vandenbrouck M. (1987). Incidence, characterisation and prophylaxis of nephropathogenic avian infectious bronchitis virus. *Vet Rec* **120**, 205-206.
- McDonald J.W., Randall C.J., McMartin D.A., Dagless M.D., Gazdzinski P. (1981). Active and passive immunisation against nephritis induced by an avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* **10**, 121-129.
- Mockett A., Cook J.K.A. (1986). The detection of specific IgM to infectious bronchitis virus in chicken serum using an ELISA. *Avian Pathol* **15**, 437-446.
- Monreal G., Pohl R., Schulze H.W. (1974). Gleichzeitiges Auftreten von infektiöser Bursitis und infektiöser Bronchitis mit Nephritis-Nephrose-Syndrom. *Zbl Vet Med B* **21**, 14-21.
- Nauwynck H., Pensaert M. (1988). Studies on the pathogenesis of infections with a nephropathogenic variant of infectious bronchitis virus in chickens. *Proc First Int Symp Infect Bronchitis*, 113-119.
- Picault J.P., Duée J.P., Gillet J.P., Cook J.K.A., Guittet M., Bennejean G., Lamande J. (1987). Etude d'un nouveau coronavirus néphropathogène (CR-84221) isolé chez des poulets et des poules dans le nord de la France. *Rec Méd Vét* **163**, 269-276.
- Pohl R. (1974). The histopathogenesis of the nephrosis-nephritis syndrome. *Avian Pathol* **3**, 1-13.
- Purcell D.A., Mc Ferran J.B. (1972). The histopathology of infectious bronchitis in the domestic fowl. *Res Vet Sci* **13**, 116-121.
- Purcell D.A., Tham V.L., Surman P.G. (1976). The histopathology of infectious bronchitis in fowls infected with a nephrotropic «T» strain of virus. *Aust Vet J* **52**, 85-91.
- Ratanasethakul C., Cumming R.B. (1983). Effect of environmental temperature on the mortality in vaccinated chickens after challenge with Australian infectious bronchitis virus. *Aust Vet J* **8**, 255-256.
- Rinaldi A., Crespi A., Cervio G., Mandelli G. (1966). Isolamento di un ceppo nefropatogeno del virus della bronchite infettiva del pollo. *Estratto da Selezione Veterinaria* **7**, 284.
- Schalk A.F., Hawn M.C. (1931). An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J Am Vet Med Assoc* **78**, 413-422.
- Shimakura S., Hirai K. (1970). Incidence of avian nephrosis in Japan with special reference to isolation and transmission test of infective agents. *Jpn J Vet Sci* **33**, 206-208.
- Siller W.G., Cumming R.B. (1974). The histopathology of an interstitial nephritis in the fowl produced experimentally with infectious bronchitis virus. *J Pathol* **114**, 163-173.
- Wadey C.N., Faragher J.T. (1981). Australian infectious bronchitis viruses: plaque formation and assay method. *Res Vet Sci* **30**, 66-69.
- Winterfield R.W., Hitchner S.B. (1962). Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *Am J Vet Res* **23**, 1273-1279.
- Zanella A., Marchi R., Mellano D., Ponti W. (1988). Avian infectious bronchitis: nephropathogenic and respiratory virus isolates and their spreading in Italy. *Proc First Int Symp Infect Bronchitis*, 245-255.