



INCLUSION BODY DISEASE BIJ SLANGEN

INCLUSION BODY DISEASE IN SNAKES

D. Vancraeynest

Samenvatting

Inclusion Body Disease is een dodelijke aandoening bij boa's en pythons. Kenmerkend is de aanwezigheid van eosinofiele inclusies in de cellen van verschillende weefsels. Hoewel er aanwijzingen zijn voor de betrokkenheid van een retrovirus, is de verwekker van de ziekte voorlopig onbekend. Dit artikel bestaat uit een overzicht van de huidige kennis over deze ziekte.

Literatuuroverzicht

Historiek en etiologie

IBD is al ongeveer 30 jaar bekend bij de familie Boidae en is intussen wereldwijd verspreid. De ziekte veroorzaakt eosinofiele inclusies in het cytoplasma van de cellen in nagenoeg alle weefsels, maar vooral in epithelia van de ingewanden en in zenuwcellen. De inclusies zijn variabel in grootte en bevatten een karakteristiek proteïne (Schumacher et al., 1994; Carlisle-Nowak et al., 1998; Wozniak et al., 2000). Bij elektronenmicroscopisch onderzoek (EM) vonden Schumacher en medewerkers (1994), dat cellen met de karakteristieke inclusies veel virusachtige partikels bevatten. Deze partikels leken morfologisch sterk op C-type retrovirus-partikels. Dezelfde partikels werden teruggevonden in primaire niercelculturen

D. Vancraeynest

Abstract

Inclusion body disease is a fatal disorder mainly affecting members of the family of Boidae. It is characterized by multiple eosinophilic inclusions in the cells of various tissues. Although the disease is believed to be caused by a retrovirus, the exact aetiology remains unknown. This paper is a survey of the current knowledge about this disease.

Literature review

History and aetiology

IBD has been known for about 30 years in Boids (Schumacher and others, 1994) and has spread worldwide. The disease induces numerous eosinophilic intracytoplasmic inclusions in almost all tissues, but mainly in visceral epithelia and neurons. Inclusions are of a variable size, electrondense and contain a characteristic protein (Schumacher and others, 1994; Carlisle-Nowak and others, 1998; Wozniak and others, 2000).

Using transmission electron microscopy (TEM) Schumacher and others (1994) discovered virus-like particles in tissues of affected snakes. These particles morphologically resembled C-type retroviral particles. Similar particles were found in



Fig. 1: De slangenmijt *Ophionyssus natricis*: een IBD vector?
Fig. 1: The snakemite *Ophionyssus natricis*: an IBD vector?

van drie boa constrictors (*Boa constrictor ssp.*) en één tijgerpython (*Python molurus bivittatus*) met IBD. Inoculatie van twee celculturen kon het typische symptomenbeeld, inclusief eosinofiele intracytoplasmatische inclusies opwekken. De virusachtige partikels werden echter niet teruggevonden bij deze dieren (Schumacher et al., 1994). Wozniak en medewerkers (2000) inoculeerden gefilterd (poriëngrootte 0.45 µm) leverhomogenaat van een besmette boa constrictor bij gezonde dieren. Binnen tien weken ontwikkelden ze de typische inclusies met aanwezigheid van retrovirusachtige partikels. Ze bleven echter klinisch gezond tijdens de één jaar durende studie. Dus werden de postulaten van Koch (Tabel 1) in geen van beide infectieproeven vervuld.


primary kidney cell cultures of three boa constrictors (*Boa constrictor ssp.*) and one Burmese python (*Python molurus bivittatus*) with IBD. Inoculation of two Burmese pythons with infected tissue culture supernatant resulted in the characteristic clinical signs and the production of eosinophilic intracytoplasmic inclusions. However, there was no indication of virus-like particles in these animals (Schumacher and others, 1994). Wozniak and others (2000) inoculated healthy boas with a filtered (pore size 0.45 µm) liver homogenate of an affected *Boa constrictor*. Within 10 weeks, all these animals developed the typical inclusions, with presence of retrovirus-like particles. However, none of the boas developed clinically apparent signs of IBD by one year after inoculation. Thus neither of these transmission studies could fulfil



Fig. 2: Een met IBD besmette boa constrictor (*Boa constrictor ssp.*) met centrale zenuwstoornissen.
Fig. 2: An IBD affected boa constrictor (*Boa constrictor ssp.*) showing nervous signs

De bloedzuigende slangenmijt *Ophionyssus natricis* (fig. 1) is een frequent probleem in slangencollecties aangetast door IBD. Misschien is deze mijt een vector voor de ziekte (Schumacher et al., 1994). Wetenschappelijk bewijs hiervoor ontbreekt op dit moment. Occasioneel werd IBD ook vastgesteld bij 'niet-Boidae'. Het meest recente geval was een besmetting bij jonge korenslangen (*Pantherophis guttatus guttatus*, familie *Colubridae*). Bij deze dieren werden de typische inclusies teruggevonden, maar EM leverde geen virusachtige partikels op. De jonge dieren zelf kwamen op geen enkele manier in contact met met

Koch's postulates (table 1). Retroviruses are not uncommon in snakes. Several authors have reported their association with tumours (Zeigel and Clark, 1969; Orr and others, 1972; Ippen and others, 1978; Jacobson and others, 1980; Chandra and others, 2001), but they were also found in normal snake tissues (Carneiro and others, 1992; Huder and others, 2002). The bloodsucking snakemite *Ophionyssus natricis* (fig. 1) is a common problem in snake collections affected by IBD. This mite could be a vector for the disease (Schumacher and others, 1994). However, studies proving this are lacking.



IBD besmette Boidae, maar er was wel mogelijkheid tot indirect contact tussen de ouderdieren en een aangetaste boa constrictor (Fleming et al., 2003).

In 2001 beschreven Raymond en medewerkers een IBD-geval bij de addersoort *Botriechis marchi* (familie *Viperidae*). De bron van besmetting kon ook hier niet worden achterhaald. De dieren kwamen niet in contact met aangetaste Boidae, maar waren wel allemaal afkomstig van dezelfde dierentuin (Raymond et al., 2001). Tenslotte werd de ziekte ook vastgesteld bij een konings slang (*Lampropeltis getulus*, familie *Colubridae*) die samen met boa constrictors was gehuisvest (Jacobson, 1996).

Symptomenbeeld

Bij boa's is het ziekteverloop over het algemeen vrij kenmerkend. Intermittent braken is vaak het eerste symptoom. Dit stadium wordt meestal gevolgd door voedselweigering en vermagering (Schumacher et al., 1994). Iets later verschijnen centrale zenuwstoornissen, zoals trillen van de kop, desoriëntatie, evenwichtsstoornissen en gedragsveranderingen (Schumacher et al., 1994; Orós et al., 1998; Driggers en Austin, 2000) (fig. 2). Ook spierzwakte kan voorkomen. De slang kan dan niet langer een prooi grijpen, noch wurgen. Ook chronische longontsteking, abnormale vervelling en mondrot kunnen voorkomen (Schumacher, 1994; Wozniak et al., 2000; Jacobson et al., 2001). Af en toe vertonen de dieren een necrotiserende ontsteking van de huid (Jacobson et al., 2001; mededeling Zwart). In het terminale stadium worden de neurologische symptomen steeds ernstiger (Schumacher et al.,

Syndromes closely resembling IBD have occasionally been diagnosed in "non-Boidae" as well. An infection in young corn snakes (*Elaphe guttata guttata*, family *Colubridae*) was the most recently reported case (Fleming and others, 2003). Histological examination revealed eosinophilic intracytoplasmic inclusions, but retrovirus-like particles were not found on TEM. These young snakes had no contact with IBD positive Boidae, but indirect contact between the parents and an affected Boa constrictor was possible. In 2001 IBD was described in a group of vipers (*Botriechis marchi*, family *Viperidae*). The source of infection was unknown. The animals had no contact with affected Boidae (Raymond and others, 2001). An IBD diagnosis was also made in a kingsnake (*Lampropeltis getulus*, family *Colubridae*) that was housed together with boa constrictors (Carlisle-Nowak and others, 1998).

Clinical signs

In boas, intermittent regurgitation is often the first clinical sign of IBD. This stage is followed by anorexia (Schumacher and others, 1994). After a few weeks, central nervous signs such as head tremors, disorientation, ataxia and behavioural changes appear (Schumacher and others, 1994; Orós and others, 1998; Driggers and Austin, 2000) (fig. 2). Muscle weakness can occur as well, making it impossible for the snake to constrict a prey item. Affected snakes often suffer from pneumonia and stomatitis ulcerosa or "mouthrot", possibly caused by immunosuppression (Orós and others, 1998). Other possible clinical signs include abnormal skin shedding and neoplastic processes, such as cutaneous sarcoma and leukaemia (Schumacher and



1994). Vermoed wordt, dat boa's de ziekte asymptomatisch kunnen dragen.

Bij pythons komt het veel sneller tot centrale zenuwstoornissen dan bij boa's en zijn deze ook meer uitgesproken. Het zogenaamde 'sterrekijken' of 'stargazing', waarbij het dier lange tijd met het voorste deel van het lichaam opgericht zit, is hierbij heel typisch. Chronisch braken komt bij deze dieren nagenoeg niet voor, maar ze weigeren wel vaak voedsel (Schumacher et al., 1994). IBD loopt bij pythons sneller fataal af dan bij boa's (Driggers en Austin, 2000).

Diagnose

De diagnose van IBD is op dit moment gebaseerd op het terugvinden van eosinofiele intracytoplasmatische inclusies in verschillende celtypen (mededeling Jacobson). Microscopisch weefselonderzoek (histologie) is hiervoor meest geschikt. Dit onderzoek kan zowel gebeuren op weefsels van een dood dier, als op een stukje lever dat bij een levend dier onder volledig verdoving werd weggenomen. U kunt hiervoor terecht bij uw dierenarts.

Andere mogelijke oorzaken van de vermelde symptomen

Hoewel een slang met een historie van chronisch braken en centrale zenuwstoornissen al ernstig verdacht is van IBD, is er nog een aantal andere aandoeningen dat in beschouwing moeten worden genomen. Zo kan braken het gevolg zijn van een maagontsteking, onaangepaste omgevingstemperatuur, intoxicatie, tumoren, vreemd voorwerp in de maag, parasitaire infecties of hanteren kort na

others, 1994; Wozniak and others, 2000; Jacobson and others, 2001; Garner and Raymond, 2004). Sometimes, affected snakes suffer from multifocal necrotising skin infection (Zwart and others 2001). After a few weeks or even months, the progressive neurological signs eventually result in death (Schumacher and others, 1994). Boas may be asymptomatic carriers.

Pythons do not display chronic regurgitation, but often are anorexic (Schumacher and others, 1994). Central nervous signs in pythons appear earlier and are more severe than in boas. A very typical nervous sign is so-called "stargazing". Other possible signs include head-tilting, incoordination, episodic convulsions and paralysis of the posterior half of the body (Schumacher and others, 1994; Carlisle-Nowak and others, 1998). Overall, the course of disease is faster in pythons than in boas (Driggers and Austin, 2000), leading to death after a few weeks.

Diagnosis

Affected snakes show numerous eosinophilic intracytoplasmic inclusions in a wide range of cell types. Ideally, the diagnosis is made by microscopic examination of certain tissues (histology). This examination can be performed on several tissues of dead snakes, but a liver biopsy of a living animal is useful as well. Your veterinarian will be able to help you out.

Differential diagnosis

A boid snake with a history of chronic regurgitation and nervous signs is suggestive of IBD. However, there are a number of other conditions causing simi-

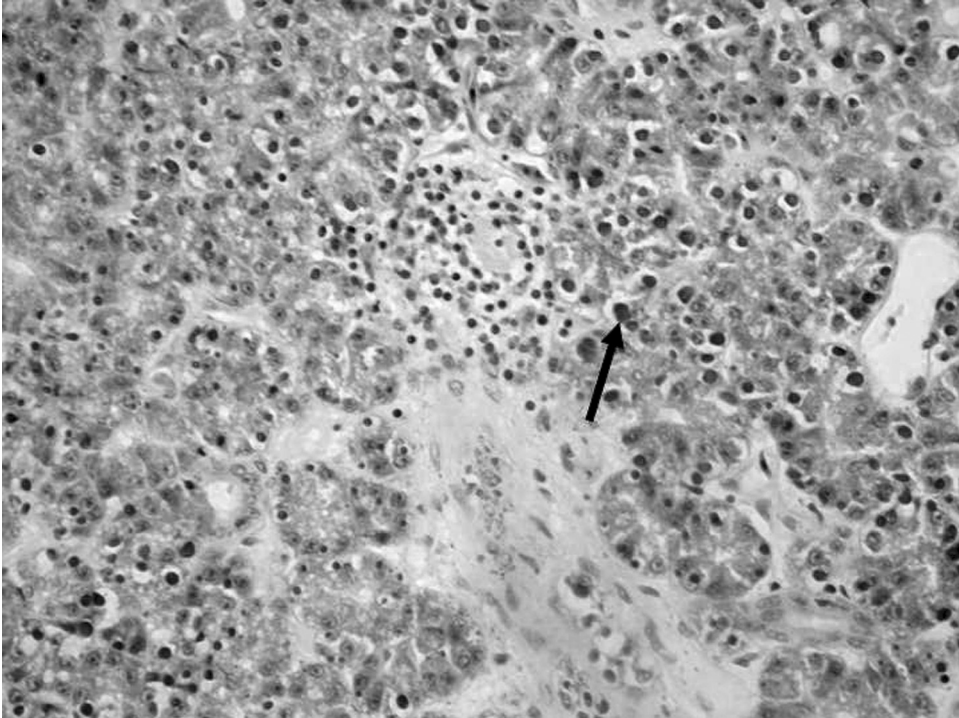


Fig. 3: De pijl toont eosinofiele intracytoplasmatische inclusies in een weefselcoupe van de pancreas van een *Boa constrictor occidentalis*.

Fig. 3: The arrow shows eosinophilic intracytoplasmic inclusions in the pancreas of a *Boa constrictor occidentalis*.

de maaltijd. Zenuwstoornissen kunnen worden veroorzaakt door een hersenontsteking, die bij slangen van bacteriële, virale of parasitaire oorsprong kan zijn. Ook schimmelinfecties van de hersenen komen voor. Een belangrijke oorzaak van centrale zenuwstoornissen is paramyxovirose, in oorsprong meestal een ademhalingsinfectie (Jacobson, 1993; West et al., 2001). *Entamoeba invadens*, een parasiet die het maag-darmstelsel van schildpadden bewoont, kan abscessen geven in de hersenen van slangen, met stuipen tot gevolg (Frank, 1984). Ook *Acanthamoeba* zou de oor-

lar clinical signs. Regurgitation can be caused by stomatitis, inappropriate ambient temperature, intoxication, septicaemia, neoplasia, foreign body, parasitic infections or rough handling shortly after a meal. Encephalitis in snakes can have a bacterial, mycotic, viral or parasitic origin. The most important differential diagnosis in central nervous signs is paramyxovirosis, a viral infection that also causes respiratory signs (Jacobson, 1993; West and others, 2001). The cheilonian commensal *Entamoeba invadens* can cause abscesses in the ophidian brain, leading to convulsions (Frank,

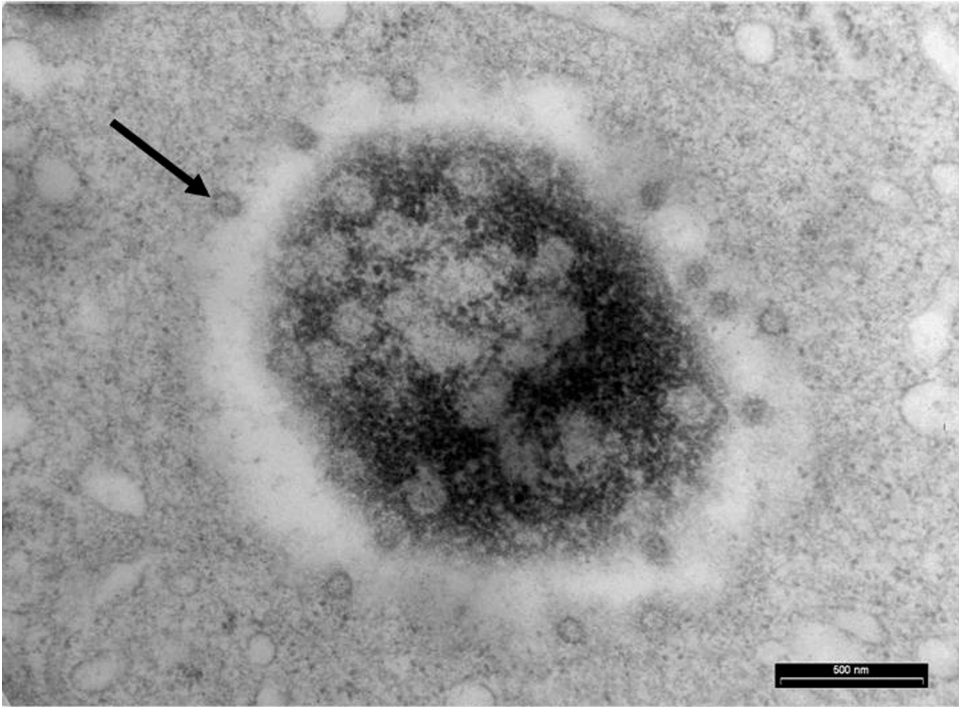


Fig. 4: De pijl toont mogelijke immature retroviruspartikels in een lever cel van een *Boa constrictor occidentalis*.

Fig. 4: The arrow shows possible immature retrovirus virions in a liver cell of a *Boa constrictor occidentalis*.

zaak kunnen zijn van een meningoencephalitis (Frank, 1984). Tenslotte mogen intoxicaties niet over het hoofd worden gezien. Vooral organische fosfaatesters, die vaak worden gebruikt bij het bestrijden van mijteninfestaties, kunnen verlammingen en stuipen geven (Holt, 1981).


Behandeling

Een behandeling voor IBD is niet voorhanden. Eventueel kan er een ondersteunende therapie worden ingesteld, door de slang te dwangvoeren en te voorzien van vocht. Deze slangen zijn

1984). *Acanthamoeba* species can also cause meningoencephalitis (Frank, 1984). Nervous signs can also be the result of a bacterial septicaemia with meningitis (Driggers and Austin, 2000). Another very important differential diagnosis for neurological signs is an intoxication with organophosphorous esters, which are often used to control mite infestations (Holt, 1981).

Treatment

There is no treatment for IBD. The general condition of affected snakes can some-



echter een bron van besmetting en daarom wordt er geadviseerd om alle dieren met karakteristieke inclusielichaampjes te euthanaseren.

Prognose

De prognose voor het individuele dier met IBD is slecht. De ziekte loopt fataal af. Een prognose voor de collectie waar het dier deel van uitmaakt is moeilijker te stellen. Redenen hiervoor zijn het onbekende ziekteverloop en de onbekende ziekteverspreiding, de lange incubatietijd en het feit dat boa's asymptomatische dragers kunnen zijn. Een mijtenprobleem lijkt een nadelige factor. Via leverbiopsieën kan worden nagegaan of symptoomloze dieren besmet zijn (Wozniak et al., 2000).

Preventie

Een sluitend preventiesysteem bestaat vooralsnog niet, omdat het ziekteverloop en de besmettelijkheid van IBD nog niet volledig zijn gekend. Een quarantaine van nieuwe dieren gedurende zes maanden tot één jaar, met behandeling van een eventuele mijteninfectie, is een goed begin. Leverbiopsieën bij besmette dieren zijn positief lang vóór de symptomen tot uiting komen (Wozniak et al., 2000) en vormen dus een goede 'ingangscontrole' voor nieuwe dieren.

Conclusie

IBD is een aandoening bij boa's en pythons die in opmars is. De oorzaak van de ziekte, het ziekteverloop en de besmettelijkheid zijn nog niet volledig bekend. Dieren met centrale zenuwstoornissen zijn verdacht, tot het tegendeel is bewezen. Een leverbiopsie met aantonen

times be improved by force-feeding and rehydrating them. However, one has to keep in mind that these snakes are a source of infection of a disease with fatal outcome and that euthanasia is the logical option.

Prognosis

The prognosis for the individual animal affected with IBD is grave. The disease always has a fatal outcome. A prognosis for asymptomatic animals in an affected snake collection is difficult to assess. The reasons for this are the unknown pathogenesis and epidemiology, the long incubation period and the fact that boas may be asymptomatic carriers. Mite infestation seems to be a disadvantageous factor. Liver biopsies can give information on the IBD status of asymptomatic animals (Wozniak and others, 2000; E.R. Jacobson, personal communication).

Prevention

As the pathogenesis and the epidemiology of IBD are still unclear, a secure prevention strategy does not exist. Isolation of newly acquired animals for 6 months to 1 year, with treatment of possible mite infestations, is recommended. Liver or oesophageal tonsil biopsies can be an aid for "entrance control" of new animals. As boas may be asymptomatic carriers, some authors advise not to keep pythons together with boas, or to keep them in the same collection.

Conclusion

IBD poses a serious threat to captive collections of Boidae. The disease occurs worldwide and its aetiology, pathogenesis and epidemiology are yet unknown.



van eosinofiele intracytoplasmatische inclusies geeft uitsluitel. Vaak wordt de diagnose op lijkschouwing gesteld, omdat er geen behandeling is en omdat de aangetaste dieren best worden geëuthanaseerd.

Tabel 1. De postulaten van Koch

1. De ziekteverwekker moet aantoonbaar zijn in de besmette gastheer op elk ogenblik van de ziekte.
2. De ziekteverwekker moet uit de zieke gastheer worden geïsoleerd en er moet een zuivere cultuur van kunnen worden gekweekt.
3. Wanneer gevoelige, gezonde dieren worden besmet met de ziekteverwekker gekweekt in cultuur, moeten de specifieke ziekteverschijnselen optreden.
4. De ziekteverwekker moet opnieuw uit deze dieren kunnen worden geïsoleerd en moet overeenkomen met de oorspronkelijke ziekteverwekker in zuivere cultuur.

Animals showing central nervous signs are suspected of having IBD. A liver or oesophageal tonsil biopsy with presence of eosinophilic intracytoplasmic inclusions is decisive. IBD is often a postmortem diagnosis, as there is no treatment. Euthanasia of affected animals is preferred in the light of the poor prognosis and the contagiousness of the disease.

Table 1. Koch's postulates

1. The pathogen must be detectable in the infected host at every stage of the disease.
2. The pathogen must be isolated from the diseased host and grown in pure culture.
3. When susceptible, healthy animals are infected with pathogens from the pure culture, the specific symptoms of the disease must occur.
4. The pathogen must be re-isolated from the diseased animal and correspond to the original pathogen in pure culture.

Literatuur

Carlisle-Nowak M.S., Sullivan N., Carrigan M., Knight C., Ryan C., Jacobson E.R. (1998). 'Inclusion body disease in two captive Australian pythons (*Morelia spilota variegata* and *Morelia spilota spilota*)'. *Australian Veterinary Journal* 76, 98-100.

Driggers T., Austin F. (1997). *Infectious diseases. In The Biology, Husbandry and Health Care of Reptiles*, Vol. 3. Ed. L. Ackerman. Neptune City, TFH Publications, Inc. pp 593-612.

Fleming G.J., Heard D.J., Jacobson E.R., Buergelt C. (2003). 'Cytoplasmic inclusions in Corn snakes, *Elaphe guttata*, resembling inclusion body disease of Boid snakes'. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 13, 18-22.

Frank W. (1984). 'Non-hemoparasitic protozoans'. In: *Diseases of Amphibians and Reptiles*. In: Eds. G.L. Hoff, F.L. Frye, E.R. Jacobson. New York, Plenum Press. pp 259-323.

Garner M.M., Raymond, J.T. (2004). 'Methods for diagnosing inclusion body disease in snakes'. *Proceedings Association of Reptile and Amphibian Veterinarians congress*, May 8-11, Naples, Florida, 21-25.

Holt P.E. (1981). '*Drugs and dosages*'. In: *Diseases of the Reptilia*, Vol. 2. Eds. J.E. Cooper, O.F. Jackson. San Diego, Academic Press, pp 551-584.

Jacobson E.R. (1993). '*Viral disease of reptiles*'. In: Fowler M.E. (ed.). *Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy* 3. Saunders, Philadelphia, 153-159.

Jacobson E.R., Orós J., Tucker S.J., Pollock D.P., Kelley K.L., Munn R.J., Lock B.A., Mergia A., Yamamoto J.K. (2001). '*Partial Characterization of retroviruses from boid snakes with inclusion body disease*'. *American Journal of Veterinary Research*, 62, 217-224.

Orós J., Tucker S., Jacobson E.R. (1998). '*Inclusion body disease in two captive boas in the Canary Islands*'. *Veterinary Record*, 143, 283-285.

Raymond J.T., Garner M.M., Nordhausen R.W., Jacobson, E.R. (2001). '*A disease resembling inclusion body disease of boid snakes in captive palm vipers (*Botriechis marchi*)*'. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13, 82-86.

Schumacher J., Jacobson E.R., Homer B.L., Gaskin J.M. (1994). '*Inclusion Body Disease in boid snakes*'. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 25, 511-524.

West G., Garner M., Raymond J., Latimer K.S., Nordhausen R. (2001). '*Meningoencephalitis in a boelen's python (*Morelia boeleni*) associated with paramyxovirus infection*'. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 32, 360-365.

Wozniak E., McBride J., DeNardo D., Tarara R., Wong V., Osburn B. (2000). '*Isolation and characterization of an antigenically distinct 68-kd protein from nonviral intracytoplasmic inclusions in boa constrictors chronically infected with the Inclusion Body Disease virus (IBDV: Retroviridae)*'. *Veterinary Pathology* 37, 449-459.

Zwart, P., Hetzel, U., Dik, K.J. (2001). '*Osteitis deformans and concomitant inclusion body disease in a boa (*Boa constrictor*)*'. *Verhandlungsbericht Erkrankungen der Zootiere*, 40, 61-66.