

Adenowirusy ptasie

Jowita Samanta Niczporuk, Elżbieta Samorek-Salamonowicz, Hanna Czekaj

z Zakładu Chorób Wirusowych Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Wirusy z rodziny Adenoviridae są szeroko rozpowszechnione u ludzi i zwierząt. Wyizolowano je na początku lat pięćdziesiątych ubiegłego wieku z usuniętych operacyjnie migdałków u dzieci i wówczas od słowa adenoides – tkanka limfatyczna gruczołowa – nadano im nazwę adenowirus (1). W następnych latach wyisobniono wiele szczepów adenowirusów od ryb, płazów, gadów, ptaków i ssaków. Obecność ich stwierdzono u ponad 40 gatunków kręgowców (2).

Charakterystyka wirusów z rodziny Adenoviridae

Adenowirusy są bezotoczkowymi wirusami o kapsydzie wielkości 70–90 nm. Niesegmentowany genom tych wirusów stanowi liniowy dsDNA zawierający geny kodujące strukturalne i niestrukturalne proteiny wirusa. Połączony jest on wiązaniem kowalencyjnym do końca 5' z proteiną końcową

(terminal protein-TP). Wirion adenowirusów zawiera 11,3–13,5% DNA o wielkości 25–43,8 kbp. Zawartość DNA w genie serotypu 1 CELO adenowirusów ptasich wynosi 17,3%. Gęstość adenowirusów mierzona w gradiencie chlorku cezu waha się od 1,32 do 1,37 g/ml. Różnice w gęstości związane są z różnicami w strukturze łańcucha dsDNA warunkującymi przynależność do różnych grup, są one obecne także wśród adenowirusów występujących u człowieka i różnych gatunków zwierząt (2, 3).

Międzynarodowy Komitet Taksonomii wirusów w 1995 r. wprowadził podział rodziny Adenoviridae na dwa rodzaje: *Mastadenovirus* – wirusy ssaków i *Aviadenovirus* – odpowiadające za zakażenia występujące u ptaków (4). Wirusy ptasie są serologicznie różne od wirusów ssaków i różnią się organizacją genomu, jednak ich właściwości fizykochemiczne są takie same (2).

Wszystkie ptasie adenowirusy, tak jak inne wirusy bezotoczkowe, są odporne na rozpuszczalniki organiczne, takie jak: eter, chloroform oraz na trypsynę, fenol, a także alkohol i pH w przedziale 3,0–9,0. Stwierdzono, że temperatura 56°C przez 30 min inaktywuje adenowirusy, niektóre jednak mogą przetrwać temperaturę 60°C lub nawet 70°C przez 30 min. Adenowirusy nie ulegają inaktywacji przez 4 tygodnie w temperaturze 37°C, około 6 miesięcy w temperaturze 4°C, kilka lat w temperaturze –40°C. W dewastacji wirusów skuteczne są roztwory podchlorynu sodowego, aldehydu glutarowego oraz formaldehyd (2).

Morfologia

Morfologia adenowirusów po raz pierwszy została opisana w 1993 r. przez Stewarda i wsp. (5). Wirusy te mają dwudziestościenne kasyd bez otoczki, składający się z 252 kapsomerów: 240 niewierzchołkowych, noszących nazwę heksonów, oraz 12 wierzchołkowych, zwanych pentonami. Penton składa się z podstawy i włókna pojedynczego u adenowirusów ssaków oraz włókna podwójnego u adenowirusów ptaków. W skład wirionu wchodzi również białka strukturalne i niestrukturalne, których większość nie została do końca poznana.

Aviadenoviruses

Niczyporuk J.S., Samorek-Salamonowicz E., Czekaj H., National Veterinary Research Institute, Puławy

Aviadenoviruses belong to the family Adenoviridae. They have non-enveloped virions 70–90 nm diameter and contain non-segmented, linear dsDNA genome. Major antigenic protein of 103 kDa is responsible for serological differentiation of these viruses. Aviadenoviruses were divided into three groups. Group I contains viruses pathogenic for chickens, turkeys, ducks and geese and causing diseases such as inclusion body hepatitis (IBH) in chickens or hydropericardium hepatitis syndrome (HHS, Angara disease, AD) in broilers. This group was divided into five species, from A to E, which consist of 12 serotypes. Pathogenicity of these viruses differs within serotype. They can cause asymptomatic infection or may complicate other viral infections. Group II contains viruses causing hemorrhagic enteritis (HE) in turkeys, marble spleen disease (MSD) in pheasants and avian adenovirus splenomegaly (AAS) in chickens. Aviadenovirus A-127 belongs to the group III and causes egg drop syndrome (EDS 76) in chickens. Diagnostic procedures of aviadenoviruses infections include serological, histopathological, virological and molecular biology methods.

Keywords: aviadenoviruses, pathogenicity, diagnostics.

Głównym białkiem kapsydu adenowirusów jest hekson. Ciężar molekularny tego białka wynosi 103 kDa. Wielkość genu kodującego hekson jest zmienna wśród szczepów i wynosi około 2800–2900 bp. Białko to charakteryzuje się wysoką zmiennością i zawiera różne determinanty antygenowe odpowiedzialne za różnicowanie serologiczne. Struktura heksonu zawiera domeny konserwatywne, tworzące podstawę proteiny i odpowiadające za tworzenie trimerów, jak i domeny silnie zmienne, układające się na zewnątrz wirionu i odpowiadające za zmienność antygenową, przy jednoczesnym zachowaniu struktury wirionu adenowirusów (6).

Tropizm adenowirusów do tkanek ptaków jest zależny od szczepu wirusa i jego patogenności. Obecność ich stwierdza się w wielu narządach wewnętrznych ptaków. W rozprzestrzenianiu adenowirusów odgrywa rolę transmisja pionowa, jak i pozioma. Transmisja pozioma odbywa się poprzez kontakt błony śluzowej jamy dziobowej i nosowej z zakażoną odchodami ściółką, paszą lub wodą, a także bezpośredni kontakt z zakażonymi ptakami. Zakażenia adenowirusami mogą mieć różny charakter, występować w postaci zakażeń utajonych, wkląć przebieg innych zakażeń

lub samodzielnie wywoływać jednostki chorobowe (2, 7).

Replikacja adenowirusów odbywa się w jądrze zakażonych komórek. Rozpoczyna się od momentu wnikięcia wirusa do komórki gospodarza, następnie odbywa się transfer wirusowego DNA do jądra komórkowego, gdzie przebiegają kolejno procesy transkrypcji i translacji wczesnego genu E. Proteiny kodowane przez wczesne geny ułatwiają replikację wirusowego DNA i proces transkrypcji oraz translacji genów późnych (L) kodujących strukturalne proteiny wirusa. Proces kumulacji wirusowych protein, a następnie formowanie ich w kompletne wiriony zakończone jest w jądrze komórkowym, które wraz ze zniszczeniem zakażonej komórki gospodarza zostają uwolnione (2).

Mechanizmy różnicowanej patogenności adenowirusów nie zostały do końca poznane. Często szczepy należące do tego samego genotypu wykazują różnicowane właściwości patogenne. Gatunki ptactwa domowego są wrażliwe na zakażenie w każdym wieku (8).

Adenowirusy ptaków zostały podzielone na trzy grupy. Do grupy I należą adenowirusy występujące u kur, indyków, kaczek oraz gęsi. Na podstawie molekularnej analizy enzymami restrykcyjnymi różnicowano adenowirusy należące do I grupy na 12 serotypów (FAdV1 – FAdV12) występujących u kur, kaczek, gołębi i indyków i 5 genotypów A–E (8). Występują w postaci zakażeń bezobjawowych, ale są również czynnikiem etiologicznym wielu chorób, takich jak: wrętowe zapalenie wątroby kurcząt (inclusion body hepatitis – IBH; 6, 8), choroba Angara (hydropericardium hepatitis syndrome – HHS; 2, 8), mogą także brać udział w polietologicznych procesach chorobowych. Jedną z cech charakterystycznych niektórych szczepów adenowirusów tej grupy należących do serotypu 1 jest zdolność do indukowania guzów nowotworowych (włókniakomięsaków) u osesków chomika syryjskiego (9, 10).

Do grupy II adenowirusów należy wirus krwotocznego zapalenia jelit indyków (haemorrhagic enteritis virus – HEV), wirus choroby marmurkowej śledziony bażantów (marble spleen disease virus – MSDV) oraz splenomegalii kurcząt (avian adenovirus splenomegaly – AASV; 2). Dla grupy tej zaproponowano nazwę *Siadenovirus*, z powodu obecności w genomie unikatowego genu kodującego sialidazę. Przypuszcza się, że siadenowirusy występowały pierwotnie tylko u płazów, później natomiast zaadaptowały się do ptaków (11, 12).

Do grupy III adenowirusów zaliczono wirus A-127 będący czynnikiem etiologicznym zespołu spadku nieśności kur

(egg drop syndrome – EDS 76). Wykazuje on pewne podobieństwa w budowie genomu z adenowirusami ssaków występującymi u przeżuwaczy. Dla tej grupy z powodu wysokiej zawartości adeniny – tymidyny w genomie zaproponowano nazwę *Atadenovirus* (11, 12).

Choroby drobiu wywołane przez adenowirusy

Zakażenia adenowirusami są często wykrywane w populacjach ptaków. Na podstawie badań wykonywanych w latach dziewięćdziesiątych w stadach reprodukcyjnych kur wykazano, że ponad 85% niosek w obrębie badanych stad wykazywało obecność przeciwciał przeciwko adenowirusom, a od około 60% ptaków izolowano adenowirusy z wymazów ze steku (13). Najczęściej występowały szczepy należące do serotypu 1 oraz serotypu 5, rzadziej do serotypów 6, 8 i 10. Adenowirusy są czynnikiem etiologicznym wrętowego zapalenia wątroby (IBH), zespołu puchliny osierdzia (HHS), nadżerkowo-wrzodowego zapalenia błony śluzowej żołądka mięśniowego (gizzard erosion and ulceration – GEU), krwotocznego zapalenia jelit indyków (HEV), choroby marmurkowej śledziony bażantów (MSD) oraz zespołu spadku nieśności kur (EDS). Ponadto stwierdzono, że zanieczyszczenie adenowirusami pogarszało właściwości protekcyjne szczepionki przeciwko chorobie Mareka (9, 14). Badania przeprowadzane w ostatnich latach potwierdziły znaczne rozprzestrzenienie tych zakażeń, bowiem adenowirusy wykryto w 40% ferm kur niosek towarowych i brojlerów.

Wrętowe zapalenie wątroby kurcząt

Czynnikiem etiologicznym wrętowego zapalenia wątroby są adenowirusy należące do grupy I. Chorobę tę mogą wywoływać wszystkie serotypy, z wyjątkiem serotypu 11, który nie był izolowany z klinicznych przypadków tej choroby (3). W Nowej Zelandii najczęściej stwierdzanym serotypem izolowanym z przypadków wrętowego zapalenia wątroby jest serotyp 8, rzadziej serotypy 1 oraz 12, w odróżnieniu od Australii, gdzie izoluje się głównie serotypy 6, 7 i 8 (2). Choroba występuje na całym świecie. W Polsce została opisana po raz pierwszy w 1981 r. (15). Najczęściej występuje u kurcząt w wieku 3–7 tygodni życia, ale może się pojawić także u ptaków starszych do 20 tygodnia życia. Choroba może także występować również u indyków, gołębi, gęsi i papug. Okres wylegania wynosi 1–4 dni. W stadzie choroba utrzymuje się około 2–3 tygodni. Chore ptaki przysiadają na skokach, mają nastroszone pióra, padnięcia występują w ciągu 48 godzin

od wystąpienia objawów ogólnych. Obserwowana jest bledź lub zażółcenie grzebienia, dzwonek i błon śluzowych (3, 8).

W zależności od patogenności szczepu wirusa i/lub statusu immunologicznego ptaków śmiertelność waha się w granicach 2–10% ptaków w stadzie. W przypadku dołączenia się innych zakażeń wikłających może sięgnąć do 40%. Sekcyjnie u ptaków stwierdza się wybroczyny i wylewy krwawe w tkance podskórnej i w mięśniach, powodujące ich zasinienie. Wątroba jest powiększona, bledź, z widocznymi wybroczynami pod torebką, nadającymi jej mozaikowy wygląd, o konsystencji kruchej. Nerki są bledź, z obecnością wybroczyn podtorebkowych. W przebiegu wtęrowego zapalenia wątroby stwierdzana jest również aplazja szpiku kostnego, pomniejszenie bursy Fabrycjusza i grasicy, czego konsekwencją może być znacznego stopnia immunosupresja. Charakterystyczną cechą tej choroby jest obecność w jądrach hepatocytów ciałek wtęrowych widocznych w preparatach histopatologicznych. Podobnie jak w przebiegu innych zakażeń wirusowych, nie stosuje się leczenia przyczynowego. Należy bezwzględnie przestrzegać zasad bioasekuracji oraz szczepień ochronnych przeciwko innym chorobom wirusowym obniżającym odporność (3, 8).

Zespół puchliny osierdzia

Zespół puchliny osierdzia (choroba Angara) jest zakaźną chorobą występującą u drobiu, której czynnikiem etiologicznym są adenowirusy ptasie z grupy I należące do serotypu 4. Choroba została po raz pierwszy stwierdzona w miejscowości Angara w Pakistanie w 1987 r. (3, 8). Następnie została opisana w wielu państwach na całym świecie: w Indiach, Kuwejcie, Iraku, Japonii oraz Rosji. Ponadto przypadki wystąpienia zespołu puchliny osierdzia odnotowano także w Meksyku, Chile, Peru i Ekwadorze. Z klinicznych przypadków tej choroby wyizolowano 12 serotypów adenowirusów. Na terytorium Azji oraz Stanów Zjednoczonych dominującym serotypem są serotypy 4 oraz 12, które występują najczęściej w powiązaniu z serotypem 1. Serotypy te między sobą różnią się wirulencją (2). W Polsce stwierdzano przypadki choroby z podobnymi objawami, jednak nie została ona zdiagnozowana. Do zakażenia dochodzi w wyniku bezpośredniego kontaktu z ptakami zakażonymi, jak i pośrednio poprzez zanieczyszczone wirusem środowisko. Zachorowania występują w 3–4 tygodniu życia ptaków, narastają przez 4–8 dni, po czym stopniowo ustępują. Okres wylegania wynosi 2–3 dni. Chore ptaki wykazują objawy niespecyficzne, osłabienie, przysiadanie na skokach, duszność; może

wystąpić biegunka, a odchody są barwy żółtawej. W stadzie stwierdza się znaczne zróżnicowanie ptaków po przechorowaniu. W badaniu anatomopatologicznym najbardziej charakterystyczna jest obecność słomkowego płynu w worku osierdziowym, powiększenie serca, obrzęk płuc, powiększenie i przebarwienie wątroby z wybroczynami pod jej torebką. Nerki są powiększone, bledź i następuje ich zwyrodnienie. U chorych ptaków widoczna jest martwica trzustki oraz żółdka mięśniowego. Śmiertelność ptaków w stadach jest zróżnicowana i wynosi od 20 do 80% (3, 8).

Nadżerkowo-wrzodowe zapalenie błony śluzowej żołądka mięśniowego

Ostatnio opisana adenowirusowa choroba kurcząt brojlerów, zwana inaczej jako nadżerkowo-wrzodowe zapalenie błony śluzowej żołądka mięśniowego (gizzard erosion and ulceration – GEU), wywołana jest przez adenowirusy z grupy I, najczęściej przez serotypy 1 oraz 8. Po raz pierwszy w Polsce zachorowania odnotowano w 2007 r. (16, 17). Występuje jako jednostka chorobowa samodzielnie lub z towarzyszącymi jej zmianami charakterystycznymi dla wtęrowego zapalenia wątroby. Brak klinicznych objawów choroby. Padnięcia u zakażonych ptaków są zwykle nagłe, często bez jakichkolwiek objawów klinicznych. U padłych ptaków występują zmiany nadżerkowo-wrzodowe w żołądku mięśniowym, widoczna jest ciemna, prawie czarna treść żołądka, ponadto występują owrzodzenia jego ściany. Ściana żołądka gruczołowego jest pogrubiona. Stwierdzana jest również bledź wątroby, śledziony i nerek (18, 19). Ta jednostka chorobowa nie jest jeszcze dokładnie poznana. Zakażenie doświadczalne ptaków serotypami 1 i 8 adenowirusów było przyczyną wystąpienia zmian anatomopatologicznych w żołądku mięśniowym, któremu towarzyszył stan zapalny wątroby i trzustki. Ostatnio w Stanach Zjednoczonych odnotowano podobne przypadki nadżerkowo-wrzodowego zapalenia żołądka brojlerów opisane jako TVP (transmissible viral proventriculitis). Wyizolowany od chorych ptaków szczep nie został jeszcze zaklasyfikowany do żadnej z poznanych grup adenowirusów. Ten wirus wydaje się inny od wszystkich dotychczas znanych adenowirusów (2).

Krwotoczne zapalenie jelit indyków

Krwotoczne zapalenie jelit u indyków jest ostrą wirusową chorobą wywołaną przez adenowirusy ptasie należące do grupy II. Wirusy te, w odróżnieniu od adenowirusów z grup I i III, nie przenoszą się drogą

transowarialną. Po raz pierwszy chorobę zidentyfikowano w USA (2). W Polsce pierwsze przypadki krwotocznego zapalenia jelit indyków opisano w 1987 r. (20). Na znaczne rozprzestrzenienie zakażeń wirusa krwotocznego zapalenia jelit w stadach indyków wskazuje częste stwierdzanie obecności przeciwciał (21). Źródłem zakażenia jest zanieczyszczona odchodami ściółka, pasza, woda oraz sprzęt. Choroba atakuje ptaki w wieku 7–9 tygodni życia, pojawia się nagle. Charakterystyczne są krwawe odchody i nagłe padnięcia. Sporadycznie choroba jest stwierdzana u młodszych indyczek, tj. poniżej 3–4 tygodnia życia. Na zakażenie wrażliwe są również bażanty, kurczęta oraz perliczki. U zakażonych ptaków błona śluzowa jelit jest silnie przekrwiona, widoczne są ogniska martwice spowodowane krwawieniem do światła jelit, a także powiększenie i marmurkowość śledziony. Śmiertelność wynosi 10–15% ptaków w stadzie. Bardzo często obserwuje się wtórne zakażenia bakteryjne, które po 2–3 tygodniach zwiększają odsetek ptaków padłych nawet do 60% (22). W badaniu histopatologicznym stwierdza się charakterystyczne wewnątrzjądrowe ciała wtęrowe w hepatocytach, leukocytach krwi obwodowej, komórkach trzustki, mózgu oraz kanalikach krętych nerki. Wirus wykazuje bardzo silne działanie immunosupresyjne.

Choroba marmurkowanej śledziony bażantów

Choroba marmurkowanej śledziony bażantów jest ostrą wirusową chorobą wywołaną przez serotyp II adenowirusów, spokrewniony z wirusem wywołującym krwotoczne zapalenie jelit (HE) indyków i splenomegalię u kurcząt. W Europie po raz pierwszy choroba została zdiagnozowana we Włoszech w 1963 r., a następnie w Wielkiej Brytanii w 1972 r. W Polsce pierwsze przypadki tej choroby opisano w 1982 r. (23), a w następnych latach potwierdzono jej występowanie (24, 25). Jest jedną z najgroźniejszych z chorób zakaźnych bażantów. Zakażenie wirusem następuje na drodze horyzontalnej, nie stwierdza się pionowego przenoszenia wirusa. Bażanty poniżej 4 tygodnia życia są zabezpieczone przed chorobą poprzez przeciwciała matczyne. Choroba atakuje ptaki, które ukończyły 3 miesiąc życia. Okres inkubacji choroby wynosi kilka dni, natomiast choroba w stadzie trwa około 3 tygodni. Śmiertelność wynosi od 2 do 20% ptaków w stadzie. U chorych ptaków widoczne są zaburzenia w oddychaniu, czasami biegunka. Padnięcia następują w skutek uduszenia. W badaniu sekcijnym stwierdza się charakterystyczne powiększenie i marmurkowość śledziony, a także przekrwienie

i obrzęk płuc. Histopatologicznie stwierdza się wewnątrzjądrowe ciała wtrętowe w wątrobie, płucach, nerkach, bursie Fabrycjusza oraz szpiku kostnym. Szczepki izolowane od bażantów wykazują zróżnicowaną patogenność dla ptaków (2).

Zespół spadku nieśności kur

Czynnikiem etiologicznym zespołu spadku nieśności kur są adenowirusy ptasie należące do grupy III. Zespół ten został opisany w 1976 r., wtedy też wyizolowano adenowirus odpowiedzialny za tę chorobę, nadano mu nazwę wirus A-127 lub Egg Drop Syndrome 76 (EDS 76) (4). Przeprowadzone w 1981 r. badania serologiczne wykazały obecność przeciwciał w stadach kur niosek w naszym kraju (26). W grupie III adenowirusów zidentyfikowano tylko jeden serotyp wirusa A-127, mający właściwości hemaglutynacyjne. Zespół spadku nieśności najczęściej stwierdzany jest u kur niosek. Na zakażenie wrażliwe są również przepiórki japońskie i perliczki. Doświadczalnie wrażliwość na zakażenie wykazano także u indyków i bażantów (4). Zakażenia tym wirusem powszechnie występują u kaczek, dla których jest niepatogenny, lecz może stanowić rezerwuuar dla wrażliwych gatunków ptaków. Natomiast u kaczek piżmowych wirus ten jest przyczyną zwiększonej wrażliwości na inne zakażenia (27). Prawdopodobnie wirus został wprowadzony do populacji kurcząt poprzez szczepionkę przeciwko chorobie Mareka sporządzoną w hodowli fibroblastów kaczek. Choroba rozprzestrzenia się drogą transowarialną i horyzontalną. Chorują kury nioski w wieku 26–35 tygodni, głównie w szczycie nieśności; młode ptaki nie chorują. Choroba trwa 4–10 tygodni i jest przyczyną nagłego spadku produkcji jaj. Objawy kliniczne są bardzo słabo wyrażone. Najbardziej charakterystyczny jest obserwowany spadek nieśności wynoszący do 40% znoszonych jaj. Po kilku tygodniach trwania choroby nieśność wzrasta nie osiągając szczytu. Widoczne są zmiany dotyczące budowy skorupy oraz treści jaja. Skorupa traci pigment, robi się cienka, bardzo krucha i chropowata, z obwódkami wokół poprzecznej osi. Jaja mogą też być całkowicie pozbawione skorupy (4, 28). W wyniku zakażenia wirusem jajnik i lejek jajowodu objęte są procesem zapalnym, następuje zanik jajowodu, który jest nieaktywny. W ostrej postaci choroby występuje splenomegalia. Replikacja wirusa odbywa się w jądrach komórek nabłonka jelit oraz w cieśni jajowodu, gruczołach skorupowych i śledzionie. W przebiegu tej choroby stwierdza się również zmiany charakterystyczne dla tłuszczowego zwyrodnienia wątroby oraz zmiany zanikowe pęcherzyka żółciowego i przewodów żółciowych.

Podobnie jak w większości chorób spowodowanych przez adenowirusy, w narządach wewnętrznych występują ciała wtrętowe. W immunoprofilaktyce tej choroby stosowana jest szczepionka inaktywowana. Ptaki szczepi się pomiędzy 14 a 16 tygodniem życia. Powstająca odpowiedź immunologiczna trwa około roku (4).

Diagnostyka zakażeń adenowirusami

W diagnostyce zakażeń adenowirusami u drobiu znalazły zastosowanie metody: serologiczne, wirusologiczne, histologiczne oraz techniki biologii molekularnej. Metody serologiczne stosowane mogą być do wykrywania obecności swoistych przeciwciał, jak również do wykrywania antygeny wirusowego. Stosowane są testy immunoenzymatyczne (ELISA), odczyn immunodyfuzji w żelu agarowym (AGID), odczyn seroneutralizacji (SN), a także odczyn hemaglutynacji (HA) i hamowania hemaglutynacji (HI) (7, 13, 29).

Izolację adenowirusów należących do grupy I przeprowadza się w zarodkach bądź w hodowlach komórkowych. W zależności od stwierdzanych objawów klinicznych i zmian sekcyjnych stosuje się odpowiednio dobre hodowle komórek. Najbardziej przydatne i wrażliwe na zakażenie adenowirusami tej grupy są hodowle komórek wątroby zarodka kurzego (CEL) i komórek nerki zarodka kurzego (CEK). Hodowle komórek fibroblastów zarodków kurzych (CEF) są mniej wrażliwe na zakażenie adenowirusami. Adenowirusy grupy II nie namnażają się w zarodkach ptaków ani powszechnie stosowanych hodowlach komórkowych, do ich izolacji potrzebna jest hodowla leukocytów krwi obwodowej indyka lub linia limfoblastów B indyka transformowanych nowotworowo wirusem choroby Mareka MDTC-RP 19. Do izolacji adenowirusa EDS 76 przydatne są zarodki kaczki, hodowle fibroblastów kaczek bądź komórki nerek lub wątroby kaczek (2, 13).

Klasyczne metody wirusologiczne są jednak pracochłonne i czasochłonne. Od kilkunastu lat coraz powszechniej stosuje się metody biologii molekularnej oparte na reakcji amplifikacji (PCR). Znalazły zastosowanie metody PCR umożliwiające wykrywanie i różnicowanie poszczególnych serotypów adenowirusów (29, 30, 31). Po raz pierwszy metodę PCR do wykrywania serotypu 8 FAdV u drobiu zastosował Jiang i wsp. (32). W późniejszych latach opracowano również PCR do wykrywania i identyfikacji wirusa krwotocznego zapalenia jelit indyków (33, 34). W 2006 r. Okuda i wsp. (35) opracowały i zastosowały PCR i analizę restrykcyjną jego produktów do wykrywania serotypu 1 adenowirusów występujących u drobiu. Metoda

ta pozwoliła na różnicowanie szczepów należących do serotypu 1 wywołujących nadżerkowo-wrzodowe zapalenie błony śluzowej żołądka od szczepów należących do tego serotypu i niewywołujących opisanych zmian. Metoda PCR i analiza restrykcyjna została opracowana i zastosowana również do wykrywania wirusa wtrętowego zapalenia wątroby kurcząt, a także do wykrywania adenowirusów serotypu 9 FAdV (30, 31).

W ostatnich latach opracowano i zastosowano do diagnostyki zakażeń adenowirusami również metody multiplex PCR do szybkiej identyfikacji różnych serotypów adenowirusów. Stosowane w diagnostyce molekularnej startery oparte są na charakterystycznych dla różnych serotypów, fragmentach genu kodującego białko hekson. Opracowano również metodę multiplex PCR umożliwiającą wykrywanie zakażeń różnymi, nawet niespokrewnionymi wirusami: adenowirusami z grupy I, reowirusami, wirusem zakaźnego zapalenia bursy Fabrycjusza oraz wirusem niedokrwiistości zakaźnej kurcząt w jednej reakcji (36).

W przebiegu większości jednostek chorobowych wywołanych przez adenowirusy ptasie powstają wewnątrzjądrowe ciała wtrętowe w narządach mięsnych. W badaniu histopatologicznym stwierdza się wówczas obecność charakterystycznych ciałek wtrętowych typu-A Cowdry. Obecność adenowirusów w tkankach ptaków można wykrywać również za pomocą mikroskopu elektronowego lub skaningowego.

W diagnostyce zakażeń adenowirusami należy uwzględnić fakt, że obecność adenowirusów stwierdza się również w tkankach ptaków zdrowych oraz możliwość zakażenia jednego ptaka różnymi typami i serotypami adenowirusów.

Piśmiennictwo

- Endsers J.F., Bell J.A., Dingle J.H., Francis T., Hilleman H.R., Huebner R.J., Payne A. M.: Adenoviruses: Group name proposed for the new respiratory tract viruses. *Science* 1956, **124**, 119-120.
- Fitzgerald S.D.: Adenovirus infection. W: *Diseases of Poultry* (12th ed.), Saif Y. M. (edit.), Blackwell Publishing 2008, s. 251-252.
- McConnell B.A., Fitzgerald S.D.: Group I Adenovirus Infections. W: *Diseases of Poultry* (12th ed.), Saif Y. M. (edit.), Blackwell Publishing 2008, s. 252-266.
- McConnell B.A., Smuth J.A.: Egg drop syndrome. W: *Diseases of Poultry* (12th ed.), Saif Y. M. (edit.), Blackwell Publishing 2008, s. 266-276.
- Stewart P.L., Fuller S.D., Burnett R.M.: Difference imaging of adenovirus: bridging the resolution gap between X-ray crystallography and electron microscopy. *Embo J.* 1993, **12**, 2589-2599.
- Hess M.: Technical review. Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review. *Avian Pathol.* 2000, **29**, 195-206.
- Philippe C., Grgic H., Ojick D., Nagy E.: Serologic monitoring of a broiler breeder flock previously affected by inclusion body hepatitis and testing of the progeny for vertical transmission of fowl adenoviruses. *Can. J. Vet. Res.* 2007, **71**, 98-102.

8. Mazaheri A., Prusas C., Voss M., Hess M.: Some strains of serotype 4 fowl adenovirus cause inclusion body hepatitis and hydropericardium syndrome in chickens. *Avian Pathol.* 1998, **27**, 269-276.
9. Samorek-Salamonowicz E.: *Właściwości krajowych szczepów adenowirusów ptasich, z uwzględnieniem ich wpływu na replikację indyjskiego herpeswirusa*. Praca habilitacyjna, UMCS, Instytut Weterynaryjny, Puławy 1986.
10. Sarma P.S., Vaas W., Huebner R.J., Lane W.T.: Induction of tumors in hamster with infection an avian adenovirus (CELO). *Science* 1965, **149**, 1108-1110.
11. Benko M. Harrach B.: Molecular evolution of adenoviruses. W: *Adenoviruses: Model and Vectors in Virus Host Interactions*, Doerfler W., Bohm P. (eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 2003, s. 3-35.
12. Davidson A., Harrach B.: Siatkowirusy. W: *The Springer Index of Viruses*. Tidona C. A., Darai G. (eds), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 2002, s. 29-33.
13. Samorek-Salamonowicz E., Borzemska W., Karpińska E., Kosowska G.: Serological and virological examinations of reproduction poultry flock infected with adenoviruses under natural conditions. *Bull. Vet. Inst.* 1990, **33**, 69-76.
14. Samorek-Salamonowicz E.: Wpływ zakażenia adenowirusami na skuteczność szczepień przeciwko chorobie Mareka u kurcząt. *Polish J. Immunol.* 1994, **19**, 2.
15. Karpińska E., Samorek-Salamonowicz E.: Pierwszy przypadek wtórnego zapalenia wątroby kurcząt (IBH) w kraju. *Medycyna Wet.* 1981, **37**, 713-714.
16. Mamczur J., Szeptycki J., Hess M., Houszka M., Szeleszczuk P., Bartoszkiewicz J.: Pierwsze rozpoznane w kraju przypadki adenowirusowej choroby kurcząt. *Polskie Drob.* 2008, **10**, 37-39.
17. Tomczyk G., Domańska-Blicharz K., Minta Z., Kozdrun W., Śmietanka K., Bartzak R., Kozaczyński W.: Rozpoznanie pierwszych przypadków owrdzenia żołądka mięśniowego u kurcząt broilerów w Polsce. *Mat. XII Kongresu PTNW „Od nauki do praktyki”*. Olsztyn, 2008, s. 64-65.
18. Okuda Y., Ono M., Yazawa S., Shibata I., Sato S.: Experimental infection of specific-pathogen-free chickens with serotype-1 fowl adenovirus isolated from a broiler chickens with gizzard erosion. *Avian Dis.* 2001, **45**, 19-25.
19. Ono M., Okuda Y., Yazawa S., Shibata I., Tanimura N., Kimura K., Haritani K., Mase M., Sato S.: Epizootic outbreak of gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens. *Avian Dis.* 2001, **45**, 268-275.
20. Koncicki A.: Pierwsze przypadki adenowirusowego krwotocznego zapalenia jelit indyków w Polsce. *Medycyna Wet.* 1990, **46**, 16-17.
21. Koncicki A.: Charakterystyka krajowych izolatów adenowirusa krwotocznego zapalenia jelit (HE) indyków i ocena sytuacji epizootycznej w Polsce. *Acta Acad. Agricul. Tech. Ols. Veterinaria* 1996, **22**, 1-4.
22. Pierson F.W., Fitzgerald S.D.: Hemorrhagic enteritis and related infections. W: *Diseases of Poultry* (12th ed.), Saif Y. M. (edit.), Blackwell Publishing 2008, s. 276-286.
23. Szańkowska Z., Kubissa E., Piotrowska M., Panufnik H.: Przypadek marmurkowej śledziny (marble spleen disease) u bażantów w Polsce. *Medycyna Wet.* 1982, **38**, 288-290.
24. Koncicki A., Minta Z., Guio S., Krasnodębska-Depta A., Mazur-Gonowska B., Tomczyk G.: Occurrence of marble spleen disease virus infection in pheasants. *XI Internat. Symp. of Young Poultry Sci. WPSA*, Olsztyn, 1998, 49.
25. Wieliczko A., Tomanek B., Kuczowski M.: Prevalence of infectious diseases in ring-necked pheasant flocks in Poland. *Polish J. Vet. Sci.* 2003, **6**, 177-182.
26. Gałdziński P.: Występowanie w krajowych fermach drobiu przeciwciał przeciwko wirusowi wywołującemu syndrom spadku nieśności. *Medycyna Wet.* 1981, **37**, 172-174.
27. Cąkała A., Coudert F., Salamonowicz E., Cauchy E.: Dual infections of ducks with Derzsy's disease and EDS 76 viruses. W: *Acute Virus Infections of Poultry*. J. B. Mc Ferran, M. S. Nulty, M. (edit.) Nijhoff Publishers, 1986, s. 231.
28. Szeleszczuk P.: Zmiany biochemiczne skorup jaj w przebiegu syndromu spadku nieśności – EDS76 u kur. *Zesz. Nauk AR. Wroc. Wet.* 1988, **45**, 129-134.
29. Dhinakar R.G., Sivakumar S., Matheswaran K., Chandrasekhar M., Thiagarajan V., Nachimuthu K.: Detection of egg drop syndrome virus antigen or genome by enzyme-linked immunosorbent assay or polymerase chain reaction. *Avian Pathol.* 2003, **32**, 545-550.
30. Gręcić H., Philippe C., Ojkić D., Nagy E.: Study of vertical transmission of fowl adenoviruses. *Can. J. Vet. Res.* 2006, **70**, 230-233.
31. Singh A., Oberoi M.S., Grewal G.S., Hafez H.M., Hess M.: The use of PCR Combined with restriction enzyme analysis to characterize fowl adenovirus field isolates from northern India. *Vet. Res. Comm.* 2002, **26**, 577-585.
32. Jiang P., Ojkić D., Tuboly T., Huber P., Nagy E.: Application of the polymerase chain reaction to detect fowl adenoviruses. *Can. J. Vet. Res.* 1999, **63**, 124-128.
33. Hess M., Raue R., Hafez H.M.: PCR for specific detection of hemorrhagic enteritis virus of turkeys an avian adenovirus. *J. Virol. Meth.* 1999, **81**, 199-203.
34. Mazur-Lech B., Koncicki A., Janta M.: Wykorzystanie łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) do wykrywania i określenia rozprzestrzeniania się wirusa krwotocznego zapalenia jelit w organizmie indyków. *Medycyna Wet.* 2009, **65**, 413-415.
35. Okuda Y., Ono M., Shibata I., Sato S., Akashi H.: Comparison of the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism pattern of the fiber gene and pathogenicity of serotype-1 fowl adenovirus isolates from gizzard erosions and from feces of clinically healthy chickens in Japan. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2006, **18**, 162-167.
36. Caterina K.M., Salvatore F.J., Girshick T., Khan M.I.: Development of a multiplex PCR for detection of avian adenovirus, avian reovirus, infectious bursal disease virus, and chicken anemia virus. *Molec. Cell Prob.* 2004, **18**, 293-298.

Lekarz wet. Jowita Niczyproruk, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jowita.niczyproruk@piwet.pulawy.pl