

ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ, PIOTR GAŹDZIŃSKI

## Replikacja wirusa A-127 w hodowlach komórek i zarodkach różnych gatunków ptaków\*

Pracownia Badania Chorób Drobiu Wodnego, Instytut Weterynarii,  
Al. Partyzantów 59, 24-100 Puławy

W 1978 r. McFerran (5) opisał wyisobnienie hemaglutynującego wirusa, oznaczonego jako szczep 127, od ptaków wykazujących syndrom spadku nieśności, określony później jako EDS 76 (Egg Drop Syndrom 76) (2). Badania biochemiczne wykazały (7), że wirus ten zawiera DNA i posiada strukturę polipeptydową podobną do adenowirusa serotypu 1 (FAV 1). Następnie przy użyciu odczynu SN wykazano pokrewieństwo antygenowe pomiędzy wirusem A-127 a ptasimi adenowirusami (6).

Celem badań własnych było przesłedzenie *in vitro* wrażliwości komórek i zarodków różnych gatunków ptaków na zakażenie wirusem A-127.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono przy użyciu hodowli fibroblastów i komórek nerki zarodka przepiórki japońskiej i zarodka kurzego, hodowli komórek wątroby zarodka kaczego oraz hodowli komórek fibroblastów zarodka gęsiego. Hodowle komórek zakładano wg ogólnie przyjętych zasad. Jako podłoże wzrostowe używano płynu Eagle'a z dodatkiem 10% surowicy cielęcej, podłoże utrzymujące stanowił sam płyn Eagle'a. Ponadto badania prowadzono również na zarodkach wymienionych uprzednio gatunków ptaków.

Odpowiednie hodowle komórkowe oraz zarodki zakażano standardowym szczepem wirusa A-127, uzyskanym od dr E. Vielitz (RFN). Szczep ten był zaadaptowany do hodowli komórek nerki zarodka kurzego, a jego miano hemaglutynacyjne wynosiło 80. We wszystkich wspomnianych uprzednio układach przeprowadzano trzy pasażę wirusa w odstępach 96 godz. Obecność wirusa potwierdzano za pomocą odczynu hemaglutynacji, przy użyciu 1% zawiesiny kurzych erytrocytów (mikrometoda) (5), a także określano występowanie efektu cytopatycznego (c.p.e.) w hodowlach komórkowych, bądź zmian anatomo-patologicznych u zakażonych zarodków.

### Wyniki i omówienie

W tab. 1 i 2 podano wyniki uzyskane z materiału z III pasażu. Przeprowadzono cztery doświadczenia.

W doświadczeniu 1 przebadano wrażliwość hodowli fibroblastów (JQEF) i komórek nerki (JQEK) oraz 9-dniowych zarodków przepiórki japońskiej zakażanych do worka owodniowo-omocznikowego. We wszystkich przypadkach uzyskano wyniki ujemne (tab. 1 i 2). Wirus nie powodował też żadnych zmian anatomo-patologicznych w zarodku, również nie można było wykazać jego obecności odczynem hemaglutyny-

nacji. Wydaje się więc, że adenowirus A-127 nie replikował się w hodowli komórek, ani w zarodku przepiórki japońskiej.

Układ doświadczenia drugiego był analogiczny do poprzedniego. Użyto hodowli komórek fibroblastów (CEF) i nerki zarodka kurzego (CEK) oraz 9-dniowych zarodków zakażanych do worka owodniowo-omocznikowego. W II i III pasażu w hodowli fibroblastów obserwowano w 48 godz. p. i. słabo wyrażony efekt cytopatyczny. Niektóre komórki ulegały zaokrągleniu i wypełnieniu ziarnistościami, a po 96 godz. odrywały się one od podłoża i pływały w płynie utrzymującym. Jednakże warstwa komórek nie ulegała zniszczeniu. Miano Ha materiału z III pasażu wynosiło 16, TCID<sub>50</sub> — 10<sup>2.5</sup> (tab. 1). Hodowle komórek nerki zarodka kurzego okazały się bardziej wrażliwe na zakażenie badanych wirusem. Już w I pasażu, w 24 godz. p. i. stwierdzano pierwsze zmiany cytopatyczne w postaci zaokrąglonych, ziarnistych komórek. Po 96 godz. notowano degenerację komórek, odrywały się one od szkla i były zawieszane w podłożu. Warstwa komórek ulegała zniszczeniu, obserwowano jedynie wysepki rosnących komórek, o zmienionej morfologii. Miano Ha płynu utrzymującego wynosiło 320, a TCID<sub>50</sub> — 10<sup>5.4</sup> (tab. 1). Zakażenie 9-dniowych zarodków kurzych dało wynik ujemny

Tab. 1. Namnażanie wirusa A-127 w hodowlach komórek zarodków różnych gatunków ptaków

Hodowla komórek	Miano		Wrażliwość
	Ha	TCID <sub>50</sub>	
JQEF *	0	0	brak
JQEK	0	0	brak
CEF	16	10 <sup>2.5</sup>	+
CEK	520	10 <sup>4.5</sup>	++
DEL	powyżej 32 000	10 <sup>6.7</sup>	++++
GEF	512	n.o. **	++++

Objaśnienia: \* — objaśnienia skrótów w tekście, \*\* — nie oznaczano.

Tab. 2. Namnażanie się wirusa A-127 w zarodkach różnych gatunków ptaków

Zarodki	Miano Ha	Wrażliwość
Przepiórki japońskie	0	brak
Kurcze	0	brak
Kacze	32 000 powyżej	++++
Gęsie	32 000	++++

\* — Doniesienie wygłoszone na Sesji Naukowej, zorganizowanej w Puławach w dniu 6.06.1980 r. przez Komisję Patologii Drobiu PTNW oraz Sekcję Wirusologiczną Lub. Oddziału PTM, poświęconej aktualnym wirusowym chorobom drobiu.

(tab. 2). Badany wirus nie powodował ani zmian anatomo-patologicznych, ani też zamierania zarodków. Odczyn hemaglutynacji również dał wynik ujemny.

W doświadczeniu trzecim użyto hodowli komórek wątroby zarodka kaczego (DEL) oraz 10-dniowych zarodków kaczych, zakażanych do worka owodniowo-omoczniewego. Badany wirus w hodowli komórek wątroby powodował efekt cytopatyczny już w 24 godz. p. i. Obserwowano drobne komórki, zaokrąglone, o grubych ścianach, silnie załamujące światło, ze zwakuolizowaną cytoplazmą. Efekt cytopatyczny, w miarę inkubacji rozszerzał się. Komórki odrywały się od szkła, po 96 godz. obserwowano tylko wysepki małych, okrągłych, ziarnistych komórek. TCID<sub>50</sub> wynosiło 10<sup>5.7</sup> w 0,2 ml. Przeprowadzony odczyn hemaglutynacji z płynem z nad hodowli wykazał wysokie miano sięgające powyżej 32 000 (tab. 1). Analogicznie wysokie miano uzyskano po zakażeniu zarodków (tab. 2), pomimo, że badany wirus nie powodował u nich zmian anatomo-patologicznych, ani też zamierania.

W doświadczeniu czwartym użyto hodowli fibroblastów (GEF) i 10-dniowych zarodków gęsi. Wirus A-127 replikował się w hodowli fibroblastów, począwszy od II pasażu tworzył efekt cytopatyczny. Pojawiały się komórki okrągłe, powiększone około dwukrotnie w porównaniu do komórek w hodowlach kontrolnych. Warstwa komórkowa nie ulegała zniszczeniu. W następnym pasażu efekt ten nie pogłębił się. Jednakże miano Ha było wysokie i wynosiło 512 (tab. 1). Wirus namnażany na zarodkach dawał wysokie miano hemaglutynacyjne, powyżej 32 000, nie powodując jednakże ani zmian anatomo-patologicznych, ani też zamierania.

Z dotychczasowych doniesień jedynie Adair i wsp. (1) badali wrażliwość hodowli komórek wątroby, nerki i fibroblastów zarodka kurzego, kaczego i indyjskiego na zakażenie wirusem A-127. Wyniki ich badań są bardzo zbliżone do wyników badań własnych. Wrażliwość hodowli fibroblastów i komórek nerki zarodka kurzego była podobna. Miana Ha wirusa A-127 namnażanego w tych hodowlach były również na prawie takim samym poziomie.

Badania własne potwierdziły także wysoką wrażliwość komórek wątroby zarodka kaczego i samych zarodków na zakażenie wirusem A-127. W porównaniu z badaniami Adaira i wsp. (1) uzyskano o wiele wyższe miano Ha wirusa A-127 namnażanego w hodowli komórek wątroby zarodka kaczego. Natomiast miana Ha wirusa namnażanego na zarodkach kaczych były jednakowo wysokie i wynosiły 32 000.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat wrażliwości hodowli komórek i zarodków gęsi na zakażenie wirusem A-127. Badania własne wykazały wysoką wrażliwość

zarówno fibroblastów, jak i zarodków gęsi. Uzyskane miana Ha były na tym samym poziomie jak uzyskane po zakażeniu zarodków kaczych. W piśmiennictwie nie znaleziono również doniesień na temat wrażliwości hodowli komórek i zarodków przepiórki japońskiej na zakażenie wirusem A-127. W badaniach własnych zarówno hodowle komórek fibroblastów, jak i nerki, a także zarodki przepiórki japońskiej okazały się niewrażliwe na zakażenie badanym wirusem.

Reasumując wydaje się, że przedstawione badania potwierdziły wysoką wrażliwość ptaków wodnych na zakażenie Adenowirusem 127. Jest to zgodne z danymi innych autorów (2, 3), a także z danymi uzyskanymi w tutejszym Zakładzie przy badaniu surowic ptaków pochodzących z różnych ferm w Polsce (4). Metodami serologicznymi (HI i SN) stwierdzono powszechność zakażenia wirusem A-127 stad kaczek oraz wykazano je, chociaż w mniejszym stopniu, w stadach gęsi. Natomiast w większości przypadków, jak dotychczas, badając surowice pochodzące od kur uzyskano wyniki ujemne. Również badanie stada przepiórek japońskich dało wynik ujemny.

#### Piśmiennictwo

1. Adair B. M., McFerran J. B., Connor T. J., McNulty M. S., McKillop E. R.: Avian Path. 8, 24, 1979.
2. Barendale W.: Vet. Rec. 102, 285, 1978.
3. Calnek B. W.: Avian Dis. 22, 798, 1978.
4. Gaździński P.: Medycyna Wet. (w druku).
5. McFerran J. B., McCracken R. M., McKillop E. R., McNulty M. S., Collins D. S.: Avian Path. 7, 35, 1978.
6. McFerran J. B., Connor T. J., Adair B. M.: Avian Path. 7, 629, 1978.
7. Todd D., McNulty M. S.: J. Gen. Virol. 40, 63, 1978.

Adres autora: dr Elżbieta Samorek-Salamonowicz, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Саморек-Саламонович Э., Газдинский П. — Репликация вируса А-127 в культурах клеток и зародышей разных видов птиц.

Исследовали размножение вируса А-127 в культурах: фибробластов и клеток почки куриного зародыша и зародыша японского перепела, клеток печени утиного зародыша и фибробластов гусиного зародыша. Сверх того исследования велись также на зародышах ранее упомянутых видов птиц. Вирус А-127 лучше всего размножался в культурах клеток и зародышах водных птиц — уток и гусей. Средний геммаглютинационный титр вируса, размноженного в культуре клеток печени утиного зародыша и фибробластов гусиного зародыша, а также в утиных и гусиных зародышах составлял 32 000. Вирус не вызывал отмирания или анатомо-патологических изменений зародышей. Низшие титры Ha получились в культурах фибробластов и клеток почки куриного зародыша — соответственно 16 и 520. Не удалось показать репликации вируса А-127 в куриных зародышах, в культурах фибробластов или клеток почки и в зародыше японского перепела.

Samorek-Salamonowicz E., Gaździński P. — Replication of A-127 virus in cell cultures and embryos of various bird species.

The propagation of A-127 virus on the following cultures was examined: fibroblasts and kidney embryo cells of chickens and Japan quails, liver cells of duck embryos, and fibroblast of the above species