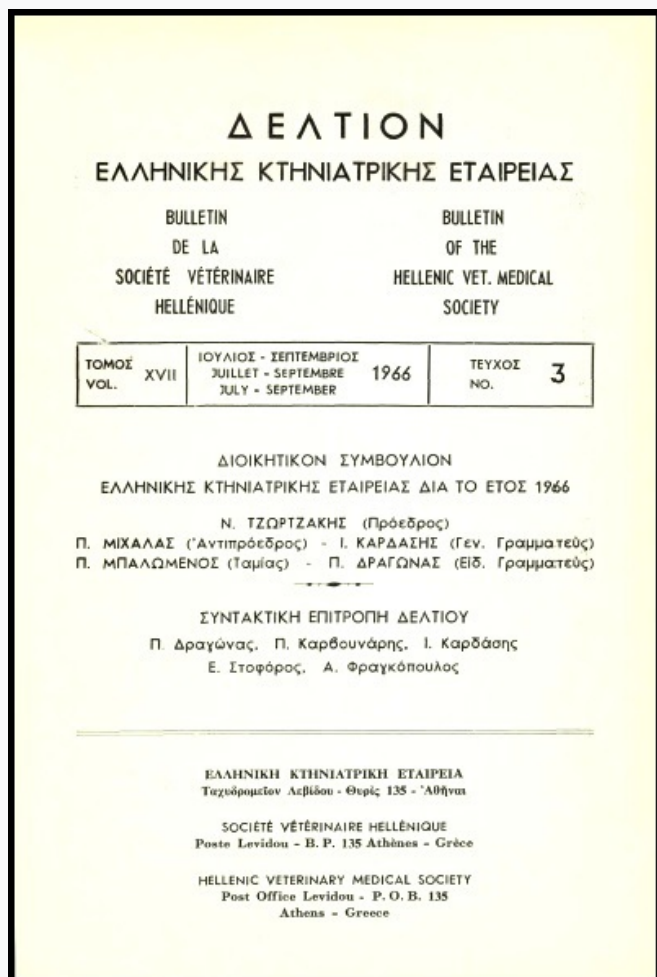


Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 17, No 3 (1966)



Η ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ Ι. Πρώτη απομόνωσης του ιού έκ της υπαίθρου (Πρόδρομος ανακοίνωσης)

Ι. ΜΕΝΑΣΕ, Π. ΚΑΡΒΟΥΝΗΣ, Γ. ΒΕΪΜΟΣ, Α. ΣΕΪΜΕΝΗΣ, Σ. ΜΑΛΛΙΑΡΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.18795](https://doi.org/10.12681/jhvms.18795)

Copyright © 2018, Ι. ΜΕΝΑΣΕ, Π. ΚΑΡΒΟΥΝΗΣ, Γ. ΒΕΪΜΟΣ, Α. ΣΕΪΜΕΝΗΣ Σ. ΜΑΛΛΙΑΡΗΣ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

ΜΕΝΑΣΕ Ι., ΚΑΡΒΟΥΝΗΣ Π., ΒΕΪΜΟΣ Γ., ΣΕΪΜΕΝΗΣ Α., & ΜΑΛΛΙΑΡΗΣ Σ. (1966). Η ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ Ι. Πρώτη απομόνωσης του ιού έκ της υπαίθρου (Πρόδρομος ανακοίνωσης). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 17(3), 190–205. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18795>

ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ

Ἐκ τοῦ Κτηνιατρικοῦ Μικροβιολογικοῦ Ἰνστιτούτου
τοῦ Ὑπουργείου Γεωργίας

Διευθυντής : Δρ. Π. Α. ΚΑΡΒΟΥΝΑΡΗΣ

Η ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ

Ι. Πρώτη ἀπομόνωσις τοῦ ιοῦ ἐκ τῆς ὑπαίδρου

(Πρόδρομος ἀνακοίνωσις)

ὕ π ὀ

Ι. ΜΕΝΑΣΕ Π. ΚΑΡΒΟΥΝΑΡΗ Γ. ΒΕΪΜΟΥ Α. ΣΕΪΜΕΝΗ Σ. ΜΑΛΛΙΑΡΗ

Εἰς τὰ πρῶτα δημοσιευθέντα, τὸ 1955, στατιστικὰ στοιχεῖα ἐπὶ τῆς συχνότητος τῶν νοσημάτων τῶν κατοικιδίων πτηνῶν ἐν Ἑλλάδι, διὰ τὴν περίοδον 1953 — 54, ὑπὸ τῶν Ταρλατζῆ καὶ Δραγῶνα (1), ἡ Ἐγκεφαλομυελίτις τῶν ὀρνίθων δὲν ἀναφέρεται ὡς ἐμφανισθεῖσα.

Κλινικῶς, ἡ νόσος αὕτη ἀναφέρεται διαγνωσθεῖσα διὰ πρώτην φοράν ἐν Ἑλλάδι κατὰ τὸ 1959 ὑπὸ τοῦ Α. Παπαδοπούλου (2), κατόπιν δέ, συμφώνως πρὸς δημοσιευθέντα στατιστικὰ παρόμοια ὡς ἄνω στοιχεῖα :

α) ὑπὸ τῶν Σ. Ἀϋφαντῆ, Α. Παπαδοπούλου καὶ Α. Χριστοδουλοπούλου κατὰ τὴν περίοδον 1955 — 1960, εἰς τρία περιστατικὰ τὸ 1959 καὶ εἰς τέσσαρα περιστατικὰ τὸ 1960 (3).

β) ὑπὸ τῶν Α. Παπαδοπούλου καὶ συνεργατῶν κατὰ τὴν περίοδον 1961 — 1964, εἰς δύο περιστατικὰ (4).

Εἰς τὰ ὑπὸ τοῦ Ἐργαστηρίου Πτηνοπαθολογίας τοῦ Κ. Μ. Ι. τηρούμενα βιβλία, σημειώνεται μία περίπτωσις κλινικῶν συμπτωμάτων ὑπόπτων Ἐγκεφαλομυελίτιδος τῶν ὀρνίθων (ΕΟ) κατὰ τὸν Νοέμβριον 1965, ἐκ δὲ τοῦ τακτικῶς λαμβανομένου ἱστορικοῦ, ἐπανειλημμένως ὑπῆρξαν ἐνδείξεις ὑπάρξεως τῆς νόσου εἰς τὴν Χώραν μας.

Τὰ ἀνωτέρω ἐκτεθέντα, ἐξ ὧν προκύπτει ἡ εἰς περιωρισμένον ἀριθμὸν περιστατικῶν κλινικὴ διάγνωσις τῆς ΕΟ, κατὰ τὸ χρονικὸν διάστημα μιᾶς δωδεκαετίας, οὐδόλως ἐναρμονίζονται μὲ τὸ γεγονὸς τῆς γνωστῆς μεγάλης μεταδοτικότητος τοῦ ιοῦ τῆς ΕΟ καὶ μάλιστα ὑπὸ τὰς κρατούσας σήμερον εἰς τὴν Χώραν μας συνθήκας ἐντατικῆς ἐκτροφῆς, ὡς καὶ τῶν ἀθρόων ἐκ τοῦ ἐξωτερικοῦ εἰσαγωγῶν νεοσσῶν ἀναπαραγωγῆς.

Ὡς γνωστόν, εἶναι μεγάλη ἡ πιθανότης συγχύσεως τῶν νευρικῶν συμπτωμάτων τῆς ΕΟ καὶ τῶν συμπτωμάτων τῶν ὀφειλομένων εἰς ἄλλας ἀσθενείας ἢ παθολογικὰς καταστάσεις, ὡς ἡ ἀτυπικὴ μορφή ψευδοπανώλους, αἱ Μυκητιάσεις, Ἀβιταμινώσεις, κλπ.

Ἐπομένως, ἡ ΕΟ θὰ εἶναι ἔτι περισσότερο διαδεδομένη εἰς τὴν Χώραν μας καὶ πολλὰ περιστατικά τῆς νόσου δὲν θὰ ἔχουν περιέλθῃ εἰς τὴν ἀντίληψιν τῶν Πτηνοπαθολόγων κατὰ τὸ παρελθόν.

Ἡ κατωτέρω ἀναφερομένη πρώτη ἀπομόνωσις καὶ ταυτοποίησις τοῦ ἰοῦ τῆς ΕΟ ἐκ παθολογικοῦ ὕλικοῦ προερχομένου ἐκ τῆς περιοχῆς Χαλκίδος, ἀποδεικνύει κατηγορηματικῶς τὴν ὕπαρξιν τῆς νόσου ἐν Ἑλλάδι.

Κατόπιν αὐτοῦ, πρῶτον μέλημά μας θὰ εἶναι ὁ προσδιορισμὸς τῆς ἐκτάσεως τῆς νόσου εἰς τὴν Χώραν, βάσει ἐργαστηριακῶν ἐξετάσεων. Τὰ ἀποτελέσματα θέλουσι ἀνακοινωθῇ ἅμα τῇ περατῶσει τῆς ἐρεῦνης.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ι. Ὑλικά

Ὑλικὸν ἐνοφθαλμισμού τῶν ἐμβρυοφόρων ὧν καὶ νεοσσῶν ἀπετέλεσαν οἱ ἐγκέφαλοι νεοσσῶν, οἵτινες παρουσίασαν συμπτώματα ὑποπτα ΕΟ, κατόπιν ὁμοιογενοποιήσεώς των εἰς ἀναλογία 20 %, ἐντὸς ἀπεστερωμένου καὶ περιέχοντος ἀντιβιοτικὰ διαλύματος τριπτικᾶσης 2 %.

Ὑλικὸν περιέχον τὸν ἰὸν πρὸς ταυτοποίησιν ἀπετέλεσαν οἱ ὁμοιογενοποιηθέντες ὡς ἄνω ἐγκέφαλοι τῶν νεοσσῶν τῶν προερχομένων ἐξ ἐνοφθαλμισθέντων ὧν, ὡς καὶ οἱ ἐγκέφαλοι τῶν ἐνοφθαλμισθέντων νεοσσῶν, ὧν παρουσίασαν συμπτώματα ὑποπτα ΕΟ. Ἐπὶ τοῦ ὕλικοῦ τούτου ἐγένοντο αἱ δέουσαι ἐργαστηριακαὶ ἐξετάσεις πρὸς ἀποκλεισμὸν ἐτέρων παθογόνων παραγόντων, ἥτοι μικροβίων, Ρ.Ρ.Λ.Ο, ὡς ἐπίσης καὶ λοιπῶν ἰῶν δυναμένων νὰ προκαλέσουν παρόμοια τῆς ΕΟ νευρικὰ συμπτώματα.

Τὰ κατόπιν ἐπώσεως 5 ἡμερῶν ἐμβρυοφόρα ὡά, ὡς καὶ οἱ νεοσσοὶ μιᾶς ἡμέρας προήρχοντο ἐκ πτηνοτροφείου ἀπηλλαγμένου μεταδοτικῶν νοσημάτων καὶ εἰς τὸ ὅποιον οὐδέποτε εἶχε χρησιμοποιηθῇ ἐμβόλιον κατὰ τῆς ΕΟ.

Διὰ τὰς δοκιμὰς ὁροεξουδετερώσεως εἰς ἐμβρυοφόρα ὡά ὡς καὶ εἰς νεοσσοὺς μιᾶς ἡμέρας :

Ἰὸν Standard * ἀπετέλεσαν οἱ ὁμοιογενοποιηθέντες ὡς ἄνω ἐγκέ-

* Γνωστὸν εἶναι ὅτι ἐξ αἰτίας τῶν ἰδιαζόντων χαρακτηριστικῶν τοῦ λοιμογόνου ἰοῦ τῆς ἐγκεφαλομυελίτιδος δύσκολος εἶναι καὶ ἡ τιτλοποίησις αὐτοῦ μετ' ἀκριβείας. Παρ' ὅλα ταῦτα υἱοθετεῖται ἡ λέξις «Standard» διὰ τὰ διάφορα χρησιμοποιηθέντα ὕλικά ὡς στελέχη ἰοῦ καὶ ὁροῦς, μετὰ τὴν ἐννοίαν τοῦ «ὕλικου παραβολῆς» (Reference material).

φαλοι νεοσσῶν ἐνοφθαλμισθέντων διὰ γνωστῆς λοιμογόνου φυλῆς ΕΟ καὶ παρουσιαζόντων ἐκδηλὰ συμπτώματα τῆς νόσου. Τὸ ὑλικὸν τοῦτο ἐτέθη εἰς θερμοκρασίαν — 30° Κ

Θετικὸν ὅρον Standard ἀπετέλεσεν ὑπεράνσος ὁρὸς κατὰ τῆς ΕΟ προερχόμενος ἐξ ὑπερανοδοποιηθεῖσων ὀρνίθων διὰ γνωστοῦ ἰοῦ τῆς νόσου ταύτης.

Ὡς ἀρνητικὸς ὁρὸς Standard ἐχρησιμοποιήθη ἠλεγμένος κανονικὸς ὁρὸς ὀρνίθων, τοῦτέστιν ἀποδεδειγμένως μὴ περιέχων ἀντισώματα κατὰ τῆς Ἑγκεφαλομυελίτιδος.

Διὰ τὴν δοκιμὴν προστασίας, ὡς ἐμβόλιον γνωστῆς φυλῆς ἰοῦ ΕΟ (ἐμβόλιον Standard), ἐχρησιμοποιήθη τὸ νεκρὸν τοιοῦτον «Tremovax».* Εἰς τὴν δοκιμὴν ταύτην ὑλικὸν τεχνητῆς μόλυνσεως ἀπετέλεσεν ὁ ἀπομονωθεὶς ἰός.

II. Μέθοδοι

Α'. Μέθοδοι ἀπομονώσεως τοῦ ἰοῦ.

1) Ἐπὶ ἐμβρυοφόρων ὠν ὀρνίθους.

Διὰ τοῦ ἀνωτέρω ὑπόπτου ὑλικοῦ ἐνωφθαλμίσθησαν ἐντὸς τῆς λεκύθου 100 ὠά, ἕκαστον διὰ ποσότητος 0,2 κ. ἐκ.

Ἔτερα 100 ὠά τῆς αὐτῆς προελεύσεως δὲν ἐνωφθαλμίσθησαν, ἵνα χρησιμεύσωσιν ὡς μάρτυρες.

Ἀπαντὰ τὰ ἐμβρυοφόρα ὠά ἐπώασθησαν μέχρις ἐκκολάψεως, κεχωρισμένως τὰ ἐνοφθαλμισθέντα ἀπὸ τοὺς μάρτυρας.

Οἱ ἐκκολαφθέντες νεοσσοί, ἐκτρεφόμενοι εἰς δύο ἀπομεμονωμένους ἀλλήλων θαλάμους, ἐτέθησαν ὑπὸ συνεχῇ παρακολούθησιν μέχρις ἐκδηλώσεως συμπτωμάτων εἰς τὸν πρῶτον ὄμιλον νεοσσῶν, ἅτινα ἠδύναντο νὰ ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ.

Τὸ ἀποτέλεσμα ἐθεωρήθη θετικὸν ἐφ' ὅσον ἀπὸ τῆς ἐκδηλώσεως τῶν πρῶτων ὡς ἄνω συμπτωμάτων εἰς τὸν πρῶτον ὄμιλον νεοσσῶν, οὐδεὶς ἐκ τῶν μαρτύρων νεοσσῶν παρουσίασε παρόμοια συμπτώματα ἐπὶ ἓνα μῆνα.

Οἱ ἐγκέφαλοι τῶν ἀσθενῶν νεοσσῶν συνελέγοντο καὶ ἐτίθεντο εἰς κατάψυξιν, ἀποτελοῦντες, ὡς ἀνεφέρθη, τὸ πρὸς ταυτοποίησιν τοῦ ἰοῦ ὑλικόν.

2) Εἰς νεοσσούς μιᾶς ἡμέρας.

Ἐπίσης, διὰ τοῦ ὑπόπτου ὑλικοῦ ἐνωφθαλμίσθησαν ἐνδοκρανικῶς 100 νεοσσοὶ μιᾶς ἡμέρας, ἕκαστος διὰ ποσότητος 0,1 κ. ἐκ.

* Τὸ ἐμβόλιον «Tremovax» παρασκευάζεται ὑπὸ τοῦ Οἴκου Burrough Wellcome καὶ Co, τῆς Ἀγγλίας, διὰ τοῦ στελέχους Van Roekel ἰοῦ ΕΟ, ἀδρανοποιημένου διὰ Beta - Propiolactone καὶ ἐνισχυμένου δι' ὕδροξειδίου τοῦ ἀλουμινίου.

“Ετεροι 100 νεοσσοί τῆς αὐτῆς προελεύσεως ἀφέθησαν ὡς μάρτυρες.

“Απαντες οἱ ἀνωτέρω νεοσσοί, ἐκτρεφόμενοι εἰς δύο ἀπομονωμένους ἀλλήλων θαλάμους. ἐτέθησαν ὑπὸ συνεχῆ παρακολούθησιν μέχρι ἐκδηλώσεως συμπτωμάτων δυναμένων ν’ ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ.

Τὸ ἀποτέλεσμα ἐθεωρήθη θετικόν, ἐφ’ ὅσον, ἀπὸ τῆς ἐκδηλώσεως τῶν πρώτων συμπτωμάτων εἰς τοὺς ἐνοφθαλμισθέντας νεοσσούς, οὐδεὶς ἐκ τῶν μὴ ἐνοφθαλμισθέντων μαρτύρων νεοσσῶν παρουσίασε παρόμοια συμπτώματα ἐπὶ ἓνα μῆνα.

Οἱ ἐγκέφαλοι τῶν ἀσθενῶν νεοσσῶν συνελέγοντο, ἵνα χρησιμεύωσιν ἐπίσης ὡς ὕλικόν πρὸς ταυτοποίησιν.

Β’. Μέθοδοι ταυτοποιήσεως τοῦ ἀπομονωθέντος ἰοῦ.

1) Ὁροξεουδετέρωσις αὐτοῦ εἰς ἐμβρυοφόρα ὡὰ καὶ εἰς νεοσσούς μιᾶς ἡμέρας.

Αἱ δοκιμαὶ ὁροξεουδετερώσεως ἐγένοντο εἰς 100 ἐμβρυοφόρα ὡὰ καὶ εἰς ἰσαριθμούς νεοσσούς δι’ ἕκαστον τῶν κατωτέρω παραλλήλων ἐνοφθαλμισμῶν :

Διὰ ποσότητος 0,1 κ. ἐκ. τοῦ ὕλικου τοῦ περιέχοντος τὸν πρὸς ταυτοποίησιν ἰόν (θετικοὶ μάρτυρες τοῦ πρὸς ταυτοποίησιν ἰοῦ).

Διὰ ποσότητος 0,1 κ. ἐκ. τοῦ ἰοῦ Standard (θετικοὶ μάρτυρες γνωστοῦ ἰοῦ Ἐγκεφαλομυελίτιδος).

Διὰ ποσότητος 0,2 κ. ἐκ. μίγματος ἀνὰ ἴσα μέρη τοῦ ὕλικου τοῦ περιέχοντος τὸν πρὸς ταυτοποίησιν ἰόν καὶ θετικοῦ ὁροῦ Standard. (Κυρία ἐξουδετέρωσις, ἤτοι ἀνάσχεσις τῶν συμπτωμάτων τῶν δυναμένων ν’ ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ διὰ τῆς παρουσίας ὑπερανόσου κατὰ τῆς νόσου ταύτης ὁροῦ).

Διὰ ποσότητος 0,2 κ. ἐκ. μίγματος ἀνὰ ἴσα μέρη ἰοῦ Standard καὶ θετικοῦ ὁροῦ Standard. (“Ἐλεγχος τοῦ θετικοῦ ὁροῦ Standard.)

Διὰ ποσότητος 0,2 κ. ἐκ. μίγματος ἀνὰ ἴσα μέρη τοῦ πρὸς ταυτοποίησιν ἀπομονωθέντος ἰοῦ καὶ κανονικοῦ ὁροῦ ὄρνιθος (“Ἐλεγχος τοῦ ἀπομονωθέντος ἰοῦ παρουσίᾳ ἀρνητικοῦ ὁροῦ Standard).

Διὰ ποσότητος 0,2 κ. ἐκ. μίγματος ἀνὰ ἴσα μέρη τοῦ ἰοῦ Standard καὶ τοῦ ἀρνητικοῦ ὁροῦ Standard. (“Ἐλεγχος τοῦ ἰοῦ Standard παρουσίᾳ ἀρνητικοῦ ὁροῦ Standard).

Τὰ ἀναφερθέντα ἀνωτέρω μίγματα, πρὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ, παρέμενον εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ περιβάλλοντος ἐπὶ ἡμίσειαν ὥραν.

2) Δοκιμὴ προστασίας

Ἐκατὸν νεοσσοί 7 ἡμερῶν ἐνωφθαλμίσθησαν διὰ τοῦ ἐμβολίου Standard συμφώνως ταῖς ὁδηγίαις τοῦ παρασκευαστοῦ Οἴκου. Μετὰ παρέλευσιν ἐνὸς δεκαπενθημέρου, οἱ ἀνωτέρω νεοσσοί, ὡς ἐπίσης καὶ 100 μὴ

ἐμβολιασθέντες μάρτυρες, ἐνοφθαλμίσθησαν ἕκαστος διὰ ποσότητος 0,1 κ. ἐκ. ἐκ τοῦ ἀπομονωθέντος ἰοῦ, ἐνδοκρανικῶς.

Οἱ ἐνοφθαλμισθέντες νεοσσοὶ ἐτέθησαν ὑπὸ παρακολούθησιν ἐπὶ ἓνα μῆνα.

3) Ἱστοπαθολογικὴ ἐξέταση

Αὕτη ἐγένετο διὰ τῆς χρωστικῆς μεθόδου αἵματοξυλίνης - ἡωσίνης ἐπὶ ἱστολογικῶν παρασκευασμάτων προερχομένων ἐκ τοῦ νευρικοῦ συστήματος, τοῦ παγκρέατος καὶ τοῦ ἀδενώδους στομάχου τῶν παρουσιαζόντων νευρικὰ συμπτώματα νεοσσῶν.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τινὲς ἐκ τῶν 100 νεοσσῶν, τῶν ἐκκολαφθέντων ἐξ ὧν ἐνοφθαλμισθέντων διὰ τοῦ ὑπόπτου ΕΟ ὑλικοῦ, παρουσίασαν κατὰ τὸ δεύτερον ἢ τρίτον δεκαήμερον τῆς παρακολουθήσεως τῶν ἐκδηλα συμπτώματα δυνάμενα ν' ἀποδοθοῦν εἰς τὴν Ἑγκεφαλομυελίτιδα.

Ἐπίσης παρουσίασαν παρόμοια συμπτώματα, κατὰ τὴν αὐτὴν περίοδον παρακολουθήσεως καὶ τινες ἐκ τῶν 100 ἐνοφθαλμισθέντων διὰ τοῦ αὐτοῦ ὑλικοῦ νεοσσῶν μιᾶς ἡμέρας.

Κατὰ τὸν ἐν λόγῳ μῆνα παρακολουθήσεως, οἱ νεοσσοὶ οἱ ἐκκολαφθέντες ἐκ τῶν 100 μὴ ἐνοφθαλμισθέντων ὧν καὶ οἱ 100 μὴ ἐνοφθαλμισθέντες νεοσσοὶ μιᾶς ἡμέρας, ἥτοι οἱ ἀρνητικοὶ μάρτυρες, οὐδεμίαν ἐκδήλωσιν ἀσθενείας παρουσίασαν.

Τὰ ἀποτελέσματα τῶν δοκιμῶν ὀρροεξουδετερώσεως εἰς ~~ἐμβρυο-~~
φόρα ὧα καὶ εἰς νεοσσοὺς μιᾶς ἡμέρας ἀναφέρονται εἰς ~~αὐτοὺς~~ ~~κατω-~~
τέρῳ πίνακας :

Π Ι Ν Α Κ Ι

Δοκιμή όρροξουδετερώσεως του άπομονωθέντος ιού επί έμβρυοφύρων ώων.

Υλικόν ένοφθαλμισμού	Αποτελέσματα επί των έκκολαφθέντων νεοσσών	Παρατηρήσεις
Ίός πρός ταυτοποίησιν	+ (έκδηλα συμπτώματα εις τους νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοῦν εις τήν ΕΟ)	Θετικοί μάρτυρες του πρός ταυτοποίησιν ιού
Ίός ΕΟ Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εις τινος νεοσσούς)	Θετικοί μάρτυρες του ιού ΕΟ Standard
Ίός πρός ταυτοποίησιν σὺν όρρος Standard θετικός κατά τής ΕΟ	— (οὐδέν σύμπτωμα)	Κυρία όρροξουδετέρωσις
Ίός ΕΟ Standard σὺν όρρος St/Rd θετικός κατά τής ΕΟ	— (οὐδέν σύμπτωμα)	Έλεγχος του θετικού κατά τής ΕΟ όρου St/Rd
Ίός πρός ταυτοποίησιν σὺν όρρος άρνητικός Standard	+ (έκδηλα συμπτώματα εις τινος νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοῦν εις τήν ΕΟ)	Έλεγχος του άπομονωθέντος ιού παρυσία άρνητικού όρου Standard
Ίός ΕΟ Standard σὺν όρρος άρνητικός Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εις τους νεοσσούς)	Έλεγχος του ιού ΕΟ Standard παρυσία άρνητικού όρου Standard

Π Ι Ν Α Κ Ι Ι

Δοκιμή όροξουδετερώσεως του άπομονωθέντος Ιού επί νεοσσών μίας ήμέρας.

Ίλκόν ένοφθαλμισμού	Άποτελέσματα	Παρατηρήσεις
Ίλς πρὸς ταυτοποίησιν	²³ + (συμπτώματα έκδηλα εἰς τινες νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοῦν εἰς τήν ΕΟ)	Θετικοί μάρτυρες του πρὸς ταυτοποίησιν Ιού
Ίλς ΕΟ Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εἰς τινες νεοσσούς)	Θετικοί μάρτυρες του Ιού ΕΟ Standard
Ίλς πρὸς ταυτοποίησιν σὺν ὁρὸς Standard θετικὸς κατὰ τῆς ΕΟ	— (οὐδέν σύμπτωμα)	Κυρία όροξουδετέρωσις
Ίλς ΕΟ St/rd σὺν ὁρὸς St/rd θετικὸς κατὰ τῆς ΕΟ	— (οὐδέν σύμπτωμα)	Έλεγχος του θετικου κατὰ τῆς ΕΟ ὁπου St/rd
Ίλς πρὸς ταυτοποίησιν σὺν ὁρὸς άρνητικὸς Standard	+ (έκδηλα συμπτώματα εἰς τινες νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοῦν εἰς τήν ΕΟ)	Έλεγχος του άπομονωθέντος Ιού παρουσία του άρνητικου ὁπου Standard
Ίλς ΕΟ Standard σὺν ὁρὸς άρνητικὸς Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εἰς τινες νεοσσούς)	Έλεγχος του Ιού ΕΟ St/rd παρουσία άρνητ. ὁπου St/rd

Ἐνῶ κατὰ τὸν χρόνον παρακολουθήσεως μερικοὶ τῶν μὴ ἐμβολιασθέντων μαρτύρων νεοσσῶν ἐξεδήλωσαν συμπτώματα δυνάμενα νὰ ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ, οὐδεὶς ἓκ τῶν ἐμβολιασθέντων νεοσσῶν ἦσθένησεν.

Εἰς τοὺς νεοσσοὺς (ὄλων τῶν ὁμίλων) οἱ ὅποιοι παρουσίασαν ἔκδηλα συμπτώματα ΕΟ ἢ δυνάμενα ν' ἀποδοθοῦν εἰς αὐτήν, ἐσημειώθησαν τυπικαὶ τῆς ΕΟ ἱστολογικαὶ ἀλλοιώσεις, ὡς ἔπεται :

Γλοιωμάτωσις καὶ περιαγγειακαὶ περιελίξεις εἰς τὸν ἐγκέφαλον, εἰδικῶς δὲ τὴν παρεγκεφαλίδα καὶ τὸν μεσεγκέφαλον. Λεμφοκυτταρικά διηθήσεις εἰς τὸ πάγκρεας καὶ τὴν ὑποβλεννογόνιον μυϊκὴν στοιβάδα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἡ ἐμφάνισις συμπτωμάτων, δυνάμενων ν' ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ, εἷς τινὰς νεοσσοὺς προερχομένους ἐξ ὧν ἐνοφθαλμισθέντων διὰ τοῦ ὑπόπτου ὑλικοῦ,

Ἡ τοιαύτη εἷς τινὰς νεοσσοὺς ἓκ τῶν ἐνοφθαλμισθέντων εἰς ἡλικίαν μιᾶς ἡμέρας διὰ τοῦ αὐτοῦ παθολογικοῦ ὑλικοῦ,

Ἡ μὴ ἐκδήλωσις συμπτωμάτων εἰς τοὺς, ὡς ἀνεφέρθη ἀρνητικούς μάρτυρας νεοσσοὺς, ἀποδεικνύει ὅτι τὰ συμπτώματα ταῦτα ὀφείλοντο εἰς τὸ ὑλικὸν ἐνοφθαλμισμοῦ.

Τὰ ἀποτελέσματα :

- τῆς ἀνασχέσεως τῶν εἰδικῶν ἀντισωμάτων ἓκ τοῦ ὑπερανόσου κατὰ τῆς ΕΟ ὁροῦ, κατὰ τὰς δοκιμὰς ὁροεξουδετερώσεως,
- τῶν διαφόρων ἐλέγχων τῶν δοκιμῶν τούτων,
- τῆς δοκιμῆς προστασίας διὰ γνωστοῦ κατὰ τῆς ΕΟ ἐμβολίου,
- ὡς καὶ αἱ χαρακτηριστικαὶ ἱστοπαθολογικαὶ ἀλλοιώσεις, αἱ σημειωθεῖσαι ἐπὶ τοῦ κεντρικοῦ νευρικοῦ συστήματος, τοῦ παγκρέατος καὶ τοῦ ἀδενώδους στομάχου τῶν παρουσιαζόντων συμπτώματα νεοσσῶν, ἀποδεικνύουν, ὅτι ὁ ἀπομονωθείς ἓκ τῆς ὑπαίθρου ἰός ἔχει ἅπαντα τὰ χαρακτηριστικὰ τοῦ ἰοῦ τῆς ἐγκεφαλομυελίτιδος τῶν ὀρνίθων.

Οἱ Συγγραφεῖς θεωροῦν καθήκον τῶν ὅπως ἐκφράσουν τὰς εὐχαριστίας τῶν πρὸς τοὺς κ. κ. Th. Nobel, Δ/ντὴν τοῦ Τμήματος Παθολογικῆς Ἀνατομικῆς καὶ Ἱστοπαθολογίας, τοῦ Κτηνιατρικοῦ Ἰνστιτούτου Betdagan (Ἰσραήλ) καὶ P. Newman, Βοηθὸν τοῦ αὐτοῦ Τμήματος εἰς τὸ αὐτὸ Ἰνστιτούτον, διὰ τὰς ὑπ' αὐτῶν διενεργηθείσας ἱστοπαθολογικὰς ἐξετάσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Κ. Β. Ταρλατζής και Π. Ν. Δραγώνας.
 'Η συχνότης τῶν νοσημάτων τῶν κατοικιδίων πτηνῶν ἐν Ἑλλάδι, κατὰ τὰ ἔτη 1953 — 1954.
 Δελτίον Ἑλληνικῆς Κτηνιατρικῆς Ἑταιρείας (1955), 19, 3.
- 2) Α. Παπαδόπουλος. Ἡ λοιμώδης ἐγκεφαλομυελίτις τῶν νεοσσῶν εἰς τὴν Ἑλλάδα.
 Πτηνοτροφικὸν Δελτίον (1959) 96, 97. 14 — 15.
- 3) Σ. Ἀϋφαντῆς, Α. Παπαδόπουλος, Α. Χριστοδουλόπουλος.
 Στατιστικὰ στοιχεῖα καὶ συμπεράσματα ἐπὶ τῆς συχνότητος καὶ τῆς θεραπείας τῶν νόσων τῶν κατοικιδίων πτηνῶν κατὰ τὰ ἔτη 1955 — 1960.
 Δελτίον Ἑλληνικῆς Κτηνιατρικῆς Ἑταιρείας (1961), 41.
- 4) Α. Παπαδόπουλος, Α. Χριστοδουλόπουλος, Γ. Βέϊμος, Ε. Ἀρτοποιός, Α. Τσολιάκος, Σ. Μάλλιαρης, Κ. Τατσιράμος.
 Ἡ συχνότης τῶν νοσημάτων τῶν ὀρνίθων (κατὰ τὰ ἔτη 1961 — 1964). Στατιστικὰ στοιχεῖα καὶ συμπεράσματα ἐπὶ τῆς θεραπείας αὐτῶν.
 Ἐπιθεώρησις Πτηνοτροφικῆς Ἐπιστήμης (1966), 4. 11.



VETERINARY INSTITUTE OF MICROBIOLOGY
ATHENS = GREECE

Director : Dr. P. A. KARVOUNARIS

AVIAN ENCEPHALOMYELITIS IN GREECE
I. FIRST ISOLATION OF FIELD VIRUS
(Preliminary report)

I. MENASHÉ, P. KARVOUNARIS, G. VEÏMOS, A. SEÏMENIS, and S. MALLIARIS

In the first published, by Tarlatzis and Dragonas, in 1955, statistical data, concerning poultry diseases frequency in Greece during the years 1953 – 1954 (1), Avian Encephalomyelitis (AE) is not reported to be appeared.

The disease, has been clinically diagnosed, in 1959 for the first time in Greece, as A. Papadopoulos reports (2) and later, according to, as above, published statistical data :

a) by S. Ayfandis, A. Papadopoulos and A. Christodouloupoulos during the period 1955 – 1960 (1959 three cases, 1960 four cases) (3).

b) by A. Papadopoulos and Coll. during the period 1961 – 1964 (two cases) (4).

In the Institute's Poultry Department register books, one case of suspected AE clinical symptoms, on November 1965, is checked. The regularly taken anamnesis of the flocks, revealed repeated evidences of the disease presence in our Country.

The above mentioned, reveal limited presence of clinically diagnosed AE, for a period of 12 years. This fact is in contrast with the high AE virus infectivity, especially under the intensive breeding conditions recently occurring in our Country, as well as with the continuous import of young breeding stock.

As it is known, there is a large possibility to confuse nervous AE symptoms, with those due to other diseases or pathologic conditions, as atypic Newcastle disease form, Mycosis, Vitamine deficiencies, etc.

Therefore, AE should be more widespread in our Country and several cases of the disease should have missed poultry specialists attention.

The present report of the first AE virus isolation and identification from field material, coming from Chalkis, proves that the disease is present in Greece.

Our first care will be the disease's extent study, based on laboratory

tests. Results will be reported as soon as this work is completed.

MATERIALS AND METHODS

I.—MATERIALS

A 20% brain suspension, in 2% trypticase solution containing antibiotics, was the inoculated in embryonating eggs and day old chicks material, obtained from farm chicks showing suspected AE symptoms.

Also, brain suspensions from inoculated (as above) chicks or from those hatched of inoculated eggs, showing the same symptoms, were used as material containing the virus to identify. These materials have been examined to exclude other pathogenic agents as bacteria, PPLO, and viruses able to produce AE-like symptoms.

Inoculated after 5 days of incubation embryonating eggs and day old chicks were procured from a infectious diseases free farm, where vaccine against AE was never introduced.

For serum neutralization tests in embryonating eggs and day old chicks:

— **Standard ** virus** consisted of a brain suspension from chicks inoculated with a known AE virulent virus strain, and showing evident signs of the disease. This material was stored at -30°C .

— **Positive standard serum** consisted of AE antiserum obtained from highly immunized chickens with a known AE virus.

— **As negative standard serum**, a controled (certainly free of AE antibodies), normal chicken serum was used.

— For protection tests, as **standard vaccine** the inactivated «Tremovax»* vaccine was used. In this test as **challenge virus**, the isolated virus was used.

II.—METHODS

A.—VIRUS ISOLATION

1) In Chicken embryonating eggs

Hundred eggs were each inoculated in yolk sac with 0,2 ml. of the original suspected brain suspension. Another 100 untreated eggs of the same origine have been used as controls.

These two lots of eggs have been incubated in different incubators, up to hatching.

* «Tremovax» vaccine prepared with Van Roekel AE virus strain, inactivated with Beta—Propiolactone, containing alluminium hydroxyde as adjuvant, is produced by Burrough Wellcome and Co, England.

** It is well known that, virulant AE virus strains titration with accuracy is difficult, because of their particular properties. Nevertheless the term «standard» is adopted, on materials as virus strains and sera, with the meaning of reference material.

Hatched chicks were kept in two isolated rooms under continuous observation, until first symptoms possibly due to AE were observed in the first group.

The result has been considered positive as, since symptoms at the first group were observed, no control chicks showed equal symptoms for a further period of a month.

Brains of infected chicks were collected and kept in refrigeration and this was material, as above mentioned, containing the virus to identify.

2) In day old chicks

Hundred day old chicks were each inoculated intracerebrally with 0,1 ml of the suspected material. Another 100 untreated chicks of the same origine have been used as controls.

Both groups were reared in isolated rooms under strict observation until symptoms possibly due to AE appeared.

The result has been considered positive as, since symptoms at the first group appeared, no control chicks showed such symptoms for a period of a month.

Brains of infected chicks were collected and kept in refrigeration and this was material containing the virus to identify.

B.—TYPING ISOLATED VIRUS

1) Serum neutralisation in embryonating eggs and day old chicks.

Serum neutralisation tests were carried out in 100 embryonating eggs as well as 100 day old chicks for each of the following parallel inoculations, each egg and chick receiving :

—0,1 ml of the virus to identify (positive control of the virus to identify).

—0,1 ml of standard virus (positive control of known AE virus stain).

—0,2 ml of equal parts mixture, viral material and positive standard serum (main serum neutralisation: inhibition of symptoms possibly due to AE by AE antiserum).

—0,2 ml of equal parts mixture, standard virus and standard positive serum (positive serum control).

—0,2 ml of equal parts mixture, isolated virus and normal chicken serum (isolated virus control in presence of standard negative serum).

—0,2 ml of equal parts mixture, standard virus and negative standard serum (standard virus control in presence of standard negative serum).

The above mentioned mixtures, were left at room temperature for 30 min. before inoculation.

2) Protection test.

Hundred seven days old chicks, have been vaccinated with standard vaccine according to the manufacturer instructions. A fortnight later, these chicks as well as another 100 untreated controls, have been challenged intracerebrally each with 0.1 ml of the isolated virus.

All challenged chicks were kept under strict observation for a month.

3) Histological examination.

Hematoxyline - eosine staining has been used on nervous system, pancreas and proventriculus sections from infected birds.

RESULTS

Some of the chicks hatched from inoculated with suspected material eggs, showed evident symptoms possibly due to AE during the observation period between the second and the fifth week.

Also, during the same observation period, similar symptoms showed some of inoculated with the same material day old chicks.

During this monthly observation period, none of the negative controls presented any disease symptoms (chicks hatched from non inoculated eggs, and non inoculated day old chicks).

Following tables report serum neutralisation tests in embryonating eggs and day old chicks results.

While, during the observation period, some of non vaccinated controls showed evident symptoms possibly due to AE, none of the vaccinated chicks presented such symptoms.

Typical histological changes to chicks showing evident or possibly due to AE symptoms, have been observed as follow :

In the brain, gliosis and perivascular cuffing, especially in the cerebrum and midbrain. Lymphocytic infiltrates in the pancreas and muscular mucosa of the proventriculus.

CONCLUSIONS

The appearance of symptoms, possibly due to AE, in some chicks hatched from inoculated with suspected material eggs, as in chicks inoculated with the same material when day old, while no symptoms to control chicks were observed, show that these symptoms were due to inoculated material.

Results of :

- a) — neutralizing specific symptoms by means of AE antiserum in serum neutralization tests,

T A B L E I

Isolated virus serum neutralisation tests in embryonating eggs

Inoculum	Results on hatched chicks	Remarks
Virus to identify	+ (evident symptoms in some chicks, possibly due to AE)	Positive control of the virus to identify
AE standard virus	+ (evident AE symptoms in some chicks)	Positive control of AE standard virus
Virus to identify + positive stand. AE serum	— (no symptoms)	Main serum neutralization
AE standard virus + AE positive standard serum	— (no symptoms)	AE standard positive serum control
Virus to identify + standard negative serum	+ (evident symptoms in some chicks, possibly due to AE)	Isolated virus control in presence of standard negative serum
AE standard virus + standard negative serum	+ (AE evident symptoms in some chicks)	AE standard virus control in presence of standard negative serum.

T A B L E I I

Isolated virus serum neutralisation tests in day old chicks

Inoculum	Results	Remarks
Virus to identify	+ (evident symptoms in some chicks, possibly due to AE)	Positive control of the virus to identify
AE standard virus	+ (evident AE symptoms in some chicks)	Positive control of AE standard virus
Virus to identify + standard positive AE serum	— (no symptoms)	Main serum neutralization
AE standard virus + standard positive serum	— (no symptoms)	Standard positive AE serum control
Virus to identify + standard negative serum	+ (evident symptoms in some chicks, possibly due to AE)	Isolated virus control in presence of standard negative serum
Standard AE virus + standard negative serum	+ (AE evident symptoms in some chicks)	Standard AE virus control in presence of standard negative serum

- b) — the above tests controls,
 - c) — the protection test with a known AE virus strain vaccine,
 - d) — the typical changes found in central nervous system, pancreas and proventriculus of showing symptoms chicks,
- show that isolated field virus has all the characteristics of AE virus.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Dr. Th. Nobel, Head of the Anatomopathology and Histopathology Department of the Veterinary Institute, Bet - Dagon (Israel) and his Assistant Dr. P. Newman for the histological examinations.

REFERENCES

- 1) K. B. Tarladzis and P. N. Dragonas.
Poultry Diseases frequency in Greece during the years 1953 — 1954. Bull. of the Hell. Vet. Soc. (1955), **19**.
- 2) A. Papadopoulos.
Chicks Infectious Encephalomyelitis in Greece. Poultry — farming Bull. (1959), **96, 97**; 14 — 15.
- 3) S. Ayfantis, A. Papadopoulos, A. Christodouloupoulos.
Statistical data and conclusions on Poultry Diseases frequency and therapy during the years 1955 — 1960. Bull. of the Hell. Veter. Soc. (1961), **41**.
- 4) A. Papadopoulos, A. Christodouloupoulos, G. Veimos, E. Artopios, A. Tsoliakos, S. Malliaris, K. Tatziramos.
Poultry Diseases frequency (during the years 1961 — 1964). Statistical data and conclusions on the therapy. Poultry Science Review 1966, **4**.