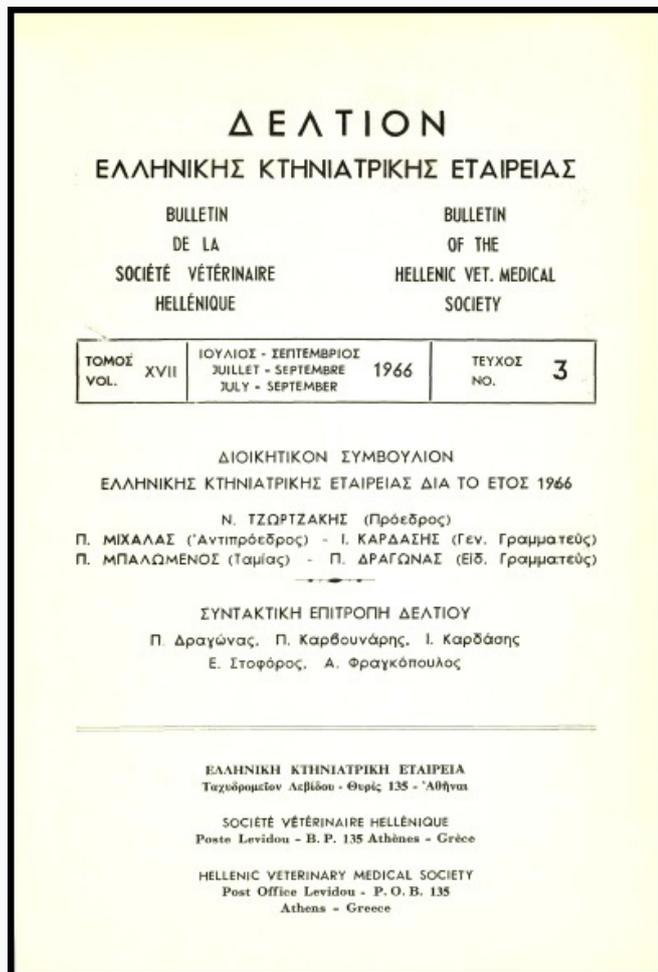


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 17, No 3 (1966)



### Η ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ Ι. Πρώτη απομόνωση του ιού έκ τής υπαίθρου (Πρόδρομος ανακοίνωσης)

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

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

Copyright © 2018, I. 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 απομόνωση του ιού έκ τής 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 ἰοῦ 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. Ἀϋφαντή, 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 περιορισμένον ἀριθμὸν περιστατικῶν κλινικὴ διάγνωσις τῆς ΕΟ, κατὰ τὸ χρονικὸν διάστημα μιᾶς δωδεκαετίας, οὐδόλως ἐναρμονίζονται μὲ τὸ γεγονὸς τῆς γνωστῆς μεγάλης μεταδοτικότητος τοῦ ἰοῦ 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 ἀνακοινωθῆ ἅμα τῇ περατώσει τῆς ἐρεῦνης.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### I. Ὑλικά

Ὑλικὸν ἐνοφθαλμισμού τῶν ἐμβρυοφόρων ὠν καὶ νεοσσῶν ἀπετέλεσαν οἱ ἐγκέφαλοι νεοσσῶν, οἵτινες παρουσίασαν συμπτώματα ὑποπτα ΕΟ, κατόπιν ὁμοιογενοποιήσεώς των εἰς ἀναλογίαν 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 ὠν, ὡς καὶ οἱ ἐγκέφαλοι τῶν ἐνοφθαλμισθέντων νεοσσῶν, ὅσων παρουσίασαν συμπτώματα ὑποπτα ΕΟ. Ἐπὶ τοῦ ὕλικοῦ τούτου ἐγένοντο αἱ δέουσαι ἐργαστηριακαὶ ἐξετάσεις πρὸς ἀποκλεισμὸν ἐτέρων παθογόνων παραγόντων, ἥτοι μικροβίων, P.P.L.O, ὡς ἐπίσης καὶ λοιπῶν ἰῶν δυναμένων νὰ προκαλέσουν παρόμοια τῆς ΕΟ νευρικά συμπτώματα.

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

Διὰ τὰς δοκιμὰς ὀροξεουδετερώσεως εἰς ἐμβρυοφόρα ὠά 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 ὀρούς, μετὰ τὴν ἔννοιαν τοῦ «ὕλικου παραβολῆς» (Reference material).

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

Θετικὸν ὄρον Standard ἀπετέλεσεν ὑπεράνοσος ὄρος κατὰ τῆς ΕΟ προερχόμενος ἐξ ὑπερανοσοποιηθεισῶν ὀρνίθων διὰ γνωστοῦ ἰοῦ τῆς νόσου ταύτης.

Ὡς ἀρνητικὸς ὄρος Standard ἐχρησιμοποιήθη ἠλεγμένος κανονικὸς ὄρος ὀρνίθων, τοὔτέστιν ἀποδεδειγμένως μὴ περιέχων ἀντισώματα κατὰ τῆς Ἐγκεφαλομυελίτιδος.

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 ἀπομωθῆς ἰός.

## II. Μέθοδοι

Α'. Μέθοδοι ἀπομονώσεως τοῦ ἰοῦ.

### 1) Ἐπὶ ἐμβρυοφόρων ὠν ὀρνίθος.

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.

Ἄπαντα τὰ ἐμβρυοφόρα ὠά ἐπώασθησαν μέχρις ἐκκόλαψεως, κεχωρισμένως τὰ ἐνοφθαλμισθέντα ἀπὸ τοὺς μάρτυρας.

Οἱ ἐκκολαφθέντες νεοσσοί, ἐκτρεφόμενοι εἰς δύο ἀπομεμονωμένους ἀλλήλων θαλάμους, ἐτέθησαν ὑπὸ συνεχῆ 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 νεοσσοὺς 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' ὑδροξειδίου τοῦ ἀλουμινίου.

Ἔτεροι 100 νεοσσοὶ τῆς αὐτῆς προελεύσεως ἀφέθησαν ὡς μάρτυρες.

Ἄπαντες οἱ ἀνωτέρω νεοσσοί, ἐκτρεφόμενοι εἰς δύο ἀπομονωμένους ἀλλήλων θαλάμους, ἐτέθησαν ὑπὸ συνεχῆ παρακολούθησιν μέχρις ἐκδηλώσεως συμπτωμάτων δυναμένων ν' ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ.

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

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

### **Β'. Μέθοδοι ταυτοποιήσεως τοῦ ἀπομονωθέντος ἰοῦ.**

1) Ὁροξεουδετέρωσις αὐτοῦ εἰς ἐμβρυοφόρα ὡὰ καὶ εἰς νεοσσοὺς μίας ἡμέρας.

Αἱ δοκιμαὶ ὀροξεουδετερώσεως ἐγένοντο εἰς 100 ἐμβρυοφόρα ὡὰ καὶ εἰς ἰσαριθμούς νεοσσοὺς δι' ἕκαστον τῶν κατωτέρω παραλλήλων ἐνοφθαλμισμῶν :

Διὰ ποσότητος 0,1 κ. ἐκ. τοῦ ὑλικοῦ 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 Ἐγκεφαλομελίτιδος).

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

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

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

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

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

### 2) Δοκιμὴ προστασίας

Ἐκατὸν νεοσσοὶ 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

έμβολιασθέντες μάρτυρες, ένωφθαλμίσθησαν έκαστος διά ποσότητος 0,1 κ. έκ. έκ τοῦ άπομονωθέντος ίου, ένδοκρανιακώς.

Οί ένοφθαλμισθέντες νεοσσοί έτέθησαν υπό παρακολούθησιν επί ένα μήνα.

### 3) Ίστοπαθολογική έξέτασις

Αύτη έγένετο διά τής χρωστικής μεθόδου αίματοξυλίνης - ήωσί-νης επί ίστολογικῶν παρασκευασμάτων προερχομένων έκ τοῦ νευρικού συστήματος, τοῦ παγκρέατος καί τοῦ άδενώδους στομάχου τῶν παρουσιαζόντων νευρικά συμπτώματα νεοσσῶν.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τινές έκ τῶν 100 νεοσσῶν, τῶν έκκολαφθέντων έξ ὧν ένοφθαλμισθέντων διά τοῦ υπόπτου ΕΟ ύλικου, παρουσίασαν κατά τὸ δεύ-τερον ἢ τρίτον δεκαήμερον τής παρακολουθήσεως των έκδηλα συμ-πτώματα δυνάμενα ν' άποδοθοῦν εἰς τήν Έγκεφαλομυελίτιδα.

Έπίσης παρουσίασαν παρόμοια συμπτώματα, κατά τήν αὐτήν περίοδον παρακολουθήσεως καί τινες έκ τῶν 100 ένοφθαλμισθέντων διά τοῦ αὐτοῦ ύλικου νεοσσῶν μιᾶς ήμέρας.

Κατά τὸν έν λόγῳ μήνα παρακολουθήσεως, οί νεοσσοί οί έκκο-λαφθέντες έκ τῶν 100 μῆ ένοφθαλμισθέντων ὧν καί οί 100 μῆ ένο-φθαλμισθέντες νεοσσοί μιᾶς ήμέρας, ἤτοι οί άρνητικοί μάρτυρες, οὔ-δεμίαν έκδήλωσιν άσθενείας παρουσίασαν.

Τά άποτελέσματα τῶν δοκιμῶν ὀρροεξουδετερώσεως εἰς έμβρυο-φόρα ὡά καί εἰς νεοσσοῦς μιᾶς ήμέρας άναφέρονται εἰς τούς κατω-τέρω πίνακας :

**Δοκιμή όρεξουδετερώσεως του άπομονωθέντος Ιού επί έμβρυοφόρων ώων.**

Υλικόν ένοφθαλμισμού	Αποτελέσματα επί των έκκολαφθέντων νεοσσών	Παρατηρήσεις
Ίός πρός ταυτοποίησιν	+ (έκδηλα συμπτώματα εις τους νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοδν 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 σνν όρος Standard θετικός κατά τής ΕΟ	— (ούδέν σύμπτωμα)	Κυρία όρεξουδετερώσις
Ίός ΕΟ Standard σνν όρος St/Rd θετικός κατά τής ΕΟ	— (ούδέν σύμπτωμα)	Έλεγχος του θετικού κατά τής ΕΟ όρου St/Rd
Ίός πρός ταυτοποίησιν σνν όρος άρνητικός Standard	+ (έκδηλα συμπτώματα εις τινος νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοδν εις τήν ΕΟ)	Έλεγχος του άπομονωθέντος Ιού παρπουσίά άρνητικού όρου Standard
Ίός ΕΟ Standard σνν όρος άρνητικός Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εις τους νεοσσούς)	Έλεγχος του Ιού ΕΟ Standard παρπουσίά άρνητικού όρου Standard

# Π Ι Ν Α Κ Ι Ι

## Δοκιμή όρεξουδετέρωσης του άπομονωθέντος Ιού επί νεοσσών μίας ήμέρας.

Ύψικόν έννοφθαλμισμού	Άποτελέσματα	Παρατηρήσεις
Ίος πρός ταυτοποίησησιν	<sup>ΕΕ</sup> + (συμπτώματα έκδηλα εϊς τινας νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοδον εϊς τήν ΕΟ)	Θετικοί μάρτυρες τοϋ πρός ταυτοποίησησιν Ιού
Ίος ΕΟ Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εϊς τινας νεοσσούς)	Θετικοί μάρτυρες τοϋ Ιού ΕΟ Standard
Ίος πρός ταυτοποίησησιν σϋν όρος Standard θετικός κατά τής ΕΟ	— (ουδέν σύμπτωμα)	<b>Κυρία όρεξουδετέρωσις</b>
Ίος ΕΟ St/rd σϋν όρος St/rd θετικός κατά τής ΕΟ	— (ουδέν σύμπτωμα)	Έλεγχος τοϋ θετικού κατά τής ΕΟ όροϋ St/rd
Ίος πρός ταυτοποίησησιν σϋν όρος άρνητικός Standard	+ (έκδηλα συμπτώματα εϊς τινας νεοσσούς δυνάμενα ν' άποδοθοδον εϊς τήν ΕΟ)	Έλεγχος τοϋ άπομονωθέντος Ιού παρουσία τοϋ άρνητικού όροϋ Standard
Ίος ΕΟ Standard σϋν όρος άρνητικός Standard	+ (συμπτώματα έκδηλα ΕΟ εϊς τινας νεοσσούς)	Έλεγχος τοϋ Ιού ΕΟ St/rd παρουσία άρνητ. όροϋ St/rd

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

Εἰς τοὺς νεοσσούς (ὄλων τῶν ὀμίλων) 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. Λεμφοκυτταρικαὶ διηθήσεις εἰς τὸ πάγκρεας καὶ τὴν ὑποβλεννογόνιον μυϊκὴν στοιβάδα.

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἡ ἐμφάνισις συμπτωμάτων, δυναμένων ν' ἀποδοθοῦν εἰς τὴν ΕΟ, εἷς τινὰς νεοσσούς προερχομένους ἐξ ὠν ἐνοφθαλμισθέντων διὰ τοῦ ὑπόπτου ὑλικοῦ,

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

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

### Τὰ ἀποτελέσματα :

- τῆς ἀνασχέσεως τῶν εἰδικῶν ἀντισωμάτων ἐκ τοῦ ὑπερανόσου κατὰ τῆς ΕΟ ὄρου, κατὰ τὰς δοκιμὰς ὀροεξουδετερώσεως,
- 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 ἀπομονωθεὶς ἐκ τῆς ὑπαίθρου ἴδως ἔχει ἅπαντα τὰ χαρακτηριστικὰ τοῦ ἰοῦ τῆς ἐγκεφαλομυελίτιδος τῶν ὀρνίθων.

---

Οἱ Συγγραφεῖς θεωροῦν καθήκον των ὅπως ἐκφράσουν τὰς εὐχαριστίας των 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.  
Ἡ 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. Christodoulopoulos 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  $-30^{\circ}\text{C}$ .

— **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.

## R E S U L T S

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.

## C O N C L U S I O N S

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. Christodoulopoulos.  
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. Christodoulopoulos, 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**.