Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 19, No 3-4 (1968)

ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΙΣ ΔΙΑΦΟΡΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ ΑΥΤΩΝ

Γ. ΒΕΙΜΟΣ

doi: [10.12681/jhvms.19967](https://doi.org/10.12681/jhvms.19967)

Copyright © 2019, Γ. ΒΕΙΜΟΣ

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

To cite this article:

ΒΕΙΜΟΣ Γ. (1968). ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΙΣ ΔΙΑΦΟΡΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ ΑΥΤΩΝ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 19(3-4), 152-157.
<https://doi.org/10.12681/jhvms.19967>

ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ ΕΙΣ ΔΙΑΦΟΡΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ ΑΥΤΩΝ *

Υπό ΓΕΩΡΓΙΟΥ ΒΕ·Ι·ΜΟΥ **

Ἡ Ἐγκεφαλομυελίτις τῶν ὀρνίθων (ΕΟ), περιεγράφη κατ' ἀρχὴν ὑπὸ τῆς JONES εἰς τὰς Η.Π.Α. (Ι). Εἰς τὴν Εὐρώπην εἶναι γνωστὴ ἀπὸ τοῦ 1952 (2) καὶ εἰς τὴν χώραν μας παρατηρήθησαν περιπτώσεις ΕΟ κατὰ τὸ 1959 (3), ἐνῶ ἡ πρώτη ἀπομόνωσις καὶ ταυτοποίησις τοῦ ἰοῦ ἐγένετο τὸ 1966 (4).

Γνωστὸν εἶναι ὅτι :

Τὰ πλεῖστα τῶν ἐμβολίων προέρχονται ἐκ λοιμογόνων στελεχῶν, τὰ ὁποῖα, ἂν καὶ ὑφίστανται μίαν μερικὴν προσαρμογὴν εἰς τὰ ἔμβρυα ὀρνίθος, δὲν παύουν νὰ διατηροῦν τὰς λοιμογόνους ιδιότητας τοῦ φυσικοῦ ἰοῦ.

Ὁ ἐμβολιασμός ἐνδείκνυται εἰς ἡλικίαν 2,5-3,5 μηνῶν, καθ' ὅσον, κατὰ τὴν περίοδον αὐτὴν, ἀφ' ἐνὸς μὲν δὲν ἐκδηλοῦνται συμπτώματα ΕΟ, ἀφ' ἑτέρου δέ, ἐπειδὴ ὁ ἰὸς παραμένει εἰς τὸ ἐμβολιασθὲν σμήνος ἐπὶ ἓνα μῆνα περίπου προξενῶν ἰσχυρὰν ἀνοσίαν, ὑπάρχει περιθώριον χρόνου ἱκανὸν ὥστε κατὰ τὴν ἑναρξιν τῆς ὠοτοκίας νὰ μὴν ὑπάρχῃ πλέον εἰς τὰς ὀρνίθας ἰὸς μεταβιβάσιμος εἰς τὰ ὠά. Ὁ ἐμβολιασμός δηλ. ἀποτελεῖ ἐλεγχομένην μόλυνσιν εἰς κατάλληλον ἡλικίαν.

Ἡ ἐκδήλωσις συμπτωμάτων τῆς νόσου μειοῦται, ἀξανομένης τῆς ἡλικίας. Πράγματι, ἐμβρυοφόρα ὠά 5 ἡμερῶν ἐπωάσεως, ἐνοφθαλμιζόμενα διὰ στελέχους ἰοῦ ΕΟ ἐνδεδειγμένου τίτλου, δίδουν νεοσσούς πάσχοντας κατὰ 100 %, ἐνῶ νεοσσοὶ μιᾶς ἡμέρας, ἐνοφθαλμιζόμενοι ἐνδοκρανικῶς διὰ τοῦ αὐτοῦ στελέχους δὲν ἀσθενοῦν ἅπαντες καὶ τὸ ποσοστὸν μειοῦται παρερχομένης τῆς ἡλικίας ἐνοφθαλμισμού. Ἐπομένως, διὰ τὸν πολλαπλασιασμόν τοῦ ἰοῦ τοῦ προοριζομένου διὰ τὴν ἐμβολιοπαραγωγὴν, εἶναι προσφορώτερον τὸ ἔμβρυον ὀρνίθος, κυρίως διὰ τοὺς ἀνωτέρω λόγους.

Διὰ τῆς παρουσίας μελέτης ἐρευνῶμεν εἰς ποῖα ὅργανα ἢ συστήματα τοῦ ἐμβρύου ἔχομεν τὴν μεγαλύτεραν συγκέντρωσιν τοῦ ἰοῦ καὶ πότε.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1) Στέλεχος ἰοῦ ΕΟ. Ἐχρησιμοποιήθη τὸ στέλεχος 1143 τοῦ

* Ἔργασία λαβοῦσα χώραν εἰς τὸ Κεντρικὸν Κτηνιατρικὸν Μικροβιολογικὸν Ἰνστιτούτον τοῦ Rotterdam Ὁλλανδίας.

** Προϊστάμενος τοῦ Τμήματος Πτηνοπαθολογίας τοῦ Κτηνιατρικοῦ Μικροβιολογικοῦ Ἰνστιτούτου τοῦ Ὑπ. Γεωργίας.

CALNEK, προελεύσεως Μασσαχουσέτης, απομονωθέν εκ τῆς υπαίθρου· ἀρχικῶς, μετέπειτα δὲ ὑπέστη 6 διόδους εἰς ἔμβρυα ὄρνιθος καὶ μίαν εἰς νεοσσούς.

Τὸ στέλεχος τοῦτο ἔχει τὰς κατωτέρω ιδιότητας :

— Δὲν προξενεῖ συμπτώματα εἰς τὰ ἔμβρυα, οὔτε καὶ ἐμφανεῖς μακροσκοπικὰς ἀλλοιώσεις.

— Μεταδίδεται τάχιστα ἀπὸ νεοσοῦ εἰς νεοσσόν.

— Μολύνει τὸ ἐντερικὸν σύστημα καὶ ἀποβάλλεται διὰ τῶν κοπράνων.

— Ἐνοφθαλμιζόμενον ἐνδοκρανιακῶς ἢ διὰ τοῦ στόματος, εἰς νεοσσούς, δύναται νὰ προκαλέσῃ ταχέως ἀταξίαν.

2) **Ἐμβρυοφόρα ὡὰ ὄρνιθος.** Ταῦτα προήρχοντο ἐκ σμήνους ἡλεγμένως ἄνευ ἀντισωμάτων κατὰ τῆς ΕΟ.

3) **Ἀραιωτικόν.** Διὰ τὰς ἀραιώσεις τοῦ ἰοῦ, ὡς καὶ διὰ τὴν λειοτρίβωσιν τῶν συλλεγομένων ὑλικῶν, ἐχρησιμοποιήθη καζιτόνη εἰς διάλυσιν 2% ἐντὸς ἀπεσταγμένου ὕδατος. Προσετίθετο πενικιλίνη καὶ στρεπτομυκίνη, ὥστε τελικῶς νὰ περιέχωνται ἀντιστοιχῶς 500 U.I. καὶ 0,5 χλγρ. κατὰ κυβ. ὕφεκ. τοῦ ἀραιωτικοῦ.

4) Μέθοδος ἐργασίας.

α) **Ἐνοφθαλμισμὸς τοῦ ἰοῦ εἰς ἔμβρυοφόρα ὡὰ.** Ὁ ἀρχικὸς ἰὸς εὐρίσκετο εἰς λυόφιλον κατάστασιν, ἀραιώσεως 10^{-1} EID₅₀ (μολυσματικαὶ δόσεις ὡοῦ 50%) κατὰ κ. ἐκ. Ἀποκατασταθεὶς εἰς τὸν ἀρχικὸν τοῦ ὄγκου προσετέθη κατ' ἀναλογίαν 0,8 κ. ἐκ. εἰς 6,4 κ. ἐκ. καζιτόνης 2% καὶ 0,8 κ. ἐκ. διαλύματος στρεπτοπενικιλίνης. Οὕτω ἡ ἀραίωσις ἦτο 10^{-2} EID/50/κ. ἐκ. Κατόπιν φυγοκεντρήσεως εἰς 3000 στρ./λεπτόν ἐπὶ 10' συνελέγη τὸ ὑπερκείμενον ὑγρὸν καὶ ἐξ αὐτοῦ ἐνοφθαλμίσθησαν 60 ἔμβρυοφόρα ὡὰ 5 ἡμερῶν ἐπώσεως, ἐντὸς τῆς λεκύθου, ἕκαστον διὰ 0,1 κ. ἐκ.

Μετ' ἐπώσιν ἑτέρων 7 ἡμερῶν, συνελέγησαν οἱ ἐγκέφαλοι 10 ἐμβρύων, οἱ ὅποιοι ἐλειοτριβήθησαν ἐντὸς καζιτόνης εἰς ἀναλογίαν ἑνὸς μέρους ἐγκεφαλικῆς οὐσίας καὶ τεσσάρων μερῶν καζιτόνης. Κατόπιν φυγοκεντρήσεως τὸ ὑπερκείμενον διενεμήθη εἰς φύσιγγας καὶ διεφυλάχθη εἰς τοὺς -40° C μέχρι τῆς τιτλοποιήσεως. (α)

Μετὰ 4 εἰσέτι ἡμέρας ἐπώσεως, ἦτοι τὴν 16ην ἡμέραν τῆς ἡλικίας τῶν ἐμβρύων, ἐπανελήφθη ἡ αὐτὴ ὡς ἄνω ἐργασία ἐκ τῶν ἐγκεφάλων ἑτέρων 10 ἐμβρύων. (β)

Τὴν 20ην ἡμέραν ἐπώσεως τῶν ἐνοφθαλμισθέντων ἐμβρύων συνελέγησαν τὰ ἀκόλουθα ὑλικά καὶ δι' ἕκαστον ἐξ αὐτῶν ἐπανελήφθη ἡ ἀνωτέρω ἐργασία :

— Ἐγκέφαλοι 10 ἐμβρύων. (γ)

— Ἡπατα 10 ἐμβρύων. (δ)

— Έντερα 10 έμβρύων. (ε).

— Δέκα πλήρη έμβρυα άνευ κεφαλών και ποδών. (στ)

Τήν 5ην ήμέραν από τής εκκολάψεως τών νεοσσών, οΐτινες προέκυψαν εκ τών έναπομεινάντων ένοφθαλμισθέντων ώδων, συνελέγησαν όμοίως ως άνω οί εκκέφαλοι αυτών. (ζ)

β) Τιτλοποίησης του ίου του περιεχομένου εις τὰ άνωτέρω ύλικά.

Πρός τοϋτο εφηρμόσθη ή μέθοδος HOEKSTRA. Συμφώνως προς αυτήν, ή τιτλοποίησης ένός εκάστου τών άνωτέρω 7 ύλικών, άτινα διετεϋρουντο εις τούς 40° C, εγένετο ως ακολούθως:

Το ύλικόν ήχθη εις άραιώσιν από 10⁻¹ έως 10⁻⁷, έντός καζιτόνης 2%. Έξ εκάστης τών άραιώσεων τούτων ένωφθαλμίσθησαν έντός τής λεκύθου 12 έμβρυοφόρα ώά, 5 ήμερών, εκαστον διά ποσότητος 0,1 κ. εκ. Δέν ένωφθαλμίσθησαν έτερα 12 ώά, ίνα χρησιμεύσουν ως μάρτυρες. Τα ένοφθαλμισθέντα ώά εξ εκάστης άραιώσεως, ως και οί μάρτυρες, έπωάσθησαν έντός τής αυτής μηχανής, άλλ' εις ιδιαίτερον δι' εκάστην άραιώσιν διαμέρισμα. Εις τούς εκκολαφθέντας νεοσσούς εφηρμόσθησαν μόνιμοι αριθμοί. Οϋτοι εξετράφησαν από κοινοϋ εις αυστηρώς άπομεμονωμένον θάλαμον, τύπου HORSFAL, παρηλλαγμένου.

Οί νεοσσοί, από τής εκκολάψεως των, ήλέγχοντο καθημερινώς και μέχρι τής 11ης ήμέρας, διά τήν εκδήλωσιν χαρακτηριστικών συμπτωμάτων τής νόσου, ήτοι άταξίαν και ακολούθως πιθανόν θάνατον. Έ παρατήρησις έπαυεν τήν 11ην ήμέραν ή μόλις νεοσσός μάρτυς ενεφάνιζεν άταξίαν, πρᾶγμα το όποϊον σπανίως συνέβη προς τής 11ης ήμέρας.

5) Διά τήν εκτίμησιν του τίτλου έχρησιμοποιήθη ή μέθοδος REED και MUENCH.

6) Έ εργασία επανελήφθη μερικώς διά των αυτών ύλικών και μεθόδων, λαμβάνοντες προς τιτλοποίησιν έγκεφάλους, ήπατα και έμβρυα, πλήν κεφαλής και ποδών. Έ συλλογή έλαβε χώραν μόνον τήν 20ην ήμέραν επώσεως.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

α) Κυρίως εργασίας.

Τίτλος ίου περιεχομένου εις:

1) Έγκέφαλον έμβρύων	12	»	10 ^{3,28}	EID/50/ κ. εκ.
2) » »	16	»	10 ^{3,55}	»
3) » »	20	»	10 ^{5,38}	»
4) Έπαρ »	»	»	10 ^{5,82}	»
5) Έντερον »	»	»	10 ^{5,96}	»
6) Έμβρυον πλήν κεφαλής και ποδών	20	ήμ.	10 ^{5,75}	
7) Έγκέφαλον νεοσσών	5	»	10 ^{5,97}	»

Τὰ ἀποτελέσματα δύναται νὰ συνοψισθοῦν ὡς εἰς τὸ κατωτέρω διάγραμμα.

β) Μερικῆς ἐπαναλήψεως.

Τίτλος τοῦ ἰοῦ εἰς :

- 1) Ἐγκέφαλον ἐμβρύων $10^{5,4}$ EID/50/ κ. ἐκ.
- 2) Ἡπαρ καὶ ἔντερον ἐμβρύων $10^{5,5}$ »
- 3) Ἐμβρυον, πλὴν κεφαλῆς καὶ ποδῶν $10^{5,6}$ »

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Μετὰ τὴν 10ην ἡμέραν, τὰ ἀταξικά συμπτώματα τῶν νεοσσῶν εἶναι περισσότερον ἐμφανῆ, ἀλλὰ ἀρχίζουν νὰ παρατηροῦνται συμπτώματα καὶ εἰς τοὺς μάρτυρας, λόγῳ τῆς ἀρχικῆς μολύνσεως τῶν εἰς τὸν κοινὸν θάλαμον ἐκτροφῆς. Ἐπομένως, ἡ παρατήρησις τῶν νεοσσῶν πέραν τῆς ἡμέρας αὐτῆς δὲν δύναται νὰ ληφθῇ ὑπ' ὄψιν, διότι εἶναι πιθανὴ ἡ σύγχυσις μεταξὺ μιᾶς ὁψίμου ἐκδηλώσεως συμπτωμάτων, ὀφειλομένης εἰς τὸν ἐνδοφθαλμισμὸν τῶν ὠν, καὶ μιᾶς πρωῒμου ὀφειλομένης εἰς ἀναμόλυνσιν. Τοῦτο θὰ ἦδύνατο νὰ ἐπηρεάσῃ τὸ ἀποτέλεσμα θεωρητικῶς, ἀλλὰ φρονούμεν ὅτι πρακτικῶς ἀποτελεῖ ἀσήμαντον παράγοντα, καθ' ὅσον οὗτος ὑπεισέρχεται κατὰ τὴν παρατήρησιν ὅλων τῶν ὁμάδων νεοσσῶν ἐνοφθαλμισθέντων εἰς τὸ ἐμβρυϊκὸν τῶν στάδιον, ἐξ ὅλων τῶν ὑπὸ τιτλοποίησιν ὕλικῶν.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων τῶν τιτλοποιήσεων συνάγεται ὅτι ἡ πυκνό-

της τοῦ ἰοῦ τῆς ΕΟ εἶναι ἐξ ἴσου ὑψηλὴ καὶ εἰς τὰ ἄλλα ὄργανα τοῦ ἐμβρύου, ὡς τὸ ἥπαρ, τὸ ἔντερον κλπ. καὶ οὐχὶ μόνον εἰς τὸν ἐγκέφαλον ὡς ἐπιστεύετο, πρᾶγμα τὸ ὁποῖον ἐπιτρέπει τὴν χρησιμοποίησιν καὶ ὁλοκλήρου τοῦ μολυνθέντος ἐμβρύου ἡλικίας 20 ἡμερῶν διὰ τὴν παρασκευὴν ἐμβολίων. Ἐξ αὐτοῦ καθίσταται ἡ παραγωγή ἐμβολίου εὐχερεστέρα καὶ οἰκονομικωτέρα.

Εὐχαριστοῦμεν θερμῶς τὸν καθηγητὴν κ. HOEKSTRA, Προϊστάμενον τοῦ Τμήματος Πτηνοπαθολογίας τοῦ Κεντρικοῦ Κτηνιατρικοῦ Ἰνστιτούτου τοῦ ROTTERDAM διὰ τὴν φιλοξενίαν, καθοδήγησιν καὶ παροχὴν τῶν μέσων πρὸς ἐκπόνησιν τῆς ἐργασίας ταύτης

S U M M A R Y

«Quantitative estimation of the AE virus in the different parts of chicken embryo at several moments».

by

Dr George Veimos

After inoculation of the 1143 AE Calnek strain in 5 d, embryonated eggs, brain of embryos was collected at 12, 16, 20 days of incubation as well as, of 5d old chicks hatched of such eggs. Also, liver, intestinal tract and whole embryos without head and legs were collected from 20d inoculated embryos. Titration of such materials by Hoekstra titrating method, has revealed that virus concentration in the above organs is about the same and useable for vaccine production. Trial has been repeated collecting the above parts from 20d old inoculated embryos.

Acknowledgements: The Author thanks Prof. Hoekstra, Head of Poultry Departement of the State Serum Institute-Rotterdam, for the hospitality, help and guide to work out this study.

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- 1). Jones, E.E.: 1932. An encephalomyelitis in the chicken. Science 76: 331.
- 2). Markson, L.M., and Blaxland, J. D.: 1955. Suspected infectious avian encephalomyelitis in Poultry in Britain. Vet. Rec. 67:131.
- 3) Α. Παπαδόπουλος. Ἡ Λοιμώδης Ἑγκεφαλομυελίτις νῶν νεοσσῶν εἰς τὴν Ἑλλάδα. Πτηνικὸν Δελτίον (1959), 96,97. 14—15.
- 4) Ι. Μενασέ, Π. Καρβουνιάρης, Γ. Βεῖμος, Α. Σεῖμένης, Σ. Μάλλιαρης.: Ἡ Ἑγκεφαλομυελίτις τῶν ὀρνίθων ἐν Ἑλλάδι. Δ.Ε.Κ.Ε. τ. 3ον.

- 5) Olitsky, P.K.: 1939. Experimental studies on the virus of infectious avian encephalomyelitis. Jour. Exper. Med. 70.: 565.
- 6). Sumner, F. W, Jungherr, E. L, Luginbuhl, R. E: 1957a. Studies on avian enc/tis I. Egg adaptation of the virus. Am. Jour. Vet. Res.: 18: 717.
- 7) » » »: 1957b. Studies on AE· II. Flock survey for embryo susceptibility to the virus. Am. Jour. Vet. Res.: 18:720.
- 8) Calnek, B.W., Luginbhul, R. E., and McKercker, P.D.: 1961. Committee report on a tentative programm for the control of avian encephalomyelitis. Avian Dis 5:546.
- 9) Poultry Disease Subcommittee: 1963. Avian encephalomyelitis. Methods for the examination of Poultry Biologics, pub. 1038, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington DC, p. 87—93.