

Uodpornianie przeciwko NDV indyków zakażonych wirusem krwotocznego zapalenia jelit

SOULEYMANE GUIRO, ANDRZEJ KONCICKI

Zespół Chorób Ptaków Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Guiron S., Koncicki A.

Vaccination against NDV in turkeys infected by haemorrhagic enteritis virus

Summary

The purpose of the study was to determine the influence of infecting turkeys with a local isolate of HE virus on their post-vaccination response to NDV. The study was carried out on 60 one-day old turkeys, 50 of which were intravenously infected with HEV at a dose of $10^{3.6} \text{EID}_{50}$ on the 49th day of life. Twenty turkeys were immunized simultaneously against NDV and twenty other birds were immunized against this virus 7 days later with Sotasec vaccine in drinking water. Ten infected turkeys and ten uninfected turkeys were control groups for infection and vaccination respectively. Blood from all the turkeys was taken on the day of infection and vaccination and after 7, 17, 27 and 41 days. The serum contained significant levels of HI antibodies. It was demonstrated that the local isolate of HEV causes immunosuppression and this was expressed by a lower efficacy of the vaccine against NDV, especially in the case of the birds immunized 7 days following infection.

Keywords: turkeys, HEV, NDV

W warunkach wielkostadnego chowu ptaków istnieje szereg czynników, które mogą w sposób przejściowy lub stały upośledzać funkcje układu immunologicznego, czyli wywoływać immunosupresję (4). Immunosupresja może być uwarunkowana genetycznie, gdzie ubocznym skutkiem genetycznego doskonalenia ptaków jest na ogół obniżona ich naturalna (wrodzona) odporność (4, 17, 25). Immunosupresyjnie mogą również oddziaływać różne czynniki niezakaźne, na które ptaki są narażone w chowie wielkostadnym. Do tych czynników należy zaliczyć błędy w technologii chowu, nawet krótkotrwałe przerwy w dostępie ptaków do wody i paszy, na ogół niczym nie uzasadnione stosowanie antybiotyków już od pierwszego dnia odchowu piskląt. Upośledzenie funkcji układu immunologicznego występuje także w przypadku niedoborów witamin (szczególnie witaminy A), makro- i mikroelementów (zwłaszcza sodu) czy obecności pestycydów, metali ciężkich i mikotoksyn w paszy. Najczęściej jednak immunosupresja ma tło zakaźne, gdzie obok pasożytów (kryptosporidia) (9), grzybów (*Aspergillus spp.*) (23) i bakterii (*Mycoplasma spp.*) (2), (*E. coli*, *Bordetella avium*) (26) najważniejszą rolę odgrywają wirusy. Na ogół wszystkie zakażenia wirusowe w pewnym stopniu prowadzą do immunosupresji. Należy jednak podkreślić, że pewna grupa wirusów wykazuje szczególnie takie oddziaływanie. W odniesieniu do układu odpornościowego indyków wirusem takim jest adenowirus krwotocznego zapalenia jelit (Haemorrhagic enteritis virus – HEV) (11, 17,

18, 21, 24). Rola tego wirusa w patologii indyków, zarówno na świecie (1, 7, 8, 21), jak i Polsce (13-15) nieustannie rośnie, zwłaszcza w wywoływaniu procesów chorobowych o złożonej etiopatogenezie (3, 16, 20, 22, 27, 32).

Pomimo licznych badań nie ma zgodności co do mechanizmów immunosupresyjnego oddziaływania HEV na układ odpornościowy indyków. Wiadomo jednak, że konsekwencją takiego zakażenia może być zaostrenie toczących się procesów chorobowych lub większa predyspozycja indyków do zakażenia się innymi, nawet mało zjadliwymi patogenami (3, 16, 22, 27, 32). Immunosupresja spowodowana zakażeniem HEV może być także przyczyną upośledzenia odporności poszczepiennej, co wykazano m.in. w odniesieniu do wirusa ND (6, 17, 19).

W Polsce krwotoczne zapalenie jelit indyków na tle zakażenia HEV rozpoznano po raz pierwszy w 1987 r. (13), a przeprowadzone następnie badania serologiczne wykazały znaczne rozprzestrzenienie zakażeń tym wirusem (14, 15). Wirusy HE charakteryzują się różną zjadliwością, obok szczepów bardzo patogennych wywołujących masowe zachorowania i padnięcia indyków (7, 8, 10, 21), są i takie, które prowadzą do zakażeń bezobjawowych. Krajowe izolaty wirusa HE, pomimo że należą do mało zjadliwych, wywołują immunosupresję (15), której zakres nie był badany. Wobec powyższego podjęto badania zmierzające do określenia wpływu zakażenia indyków krajowym izolatem wirusa HE na ich odpowiedź poszczepienną przeciwko wirusowi ND.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 60 jednodniowych pisklętach indyckich białych szerokopierśnych typu BUT 9, obu płci, pochodzących z zakładu wylęgowego. Ptaki odchowywano zgodnie z obowiązującą technologią i żywiono pełnoporcjowymi mieszankami paszowymi. W wieku 49 dni 50 indyków zakażono dożylnie wirusem HE dawką $10^{3,6}$ EID₅₀, z których dwadzieścia uodporniono równocześnie przeciwko NDV, a dwadzieścia dalszych ptaków uodporniono przeciwko temu wirusowi 7 dni później. Do uodpornienia indyków przeciwko ND użyto szczepionki Sotasec (MERIAL), którą podawano w wodzie do picia zgodnie z zaleceniem producenta. Dziesięć indyków zakażonych wirusem HE stanowiło kontrolę, z których 3 uśmiercono po 72 godz. od zakażenia dla potwierdzenia ich wrażliwości na HEV. W tym celu określano indeks śledzionowy (IS), zmiany anatomopatologiczne i obecność antygeny wirusa HE w śledzionie (15). Dziesięć indyków nie zakażonych wirusem HE stanowiło kontrolę szczepienia przeciwko ND.

Krew od wszystkich ptaków pobierano z żyły skrzydłowej w dniu zakażenia i szczepienia oraz po 7, 17, 27 i 41 dniach. W surowicy krwi oznaczano poziom przeciwciał HI metodą mikro wg Beacha z użyciem 2 j. HA wirusa ND, (szczep LaSota) o mianie hemaglutynacyjnym 1 : 640.

Obecność wirusa HE w śledzionie i przeciwciał anty-HE w surowicy określano odczynem AGP. Sposób otrzymania antygeny wirusa HE oraz dodatniej surowicy anty-HE do AGP opisano w innej pracy (15). Odczyn AGP wykonano metodą mikro wg Domermutha i wsp. (5).

Wyniki testu HI przedstawiono w postaci średniej geometrycznej mian (śgm) przeciwciał, a otrzymane IS opracowano statystycznie dwuczynnikową analizą wariancji, określając średnią, odchylenie standardowe i istotność różnic ($p \leq 0,01$).

Wyniki i omówienie

Użyte w doświadczeniu indyki były wrażliwe na zakażenie wirusem HE, o czym świadczy brak przeciwciał anty-HE w ich surowicy w dniu zakażenia oraz powiększony IS i charakterystyczna marmurkowość śledziony indyków 3 dni po zakażeniu. W surowicy indyków przed ich szczepieniem przeciwko ND nie stwierdzono przeciwciał HI. Wyniki zestawiono w tab. 1.

Dynamikę przeciwciał HE u indyków uodpornianych przeciwko ND przedstawia ryc. 1. Z danych ryciny wynika, że u indyków równocześnie zakażonych wirusem HE i szczepionych przeciwko ND w wieku 49 dni zaobserwowano wyraźną pierwotną odpowiedź immunologiczną, której

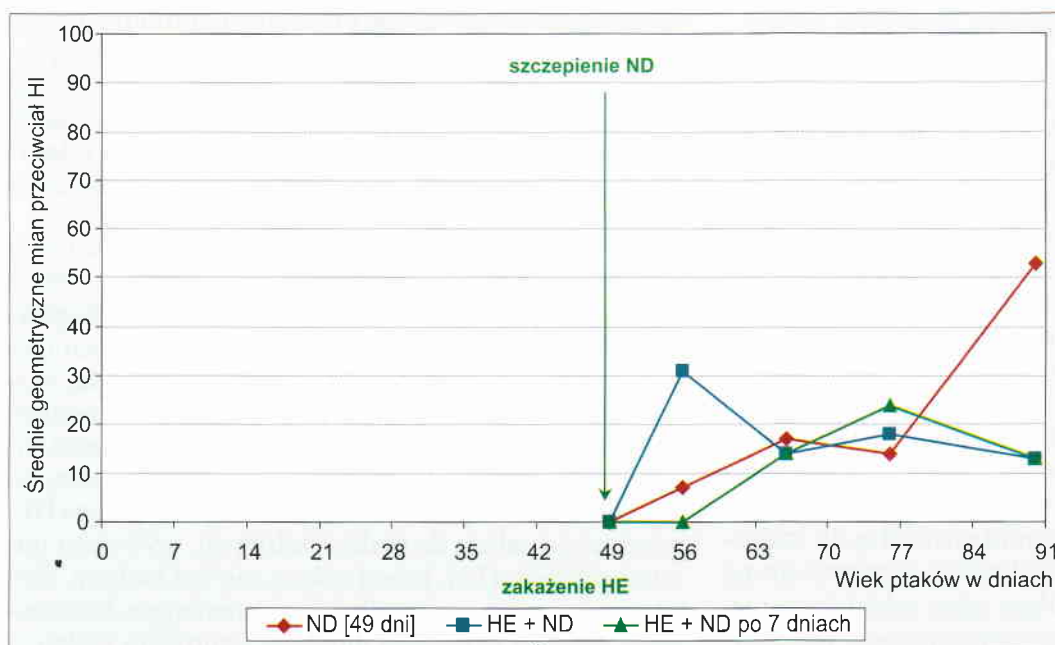
wyrazem była śgm przeciwciał HI wynosząca 31 już 7 dni po szczepieniu. Później następował dość gwałtowny spadek mian tych przeciwciał. Natomiast w grupie indyków uodpornionych przeciwko ND 7 dni po zakażeniu wirusem HE odpowiedź immunologiczna była zdecydowanie słabiej wyrażona, a miana przeciwciał wolniej narastały. Najwyższą śgm przeciwciał HI stwierdzono w grupie indyków szczepionych przeciwko ND w wieku 49 dni, które nie były zakażone wirusem HE. Odpowiedź immunologiczna indyków w tym przypadku była podobna do stwierdzonej we wcześniejszych badaniach (12).

Wirus HE uszkadza makrofagi i limfocyty B (19, 30, 31), a zatem komórki, które biorą aktywny udział nie tylko w zwalczaniu zakażenia, ale również w immuno-

Tab. 1. Status immunologiczny indyków użytych w doświadczeniu ($n = 60$, $\bar{x} \pm s$)

Wiek ptaków	Kierunek badania				
	Obecność przeciwciał		Reakcja na zakażenie		
	HI	AGP	IS	Reizolacja wirusa/ liczba ptaków badanych	Zmiany w śledzionie/ liczba ptaków badanych
49 dni	-	-	$1,11 \pm 0,18^*$	0/3	0/3
3 dni po zakażeniu wirusem HE	nb	-	$2,75 \pm 0,48$	3/3	3/3

Objaśnienia: IS – indeks śledzionowy, – – brak przeciwciał, nb – nie badano, * $p \leq 0,01$



Ryc. 1. Średnie geometryczne miany przeciwciał HI u indyków zakażonych wirusem HE i szczepionych przeciwko ND

genezie. Shuresh i Sharma (28, 29) wykazali, że wirus HE replikuje się w tych komórkach, blokując ich proliferację i różnicowanie. Nie następuje zatem kształtowanie komórek efektorowych produkujących wielospecyficzne przeciwciała IgM⁺. Wyniki tych badań są zbieżne z wcześniejszymi spostrzeżeniami Nagaraji i wsp. (18, 19), że wirus hamuje proliferację limfocytów B, której następstwem jest upośledzenie replikacji antygeny i produkcji przeciwciał. W badaniach własnych wykazano niższą odpowiedź humoralną u indyków, które były uodporniane przeciwko ND 7 dni po zakażeniu wirusem HE. Zjawisko to było zapewne spowodowane znaczną redukcją liczby komórek wytwarzających przeciwciała dla wirusa ND, co potwierdzili Shuresh i Sharma (28, 29), badając subpopulację limfocytów przy użyciu cytometru przepływowego. Wymienieni badacze wykazali mianowicie, że w pierwszym tygodniu po zakażeniu indyków wirusem HE dochodzi do znacznego spadku liczby limfocytów B produkujących przeciwciała IgM⁺ i relatywny wzrost liczby limfocytów T pomocniczych (Th). Te ostatnie, jak wiadomo, wspomagają zarówno odpowiedź humoralną, jak i komórkową, i to zarówno przez bezpośredni kontakt, jak i poprzez wydzielane cytokiny. Limfocyty Th między innymi ułatwiają aktywację, proliferację i różnicowanie limfocytów B, a także pobudzają makrofagi. W związku z tym, że wirus HE uszkadza makrofagi (komórki prezentujące antygen) i limfocyty B, następuje upośledzenie odpowiedzi humoralnej, zwłaszcza w przypadkach, gdy uodpornianie indyków przeciwko ND następuje w pierwszym tygodniu po zakażeniu wirusem HE.

Reasumując należy stwierdzić, że krajowy izolat wirusa HE wykazuje działanie immunosupresyjne, którego efektem jest gorsza odpowiedź immunologiczna indyków po szczepieniu przeciwko wirusowi ND, zwłaszcza gdy uodpornianie ma miejsce kilka dni po zakażeniu.

Piśmiennictwo

1. Arbuckle J. B. R., Parsons D. G., Luff P. R.: Hemorrhagic enteritis syndrome of turkeys. *Vet. Rec.* 1979, 104, 435-436.
2. Bradbury J. M.: Effect of *Mycoplasma iowae* infection on the immune system of young turkey. *J. Med. Sci.* 1984, 20, 985-988.
3. Chang C. D., Tsai S. S., Wang P. C., Li N. J.: Concurrent infection with hemorrhagic enteritis virus and Newcastle disease virus in turkey. *J. Chin. Soc. Vet. Sci.* 1987, 13, 75-80.
4. Dohms J. E., Saif Y. M.: Criteria for evaluation immunosuppression. *Avian Dis.* 1997, 28, 305-310.
5. Domermuth C. H., Gross W. B., Dubose R. T.: Microimmunodiffusion test for hemorrhagic enteritis of turkeys. *Avian Dis.* 1973, 17, 439-444.
6. Franciosi C., Gallazi D., Rampin T., Sperai Ruffoni L., Enice F., Canti M.: Immunosuppressive effect of HEV in turkeys; preliminary investigation. *Clinica Vet.* 1987, 110, 75-78.
7. Gale C., Wyne J. W.: Preliminary observations on hemorrhagic enteritis of turkeys. *Poultry Sci.* 1957, 36, 1267-1270.
8. Gomez-Villamandos J. C., Carranza J., Sierra M. A., Carrasco L., Hervas J., Blanco A., Fernandez A.: Hemorrhagic enteritis by adenovirus-like particles in turkeys: a possible pathogenic mechanism. *Avian Dis.* 1994, 38, 647-652.
9. Goodwin M. A., Brown J., Fletcher O. J.: The relationship of *Cryptosporidium* sp. infection of bursa of Fabricius, intestinal tract and respiratory system of chickens in Georgia, 1974-1988. *Avian Dis.* 1990, 34, 701-703.
10. Gross W. B., Moore W. E. C.: Hemorrhagic enteritis of turkeys. *Avian Dis.* 1967, 11, 269-307.
11. Hussain I., Choi C. U., Rings B. S., Shaw D. P., Nagaraja K. V.: Pathogenesis of hemorrhagic enteritis virus infection in turkeys. *J. Vet. Med.* 1993, B 40, 715-726.
12. Koncicki A., Janowska I.: Badania nad uodpornianiem indyków importowanych przeciw rzekomemu pomorowi drobiu (ND). *Medycyna Wet.* 1983, 39, 394-397.
13. Koncicki A.: Pierwsze przypadki adenowirusowego krwotocznego zapalenia jelit indyków w Polsce. *Medycyna Wet.* 1990, 46, 16-17.
14. Koncicki A.: Występowanie zakażeń wirusowych u indyków z rodzielskich i rodzicielskich. *Zesz. Nauk. AR Wrocław* 1992, 52, 61-67.
15. Koncicki A.: Charakterystyka krajowych izolatów adenowirusa krwotocznego zapalenia jelit (HE) indyków i ocena sytuacji epizootycznej w Polsce. *Act. Acad. Agricult. Tech. Olszt.* 1996, 22.
16. Larsen C. T., Domermuth C. H., Sponenberg D. P., Gross W. B.: Colibacillosis of turkeys exacerbated by haemorrhagic enteritis virus: laboratory studies. *Avian Dis.* 1985, 29, 729-732.
17. Le Gros F. X., Gillet J. P., Toquin D., Guittet M., Bennejean G.: Etude de l'effet immunodépresseur de souches virulente ou vaccinale de l'entérite hémorragique de la dinde. *Avian Path.* 1988, 17, 547-558.
18. Nagaraja K. V., Patel B. L., Emery D. A., Pomeroy B. S., Newman J. A.: In vitro depression of the mitogenic response of limfocytes from turkeys infected with hemorrhagic enteritis virus. *Am. J. Vet. Res.* 1982, 43, 134-136.
19. Nagaraja K. V., Kang S. Y., Newmann J. A.: Immunosuppressive effects of virulent strain of hemorrhagic enteritis virus in turkeys vaccinated against Newcastle Disease. *Poultry Sci.* 1985, 64, 588-590.
20. Newsberry L. A., Skeeles J. K., Kreider D. L., Beasley J. N., Story J. D., Mc New R. W., Berridge B. R.: Use of virulent hemorrhagic enteritis virus for the induction of colibacillosis in turkeys. *Avian Dis.* 1993, 37, 1-5.
21. Pierson F. W., Domermuth C. H.: Hemorrhagic enteritis; marble spleen disease, and related infections, [w:] *Diseases of Poultry*, (red.) Calnek B. W., Iowa State Univ. Press., Ames Iowa 1997, 625-633.
22. Pierson W. F., Larsen C. T., Domermuth C. H.: The production of colibacillosis in turkeys following sequential exposure to Newcastle Disease Virus or *Bordetella avium*, avirulent Hemorrhagic enteritis virus and *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 1996, 40, 837-840.
23. Richard J. L., Peden W. M., Williams P. P.: Gliotoxin inhibits transformation and its cytotoxic to turkeys peripheral blood lymphocytes. *Mycopathology* 1994, 126, 109-114.
24. Saunders G. K., Pierson F. W., Van den Hurk J. V.: HEV infection in turkeys: a comparison of virulent and avirulent virus infections and a proposed pathogenesis. *Avian Path.* 1993, 22, 47-58.
25. Sharma J. M.: The structure and function of the avian immune system. *Acta Vet. Hung.* 1997, 45, 229-238.
26. Simmons D. G., Gore A. R., Hodgin E. C.: Altered immune function in turkey poult infected with *Alcaligenes faecalis*, the etiologic agent of turkeys Rinothracheitis (Coryza). *Avian Dis.* 1980, 24, 82-90.
27. Sponenberg D. P., Domermuth C. H., Larsen C. T.: Field outbreaks of colibacillosis of turkeys associated with hemorrhagic enteritis virus. *Avian Dis.* 1985, 29, 838-842.
28. Suresh M., Sharma J. M.: Hemorrhagic enteritis virus induced changes in the lymphocyte subpopulations in turkeys and the effect of experimental immunodeficiency on viral pathogenesis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1995, 45, 139-150.
29. Suresh M., Sharma J. M.: Pathogenesis of type II Avian Adenovirus infection in Turkeys: In vivo immune cell tropism and tissue distribution of the virus. *J. Virol.* 1996, 70, 30-36.
30. Van den Hurk J. V.: Propagation of group II avian adenoviruses in turkey and chicken leukocytes. *Avian Dis.* 1990, 34, 12-25.
31. Van den Hurk J. V.: Efficacy of avirulent hemorrhagic enteritis virus propagated in turkey leukocyte cultures for vaccination against hemorrhagic enteritis in turkeys. *Avian Dis.* 1990, 34, 26-35.
32. Van den Hurk J. V., Allan B. J., Riddell C., Watts T., Potter A. A.: Effect of infection with haemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys to *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 1994, 38, 708-716.

Adres autora: prof. dr hab. Andrzej Koncicki, ul. Baczyńskiego 1, 10-371 Olsztyn-Kieźliny; e-mail: koncicki@uwm.edu.pl