

WOJCIECH KARCZEWSKI

Rozwój wirusa ND szczep LaSota w rdzeniu kurcząt

Zakład Chorób Drobni Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: prof. dr KAZIMIERZ MAREK

Używane w Polsce szczepionki przeciw chorobie Newcastle oparte są na żywych niezjadliwych szczepach NDV. Jedną z nich — szczepionka „R” — stosowana domięśniowo, produkowana jest z mezogenicznego szczepu Roakin, natomiast druga — szczepionka „L” stosowana doustnie w wodzie do picia, oparta jest na lentogenicznym szczepie LaSota. Szczepy mezogeniczne mają stosunkowo duże powinowactwo do układu nerwowego, w związku z czym po podaniu szczepionek produkowanych z tych szczepów zdarzają się niejednokrotnie komplikacje poszczepienne w postaci charakterystycznych porażań. Mechanizmem powstawania takich porażań zajmowano się w poprzedniej pracy. Natomiast nad neurotropizmem szczepów lentogenicznych przeprowadzał badania Hanson (2). Stwierdził on, że w przeciwieństwie do szczepów mezo- i welogenicznych, szczepy lentogeniczne nie są patogenne dla kurcząt jednodniowych po wprowadzeniu domózgowym. W oparciu o wyniki tych badań opracował on test IPI (Intercerebral Pathogenicity Index, służący do odróżnienia szczepów lentogenicznych od innych szczepów NDV, a także do wykrywania zanieczyszczeń szczepami mezo- i welogenicznymi szczepionek opartych na szczepach lentogenicznych.

Kurczęta, którym poda się domózgowo lentogeniczny szczep wirusa ND, zazwyczaj nie zdradzają objawów chorobowych, jednak czasami u pojedynczych sztuk zdarzają się przypadki zachorowań, a nawet śmierci (wg Hansona indeks IPI dla szczepów lentogenicznych mieści się w granicach od 0 do 0,25). Wydaje się więc celowe przeprowadzenie szczegółowych badań nad możliwością rozwoju lentogenicznego szczepu LaSota wirusa ND w ośrodkowym układzie nerwowym. Ponieważ, jak wynikało z wcześniejszych badań nad szczepem Roakin (4), rdzeń ptaków jest szczególnie wrażliwy na wirus ND, przedstawione poniżej badania oparto na dordzeniowym wprowadzeniu zarazka.

Materiały i metody

Wirus. Wyjściowy materiał wirusowy stanowił zliofilizowany szczep macierzysty LaSota, używany do produkcji szczepionki „L”. Szczepem tym zakażono 10-dniowe zarodki kurze w rozcieńczeniu 10^{-5} i dawce 0,1 ml. Po 48 godz. zarodki schłodzono, a płyn omocznioowo-owodniowy służył do badań jako materiał wirusowy.

Jego miano HA = 1:2560, a EID₅₀ = $10^{10,3}$ w 1 ml.

Ptaki. Do doświadczeń użyto 50 kurcząt 4-tygodniowych, krzyżówek, nie szczepionych przeciwko chorobie Newcastle, oraz kurcząt 1-dniowych rasy Sussex pochodzących od kur nieszczepionych przeciwko

chorobie Newcastle. Miano HI surowicy tych ptaków było ujemne.

Zarodki. Do badań wirusologicznych używano 10-dniowych zarodków kurzych. Jaja przed i po zakażeniu inkubowano w temp. 37°. Dordzeniowe wprowadzenie szczepionki, pobieranie materiału do badań wirusologicznych, oraz odczyn ELD₅₀ przeprowadzano wg metody opisanej uprzednio (4).

Domózgowe zakażenie piskląt. Pisklęta zakażano domózgowo materiałem wirusowym rozcieńczonym 10^{-2} w dawce 0,05 ml wg metody używanej do testu IPI.

Wyniki doświadczeń

Dośw. I. Grupie kurcząt wprowadzono dordzeniowo szczep LaSota wirusa ND. Jednocześnie dwu kurczętom kontrolnym podano w ten sposób szczep Roakin wirusa ND. Z grupy ptaków, które otrzymały szczep LaSota zabijano po dwa kurczęta w 1, 3, 5, 7 i 9 dni po iniekcji. Od kurcząt tych brano odcinek łądźwiowy rdzenia oraz śledzionę do badań wirusologicznych. Pozostałe ptaki obserwowano do 14 dni po podaniu wirusa. U kurcząt, które otrzymały szczep Roakin około 4 dnia po iniekcji wystąpiły kulawizny przechodzące następnie w charakterystyczne porażenia. Jedno z nich padło w 6, a drugie w 8 dniu po iniekcji. Natomiast u kurcząt, które otrzymały szczep LaSota nie zaobserwowano żadnych objawów do końca doświadczenia.

Wyniki badań wirusologicznych wykazały, że w odcinku łądźwiowym rdzenia w 1 dniu po zakażeniu można stwierdzić znaczne ilości wirusa (ponad 10^4 EID₅₀ na 1 g, tabl. 1). W 3 dni po iniekcji ilości te były znacznie mniejsze, a w 5 dni nie stwierdzono wirusa w tym odcinku układu nerwowego w ogóle, w 7 i 9 dniu stwierdzono jedynie u pojedynczych kurcząt śladowe ilości wirusa. Analogiczne wyniki uzyskano przy badaniu śledziony, chociaż stwierdzone ilości wirusa były znacznie mniejsze.

Dośw. II. Ponieważ nie było sprawą jasną czy stwierdzony w 24 godz. po iniekcji wirus w odcinku rdzenia, do którego został wprowadzony pochodzi bezpośrednio z materiału wprowadzonego, czy też namnożył się w tym narządzie, nastawiono analogiczne doświadczenie z tą różnicą, że kurczęta zabijano po 1½, 2, 3, 7, 10, 22, 28 godz., 2 i 3 dniach. Również i w tym doświadczeniu nie zaobserwowano żadnych objawów klinicznych. Badanie wirusologiczne wykazało znaczne ilości wirusa w odcinku łądźwiowym rdzenia w 1½ godz. po iniekcji (tabl. 1). Natomiast w 3 i 7 godz. po iniekcji wirus można było stwierdzić w rdzeniu nieregularnie w śladowych ilościach. Po tym okresie ilość wirusa w odcinku łądźwiowym rdzenia szybko wzrastała i utrzymywała się na tym poziomie (około 10^5 EID₅₀ na 1 g) do następnego dnia. W 28 godz., 2 dni i 3 dni po iniekcji wirus stwierdzić można było nieregularnie, przy czym wahania w jego ilości były bardzo znaczne (od ilości niestwierdzalnych do ponad 10^6 EID₅₀ na 1 g). W śledzenie stwierdzano nieregularnie wirus już w 3 i 7 godz. po iniekcji. Jednakże w większych ilościach wystąpił on tam od 10 godziny i utrzymywał się do końca doświadczenia. Jedynie u kurcząt zabitych w dwa dni po iniekcji nie stwierdzono wirusa w śledzionie.

Dośw. III. Ponieważ wyniki poprzednich doświadczeń zdawały się wskazywać na to, że wirus ND szczep LaSota może namnażać się w rdzeniu kurcząt, nastawiono dodatkowe doświadczenie w celu stwierdzenia, czy u jednodniowych piskląt po domózgowym podaniu wirusa można go tam później stwierdzić.

Tab. 1. log EID₅₀ wirusa w odcinku łądźwiowym rdzenia i śledzenie u poszczególnych kurcząt po dordzeniowym wprowadzeniu wirusa

Okres czasu po iniekcji	EID ₅₀ na 1g materiału wyjściowego w log				
	Odcinek łądźwiowy rdzenia		Śledzona		
	Dośw. I	Dośw. II	Dośw. I	Dośw. II	
1 1/2 godz.		= 5,1	= 3,6	(≤ 1,4)	(≤ 1,4)
3 "		≤ 2,1	(≤ 1,8)	≤ 1,9	(≤ 1,5)
7 "		≤ 2,1	(≤ 1,8)	≤ 1,8	(≤ 1,4)
10 "		= 5,1	= 4,8	= 4,3	≤ 2,1
22 "		= 4,8	= 5,6	≤ 1,6	= 2,6
24 "	≤ 4,6	= 4,8			
28 "		= 3,8	(≤ 1,8)	= 3,3	= 2,8
2 dni		(≤ 1,8)	= 5,1		= 4,0
3 "	= 2,8	≤ 2,6	= 5,1	(≤ 1,2)	≤ 1,4
5 "	(≤ 1,8)	(≤ 1,8)		(≤ 1,4)	(≤ 1,4)
7 "	(≤ 1,8)	≤ 2,1		≤ 1,6	= 2,3
9 "	≤ 2,0	(≤ 1,8)		≤ 1,7	(≤ 1,4)

Uwaga: liczby w nawiasach oznaczają, że przyjętą metodą nie stwierdzono wirusa, chociaż jego ilość mogła być równa lub mniejsza od danej liczby

Grupie 8 piskląt jednodniowych podano wirus ND szczep LaSota domózgowo, tak jak przy próbie IPI. Dwa kurczęta zabito po 24 godz., a dalsze dwa po 72 godz. od chwili iniekcji. Od zabitych kurcząt pobrano mózg do badania wirusologicznego. Pozostałe 4 kurczęta obserwowano przez 8 dni od chwili iniekcji. Nie wykazywały one żadnych objawów chorobowych. W badanych mózгах stwierdzono dużą koncentrację wirusa, a mianowicie ponad 10⁵EID₅₀ na 1 g.

Dyskusja

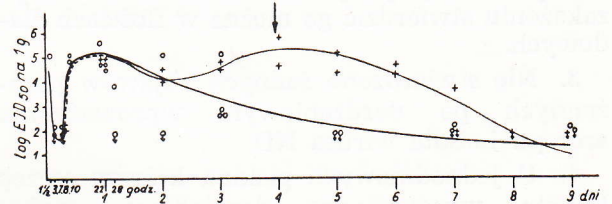
Wyniki przeprowadzonych doświadczeń zdają się wskazywać, że pierwszy okres rozwoju zakażenia szczepem LaSota jest w zasadzie zgodny z wynikami innych badań nad różnymi szczepami wirusa ND, jak również pozostaje w zgodzie z wynikami badań nad zakażeniem wirusowym w ogóle. Cechuje go okres, w którym nie można stwierdzić wirusa w tkance do której został wprowadzony, lub stwierdza się go w bardzo małych ilościach. Okres ten odpowiada prawdopodobnie fazie eklipsy. Dla wirusa ND okres ten wykazali między innymi Kohn (3) i Karczewski (4). Pierwszy z tych autorów po podaniu do serca dużej dawki zjadliwego wirusa stwierdził znikanie jego z krwiobiegu w ciągu dwu godzin po iniekcji. Po tym okresie zarówno we krwi, jak i w innych narządach ilości wirusa zaczęły narastać.

Karczewski (4) w pracy nad mezogenicznym szczepem Roakin stwierdził wyraźnie okres zanikania wirusa po podaniu domózgowym. W badaniu nad dordzeniowym wprowadzeniem tego szczepu w 8 godz. po iniekcji stwierdzono jedynie znikome ślady wirusa, natomiast po 24 godzinach miana te były stosunkowo wysokie. Stwierdzenie analogicznego okresu przy dordzeniowym wprowadzeniu szczepu LaSota, wydaje się przemawiać za namnożeniem wirusa w tym odcinku centralnego układu nerwowego. Także stwierdzenie stosunkowo dużych ilości wirusa w mózgu u piskląt w 24 i 72 godz. po domózgowym wprowadzeniu materiału wirusowego wskazuje na możliwość rozwoju

szczepu LaSota w ośrodkowym układzie nerwowym.

Drugą fazę rozwoju, w wypadku szczepu LaSota cechuje stopniowy spadek zawartości wirusa. Spadek ten jest różny u poszczególnych ptaków. Gdy u niektórych już w 28 godz. po iniekcji nie można stwierdzić wirusa w rdzeniu, to u innych stwierdza się go w dużej ilości, nawet w 3 dni po wprowadzeniu. Jednakże biorąc pod uwagę cały przebieg doświadczenia od 1 do 9 dni po iniekcji spadek ten jest zupełnie wyraźny. Widać tu różnicę w porównaniu z uzyskanym przez Karczewskiego (4) przebiegiem zakażenia dordzeniowego szczepem Roakin. W wypadku tego ostatniego, wirus utrzymywał się w tym odcinku rdzenia w dużych ilościach co najmniej do 6 dnia po iniekcji, wywołując charakterystyczne porażenia nieobserwowane przy szczepie LaSota. Na wyk. 1 przedstawiono, na podstawie obecnych badań

Przebieg namnażania wirusa w łądźwiowym odcinku rdzenia po bezpośrednim wprowadzeniu szczepu LaSota i szczepu Roakin wirusa ND



Legenda:

o poszczególne wyniki mianowania ilości wirusa po podaniu szczepu LaSota
+ poszczególne wyniki mianowania ilości wirusa po podaniu szczepu Roakin
--- przebieg zakażenia szczepem LaSota
— przebieg zakażenia szczepem Roakin
Strzałka w górę oznacza początek wystąpienia porażenia po dordzeniowym podaniu szczepu Roakin.

nad szczepem LaSota oraz wcześniejszych badań szczepu Roakin, przypuszczalny przebieg zakażenia w odcinku łądźwiowym rdzenia po bezpośrednim wprowadzeniu zarazka. Co prawda określenie szybkości spadku wirusa w wypadku szczepu LaSota jest trudne ze względu na małą ilość przebadanych kurcząt i duże rozbieżności między wynikami uzyskanymi u poszczególnych ptaków, jednak różnica między zachowaniem się tych dwu szczepów zdaje się nie ulegać wątpliwości.

Wydaje się być rzeczą charakterystyczną i ciekawą, że po osiągnięciu szczytu w czasie 22 do 24 godz. po iniekcji oba szczepy wykazują tendencję do regresji, jednak o ile u szczepu LaSota tendencja spadkowa zachowuje się w dalszym ciągu, to szczep Roakin od 2 dnia wykazuje ponowny wzrost, by osiągnąć drugi szczyt około 4 dnia po zakażeniu. Że taki przebieg rozwoju wirusa może nie być przypadkowy zdają się wskazywać badania Adsell'a i Hansona (1). Autorzy ci badając co 4 lub 6 godzin ilość wirusa w tkankach kurcząt zakażonych zjadliwymi szczepami wirusa choroby Newcastle (GB i Milano) obserwowali regresję miana w około dwa dni po zakażeniu

domięśniowym. Uważają oni, że regresja ta spowodowana jest niespecyficzną obronnością organizmu (zespół adaptacyjny w/g *Selyego*) na czynnik zakaźny. Na podstawie powyższych danych można przypuszczać, że o ile szczep Roakin wprowadzony bezpośrednio do rdzenia ulega regresji, jest jednak wystarczająco silny, aby przełamać zespół adaptacyjny (AS) i wywołać porażenia, to szczep LaSota po wprowadzeniu dordzeniowym namnaża się wprawdzie, jednak jest na tyle słaby, że wywołany zespół adaptacyjny organizmu zahamowuje jego dalsze namnożenie. Potwierdzenie tego przypuszczenia wymaga jeszcze jednak dalszych badań.

Wnioski

1. Wirus ND szczep lentogeniczny LaSota wprowadzony bezpośrednio do rdzenia, po okresie zaniku, namnaża się szybko osiągając podobnie jak szczep Roakin znaczną koncentrację.
2. Po pierwszym okresie silnego namnożenia ilość wirusa w rdzeniu zmniejsza się mniej lub więcej szybko, tak że od 5 dnia po zakażeniu stwierdzić go można w ilościach śladowych.
3. Nie stwierdzono żadnych objawów porażennych po dordzeniowym wprowadzeniu szczepu LaSota wirusa ND.
4. U jednodniowych piskląt, którym szczep LaSota wprowadzono domózgowo, można stwierdzić w 1 i 3 dniu po iniekcji znaczne ilości wirusa w mózgu.

Piśmiennictwo

1. Asdell M. K., Hanson R. P.: Sequential changes in the titer of Newcastle disease virus in tissues — A measure of the defense mechanism of the chicken. *Am. J. Vet. Res.* 21, 80, 128, 1960.
2. Hanson R. P.: Intracerebral inoculation test for determining the safety of Newcastle disease vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 17, 62, 16, 1956.
3. Kohn A.: The role of the alimentary tract and spleen in Newcastle disease. *Am. Jour. of Hyg.* 69, 3, 167, 1959.

LUBOMIR ŠLESINGR
Brno, Czechosłowacja

Chlorpromazyna w leczeniu tężca. Obserwacje własne

Tężec jest chorobą stacjonarną we wszystkich niemal krajach świata i występuje u człowieka oraz u wszystkich zwierząt domowych. Według własnych obserwacji chorują najczęściej konie, na drugim miejscu stoi bydło i świnie. Pojedyncze przypadki zdarzają się także u psów, owiec i kóz. Pod względem klinicznym proces chorobowy objawia się skurczami i sztywnością mięśni i jest znany od wielu setek lat, jednak zagadnienie leczenia choroby nie zostało dotąd rozwiązane.

W leczeniu tężca u zwierząt domowych próbowano całego szeregu leków, poczynając od fenolu i kończąc na surowicy i najnowo-

4. Karczewski W.: Investigation on the mechanism of post-vaccination paralysis after the application of anti-NDV vaccine „R”. *Bull. Vet. Institute in Pulawy.* 8, 1, 35, 1964.

Adres autora: dr Wojciech Karczewski. Pulawy, Instytut Weterynarii.

Карчевски В. — Размножение вируса азиатской чумы птиц „LaSota” в спинном мозге цыплят.

Штамм „LaSota” введенный в спинной мозг 1-суточных цыплят размножался там и был установлен до 5 дня после инокуляции но не вызывал у цыплят паралитических симптомов. После инъекции вируса „LaSota” в мозг цыплят установили значительное количество вируса в мозге в первый и в третий день после введения.

Karczewski W. — The growth of ND Virus, Lasota strain, in the spinal cord of chicks.

LaSota's virus (NDV), after introduction into the spinal cord of day-old chicks, multiplied there and was present until the 5th day after infection, but did not cause symptoms of paralysis in the chicks.

When LaSota's virus was injected into the brains of chicks, a considerable amount of the virus was found during the 1st and 3rd days after injection.

Karczewski W. — Le développement du virus ND, souche LaSota dans la moelle des poulets.

Le virus LaSota (NDV) introduit dans la moelle des poussins âgés d'un jour s'y propagea et était présent jusqu'au 5-ème jour après l'infection, mais ne causait pas de symptômes de paralysie chez les poussins. Après l'injection du virus LaSota dans le cerveau des poussins, on constata une quantité importante du virus le premier et le troisième jour après l'injection.

Karczewski W. — Virusentwicklung ND Stamm LaSota im Rückenmark der Küken.

Virus LaSota (NDV) nach Einführung in das Rückenmark der eintägigen Küken unterlag einer Vermehrung in demselben, seine Anwesenheit wurde bis zum fünften Tage nach der Infektion festgestellt doch ohne paralytische Symptome bei Küken zu verursachen. Nach der Injektion des LaSota Virus ins Gehirn der Küken, ist eine grosse Virusmenge in der Zeit des ersten und dritten Tages nach der Inokulation wahrgenommen worden.

cześniejszych środkach z grupy „neuroplegica”. Leku, który by skutecznie usuwał skurcz tężcowy mięśni szkieletowych, a więc i szczękościsk (*trismus*), dotychczas nie znaleziono. W ostatnich czasach duże znaczenie przy leczeniu tężca przypisuje się zwiótczającemu wpływowi chlorpromazyny (w Polsce produkowanej pod nazwą *trankwiliny*). Niniejsza praca obejmuje przebadanie działania preparatu *Largactil* na 13 koniach i 3 psach.

U 7 koni tężec występował w postaci choroby szybko rozwijającej się, ciężkiej, o krótkim okresie inkubacji, u 1 zwierzęcia z zupełnym szczękościskiem. U pozostałych 6 koni choroba