

KAZIMIERZ MAREK, WANDA BORZEMSKA

Nosicielstwo wirusa zjadliwego ND u kurcząt uodpornionych szczepionką L. I. Zakażenia dotchawicowe

Zakład Chorób Drobni SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr K. MAREK

Problem nosicielstwa i siewstwa wirusa ND u ptaków jest ze względów epizootycznych zagadnieniem dużej wagi. Na ogół przyjmuje się, że u ptaków, które przechorowały chorobę Newcastle virus szybko znika z organizmu. Wg *Levina* i wsp. (1950) kury w miesiąc po wyzdrowieniu nie posiadają dostatecznej ilości wirusa, aby zakażać przez kontakt wrażliwe ptaki. W tym przypadku posługiwano się kurami, które nie były uodparniane, przed infekcją były wrażliwe na chorobę Newcastle i przechorowały w sposób naturalny tę chorobę.

Interesujące jest pytanie jak długo przebywa wirus zjadliwy w ptakach uprzednio szczepionych, to znaczy mających pewien poziom przeciwciał nie dopuszczających do wywołania objawów klinicznych. *Stegmann* i *Woernte* (1954) donoszą o izolowaniu wirusa zjadliwego ND z krwi dwóch uodpornionych kur w 16 dni po sztucznym zakażeniu. *Zuijdam* (1952) stwierdził siewstwo wirusa zjadliwego ND u kur uprzednio szczepionych żywymi szczepionkami, w jednym przypadku przez 16 dni, w drugim przypadku od 2 do 3 tygodni. *Fortnerowi* i wsp. (1959) udawało się izolować welogeniczny szczep ND z kur uodpornionych szczepionką adsorbowaną sporządzoną wg *Trauba* w 39 dni po zakażeniu. Podobne wyniki otrzymali *Pannu* i *Bankowski* (1962). *Nitzschke* (1954) zaś nie stwierdzał siewstwa wirusa zjadliwego w 26 dni po challengu u kur uodpornionych. Istnieją zatem dość duże różnice w wynikach badań wielu autorów nad nosicielstwem i siewstwem wirusa ND.

Celem naszej pracy było uzyskanie odpowiedzi przy jakim mianie HI u ptaków uodpornionych szczepionką żywą przeciwko pomorowi rzekomemu ptaków, nosicielstwo wirusa zjadliwego po sztucznym zakażeniu trwa najdłużej i w jakich tkankach wirus ten się znajduje.

Praca składa się z dwóch części. Pierwszą część poświęcono wyosabnianiu wirusa zjadliwego z narządów, do których wirus ND posiada szczególny tropizm po dotchawicznym zakażeniu. W drugiej części szukano wirusa zjadliwego w różnych odcinkach jelita, po doustnych zakażeniach.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 64 kurcząt rzeźnych w wieku 10 tygodni pochodzących ze stada, które w 4 tygodnia zostało zaszczepione doustnie handlową szczepionką L przeciw chorobie Newcastle oraz 4 kurcząt kontrolnych w tym samym wieku, wrażliwych na ND. Do namnożenia wirusa użyto 162 dziesięciodniowych zarodków kurzych. Do zakażeń (challengé) użyto szczepu Radom NDV o znanej zjadliwości. Do próbówkowych testów serologicznych hemaglutynacji (HA) i hamowania hemaglutynacji (HI) używano roztworu fizj. 0,9% NaCl, płynu owodniowo-omocznio-wego zarodków zakażonych szczepem LaSota i 24 godz. 0,5 % przemytych krwinek kurzych. Próby serologiczne HA, HI oraz miano HI obliczono i wykonano metodą alfa wg FAO Working Document.

Zarodki zakażono rozcierem z narządów z dodatkiem antybiotyków penicyliny i streptomycyny. Do każdego wariantu użyto 3 zarodki lub 3 kurczęta. Zarodkom wprowadzano do worka omocznio-wego 0,2 ml materiału zakażonego. Jaja prześwietlano co 24 godz. Czas obserwacji embrionów trwał 6 dni. Obecność wirusa sprawdzano po śmierci zarodka na podstawie hemaglutynacji szkiełkowej. Zakażenie kur-

cząt (challengé) przeprowadzono dotchawicowo wkraplając 0,2 ml. 10^4 ELD₅₀ zjadliwego wirusa. W ten sam sposób zakażano kurczęta kontrolne. Próby HI przeprowadzono u każdego ptaka oddzielnie, 24 godz. przed zakażeniem i w dniu uboju.

Opis doświadczenia

Przed rozpoczęciem badań wszystkim 64 ptakom oznaczono miano HI i rozdzielono je na IV grupy. Pierwsze trzy grupy doświadczalne zostały dobrane wg wysokości mian HI, a czwarta grupa stanowiła kontrolę, nie była zakażana. Do grupy I zaliczono kurczęta o mianie 5—20, do grupy II zaliczono kurczęta o mianie 40—160, do grupy III zaliczono kurczęta o mianie 640—5120, do grupy IV włączono kurczęta nie szczepione, których miano wahalo się od 0—5.

Wszystkie kurczęta doświadczalne i kontrolne zakażono dotchawicowo wirusem zjadliwym ND. Jedno kurczę z grupy I o mianie 5 padło w 5 dniu po zakażeniu, drugie z tej samej grupy o mianie 20 padło 6 tygodnia. Obydwa padły z powodu choroby Newcastle.

Pozostałe kurczęta nie wykazały objawów chorobowych. Wszystkie ptaki kontrolne padły. Pierwszy 5 dnia, drugi 6, trzeci 8, a czwarty 9 dnia. U padłych kurcząt na sekcjach stwierdzono charakterystyczne zmiany typowe dla ND.

W 3, 6, i 9 dniu po zakażeniu szczepem zjadliwym wybrano losowo z każdej grupy po 3 kurczęta i wyjęto jałowo następujące narządy: 1) tchawicę, 2) płuca, 3) wątrobę, 4) śledzionę, 5) mózg. W momencie uboju z krwi oddzielono surowicę, którą badano na obecność przeciwciał typu HI. Rozcierem każdego narządu zakażono po 3 zarodki. Miano HI wyjściowe i w dniu uboju ilustruje tabela 1.

Tab. 1. Miano HI wyjściowe i w dniu uboju zwierząt

Nr grupy	Nr ptaka	Miano HI początkowe	Miano HI w 3 dni po zakażeniu	Nr ptaka	Miano HI początkowe	Miano HI w 6 dni po zakażeniu	Nr ptaka	Miano HI początkowe	Miano HI w 9 dni po zakażeniu
I	275	20	20	283	20	320	294	20	80
	298	20	160	285	20	80	295	20	1280
	307	5	5120	308	10	80	296	20	1280
II	259	80	80	310	80	640	261	160	1280
	266	160	160	317	80	640	268	160	1280
	260	40	160	325	40	2560	313	40	640
III	267	5120	5120	273	2560	2560	265	640	5120
	280	5120	5120	279	1280	1280	276	5120	5120
	284	5120	5120	301	640	2560	291	1280	5120

Śmiertelność zarodków występowała między 24 a 96 godz. Największą ilość padnięć notowano między 48 a 72 godz. Wyniki zakażonych zarodków poszczególnymi narządami ilustruje tabela 2. W wykazie podano padłe zarodki, u których aglutynacją szkiełkową stwierdzono obecność wirusa. Do każdej serii zarodków zakładano kontrolę.

Tab. 2. Obecność wirusa w różnych tkankach i narządach w 3, 6 i 9 dni po challenge'u

Pość dni po zakażeniu	Nr grupy	Tchawica	Płuca	Wątroba	Śledziona	Mózg
3	I	3/3	3/3	2/3	3/3	0/3
	II	3/3	0/3	0/3	3/3	0/3
	III	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
6	I	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	II	3/3	3/3	0/3	3/3	3/3
	III	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
9	I	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	II	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	III	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

Wyniki

Z grupy kurcząt posiadającej najniższe miana HI (5—20), w 3 dni po zakażeniu wyizolowano wirus ze wszystkich narządów, oprócz mózgu. Ta sama grupa w 6 dni po zakażeniu posiadała wirus we wszystkich badanych narządach łącznie z mózgiem. Natomiast w 9 dniu po zakażeniu nie wyizolowano wirusa w ogóle. Z grupy kurcząt posiadających miana od 40—160 w 3 dni po zakażeniu wyizolowano wirus z tchawicy i śledziony. Płuca, wątroba oraz mózg były wolne od wirusa. W 6 dni po zakażeniu ta sama grupa posiadała wirus we wszystkich narządach z wyjątkiem wątroby. 9 dni po zakażeniu nie wyizolowano wirusa z żadnego z wybranych narządów.

Grupa kurcząt posiadająca miana najwyższe 640—5120 w 3 dni po zakażeniu posiadała wirus tylko w śledzionie, pozostałe narządy we wszystkich terminach badań były wolne od wirusa.

Wnioski

1. Kurczęta, które 6—8 tyg. po szczepieniu doustną szczepionką L wykazały wysokie miana HI 640—5120 i zostały zakażone wirusem zjadliwym ND nie są praktycznie nosicielami wirusa challenge'owego.
2. Z kurcząt wykazujących miana HI 40—160 wyizolowano wirus w 3 dni po zakażeniu z tchawicy i śledziony a w 6 dni po challenge'u ze wszystkich narządów z wyjątkiem wątroby.
3. Kurczęta o niskim mianie HI od 5—20 już w 3 dni po zakażeniu posiadały wirus we wszystkich badanych narządach oprócz mózgu, a w 6 dni po zakażeniu znajdował się wirus we wszystkich badanych tkankach.
4. Natomiast w 9 dni po zakażeniu nie znaleziono wirusa zjadliwego u żadnego kurczęcia niezależnie od początkowego miana HI.
5. Wydaje się, że tylko wysokie miana HI chronią ptaki przed zakażeniem i przed nosicielstwem wirusa zjadliwego.

Piśmiennictwo

1. Levine P. P., Fabricant J., Gillespie J. H., Angstrom C. J., Mitchel G. B.: Cornell Vet. 50, 206 (1950).
2. Fortner J., Ulbricht F., Lessing G.: Arch. Exp. Vet. 13, 499 (1959).
3. Nitzschke E.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 67, 335 (1954).
4. Siegmann C., Woernle H.: Archiv. Exp. Vet. Med. VI, 348 (1953).
5. Zuijdam D. M.: Diss. Utrecht (1952).

Adres autora: prof. dr Kazimierz Marek, Puławy, Al. Parzyżantów 53, Instytut Weterynarii.

Marek K., Bożemcka B. — **Носительство вирулентного вируса болезни ньюкэстль (ND) у цыплят привитых вакциной L. I. Трахеальная инфекция.**

Цыплята привитые вакциной L против вируса ND и оказывающие разный уровень титра задержки реакции гемоагглютинации (IH) инфицировали интратрахеально вирулентным вирусом ND.

Установили, что птицы обладающие высоким титром IH=640—5120 в практических условиях не заражаются вирулентным вирусом. Более низкие титры IH не защищают цыплят от носительства вируса до 6 суток после инфекции, но в 9 дне после заражения, независимо от первоначального титра IH, носительства не отмечали.

Marek K., Borzemska W. — **Carriership of toxic ND virus in chicks immunized with anti-ND vaccine L. Tracheal Infection.**

In chicks with various HI titres, which had been previously immunized with anti-ND vaccine L, carriership of toxic ND virus was tested. The chicks were infected tracheally. The, trachea, lungs, liver, spleen and brain were examined. According to our investigations, birds with a high HI titre of 640—5120 do not practically become infected by the toxic virus. A lower HI titre does not protect against carriership up to 6 days after infection. However, on the 9th day after the challenge, carriership was not observed, irrespective of the the initial HI titre.

Marek K., Borzemska W. — **Les porteurs du virus virulent ND chez les poussins immunisés à l'aide du vaccin L contre la peste. I. Infection intratrachéale.**

Les auteurs investigèrent l'état de porteur du virus virulent ND chez les poussins ayant un titre HI immunisés à l'aide du vaccin L contre ND. Les poussins étaient infectés intratrachéalement. On investigait la trachée, les poumons, le foie, la rate et le cerveau. Nos recherches démontrèrent que les oiseaux qui possèdent un titre élevé HI 640—5120 ne subissent pas d'infection par le virus virulent. Les titres moins élevés ne protègent pas contre l'état de porteur pendant 6 jours après l'infection. Le neuvième jour après le challenge on ne notait plus de porteurs, indépendamment du titre initial du HI.

Marek K., Borzemska W. — **Tragbarkeit des virulenten Virus ND bei mit Antipestvakcin L. I. immunisierten Kücken. Intertracheale Infizierung.**

Bei Kücken vom verschiedenen Titer HI, welche vorher mit Vakcin L gegen ND immunisiert wurden, ist die Tragbarkeit des virulenten Virus ND erforscht worden. Die Kücken infizierte man intratracheal. Zur Untersuchung gelangten: Luftröhre, Lungen, Leber, Milz und Gehirn. Laut unserer Untersuchungen unterliegen die Vögel vom hohen Titer HI 640—5120 praktisch nicht der Infizierung mit dem virulenten Virus. Niedrigere Titer HI verleihen keinen Schutz vor Tragbarkeit bis 6 Tage nach der Infizierung. Dagegen im neunten Tag nach Challenge abgesehen vom Anfangstitier HI, wurde die Tragbarkeit nicht beobachtet.