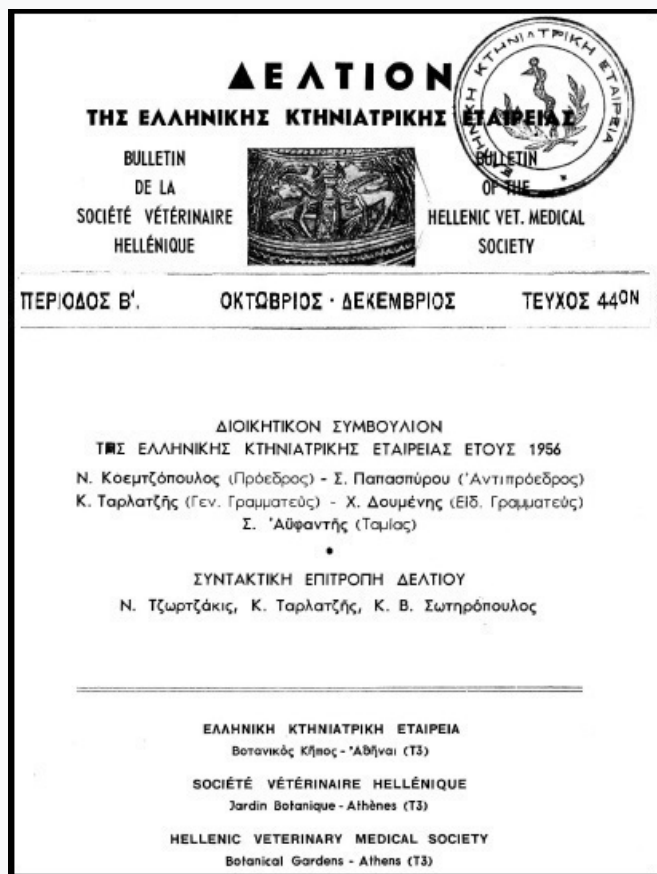


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 12, No 4 (1961)



### ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΟ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΩΝ ΕΚ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΧΟΙΡΙΔΙΩΝ

Ι. Ν. ΤΖΩΡΤΖΑΚΗΣ, Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Δ. ΜΠΡΟΒΑΣ, Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΣ, Ι. ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ, Α. ΣΕΙΜΕΝΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.17871](https://doi.org/10.12681/jhvms.17871)

Copyright © 2018, Ι.Ν.ΤΖΩΡΤΖΑΚΗΣ, Χ.ΠΑΠΠΟΥΣ, Ε.ΣΤΟΦΟΡΟΣ, Δ.ΜΠΡΟΒΑΣ Ι.ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ, Α.ΣΕΙΜΕΝΗΣ



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

### To cite this article:

ΤΖΩΡΤΖΑΚΗΣ Ι. Ν., ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., ΜΠΡΟΒΑΣ Δ., ΣΤΟΦΟΡΟΣ Ε., ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ Ι., & ΣΕΙΜΕΝΗΣ Α. (1961). ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΟ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΩΝ ΕΚ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΧΟΙΡΙΔΙΩΝ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 12(4), 187–193. <https://doi.org/10.12681/jhvms.17871>

# ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΟ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΩΝ ΕΚ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΧΟΙΡΙΔΙΩΝ \*

Υ π δ

Ν. ΤΖΩΡΤΖΑΚΙ, Χ. ΠΑΠΠΟΥ, Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΥ, Δ. ΜΠΡΟΒΑ, Ι. ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗ  
καί Α. ΣΕΪΜΕΝΗ

I

Ἐκ τοῦ Ἰνστιτούτου Ἀφθώδους Πυρετοῦ  
Διευθυντής: Ν. Τ ζ ω ρ τ ζ ά κ ι ς

Εἰς προγενεστέραν ἀνακοίνωσίν μας (1) ἐπὶ τῆς καλλιεργείας τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ ἐπὶ ἱστοκαλλιεργημάτων εἰς μονοκυτταρικὴν σιβάδα, διεξήλθομεν τὴν ἐν τῷ Ἐργαστηρίῳ μας χρησιμοποιουμένην τεχνικὴν ἱστοκαλλιεργείας, παραγωγῆς καὶ τιτλοποιήσεως τοῦ ἰοῦ.

Κατὰ τὴν τεχνικὴν ταύτην τὸ χρησιμοποιούμενον θρεπτικὸν ὑπόστρωμα ἦτο τὸ τοῦ Hanks.

Ἐπὶ τῷ τέλει τῆς ἐπιτεύξεως: α) μᾶς ταχύτερας ἀναπτύξεως τῶν κυττάρων β) αὐξήσεως τοῦ τίτλου τοῦ ἰοῦ καὶ γ) μειώσεως τοῦ κόστους τῆς παραγωγῆς του, προέβημεν εἰς τὴν συγκριτικὴν μελέτην δύο θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων ἀναπτύξεως κυττάρων, ἥτοι τοῦ κλασικοῦ ὑποστρώματος Hank καὶ ἑνὸς ἑτέρου συνισταμένου εἰς τὸ θρεπτικὸν ὕλικὸν Frenkel \*\* (2)

\*\* Σύνδεσις ὑποστρώματος Frenkel.

Δι' ἑν λίτρον

1 - Cystéine HCL	125 mgrs
Hémine	0,036 mgrs
Insuline	0,9 U. I.
Thyroxine	0,009 mgrs
Glucose	1000 mgrs
Chlorure de Calcium anhydre	238 mgrs
Peptone	3000 mgrs
NaCl	7200 mgrs
KCl	180 mgrs
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	90 mgrs
NaHCO <sub>3</sub>	1000 mgrs
Niacine	1 mgr
1 - Lysine HCl	200 mgrs
1 - Arginine HCl	50 mgrs
Pantothenate de Ca	0,25 mgr
d. 1 - Thréonine	85 mgrs
d. 1 - Méthionine	200 mgrs
1 - Leucine	130 mgrs
d. 1 - Phénylalanine	50 mgrs
d. 1 - Tryptophane	100 mgrs
1 - Histidine HCl	38 mgrs
Isobuffer	32 c. c.
Eau bidistillée	1000 c. c.

\* Ἐστάλη πρὸς δημοσίευσιν τὴν 1ην Νοεμβρίου 1961.

εἰς τὸ ὁποῖον ἐπεφέραμεν ὠρισμένας τροποποιήσεις ὡς πρὸς τὴν σύνθεσίν του.

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1) Ἐπιθηλιακὰ κύτταρα προερχόμενα ἐκ νεφρῶν χοιριδίων, ἡλικίας 2 περιῶν μηνῶν, ὑποβληθέντα εἰς θρυψίνισιν ἐν θερμοῦ, καὶ εἰς ἐκπλύσεις διὰ φυγοκεντρήσεως, εἶτα δὲ ἀραιωθέντα εἰς ἀναλογία 1 : 200, ἐντὸς τῶν ὡς ἄνω ὑπὸ πειραματισμὸν θρεπτικῶν ὑλικῶν ἀναπτύξεως.

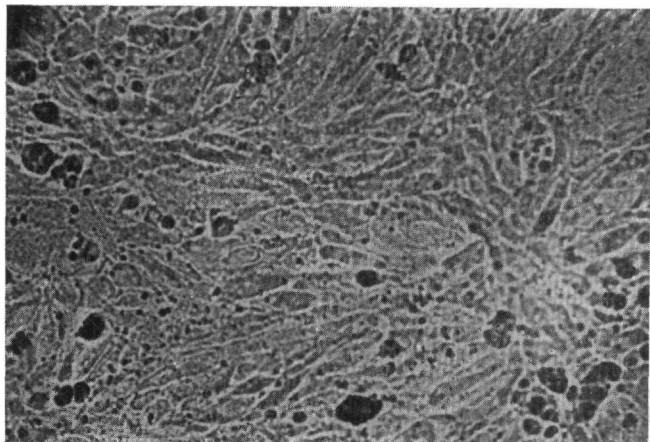
2) Θρεπτικὰ ὑλικά ἀναπτύξεως. Ἐχρησιμοποιήθησαν :

α) Τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα Hanks εἰς ὃ προστίθεται 10 % ὁροῦ μόσχου, 0,5 % ὑδρολύματος Λακταλβουμίνης, 0,5 % ἐκχυλίσματος ζυθοζύμης καὶ ἀντιβιοτικά (Πενικιλίνη, Στρεπτομυκίνη, Χρυσομυκίνη) καὶ β) τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα Frenkel τροποποιηθὴν ὑφ' ἡμῶν διὰ τῆς προσθήκης 10 % ὁροῦ μόσχου, 0,5 % ὑδρολύματος Λακταλβουμίνης, 0,5 % ἐκχυλίσματος ζυθοζύμης καὶ ἀντιβιοτικῶν.

Ὡς θρεπτικὸν ὑλικὸν συντηρήσεως χρησιμοποιεῖται εἰς ἀμφοτέρως τὰς περιπτώσεις τὸ ὑπόστρωμα Hanks, ἄνευ ὅμως προσθήκης ὁροῦ.

Ἡ ἀντικατάστασις τοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος διὰ τοῦ ὑλικοῦ συντηρήσεως λαμβάνει χώραν εἴτε τὴν αὐτὴν ἡμέραν, εἴτε 2 ἡμέρας ἐνωρίτερον προκειμένου περὶ καλλιεργημάτων διὰ τοῦ τροποποιηθέντος ὑποστρώματος Frenkel.

3) Εἰς τὴν πειραματικὴν μας ταύτην μελέτην ἐχρησιμοποιήσαμεν στέλεχος τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ, τύπου C Ὁλλανδίας (Odoorn), προσηρμοσμένου ἐπὶ ἱστοκαλλιεργημάτων, τρίτης κυτταρικῆς διόδου, ἔχοντος τί-



Εἰκὼν 1.—Ἱστοκαλλιέργημα 5 ἡμερῶν  $\times 128$  Zeiss à frais

τλον D. I. C. T. 50 % (Dose Infectious Culture Tissue 50 %)  $10^{-5.5/0,2}$  χ. ἐκ. καὶ συντηρουμένου ἐν ἀποθέματι εἰς τοὺς  $-16^{\circ}$  C.

Διὰ τῶν ἀνωτέρω ἀναφερομένων θρεπτικῶν υποστρωμάτων προσέβη-  
μεν εἰς καλλιέργειας κυττάρων χρησιμοποιήσαντες ἀνὰ 10 φιάλας Roux,  
ἐκάστη τῶν ὁποίων περιεῖχε 100 κ. ἐκ. ἐναιωρήματος κυττάρων.

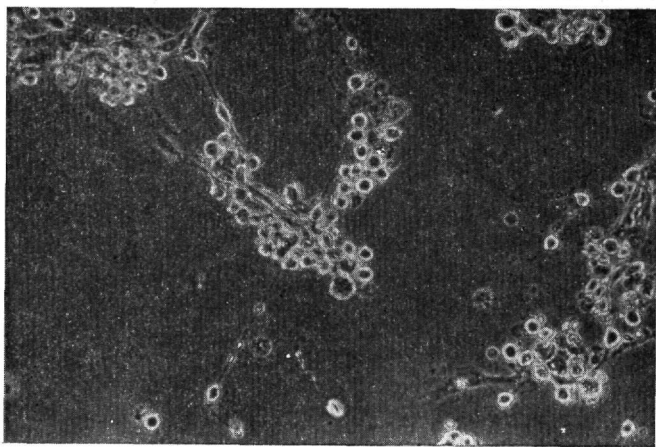
Ὡς πρὸς τὸν ἰόν, διὰ τοῦτου ἐνοφθαλμίζονται συγχρόνως καὶ αἱ δύο



Εἰκὼν 2. — Ἱστοκαλλιέργημα 5 ἡμερῶν  $\times 128$  Zeiss  
Χρῶσις : Αἵματοξυλίνη - Ἡωσίνη

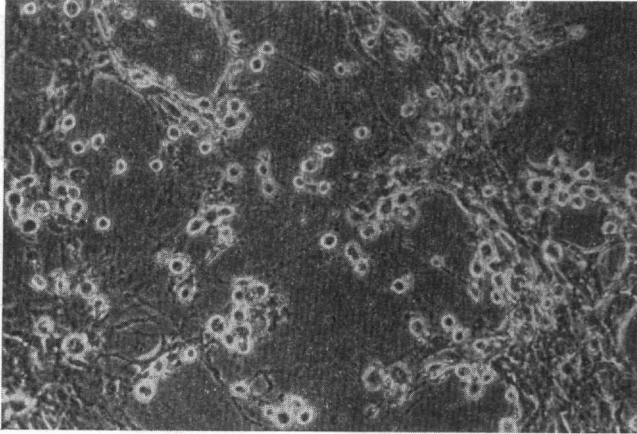
ὁμάδες φιαλῶν Roux διὰ ποσότητος ἑνὸς κ. ἐκ. ἐναιωρήματος κυττάρων.

Ἀνὰ δίωρον καὶ μέχρι τῆς 24ης ὥρας λαμβάνονται δείγματα τῶν ἐνο-

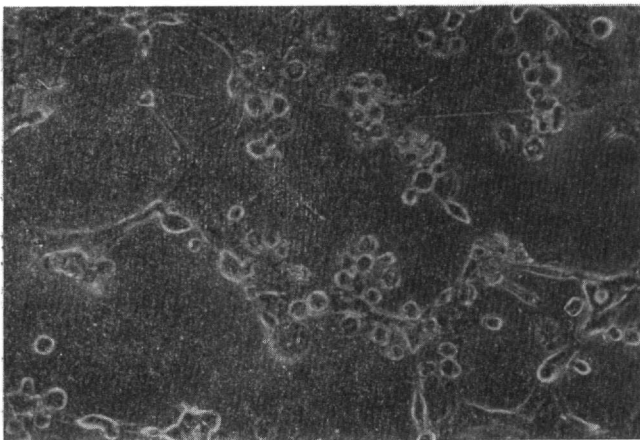


Εἰκὼν 3.

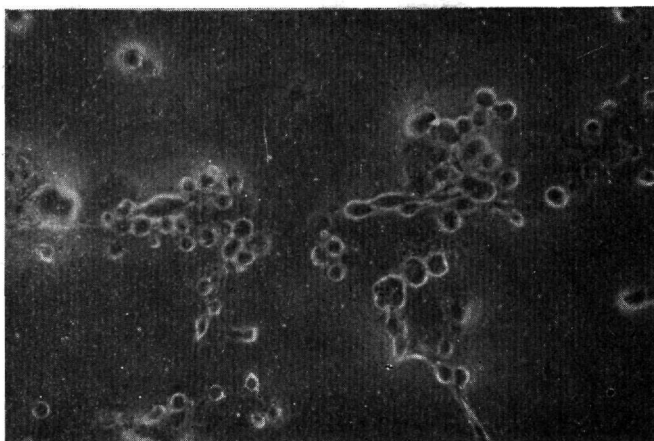
φθαλμισθέντων ιστοκαλλιεργημάτων πρὸς τιτλοποίησιν τοῦ καλλιεργηθέντος ἰοῦ, παραλλήλως δὲ ταῦτα ἐξετάζονται μικροσκοπικῶς πρὸς διαπίστωσιν τῆς κυτταροπαθογονικῆς ἐνεργείας τοῦ ἰοῦ.



Εἰκὼν 4.



Εἰκὼν 5.



Εἰκὼν 1, 2, 3, 4.—Κυτταροπαθογονικὴ ἐνέργεια τοῦ *Ιού C*  
εἰς διάφορα στάδια  $\times 128$  Zeiss

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τὰ ὑπὸ καλλιέργειαν κύτταρα ἐξητάζοντο μικροσκοπικῶς ἀνὰ 24ωρον καὶ μέχρι τῆς δημιουργίας πλήρους μονοκυτταρικοῦ ταπητίου.

Ἐκ τῆς συνεχοῦς ταύτης ἐξετάσεως διεπιστώθη ὅτι εἰς τὴν ὁμάδα δι' ἣν ἐχρησιμοποιήθη τὸ ὑπόστρωμα Hanks ἡ προσκόλλησις τῶν κυττάρων ἐπὶ τῶν τοιχωμάτων τῶν φιαλῶν Roux συντελεῖται τὰς πρώτας 24 ὥρας, ὁ δὲ πολλαπλασιασμός των ἀρχόμενος ἀπὸ τῆς 4ης ἡμέρας ἔβαινε μὲ ρυθμὸν βραδύτερον συγκριτικῶς πρὸς τὴν ἑτέραν ὁμάδα, τέλος δὲ ὁ σχηματισμὸς πλήρους ταπητίου συνεπληροῦτο τὴν 6ην ἢ τὴν 7ην ἡμέραν.

Τὸ pH τοῦ καλλιεργήματος διὰ Hanks κατὰ τὰς 4 πρώτας ἡμέρας ὑφίστατο μικρὰν μεταβολὴν (pH 7,2).

Τὰ ἀναπτυχθέντα καλλιεργητικῶς κύτταρα παρουσίαζον συχνάκις κενοτόπια, ἡ δὲ μορφολογικὴ των εἰκὼν μικροσκοπικῶς δὲν ἐνεφανίζετο τόσον ἱκανοποιητικὴ, συγκριτικῶς πρὸς ἐκείνην τῶν κυττάρων τῆς ὁμάδος διὰ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος τροποποιηθέντος Frenkel.

Ἀντιθέτως, διεπιστοῦτο ὅτι εἰς τὸ τελευταῖον τοῦτο ὑπόστρωμα τὰ κύτταρα προσκολλῶνται μὲν ἐπὶ τῶν τοιχωμάτων τῶν φιαλῶν Roux εὐθὺς ἀπὸ τῆς πρώτης ἡμέρας, ἐν συνεχείᾳ ὅμως ἡ ἀνάπτυξις τοῦ καλλιεργήματος συντελεῖται μὲ ταχύτερον ρυθμὸν, τοῦ πλήρους ταπητίου σχηματιζομένου τὴν 4ην ἢ τὴν 5ην ἡμέραν. Εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν τὸ pH τοῦ καλλιεργήματος μετεβάλλετο ὡσαύτως, παρουσιάζον ἐλαφρὰν ὀξινὴν ἀντίδρασιν (pH 7).

Ἐκ τῆς μικροσκοπικῆς ἐξετάσεως τῶν κυττάρων τοῦ πλήρους ταπη-

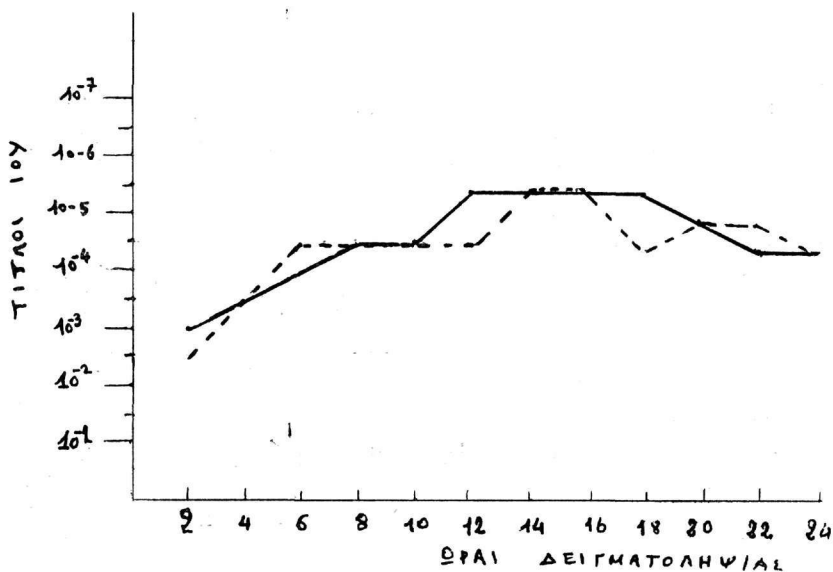
τίον, δὲν διεπιστώθη ἡ ὕπαρξις τοιούτων φερόντων κενοτόπια, γενικῶς δὲ τὰ κύτταρα παρουσιάζοντο μορφολογικῶς τελείως φυσιολογικά.

Ἡ καταστροφικὴ ἐπὶ τῶν κυττάρων ἐπίδρασις τοῦ ἰοῦ εἰς μὲν τὴν ὁμάδα τοῦ ὑποστρώματος Hanks ἄρχεται κατὰ τὴν 4ην περίπου ὥραν καὶ συμπληροῦται τὴν 16ην—18ην τοιαύτην ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού, εἰς δὲ τὴν ὁμάδα διὰ τοῦ τροποποιηθέντος ὑποστρώματος Frenkel ἐκδηλοῦται τὴν 6ην ὥραν καὶ καθίσταται πλήρης τὴν 20ὴν ὥραν.

Σημ.—Διὰ τοῦ τροποποιηθέντος ὑποστρώματος Frenkel ἐκαλλιερ-  
γήσαμεν ὡσαύτως νεφρικὰ κύτταρα μόσχου, κυνός, λευκῶν μυῶν καὶ ἐμ-  
βρύων αὐτῶν ὡς καὶ κορίνθου διὰ τῆς αὐτῆς πάντοτε μεθόδου, ἡ δὲ ἀνά-  
πτυξις τῶν κυττάρων τούτων εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα ἦτο ἀρκούντως  
ἐκανοποιητικὴ.

### ΤΙΤΛΟΙ ΙΟΥ

Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ κατωτέρω διαγράμματος τὸ μέγιστον τοῦ τίτλου τοῦ ἰοῦ ἐπιτυγχάνεται μεταξὺ 14ης—16ης ὥρας, εἰς ἀμφοτέρας τὰς περι-



πτώσεις, μειουμένου ὅμως τούτου ἐν συνεχείᾳ μέχρις ἐνὸς λογαρίθμου κατὰ τὴν 24ην ὥραν.

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω προκύπτει ὅτι :

- 1) Ἡ ἀνάπτυξις τῶν κυττάρων εἰς τὸ ὕψ' ἡμῶν τροποποιηθὲν θρε-

πικόν υπόστρωμα Frenkel συντελείται εις ταχύτερον ρυθμόν και τυγχάνει συγκριτικῶς ἀριωτέρα, οὕτω δὲ ἐπιταχύνεται ὁ ὅλος κύκλος τῶν ἐργασιῶν και κατὰ συνέπειαν ἐπιτυγχάνεται ἡ παραγωγή μεγαλυτέρας ποσότητος τοῦ ἐντὸς μιᾶς ὁρισμένης χρονικῆς περιόδου.

2) Ὁ ἰός C ἀναπτύσσεται εὐχερῶς και εἰς τὰς δύο ομάδας τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων, τὸ δὲ μέγιστον τοῦ τίτλου του ἐπιτυγχάνεται εἰς ἀμφοτέρως τὰς περιπτώσεις μεταξὺ τῆς 14ης και 16ης ὥρας, ἐπακολουθητικῶς ὁμῶς παρουσιάζεται μείωσις τοῦτου ἐξικνουμένη κατὰ τὴν 24ην ὥραν μέχρως ἑνὸς λογαρίθμου και μὲ περαιτέρω πτώσιν αὐτοῦ.

### ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Οἱ συγγραφεῖς ἀναφέρονται εἰς γενομένην ὑπ' αὐτῶν τροποποίησιν τοῦ θρεπτικοῦ υποστρώματος Frenkel και ἐξετάζουσι συγκριτικῶς τὰ διὰ ταύτης ἐπιτευχθέντα ἱστοκαλλιεργήματα νεφρικῶν κυττάρων χοιριδίου, μὲ τὰ ἐπὶ θρεπτικοῦ υποστρώματος Hanks ἀναπτυχθέντα τοιαῦτα.

Ὡσαύτως μελεῖται ἡ καλλιέργεια τοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ, τύπου C, εἰς τὰ ἐν λόγῳ ἱστοκαλλιεργήματα.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1) Ν. Τζωρτζάκι, Δ. Μπρόβα, Ι. Καραβαλάκη, Χ. Παπποῦ: Πρακ. Ἀκαδ. Ἀθηνῶν, 35, 117, 1960.

2) Frenkel H. S.: Προσωπική ἀνακοίνωσις 1955.

### R E S U M É

Les auteurs se rapportent à une modification apportée par eux au milieu nutritif et examinent comparativement les cultures de cellules renales de porcelet obtenues avec ce milieu, à celles avec le milieu de Hanks.

Ils étudient également la culture du virus aphteux, type C, sur ces cultures cellulaires.

### S U M M A R Y

The authors are referring to their modification of Frenkel's nutritive medium and examine comparatively the cultures of piglet's kidney cells obtained by this medium, to those obtained by Hanks medium.

They also study the growth of Foot - and - Mouth Disease virus, type C, on these tissue cultures.

### RIASSUNTO

Gli A. A. si riferiscono sulla modificazione del terreno di Frenkel realizzatasi da loro e fanno uno studio comparativo di questa modificazione e del terreno di Hanks su colture di cellule renali di suinetti.

Inoltre, studiano lo sviluppo del virus aftoso, tipo C, nelle sopradette colture.