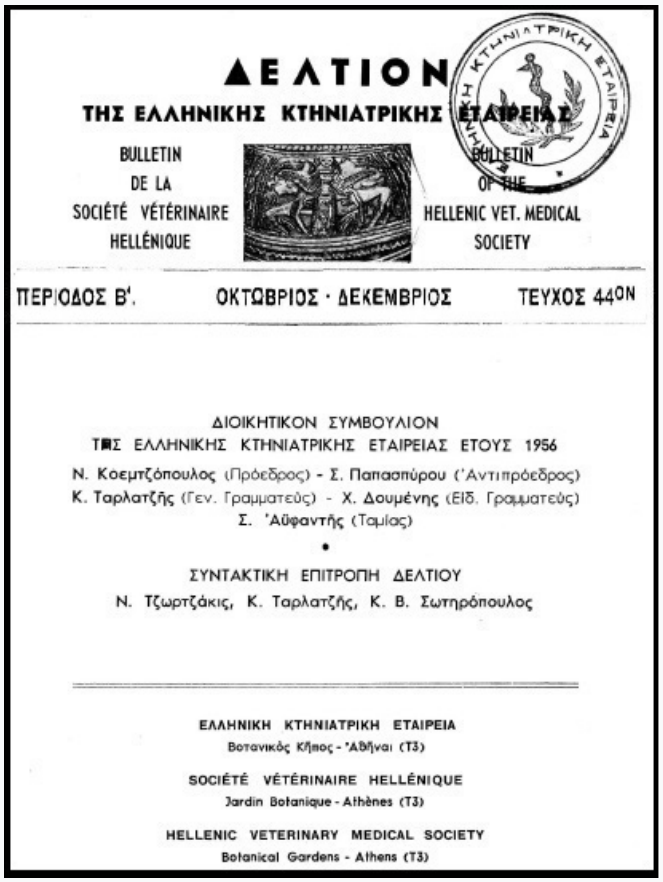
ePublishing
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας

Τόμ. 12, Αρ. 4 (1961)



ΔΕΛΤΙΟΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE HELLÉNIQUE

BULLETIN OF THE HELLENIC VET. MEDICAL SOCIETY

ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β'. ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ · ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ ΤΕΥΧΟΣ 44ΟΝ

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟΝ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΕΤΟΥΣ 1956

Ν. Κοεμτζόπουλος (Πρόεδρος) - Σ. Παπασπύρου ('Αντιπρόεδρος)
Κ. Ταρλατζής (Γεν. Γραμματεύς) - Χ. Δουμένης (Ειδ. Γραμματεύς)
Σ. 'Αϋφαντής (Ταμίας)

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΕΛΤΙΟΥ
Ν. Τζωρτζάκις, Κ. Ταρλατζής, Κ. Β. Σωτηρόπουλος

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Βοτανικός Κήπος - 'Αθήναι (Τ3)

SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE HELLÉNIQUE
Jardin Botanique - Athènes (T3)

HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY
Botanical Gardens - Athens (T3)

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

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

Άδεια χρήσης Creative Commons Αναφορά-Μη Εμπορική Χρήση 4.0.

Βιβλιογραφική αναφορά:

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. *Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, *12*(4), 187–193. https://doi.org/10.12681/jhvms.17871

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

Ὑπὸ

Ν. ΤΖΩΡΤΖΑΚΙ, Χ. ΠΑΠΠΟΥ, Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΥ, Δ. ΜΠΡΟΒΑ, Ι. ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗ καὶ Α. ΣΕΙΜΕΝΗ

I

Ἐκ τοῦ Ἰνστιτούτου Ἀφθώδους Πυρετοῦ
Διευθυντής: Ν. Τζωρτζάκις

Εἰς προγενεστέραν ἀνακοίνωσίν μας (1) ἐπὶ τῆς καλλιεργείας τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ ἐπὶ ἱστοκαλλιεργημάτων εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα, 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) μιᾶς ταχυτέρας 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, ἤτοι τοῦ κλασικοῦ ὑποστρώματος Hank καὶ ἑνὸς ἑτέρου συνισταμένου εἰς τὸ θρεπτικὸν ὑλικὸν Frenkel ** (2)

** Σύνθεσις ὑποστρώματος Frenkel.

Δι' ἓν 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
$MgCl_2 6H_2O$	90	mgrs
$NaHCO_3$	1000	mgrs
Niacine	1	mgr
l - Lysine HCl	200	mgrs
l - Arginine HCl	50	mgrs
Pantothénate de Ca	0,25	mgr
d. l - Thréonine	85	mgrs
d. l - Méthionine	200	mgrs
l - Leucine	130	mgrs
d. l - Phénylalanine	50	mgrs
d. l - Tryptophane	100	mgrs
l - Histidine HCl	38	mgrs
Isobuffer	32	c. c.
Eau bidistillée	1000	c. c.

* Ἐστάλη πρὸς δημοσίευσιν τὴν 1ην Νοεμβρίου 1961.

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

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

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

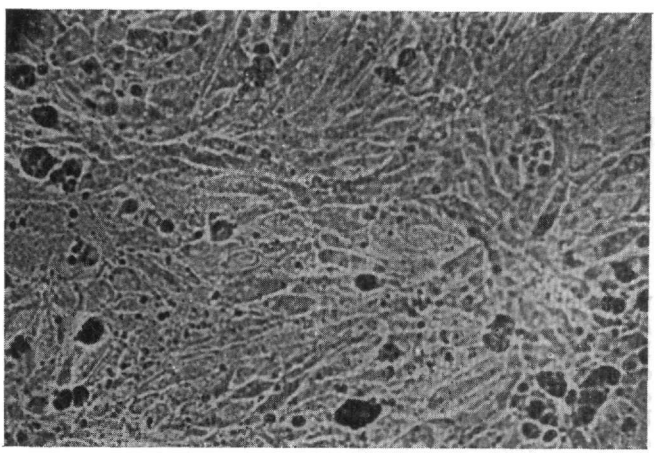
2) Θρεπτικὰ ὑλικὰ ἀναπτύξεως. Ἐχρησιμοποιήθησαν:

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

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

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 πειραματικήν μας ταύτην μελέτην ἐχρησιμοποιήσαμεν στέλεχος ἰοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ, τύπου C Ὁλλανδίας (Odoorn), προσηρμοσμένου ἐπὶ ἱστοκαλλιεργημάτων, τρίτης κυτταρικῆς διόδου, ἔχοντος τί-

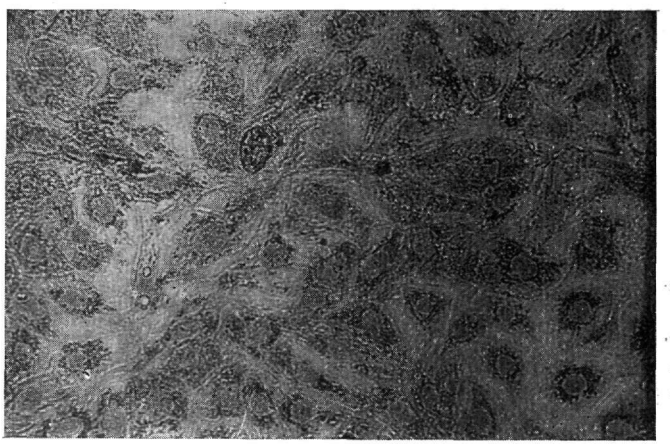


Εἰκὼν 1.— Ἱστοκαλλιέργημα 5 ἡμερῶν × 128 Zeiss à frais

τλον D. I. C. T. 50 % (Dose Infectious Culture Tissue 50 %) $10^{-5,5}$/0,2 κ. ἑκ. καὶ συντηρουμένου ἐν ἀποθέματι εἰς τοὺς —16° C.

Διὰ τῶν ἀνωτέρω ἀναφερομένων θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων προέβημεν εἰς καλλιεργείας κυττάρων χρησιμοποιήσαντες ἀνὰ 10 φιάλας Roux, ἑκάστη τῶν ὁποίων περιεῖχε 100 κ. ἑκ. ἐναιωρήματος κυττάρων.

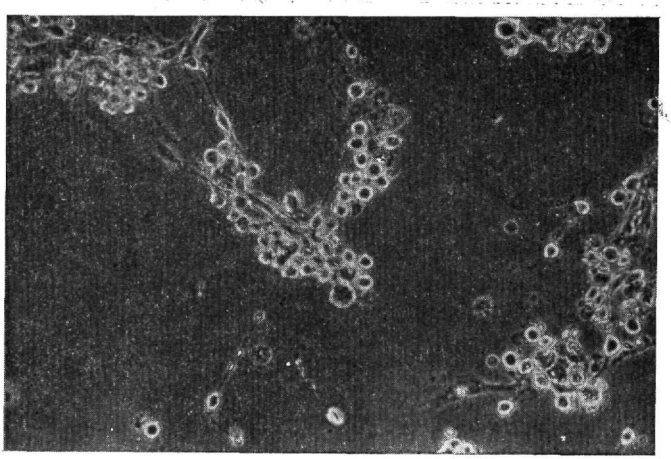
Ὡς πρὸς τὸν ἰόν, διὰ τούτου ἐνοφθαλμίζονται συγχρόνως καὶ αἱ δύο



Εἰκὼν 2. — Ἱστοκαλλιέργημα 5 ἡμερῶν × 128 Zeiss
Χρῶσις : Αἱματοξυλίνη - Ἠωσίνη

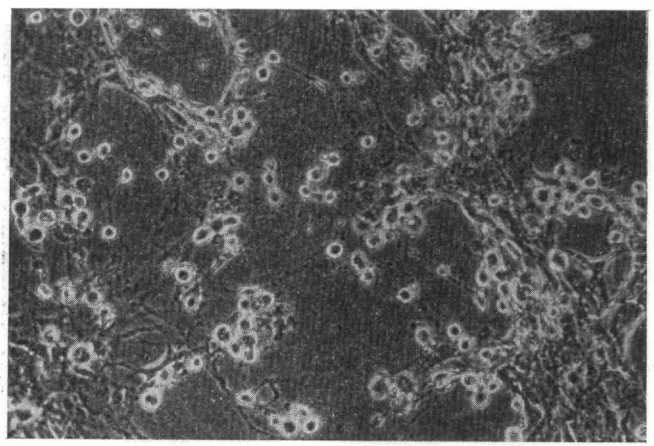
ὁμάδες φιαλῶν Roux διὰ ποσότητος ἑνὸς κ. ἑκ. ἐναιωρήματος κυττάρων.

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

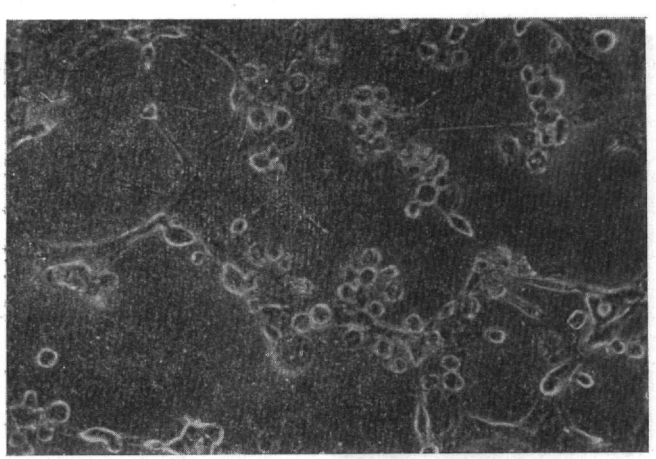


Εἰκὼν 3.

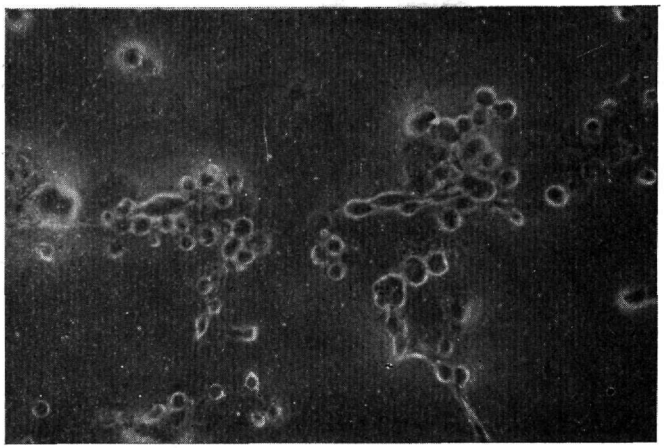
φθαλμισθέντων ἱστοκαλλιεργημάτων πρὸς τιτλοποίησιν τοῦ καλλιεργηθέντος ἰοῦ, παραλλήλως δὲ ταῦτα ἐξετάζονται μικροσκοπικῶς πρὸς διαπίστωσιν τῆς κυτταροπαθογονικῆς ἐνεργείας τοῦ ἰοῦ.



Εἰκὼν 4.



Εἰκὼν 5.



Εἰκὼν 1, 2, 3, 4.—Κυτταροπαθογονικὴ ἐνέργεια τοῦ ἰοῦ C εἰς διάφορα στάδια × 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 τῆν 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 μορφολογική των εἰκὼν μικροσκοπικῶς δὲν ἐνεφανίζετο τόσον ἱκανοποιητική, 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 ρυθμόν, τοῦ πλήρους ταπητίου σχηματιζομένου τὴν 4ην ἢ τὴν 5ην ἡμέραν. Εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν τὸ pH τοῦ καλλιεργήματος μετεβάλλετο ὡσαύτως, παρουσιάζον ἐλαφρὰν ὄξινον ἀντίδρασιν (pH 7).

Ἐκ τῆς μικροσκοπικῆς ἐξετάσεως τῶν κυττάρων τοῦ πλήρους ταπη-

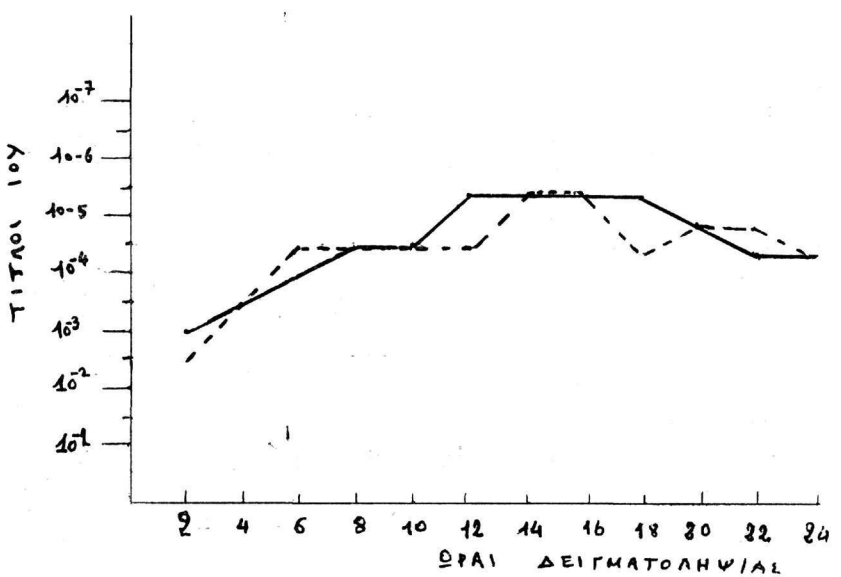
τίου, δὲν διεπιστώθη ἡ ὕπαρξις τοιούτων φερόντων κενοτόπια, γενικῶς δὲ τὰ κύτταρα παρουσιάζοντο μορφολογικῶς τελείως φυσιολογικά.

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 ἐνοφθαλμισμοῦ, 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 ἐκαλλιεργήσαμεν ὡσαύτως νεφρικὰ κύτταρα μόσχου, κυνός, λευκῶν μυῶν καὶ ἐμβρύων αὐτῶν ὡς καὶ κονίκλου διὰ τῆς αὐτῆς πάντοτε μεθόδου, ἡ δὲ ἀνάπτυξις τῶν κυττάρων τούτων εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα ἦτο ἀρκούντως ἱκανοποιητική.

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 ἑνὸς λογαρίθμου κατὰ τὴν 24ην ὥραν.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω προκύπτει ὅτι :

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

πτικὸν ὑπόστρωμα Frenkel συντελεῖται εἰς ταχύτερον ρυθμὸν καὶ τυγχάνει συγκριτικῶς ἀρτιωτέρα, οὕτω δὲ ἐπιταχύνεται ὁ ὅλος κύκλος τῶν ἐργασιῶν καὶ κατὰ συνέπειαν ἐπιτυγχάνεται ἡ παραγωγὴ μεγαλυτέρας ποσότητος ἰοῦ ἐντὸς μιᾶς ὡρισμένης χρονικῆς περιόδου.

2) Ὁ ἰὸς C ἀναπτύσσεται εὐχερῶς καὶ εἰς τὰς δύο ὁμάδας τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων, τὸ δὲ μέγιστον τοῦ τίτλου του ἐπιτυγχάνεται εἰς ἀμφοτέρας τὰς περιπτώσεις μεταξὺ τῆς 14ης καὶ 16ης ὥρας, ἐπακολουθητικῶς ὅμως παρουσιάζεται μείωσις τούτου ἐξικνουμένη κατὰ τὴν 24ην ὥραν μέχρις ἑνὸς λογαρίθμου καὶ μὲ περαιτέρω πτῶσιν αὐτοῦ.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

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

Ὡσαύτως μελετᾶται ἡ καλλιέργεια τοῦ ἰοῦ 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.**: Προσωπικὴ ἀνακοίνωσις 1955.

RESUMÉ

Les auteurs se rapportent à une modification apportée par eux au milieu nutritif et éxaminent 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.

SUMMARY

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 eellule renali di suinetti.

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