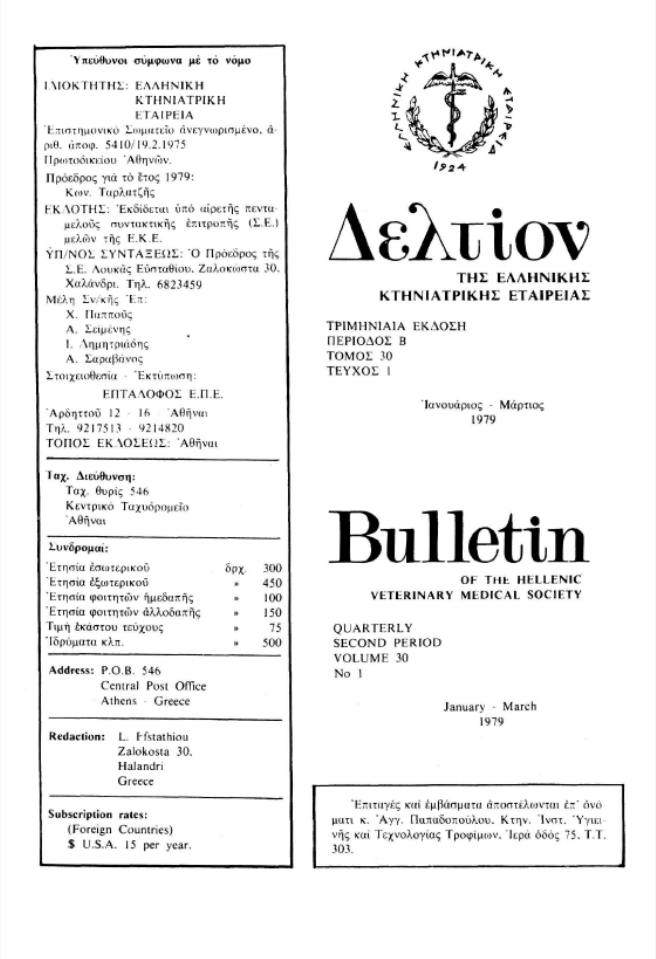
ePublishing

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 30, No 1 (1979)



Υπεύθυνοι σύμφωνα με τό νόμο

ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Ἐπιστημονικό Σωματεῖο ἀνεγνωρισμένο, ἀριθ. ἀποφ. 5410/19.2.1975 Πρωτοδικείου Ἀθηνῶν.
Πρόεδρος γιά τό ἔτος 1979: Κων. Ταρλατζῆς
ΕΚΔΟΤΗΣ: Ἐκδίδεται ὑπό αἱρετῆς πενταμελοῦς συντακτικῆς ἐπιτροπῆς (Σ.Ε.) μελῶν τῆς Ε.Κ.Ε.
ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: Ὁ Πρόεδρος τῆς Σ.Ε. Λουκᾶς Εὐσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι. Τηλ. 6823459
Μέλη Συν/κῆς Ἐπ:
Χ. Παππούς
Α. Σαμένης
Ι. Δημητριάδης
Α. Σαραβάνος
Στοιχειοθεσία - Ἐκτύπωση:
ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Ε.Π.Ε.
Ἀρδηττοῦ 12 - 16 - Ἀθῆναι
Τηλ. 9217513 - 9214820
ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: Ἀθῆναι

Ταχ. Διεύθυνση:
Ταχ. θυρίς 546
Κεντρικό Ταχυδρομεῖο
Ἀθῆναι

Συνδρομαί:

Ἐτησία ἐσωτερικοῦ	δρχ.	300
Ἐτησία ἐξωτερικοῦ	»	450
Ἐτησία φοιτητῶν ἡμεδαπῆς	»	100
Ἐτησία φοιτητῶν ἀλλοδαπῆς	»	150
Τιμή ἑκάστου τεύχους	»	75
Ἰδρύματα κλπ.	»	500

Address: P.O.B. 546
Central Post Office
Athens - Greece

Redaction: L. Efstathiou
Zalokosta 30,
Halandri
Greece

Subscription rates:
(Foreign Countries)
$ U.S.A. 15 per year.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ 1924

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 30
ΤΕΥΧΟΣ 1

Ἰανουάριος - Μάρτιος
1979

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 30
No 1

January - March
1979

Ἐπιταγές καί ἐμβάσματα ἀποστέλλονται ἐπ' ὀνόματι κ. Ἀγγ. Παπαδοπούλου, Κτην. Ἰνστ. Ὑγιεινῆς καί Τεχνολογίας Τροφίμων, Ἱερά ὁδός 75, Τ.Τ. 303.

Influence of Hyperimmunserum anti-species serum to the kinetics of foot and mouth disease virus (FMPV) neutralisation

Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ

doi: 10.12681/jhvms.21374

Copyright © 2019, Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

To cite this article:

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ Ι. (2019). Influence of Hyperimmunserum anti-species serum to the kinetics of foot and mouth disease virus (FMPV) neutralisation. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *30*(1), 39–46. https://doi.org/10.12681/jhvms.21374

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 04/08/2025 08:47:21

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ, 1979, Τ. 30. τ. 1

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΑΝΟΣΟΥ ΟΡΟΥ ΑΝΤΙ – ΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΟΡΟΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΦΘΩΔΟΥΣ ΠΥΡΕΤΟΥ

Ὑπὸ

Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗ*

Μὲ τεχνικὴ συνεργασία Θ. Τελώνη

INFLUENCE OF HYPERIMMUNSERUM ANTI – SPECIES SERUM TO THE KINETICS OF FOOT-AND MOUTH DISEASE VIRUS (FMDV) NEUTRALISATION

By

I. DIMITRIADIS*

SUMMARY

The influence on the kinetics of neutralisation of FMDV using hyperimmune rabbit serum – anti – guinea pig serum was studied..

The titre of hyperimmune rabbit serum – anti – guinea pig serum used for immunodiffusion was 1:16. The titre of hyperimmune guinea pig antiserum to FMDV, type A_{22}, was 1:50 in the completment fixation test (CFT) (100%) / and 1:512 in the serum neutralisation test.

Into the dilutions of hyperimmune guinea pig antiserum to FMDV type A_{22}, it was added an equal volume of hyperimmune rabbit serum anti – guinea pig serum (dilution 1:10 and 1:40) and the mixture was incubated for 60 at 37°C. Afterwards the titre of hyperimmune guinea pig antiserum to FMDV, type A_{22}, was checked in this mixture by the CFT and the serum neutralisation test using IBRS cells, it seems from the results of these assays that the hyperimmune rabbit serum anti – guinea pig serum does not affect the titre of the guinea pig hyperimmune serum in the CFT whereas in the serummeutralisation test this titre was increased fivefold.

We think that this pihenomenon it might be of value in examing sera with low antibody titre.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ἡ ἐξουδετέρωση ἑνὸς ἰοῦ (ἀντιγόνου) ἀπὸ εἰδικὸ ἀντιορὸ (ἀντισώματα), ἀποτελεῖ ἕναν πολύπλοκο μηχανισμό, ποὺ κατὰ τὴν ἀντίδραση ἐπηρεάζεται κυρίως ἀπὸ τὴν σχέση τοῦ ἀντιγόνου πρὸς τὰ ἀντισώματα, καθὼς ἀπὸ τὶς συνθῆκες καὶ τὸν δείκτη τῆς ἀντίδρασης (1).

Στὴν ἀρχὴ τῆς ἐξουδετέρωσης συνδέεται τὸ ἀντιγόνο (ὁ ἰὸς) ἐλαφρὰ μὲ τὰ εἰδικὰ ἀντισώματα καὶ στὴν συνέχεια ἡ σύνδεση γίνεται πιὸ ἰσχυρὴ καὶ ὁ ἰὸς ἐξουδετερώνεται (1).

*Institut of Foot - and Mouth-Disease. Ag. Paraskeyi, Attiki, Greece

Στὴν προσπάθεια ἐξηγήσεως ὁρισμένων παρατηρήσεων μελετήθηκε ἰδιαίτερα ἡ δεύτερη φάση τῆς ἐξουδετέρωσης ὅπου ὁ ἰὸς ἐξουδετερώνεται ἀπὸ τὰ ἀντισώματα. Ἔτσι ἐξελίχθηκε ἡ κινητικὴ τῆς δοκιμῆς τῆς ὀροεξουδετέρωσης, ποὺ χρησιμοποιεῖται γιὰ τὴν ἐξακρίβωση μικρῶν διαφορῶν μεταξὺ στελεχῶν τοῦ ἰδίου τύπου ἰοῦ (2, 3, 4, 5).

Ὁ Mc Bride (1959) μελέτησε τὴν κινητικὴ τῆς ἐξουδετέρωσης γιὰ νὰ διαφοροποιήσει στελέχη τοῦ ἰοῦ τῆς πολυομυελίτιδος κάνοντας σύγκριση ὁμόλογες καὶ ἑτερόλογες ἀντιδράσεις (5).

Ὁ ἰὸς τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ παρουσιάζει ἀνωμαλίες στὴν κινητικὴ τῆς ὀροεξουδετέρωσης (6). Κατ' ἄλλους ἡ ἐξουδετέρωση τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ γίνεται τόσο γρήγορα, ποὺ δὲν εἶναι δυνατὴ ἡ μελέτη τῆς κινητικῆς τῆς ἐξουδετέρωσης (7).

Παρ' ὅλα ὅμως αὐτὰ ἔγιναν καὶ γίνονται πολλὲς μελέτες τῆς κινητικῆς τῆς ἐξουδετέρωσης τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ μὲ σκοπὸ τὴν διαφοροποίηση τῶν στελεχῶν (8, 9, 10, 11).

Ὁ Rweyemamu (1976) μελέτησε τὴν κινητικὴ τῆς ἐξουδετέρωσης τοῦ τύπου SAT 2 καὶ παρατήρησε, πὼς τὸ ποσοστὸ τῆς ἐξουδετέρωσης τοῦ ἰοῦ σὲ πολλὲς περιπτώσεις δὲν ἦταν εὐθύγραμμο. Τὸ ποσοστὸ παρέκλισης ἐλαττώνεται ἂν ὁ ἀντιορὸς διαλυθεῖ. Μετὰ ἀπὸ αὐτό, παρατήρησε, ὅτι ἡ παρουσία ὑπερανόσου ὀροῦ αἰγὸς ἀντὶ ὀροῦ κονίκλου στὴν ἀντίδραση ἰοῦ SAT 2 μὲ τὸν εἰδικὸ ὑπεράνοσο ὀρὸ ἰνδοχοίρου, αὐξάνει τὸ ποσοστὸ τῆς ἐξουδετέρωσης τῆς ὁμολόγου καὶ ἑτερολόγου ἀντίδρασης χωρὶς καμία σημαντικὴ διαφοροποίηση τῆς σχέσης μεταξὺ ὁμολόγου καὶ ἑτερολόγου ἀντίδρασης (11).

Στὴν ἐργασία αὐτὴ θὰ μελετηθῆ ἡ ἐπίδραση τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου (κατὰ φυσιολογικοῦ ὀροῦ ἰνδοχοίρου) στὸν τίτλο ἐκτροπῆς τοῦ συμπληρώματος καὶ ἐξουδετέρωσης τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ (Α.Π.) τύπου A_{22} (Α. Ξάνθης) ἀπὸ ὁμόλογο ὑπεράνοσο ὀρό.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ὁ φυσιολογικὸς ὀρὸς ἰνδοχοίρου προέρχεται ἀπὸ ἰνδόχοιρο ποὺ δὲν ἔχει καμία ἐμπειρία μὲ τὸν ἰὸ Α.Π.

Ὀρὸς κονίκλου ἀντι–ὀροῦ ἰνδοχοίρου: Φυσιολογικὸς ὀρὸς ἰνδοχοίρου ἀνακατεμένος μὲ ἐνισχυτικὴ οὐσία (πλῆρες ἐνισχυτικὸ τοῦ Freund) ἐνοφθαλμίστηκε ἐνδομυϊκῶς μία φορὰ τὴν ἑβδομάδα, ἐπὶ 6 ἑβδομάδες. Κάθε φορὰ ἐνοφθαλμίζονταν 1 κυβ. ἑκ. ὀρὸς ἀνακατεμένος καλὰ μὲ 1 κυβ. ἑκ. ἐνισχυτικῆς οὐσίας. Δύο ἑβδομάδες μετὰ τὸν τελευταῖο ἐνοφθαλμισμὸ ἀφαιμάχθηκαν οἱ κόνικλοι καὶ ἀφοῦ ὁ ὀρὸς ἐλέγχθηκε στὴν ἀνοσοδιάχυση (μὲ τὴν μέθοδο τοῦ Ouchterlony) τοποθετήθηκε σὲ φύσιγγες τοῦ 1 κυβ. ἑκ, στὴν κατάψυξη (-18°C).

Ὑπεράνοσος ὀρὸς ἰνδοχοίρου ἀντι-ἰοῦ Α.Π.: Πρῶτα μολύνθηκαν τὰ ἰνδοχοιρίδια ἐνδοδερμικῶς (στὸ πέλμα) μὲ ἰὸ τύπου A_{22} προσαρμοσμένο σὲ ἰνδοχοιρίδια. Σαράντα περίπου μέρες μετὰ τὴν μόλυνση ἐνοφθαλμίστηκε ὁ ἴδιος ἰὸς ἀνακατεμένος σὲ ἴσα μέρη μὲ πλήρη ἐνισχυτικὸ τοῦ Freund (1 κυβ. ἑκ. + 1 κυβ. ἑκ.) ὑποδορίως 3 φορὲς σὲ διάστημα 10 ἡμερῶν. Δύο ἑβδομάδες μετὰ τὴν τελευταία ἔγχυση ἔγινε ἀφαίμαξη τῶν ζώων καὶ ἀφοῦ ἐλέγχθηκε ὁ ὀρὸς στὴν ἐκτροπὴ τοῦ συμπληρώματος καὶ στὴν ὀροεξουδετέρωση, τοποθετήθηκε σὲ φύσιγγες τοῦ 1 κυβ. ἑκ. στὴν κατάψυξη (-18°C).

Ἀνοσοδιάχυση (κατὰ Ouchterlony):

Ἡ ἀνοσοδιάχυση διπλῆς κατευθυνσεως, γιὰ τὸν ἔλεγχο τῶν ἀντιορῶν ἔγινε ἐπάνω σὲ ἀντικειμενοφόρες πλάκες μὲ 3 κυβ. ἑκ. 1% ἄγαρ (Merck), διαλυμένο μέσα σὲ βερονάλη 0,06 M pH 8,6 (1,66 γραμ. Barbital, 12,76 γραμ. Na-

trium Diethyl Barbital σὲ 1200 κυβ. ἑκ. ἀπεσταγμένο νερὸ) μὲ 1:10.000 Natrium Azid.

Μετὰ τὸ σφράγισμα τῶν πλακῶν καὶ τὴν ἐκκένωση τοῦ ἄγαρ ἀπὸ τὶς ὀπές, τοποθετήθηκε στὴν κεντρικὴ ὀπὴ ὁ ὁρὸς ἰνδοχοίρου ἀδιάλυτος καὶ στὶς περιφεριακὲς ὀπὲς τοποθετήθηκαν ἀραιώσεις τῶν πρὸς ἐξέταση ὑπερανόσων ὁρῶν (1/2 — 1/64) κονίκλων.

Ἡ ἀντίδραση τῆς ἀνοσοδιάχυσης ἔγινε μέσα σὲ ὑγρὸ κλίβανο στοὺς 4°C ἐπὶ ἕνα 24-ωρο.

Μετὰ τὴν ἀντίδραση, οἱ πλάκες τοποθετήθηκαν μέσα σὲ διάλυμα 1% χλωριούχου νατρίου μὲ 1:10.000 Natrium Azid καὶ ξεπλύθηκαν γιὰ 3 μέρες, μὲ συχνὲς ἀλλαγὲς τοῦ διαλύματος, σὲ θερμοκρασία δωματίου. Στὴ συνέχεια ἐπακολούθησε πλύσιμο τῶν πλακῶν γιὰ 2 ὧρες μέσα σὲ ἀπεσταγμένο νερὸ καὶ τοποθετήθηκαν στοὺς 37°C νὰ ξεραθοῦν.

Ἡ χρώση τῶν πλακῶν ἔγινε μὲ 0,8% Amidoschwarz διαλυμένο μέσα σὲ 2% ὀξικὸ ὀξὺ γιὰ 30′ καὶ ἡ ἀπόχρωσή των μέσα σὲ 2% ὀξυκὸ ὀξύ.

Ἀνοσοηλεκτροφόρηση (κατὰ Scheidegger):

Ἡ ἀνοσοηλεκτροφόρηση ἔγινε, ὅπως καὶ ἡ ἀνοσοδιάχυση, ἐπάνω σὲ ἀντικειμενοφόρες πλάκες, μὲ 3 κυβ. ἑκ. 1% ἄγαρ.

Τὸ ἄγαρ, ἐπάνω στὶς πλάκες, σφραγίστηκε μὲ εἰδικὴ σφραγίδα (δύο ὀπῶν καὶ ἑνὸς αὐλακιοῦ) ἐκκενώθηκαν οἱ δύο ὀπὲς καὶ τοποθετήθηκε σ' αὐτὲς ὁ ὁρὸς ἰνδοχοίρου καὶ ἐπακολούθησε ἡ ἠλεκτροφόρηση 135′ μὲ 2,5 mA κατὰ 1 ἑκατ. πλάτους. Ὡς ἠλεκτρολύτης χρησιμοποιήθηκε ἡ ἴδια βερονάλη ὅπου διαλύθηκε τὸ 1% ἄγαρ. Μετὰ τὴν ἠλεκτροφόρηση ἐκκενώθηκε τὸ ἄγαρ ἀπὸ τὸ μεσαῖο αὐλάκι, τοποθετήθηκε σ' αὐτὸ ὁ ὁρὸς κονίκλου ἀντὶ-ὁροῦ ἰνδοχοίρου καὶ ἐπακολούθησε ἡ ἀνοσοδιάχυση μέσα σὲ ὑγρὸ κλίβανο στοὺς 4°C/24ωρο. Στὴ συνέχεια ἡ ἐπεξεργασία τῶν πλακῶν ἔγινε ὅπως καὶ στὴν ἀνοσοδιάχυση (βλ. ἐκεῖ).

Ἐκτροπὴ τοῦ συμπληρώματος. Ὁ ὑπεράνοσος ὁρὸς ἰνδοχοίρου κατὰ τοῦ ἰοῦ Α.Π. τύπου A_{22} ἀραιώθηκε ἀριθμητικὰ σὲ διπλὴ σειρὰ (1:20 — 1:80) σὲ ὄγκο 0,40 κυβ. ἑκατ. Σὲ κάθε ἀραίωση προστέθηκε 0,40 κυβ. ἑκατ. ὑπεράνοσος ὁρὸς κονίκλου ἀντὶ-ὁροῦ ἰνδοχοίρου, ἀραιωμένο 1:10 στὴ μία καὶ 1:40 στὴν ἄλλη σειρά. Ὁ ὑπεράνοσος ὁρὸς κονίκλου, προτοῦ ἀραιωθεῖ, ἀδρανοποιήθηκε στοὺς 56°C γιὰ 30′.

Τὸ μεῖγμα αὐτὸ (ἀραιώσεις ὑπερανόσου ὁροῦ ἰνδοχοίρου κατὰ τοῦ ἰοῦ τοῦ ἀφθώδους πυρετοῦ καὶ ὑπεράνοσος ὁρὸς κονίκλου ἀντὶ-ὁροῦ ἰνδοχοίρου), ἐπωάσθηκε μία ὥρα στοὺς 37°C καὶ στὴ συνέχεια προστέθηκε σ' αὐτὸ ἀλεξίνη (δύο μονάδες) καὶ ἰὸς (0,5 κυβ. ἑκατ. κυτταρικὸς ἰὸς Α.Π. τύπου A_{22}). Μετὰ ἀπὸ ἐπώαση μισῆς ὥρας στοὺς 37°C προστέθηκε τὸ αἱμολυτικὸ σύστημα (0,5 κυβ. ἑκατ.) καὶ ξαναεπωάσθηκε 30′/37°C. Ἡ ἀνάγνωση τῆς ἀντίδρασης ἔγινε μετὰ ἀπὸ φυγοκέντρηση 10′/15.00 UPM.

Ὀροεξουδετέρωση

Ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς ἰνδοχοίρου ἀντὶ-A_{22} ἀραιώθηκε μὲ λογάριθμο τοῦ 2. Ἡ ἀραίωση ἔγινε μὲ Eau Tampone. Ἀπὸ τὶς ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ ἰνδοχοίρου 1:256 ἕως 1:4096 ἔγινε μετάγγιση ἀπὸ 0,5 κυβ. ἑκατ. σὲ τρεῖς σειρὲς δοκιμαστικῶν σωλήνων. Στὴν πρώτη σειρὰ προστέθηκε 0,5 κυβ. ἑκατ. ἀπὸ τὴν ἀραίωση 1:10 τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ ὀροῦ ἰνδοχοίρου καὶ στὴν δεύτερη σειρὰ ἀπὸ τὴν ἀραίωση 1:40, ἐνῶ στὴν τρίτη σειρὰ προστέθηκε 0,5 κυβ. ἑκατ. ἀπὸ τὸ ὑλικὸ καλλιεργείας (Earle), ἐπακολούθησε ἐπώαση τοῦ μείγματος αὐτοῦ γιὰ 60΄/37°C (=πρώτη ὀροεξουδετέρωση) καὶ στὴ συνέχεια προστέθηκε σ' ὅλους τοὺς σωλῆνες ἀπὸ 0,5 κυβ. ἑκατ. ἰοῦ A_{22} μὲ 1.000 $DCID_{50}$ κατὰ κυβ. ἑκατ. καὶ ἐπωάστηκε πάλι γιὰ 60΄/37°C (=δεύτερη ὀροεξουδετέρωση).

Ἀπὸ τὸ μεῖγμα αὐτὸ (ὀρὸς ἰνδοχοίρου + ὀρὸς κονίκλου ἢ ὑλικὸ καλλιεργείας + ἰὸς A_{22}) ἐνοφθαλμίστηκε 0,3 κυβ. ἑκατ. σὲ κυτταροκαλλιέργιες. Γιὰ κάθε ἀραίωση ὀροῦ χρησιμοποιήθηκαν 4 σωλῆνες μὲ πλῆρες ταπήτιο κυττάρων IBRS 3 ἡμερῶν. Πρὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ, τὰ κύττάρα ξεπλύθηκαν μὲ ὑλικὸ Earle, προστέθηκε σ' αὐτὰ 1,2 κυβ. ἑκατ. ἀπὸ τὸ ἴδιο ὑλικό, ὅπου στὴ συνέχεια ἐνοφθαλμίστηκε 0,3 κυβ. ἑκατ. ἀπὸ τὸ μεῖγμα καὶ ἐπωάστηκε στοὺς 37°C. Παράλληλα ἔγιναν μάρτυρες ἰοῦ, ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου καὶ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου.

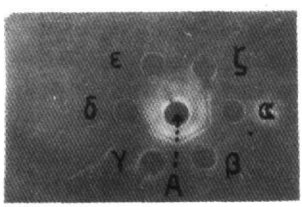
Ἡ ἀνάγνωση ἔγινε 48 ὧρες μετὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸ τῶν κυττάρων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

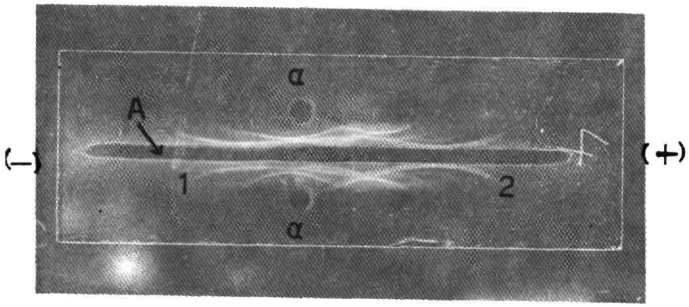
Ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἔδωσε γραμμὲς ἰζηματινῶν στὴν ἀνοσοδιάχυση διπλῆς κατευθύνσεως ἔναντι πλήρους ὀροῦ ἰνδοχοίρου μέχρι καὶ τὴν ἀραίωση 1:16 (βλέπε φωτ. 1).

Στὴν ἀνοσοηλεκτροφόρηση φαίνεται πὼς ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἔχει ἀντισώματα κατὰ διαφόρων πρωτεϊνῶν τοῦ ὀροῦ ἰνδοχοίρου (βλ. φωτ. 2).

Στὴν ἐκτροπὴ τοῦ συμπληρώματος γιὰ τὸν ἔλεγχο τῆς ἐπίδρασης τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου στὸν τίτλο τῆς ἐκτροπῆς τοῦ συμπληρώματος τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἀντὶ-ἰοῦ A_{22}, δὲν παρατηρήθηκε καμία αὐξομείωση τοῦ τίτλου τοῦ ὀροῦ. Ὁ ὀρὸς ἔχει ἕναν τίτλο ἐκτροπῆς τοῦ συμπληρώματος (100%) στὴν ἀραίωση 1:50 μὲ καὶ χωρὶς προσθή-



Φωτ. No 1
Ἀνοσοδιάχυση ἐπάνω σὲ ἀντικειμενοφόρο πλάκα ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-πλήρους ὀροῦ ἰνδοχοίρου (α-ζ ἀραιώσεις ἀπὸ 1:2 ἕως 1:64).
Α = πλήρης ὀρὸς ἰνδοχοίρου.



Φωτ. Νο 2
Ἀνοσοηλεκτροφόρηση πλήρους ὀροῦ ἰνδοχοίρου (α,α). Στὸ αὐλάκι τοποθετήθηκε ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντὶ-πλήρους ὀροῦ ἰνδοχοίρου (Α) 1=σφαιρίνες, 2=ἀλβουμίνες. (–) Κάθοδος (+) Ἄνοδος.

κη τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου. Ἡ παρουσία τοῦ ὀροῦ κονίκλου εἶχε μερικὴ ἀντισυμπληρωματικὴ δράση.

Ἐνῶ ὁ τίτλος τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου στὴν ὀροεξουδετέρωση εἶναι $10^{-2,64}$ (=1:500), μετὰ τὴν πρώτη ὀροεξουδετέρωση (προσθήκη ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου σὲ ἀραίωση 1:10 καὶ 1:40), ὁ τίτλος τοῦ ἰδίου ὀροῦ εἶναι $10^{-3,40}$ (=1:2.500) δηλαδὴ παρατηρεῖται μία σημαντικὴ (5-πλάσια) αὔξηση τοῦ τίτλου, ἤτοι αὔξηση τῆς εὐαισθησίας ἀνιχνεύσεως ἀντισωμάτων.

Τὸ φαινόμενο αὐτό, βάσει τῶν γνώσεων καὶ τῆς βιβλιογραφίας ποὺ ἔχουμε, εἶναι δύσκολο νὰ ἐξηγηθεῖ.

Στὸν ὀρὸ ἑνὸς ζώου ὑπάρχουν διάφορες σφαιρίνες μὲ ποσοτικὲς καὶ ποιοτικὲς διαφορές. Μία σφαιρίνη, ὡς πρωτεῖνη, ἀποτελεῖ πάντα ἕνα φυσικὸ ἀντιγόνο. Ἡ ἀντιγονικότητα τῆς σφαιρίνης καθορίζεται ἀπὸ ὁρισμένες περιοχὲς (Determinante) τοῦ μορίου τῆς σφαιρίνης, καὶ περιορίζεται σὲ ὁρισμένα μόνον ἀμινοξέα καὶ ἀνάλογα μὲ τὸν ἀριθμὸ αὐτῶν τῶν περιοχῶν, λέγονται μονο-ἢ πολυσθενῆ. Μιὰ πρωτεῖνη, ὡς ἀντιγόνο, εἶναι συνήθως πολυσθενές, ἀλλὰ μπορεῖ καὶ συνδέεται μόνον μὲ 4-6 μόρια ἀντισωμάτων λόγω ἐλλείψεως χώρου (12).

Ἂν οἱ καθοριστικὲς περιοχὲς τοῦ ἀντιγόνου διασπαστοῦν ἀπὸ τὸ πλῆρες μόριο τῆς πρωτεῖνης, διατηροῦν τὴν ἱκανότητα νὰ συνδέονται μὲ τὸ ὁμόλογο ἀντίσωμα τοῦ πλήρους ἀντιγόνου χωρὶς ὅμως νὰ μποροῦν πιὰ νὰ προκαλοῦν τὴν δημιουργία ἀντισωμάτων (12).

Οἱ σφαιρῖνες, ποὺ δημιουργοῦνται ὕστερα ἀπὸ μιὰ ἐμπειρία τοῦ ὀργανισμοῦ μὲ κάποιο ἀντιγόνο, εἶναι οἱ ἀνοσοσφαιρίνες. Αὐτὲς διαφέρουν ἀπὸ τὶς

φυσιολογικὲς σφαιρίνες στὸ ὅτι μποροῦν καὶ ἀντιδροῦν μὲ τὸ ὁμόλογο ἀντιγόνο. Ἀντιγονικὰ οἱ ἀνοσοσφαιρίνες δὲν διαφέρουν ἀπὸ τὶς ἀνίστοιχες φυσιολογικὲς σφαιρίνες (φυσιολογικὲς IgG ἀπὸ ἄνοσο — IgG). Μία παρεντερικὴ ἔγχυση πλήρους ὀροῦ ἰνδοχοίρου (σφαιρίνες, ἀλμπουμίνες) σὲ κουνέλι, προξενεῖ τὴν δημιουργία ἀντισωμάτων κατὰ ὅλων τῶν πρωτεϊνῶν τοῦ ὀροῦ ἰνδοχοίρου ποὺ ἐνοφθαλμίστηκε στὸ κουνέλι. Οἱ ἀνοσοσφαιρίνες κονίκλου ἀντὶ-ἰνδοχοίρου δὲν μποροῦν δηλαδὴ νὰ διακρίνουν τὶς φυσιολογικὲς ἀπὸ τὶς ἀνοσοσφαιρίνες ἰνδοχοίρου καὶ γι' αὐτὸ δίνουν τὴν ἴδια ἀντίδραση. Αὐτὸ φαίνεται πολὺ καλὰ στὴν ἀνοσοηλεκτροφόρηση, ὅπου σχηματίζονται τόξα ἰζηματινῶν μεταξὺ ἀντιγόνου καὶ ἀντισώματος, ἀνάλογα καὶ ἀντίστοιχα μὲ τὰ ἀντιγόνα ποὺ ἐνοφθαλμίστηκαν στὸ κουνέλι.

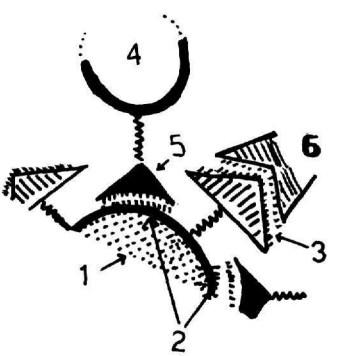
Μιὰ ἀνάμιξη ἑνὸς ἀντιοροῦ (κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου) μὲ τὸ ἀντίστοιχο ἀντιγόνο (ὀρὸς ἰνδοχοίρου) σὲ μιὰ ὁρισμένη ἀναλογία, IN VITRO, ἐπιφέρει σχετικὸ κορεσμὸ καὶ ἐξουδετέρωση τοῦ ἀντιοροῦ.

Κατὰ τὴν πρώτη ἀντίδραση τῆς διπλῆς ὀροεξουδετέρωσης συνδέθηκαν τὰ ἀντισώματα τοῦ ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου μὲ τὶς καθοριστικὲς περιοχὲς τοῦ ἀντιγόνου τῶν πρωτεϊνῶν (σφαιρινῶν) τοῦ ὀροῦ ἰνδοχοίρου, χωρὶς ὅμως νὰ ἐπέλθει κάποια σύνδεση καὶ μὲ τὶς ἀντισωματικὲς περιοχὲς αὐτῶν (βλέπε σκίτσο 1).

Κατὰ τὴν δεύτερη ἀντίδραση τῆς διπλῆς ὀροεξουδετέρωσης, ἡ σύνδεση ἔγινε μεταξὺ τῶν ἀντισωματικῶν περιοχῶν τῶν ἀνοσοσφαιρινῶν ἰνδοχοίρου μὲ τὸν ὁμόλογο ἰὸ (ἰὸς Α.Π. τύπος A_{22} (βλέπε σκίτσο 1) καὶ ἐξουδετέρωσε αὐτόν.

Παράλληλα ἔγινε ἀντίδραση τοῦ ἰδίου ὑπερανόσου ὀροῦ μὲ τὸν ἴδιο ὀρό, κάτω ἀπὸ τὶς ἴδιες συνθῆκες, ἀλλὰ χωρὶς τὴν ἐπίδραση (σύνδεση) σ' αὐτὸν τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντὶ-ὀροῦ ἰνδοχοίρου κατὰ τὴν πρώτη ἀντίδραση.

Συγκριτικά, μεταξὺ αὐτῶν τῶν δύο διαφορετικῶν ὀροεξουδετερώσεων τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἀντὶ-ἰοῦ A_{22} (Α-Ξάνθης) παρατηρεῖται μιὰ σημαντικὴ διαφορὰ τίτλου ὀροεξουδετερώσεως πρὸς ὄφελος τῆς ἀντίδρασης, ὅπου ἐπέδρασε ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντὶ ἰνδοχοίρου.



Σκίτσο Νο 1

1. ἀνοσοσφαιρίνη ἰνδοχοίρου ἀντὶ ἰοῦ Α.Π.
2. ἀντιγονικὲς περιοχὲς (Determinante) τῆς 1
3. ἀντισωματικὴ περιοχὴ (σθένος) τῆς 1
4. ἀνοσοσφαιρίνη κονίκλου ἀντὶ σφαιρίνης (ὀροῦ) ἰνδοχοίρου
5. ἀντισωματικὴ περιοχὴ (σθένος) τῆς 4
6. ἰὸς Α.Π.

Ἡ δυνατότητα τῶν ὀρολογικῶν μεθόδων γιὰ τὴν ἀνίχνευση ἀντισωμάτων ἐξαρτᾶται ἐκτὸς τῶν ἄλλων καὶ ἀπὸ τὴν ποσότητα τῶν εἰδικῶν ἀντισωμάτων ποὺ θὰ ἀντιδράσουν μὲ τὸ ὁμόλογο ἀντιγόνο. Ἡ ἀντίδραση μεταξὺ ἀντιγόνου καὶ ἀντισώματος ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὴν ποσοτικὴ σχέσει αὐτῶν. Γι' αὐτὸ πάντα γίνονται διάφορες ἀραιώσεις τοῦ ἑνὸς ἢ τοῦ ἄλλου ἢ καὶ τῶν δύο παραγόντων γιὰ νὰ βρεθεῖ ἡ κατάλληλη μεταξὺ των σχέση.

Ὅταν ὅμως τὰ ἀντισώματα εἶναι πολὺ λίγα καὶ δὲν ἀνιχνεύονται στὸν ἀδιάλυτο ὀρό, τότε γίνονται προσπάθειες συμπυκνώσεως αὐτῶν (15). Τὸ φαινόμενο ποὺ παρατηροῦμε ἐμεῖς στὴν προκειμένη ἐργασία μπορεῖ ἴσως νὰ βοηθήσει πρὸς τὴν κατεύθυνση αὐτή, ἀφοῦ ἐπέρχεται μιὰ σημαντικὴ εὐαισθητοποίηση τῆς μεθόδου ἀνιχνεύσεως τῶν ἀντισωμάτων στὴν ὀροεξουδετέρωση.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι

Ἀραίωση ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἀντι-ἰοῦ Α.Π. τύπου A_{22}	Λογάριθμος ἀραιώσεων	Σωλῆνες		
		Πρώτης σειρᾶς	Δεύτερης σειρᾶς	Τρίτης σειρᾶς
		Μὲ ὑπεράνοσο ὀρὸ κονίκλου ἀντι-ὀροῦ ἰνδοχοίρου		Χωρὶς ὑλικο καλλιερ.
		1:10	1:40	
1 : 256	2,40	— — — —	— — — —	+ — — —
1 : 512	2,70	— — — —	— — — —	+ + + —
1 : 1024	3,00	— — — —	— — — —	+ + + —
1 : 2048	3,30	+ — — —	+ — — —	+ + + —
1 : 4096	3,60	+ + + +	+ + + +	+ + + +
Τίτλος		$10^{-3,40}$	$10^{-3,40}$	$10^{-2,64}$

— = καμία κυτταροπαθογόνος δράση τοῦ ἰοῦ (=ἐξουδετέρωση ἰοῦ).

+ = κυτταροπαθογόνος δράση τοῦ ἰοῦ (ἔλλειψη ἀντισωμάτων).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκε ἡ ἐπίδραση τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ κονίκλου ἀντι-ὀροῦ ἰνδοχοίρου στὴν κινητικὴ τῆς ἐξουδετέρωσης τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ.

Χρησιμοποιήθηκε ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντι-ὀροῦ ἰνδοχοίρου μὲ τίτλο 1:16 στὴν ἀνοσοδιάχυση καὶ ὑπεράνοσος ὀρὸς ἰνδοχοίρου ἀντι-ἰοῦ Α.Π. τύπου A_{22} μὲ τίτλο στὴν ἐκτροπὴ τοῦ συμπληρώματος 100% 1:50 καὶ στὴν ὀροεξουδετέρωση 1:512.

Σὲ ἀραιώσεις τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου ἀντι-ἰοῦ Α.Π. τύπου A_{22} προστέθηκε σὲ ἴσα μέρη ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντι-ὀροῦ ἰνδοχοίρου (σὲ ἀραιώσεις 1:10 καὶ 1:40) καὶ τὸ μεῖγμα ἐπωάσθηκε 60'/37°. Στὴ συνέχεια ἐλέγχθηκε στὸ μεῖγμα αὐτὸ ὁ τίτλος τοῦ ὑπερανόσου ὀροῦ ἰνδοχοίρου ὡς

πρὸς τὸν τύπο A_{22} στὴν Ε.Σ. καὶ στὴν ὀροεξουδετέρωση σὲ κύτταρα IBRS. Ἀπὸ τὰ ἀποτελέσματα τῶν ἐξετάσεων φαίνεται ὅτι ὁ ὑπεράνοσος ὀρὸς κονίκλου ἀντὶ-ἰνδοχοίρου δὲν ἐπηρεάζει τὸν τιτλον ὀροῦ ἰνδοχοίρου στὴν Ε.Σ., ἐνῶ στὴν ὀροεξουδετέρωση αὐξάνει τὸν τίτλον στὸ πενταπλάσιο.

Γίνεται σκέψη ἀξιοποιήσεως τοῦ φαινομένου αὐτοῦ στὴν ἐξέταση ὀρῶν μὲ χαμηλὸ τίτλο ἀντισωμάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mayr, A. et al (1976) Virologische Arbeitsmethoden
2. Dulbecco, R. et al (1956): Virology, 2, 162–
3. Hahon, N. (1970): J. gen Virol., 6, 285–
4. Majer, M. et al (1970): Clin, exp. Immunol., 7, 283–
5. McBride, W.D. (1959): Virology, 7, 45–
6. Capstick, P.B. et al (1959): Arch. ges. Virusforsch., 9, 606–
7. Bradish, C.J. et al (1962): Virology, 18, 378–
8. Wagner, G,G. et al (1971): Journal of Immunol., 106, 656–
9. Martinsen, J.S. (1971): Reasearch in veterinary Science, 12, 399–
10. Forman, A.J. (1975): Journal of Hygiene, 74, 215–
11. Rweyemamu, M.M. et al (1976): Journal of Hygiene, 78, 99–
12. Steffen, C. (1968): Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunopathologie, George Thieme Verlag, Stuttgart.
13. Ouchterlony, O. (1949): Acta pathol. mikrobiol. scand., 26, 507–
14. Scheidegger, J. (1955): Arch. Allergy 7, 103–
15. Meloen, R.H. (1978): Arch of Virology, 58, 35–