

# Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 32, No 3 (1981)

**Υπεύθυνοι σύμφωνα με το νόμο**

ΙΣΙΟΚΤΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Επιστημονικό Σωματείο άνωγειογραφημένο, άρθρο 5410/19.2.1975 Πρωτοδικείου Αθηνών. Πρόεδρος γιά τό έτος 1981: Κων. Ταρλατζής

ΕΚΔΟΤΗΣ: Έκδίδεται υπό αίρετή πενταμελούς συντακτικής επιτροπής (Σ.Ε.) μέλών τής Ε.Κ.Ε.

ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: Ό Πρόεδρος τής Σ.Ε. Λουκάς Εύσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι, Τηλ. 6823459

Μέλη Σν/κής Έπ.:  
 Χ. Παππούς  
 Α Σέμάνης  
 Ι. Δημητριάδης  
 Σ. Κολάγης

Φωτοστοιχειοθεσία - Έκτύπωση:  
 ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.

Άρδηντου 12-16 Αθήνα  
 Τηλ. 9217513 - 9214820  
 ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: Αθήνα

---

**Τοχ. Διεύθυνση:**  
 Τοχ. Θορίς 407  
 Κέντρικο Ταχυδρομείο  
 Αθήνα

---

**Συνδρομές:**

Έτησια έσωτερικού	δρχ.	500
Έτησια έξωτερικού	+	1000
Έτησια φοιτητών ήμεδαλής	+	300
Έτησια φοιτητών άλλουδαλής	+	500
Τιμή έκαστου τεύχους	+	200
Ίδρύματα κ.λπ.	+	1000

---


**Address:** P.O.B. 407  
 Central Post Office  
 Athens - Greece

---

**Redaction:** L. Efstathiou  
 Zalokosta 30,  
 Halandri  
 Greece

---

**Subscription rates:**  
 (Foreign Countries)  
 \$ U.S.A. 20 per year.



**Δελτίον**  
 ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ  
 ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ  
 ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β  
 ΤΟΜΟΣ 32  
 ΤΕΥΧΟΣ 3

ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ  
 1981

**Bulletin**  
 OF THE HELLENIC  
 VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY  
 SECOND PERIOD  
 VOLUME 32  
 No 3

JULY - SEPTEMBER  
 1981

---

Έπιταγές και έμβάσματα αποστέλλονται έπ' όνόματι κ. Στ. Μάλαρη κτην. Ίνστ. Ύγιεινής και τεχνολογίας Τροφίμων, Ίερά όδός 75, Τ.Τ. 303 Αθήνα. Μελέτες, έπιστολές κ.λπ. αποστέλλονται στόν κ. Α. Εύσταθίου, Κτηνιατρικό Ίνστιτούτο Φυσιολογίας, Αναπαραγωγής και Διατροφής Ζώων, Ναυπόλεως 9.25, Άγία Παρασκευή Άττικής.

## Swine vesicular disease. Serological survey by double immunodiffusion assay

I. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ, Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Γ. ΖΑΦΕΙΡΙΟΥ, Θ. ΧΑΤΖΗΣ, Κ. ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

doi: [10.12681/jhvms.21499](https://doi.org/10.12681/jhvms.21499)

Copyright © 2019, I. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ, Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Γ. ΖΑΦΕΙΡΙΟΥ, Θ. ΧΑΤΖΗΣ, Κ. ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΣ



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

### To cite this article:

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ Ι., ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., ΖΑΦΕΙΡΙΟΥ Γ., ΧΑΤΖΗΣ Θ., & ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΣ Κ. (2019). Swine vesicular disease. Serological survey by double immunodiffusion assay. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 32(3), 213-220. <https://doi.org/10.12681/jhvms.21499>

**ΦΥΣΑΛΙΔΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΩΝ ΧΟΙΡΩΝ  
ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΟΚΙΜΗ ΤΗΣ ΔΙΠΛΗΣ  
ΑΝΟΣΟΔΙΑΧΥΣΕΩΣ\***

Υπό

Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗ\*\*, Χ. ΠΑΠΠΟΥ\*\*, Γ. ΖΑΦΕΙΡΙΟΥ\*\*\*, Θ. ΧΑΤΖΗ\*\*\*, Κ. ΓΕΩΡΓΑΚΟ-  
ΠΟΥΛΟΥ\*\*\*

**SWINE VESICULAR DISEASE  
SEROLOGICAL SURVEY BY DOUBLE IMMUNODIFFUSION ASSAY**

I. DIMITRIADIS\*\*, C. PAPPOUS\*\* G. ZAFIRIOU\*\*\*, TH. HATGIS\*\*\*, C. GEORGAKO-  
POULOS\*\*\*

**SUMMARY**

214 sera of 18 herds from the outbreak area and its vicinity were tested by double immuno-diffusion (DID) in agarose gel.

66 sera of 4 herds from the outbreak area were positive in percentages 96-100% by sample. The precipitating antibody titer oscilled 1:2 to 1:32.

The results were identical with those obtained by serum-neutralisation test, so the DID test has the same sensitivity with the latter.

Αφότου of Nardelli και σύν.<sup>1</sup> ταυτοποίησαν για πρώτη φορά την Φυσαλιδώδη Νόσο τών Χοίρων (Φ.Ν.Χ.) στην Ίταλία τó 1966 και τή διαπίστωση, άργότερα τής νόσου σέ διάφορες χώρες τής Εύρώπης και τής Νοτιοανατολικής Άσίας,<sup>2,3,4</sup> πολλές εργαστηριακές δοκιμές έφαρμόστηκαν για τή διάγνωση και τήν όρολογική έρευνα αυτής. Οί δοκιμές αυτές άπευθύνον-ται είτε στή διάγνωση τού ύπαίτιου ιού (Δοκιμή άμεσης σύνδεσης τού συμπληρώμα-

---

\* Ανακοινώθηκε στό 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γεωτεχνικών Έρευνών, Χαλκιδική 5-8/5/1981.

\*\* Ινστιτούτο Άφθώδους Πυρετού, Άγία Παρασκευή Άττικής

\*\*\* Άγροτικό Κτηνιατρείο Μάνδρας Άττικής

\*\*Foot and mouth disease institute, Agia Paraskevi Attikis

\*\*\* Veterinary station, Mandra Attikis

τος<sup>3,5,6,7,8</sup> άνοσοφθορισμού<sup>7,9</sup> είτε στην άνιχνευση τών ειδικών άντισωμάτων της νόσου (δοκιμές άνιχνεύσεως έξουδετερωτικών άντισωμάτων<sup>2,3,10,11,12,13</sup> άκτινοειδούς άνοσοδιαχύσεως<sup>14,15,16</sup> διπλής άνοσοδιαχύσεως (δοκιμή Ouchterlony)<sup>17,18</sup>].

Η νόσος όφείλεται σέ έντεροϊό τών χοίρων, προσβάλλει άποκλειστικά τό είδος αυτό και δέν διακρίνεται κλινικώς άπό τόν Άφθώδη Πυρετό. Έπομένως σέ περίπτωση εμφάνισης παρόμοιων κρουσμάτων έπιβάλλεται ή ταχεία εργαστηριακή διάγνωση γιά νά διαπιστωθεί ότι δέν πρόκειται περί Άφθώδους Πυρετού ή μικτής μολύνσεως Άφθώδους Πυρετού και Φ.Ν.Χ. Έπειδή ή Φ.Ν.Χ. έκδηλώνεται συνήθως μέ ήπια μορφή και οί ύποκλινικές ή άφανείς μορφές της είναι συνήθεις, μπορεί νά μή γίνει άντιληπτή ή ή ίολογική έρευνα νά άποβή άκαρπη, ως έκ τούτου, οί όρολογικές δοκιμές άποκτούν ιδιαίτερη σημασία στη διάγνωση της νόσου και τη μελέτη της έκτάσεώς της σέ μία περιοχή.

Άπό τόν Ιούλιο 1979 ή χώρα μας προστέθηκε στόν κατάλογο τών χωρών όπου έχει εισβάλλει ή Φ.Ν.Χ. μέ την διαπίστωση έστίας της νόσου στην περιοχή Άσπροπύργου<sup>19,20</sup>. Σέ προηγούμενη όρολογική μελέτη<sup>21</sup> δώσαμε τά άποτελέσματα μιάς όρολογικής έρευνας γιά άνιχνευση έξουδετερωτικών άντισωμάτων κατά της Φ.Ν.Χ. εξετάζοντας όρους τόσον άπό την περιοχή Άσπροπύργου όσον και άπό διάφορες περιοχές της χώρας.

Στήν παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οί ίδιοι όροι περιοχής Άσπροπύργου μέ τη δοκιμή της διπλής άνοσοδιαχύσεως και γίνεται σύγκριση τών άποτελεσμάτων μέ αυτά της έξουδετερώσεως.

#### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1) Όροι: Οί όροι έλήφθησαν κατά την περίοδο Αύγούστου — Νοεμβρίου 1979 κυρίως άπό χοίρους παχύνσεως που σφάγηκαν στο σφαγείο Μάνδρας ή, σέ μικρό ποσοστό, άπευθείας στα χοιροστάσια άπό χοιρομητέρες και χοίρους κάθε ηλικίας.

Έξετάστηκαν συνολικά 214 όροι 18 έκτροφών, 23 δειγματοληψιών ως εξής: 15 δειγματοληψίες μέ 176 όρους, προέρχονται άπό 13 έκτροφές περιοχής Άσπροπύργου, 8 δειγματοληψίες μέ 38 όρους 5 έκτροφών άπό τίς γύρω περιοχές που οί χοίροι σφάγηκαν στο παραπάνω σφαγείο.

2) Άντιγόνο: Γιά τίς δοκιμές άνοσοδιαχύσεως χρησιμοποιήθηκε άντιγόνο που παρασκευάστηκε μέ τό στέλεχος ίού έστίας Άσπροπύργου 1979. Άκολουθήσαμε σέ γενικές γραμμές τη μέθοδο παρασκευής άντιγόνου τών Pereira και σύν<sup>18</sup>. Ίός Φ.Ν.Χ. 4-5ης κυτταρικής διόδου, ένοφθαλμίστηκε σέ μονόστοβα κυτταροκαλλιέργηματα IBRS2 (Κυτταρική γραμμή χοιρείου προελεύσεως) περιστρεφόμενων φιαλών 1 λ. μετά άπό προηγούμενη άντικατάσταση του ύλικού άναπτύξεως κυτάρων μέ ύλικό συντηρήσεως Earle. Μετά άπό 24 ώρες περίπου ή κυτταροπαθογόνος δράση του ίού είναι πλήρης και τό κυτταρικό ταήτιο τών φιαλών καταστρέφεται. Ό ίός συλλέγεται και φυγοκεντρείται 15'/2.000 t.m., γιά την άφαίρεση τών κυτταρικών ύπολειμμάτων. Τό υπερκείμενο ύγρό άναμιγνύεται, μέ 50% κορεσμένο θειικό άμμώνιο και παραμένει υπό άνάδευση μία νύκτα σέ +4° C. Μετά άπό φυγοκέντρηση όπως παραπάνω, λαμβάνεται ίζημα που άραιώνεται σέ PBS ώστε νά είναι 200 φορές περίπου πυκνώτερο του άρχικού όγκου. Νέα φυγοκέντρηση γιά τη διαύγαση του άντιγόνου και τοποθέτηση αυτού σέ μεμβράνη Visking διαμέτρου πόρων 15-20Å έντός φυσιολογικού όρου γιά την άφαίρεση ύπολειμμάτων θειικού άμμωνίου.

Στό αντίγόνου προστίθεται 0,1% Sodium Azide για συντηρητικό, διανέμεται σε φύσιγγες του 1 κ. έκ. και συντηρείται σε  $-20^{\circ}\text{C}$ . Γίνεται έλεγχος, με την τεχνική άμεσης συνδέσεως του συμπληρώματος του αρχικού και του συμπυκνωμένου αντιγόνου για τον υπολογισμό των απωλειών αυτού κατά την επεξεργασία καθώς και δοκιμές άνοσοδιαχύσεως με γνωστό υπεράνοσο όρο αναφοράς για τον προσδιορισμό της άριστης αραιώσεως χρήσεως αντιγόνου και όρου αναφοράς.

3) Όρος αναφοράς: Ός όρος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε ειδικός υπεράνοσος όρος ίνδοχοίρου του Ίνστιτούτου Pirbright που παρασκευάστηκε με στέλεχος ιού Φ.Ν.Χ. U.K.G. 27/72 και είχε τίτλο συνδέσεως συμπληρώματος 1:1000 παρουσία άλεξίνης 5 μονάδων αιμόλύσεως 50%.

4) Δοκιμή διπλής άνοσοδιαχύσεως: Παρασκευάζεται διάλυμα άγαρόζης 0,75% εντός ύλικου PBS και προσθέτουμε 0,1% Sodium Azide<sup>18,22,23</sup>. Θερμαίνουμε το διάλυμα μέχρι σημείου βρασμού και το διανέμουμε σε πλαστικά τρυβλία Petri, διαμέτρου 9 εκ., ανά 15 κ. έκ. στο καθένα. Με τη βοήθεια μεταλλικής σφραγίδας, ίδιας κατασκευής, που φέρει κυλινδρικούς κόπτες, ένα κεντρικό και 6 περιφερειακούς, διανοίγουμε στην πηκτή άγαρόζης κοιλότητες διαμέτρου 7 mm και άποστάσεως μεταξύ των στα πλησιέστερα όρια 4 mm. Σχηματίζουμε 4 τέτοιες ομάδες κοιλότητων σε κάθε Petri και σε κάθε κοιλότητα ρίχνουμε μία σταγόνα τηγμένης άγαρόζης για τη στεγανοποίηση του πυθμένα. Στη συνέχεια γεμίζουμε τη κεντρική κοιλότητα με αντίγόνου, 4 περιφερειακές με όρους προς εξέταση αδιάλυτους και 2 με άριστη διάλυση όρου αναφοράς, 0,04 κ. έκ. ύλικου περίπου κατά κοιλότητα, έτσι ώστε οι προς εξέταση όροι να βρίσκονται άπέναντι στο αντίγόνου και ό καθένας τους να γειτονεύει με τον όρο αναφοράς. Τοποθετούμε τά Petri σε κώδωνα με κορεσμένη άτμόσφαιρα ύγρασίας, τον όποιο σφραγίζουμε και τοποθετούμε σε θερμοκρασία 12-15 $^{\circ}\text{C}$  προθάλαμος καταψύξεως. Εϊδική γραμμή καθιζήσεως σχηματίζεται μεταξύ αντιγόνου και θετικών όρων καθ' όλο το μήκος της κοιλότητας και άποτελεί συνέχεια της γραμμής του πλησιεστερου όρου αναφοράς. Η εξέταση των γραμμών καθιζήσεως γίνεται με έγκάρσιο φωτισμό μετά 24ωρο.

Οί θετικοί όροι εξέτάστηκαν κατόπιν και ποσοτικώς για τον προσδιορισμό του τίτλου των ίζηματινών.

Τά άποτελέσματα της δοκιμής άνοσοδιαχύσεως συγκρίθηκαν με αυτά προηγούμενης μελέτης μας<sup>21</sup> που αναφέρεται στην εξέταση των ίδιων όρων με τίς δοκιμές όροεξουδετερώσεως.

#### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1) Τυλοποίηση των αντίδραστηρίων: Για την επίτευξη αναπαραγωγικών άποτελεσμάτων, διενεργήσαμε στην αρχή άρκετές δοκιμές τυποποίησης των αντίδραστηρίων της διπλής άνοσοδιαχύσεως. Κατά την παρασκευή του αντιγό-

νου διαπιστώσαμε ότι η διάρκεια δράσεως του θειικού άμμωνίου επί 1 ώρα σε + 4°C, όπως συνιστούν οι Pereira και συν.<sup>18</sup> δεν είναι αρκετή υπό τις συνθήκες εργασίας μας, για την πλήρη καθίζηση του αντιγόνου. Παρατείνοντας τη δράση του θειικού άμμωνίου επί 18ωρο περίπου, συντελείται σχεδόν πλήρης καθίζηση του ιού, όπως διαπιστώθηκε από τους διενεργηθέντες έλέγχους με τη δοκιμή της συνδέσεως του συμπληρώματος. Επίσης στο αντιγόνο πραγματοποιήσαμε 200 πλάσια συμπύκνωση του άρχικου του δγκου για να χρησιμοποιηθεί στις δοκιμές ανοσοδιαχύσεως.

Ο όρος αναφοράς στην τιτλοποίηση με το αντιγόνο που παρασκευάσαμε, έδωσε γραμμή καθιζήσεως έως την αραίωση: 1:32 και χρησιμοποιήθηκε στην αραίωση 1:8. Επίσης δύο όροι ιαθέντων χοιριδίων, από πειραματική μόλυνση με ιό Φ.Ν.Χ. έστίας Άσπροπύργου καλλιέργειας κυττάρων IBRS, έδωσαν γραμμές καθιζήσεως έως την αραίωση 1:16. Μάρτυρες κυττάρων IBRS που υποβλήθηκαν στην ίδια επεξεργασία με αυτήν του ιού δεν έδωσαν γραμμές καθιζήσεως με τους άνωτέρω δύο όρους, πράγμα που άναμενόταν άλλωστε αφού τά εν λόγω κύτταρα είναι χοιρείου προελεύσεως (όμόλογα).

2). Έξέταση Ορων: τά αποτελέσματα της ποιοτικής και ποσοτικής εξέτασεως των όρων με τη δοκιμή της διπλής ανοσοδιαχύσεως καταχωρούνται στον πίνακα I, όπου αναφέρονται επίσης, για λόγους συγκρίσεως, και τά αποτελέσματα της εξέτασεως των ίδιων όρων με τις δοκιμές όροεξουδετερώσεως, που αποτέλεσαν αντικείμενο προηγούμενης μας μελέτης.<sup>21</sup>

ΠΙΝΑΚΑΣ I.

Σύγκριση αποτελεσμάτων όρων χοίρων ως προς Φ.Ν.Χ., στην όροεξουδετέρωση και ανοσοδιάχυση.

Τίτλος εξουδετερώσεως NEUTRALISATION TITRE	ΤΙΤΛΟΣ ΑΝΟΣΟΔΙΑΧΥΣΕΩΣ DOUBLE IMMUNODIFFUSION TITRE (DID)						Σύνολον θετικόν όρων στην ανοσοδιάχυση TOTAL POSITIVE IN DID.
	Άρνητ. NEGATIVE 148	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
< 1:32							0
> 1:32 1: 128	1	3					4
> 1:128 1: 1024	4	1	13	8			26
> 1:1024	1	2	14	9	10		36
ΣΥΝΟΛΟ TOTAL	148	6 9%	6 9%	27 41%	17 26%	10 15%	66 100%.

Έπί εξέτασθέντων συνολικά 214 όρων χοίρων άποδείχθηκαν θετικοί στη δοκιμή της διπλής ανοσοδιαχύσεως 66 όροι, 4 έκτροφων της περιοχής Άσπροπύργου, όσοι δηλαδή βρέθηκαν θετικοί και στις δοκιμές όροεξουδετερώσεως. Όλοι οι όροι των θετικων δειγματοληψιών, πλην ενός, άποδείχθηκαν

θετικοί (ποσοστό 96-100% κατά δειγματοληψία). Οί γραμμές καθιζήσεως ήσαν σαφώς θετικές, δηλαδή συνέχεια τής γραμμής του πλησιέστερου όρου αναφοράς και καθ' όλο τó πλάτος τής κοιλότητας του πρòς εξέταση όρου. Άμφίβολες αντιδράσεις, δηλαδή σαφής κάμψη τής γραμμής αναφοράς πρòς τήν κοιλότητα του εξεταζόμενου όρου, δέν διαπιστώθηκαν. Ή έντονη αιμόλυση όρισμένων όρων δέν παρεμπόδισε τήν έκβαση τής αντιδράσεως. Οί τίτλοι τών αντισωμάτων καθιζήσεως ποικίλλουν άπό 1:2 έως 1:32. Στόν πίνακα I καταχωρòνται οί τίτλοι έξουδετερώσεως και καθιζήσεως. Παρατηρòμε ότι όροι με τίτλο έξουδετερώσεως  $\geq 1$ : 128 έχουν γενικά τίτλο καθιζήσεως  $\leq 1$ :4, πλὴν πέντε περιπτώσεων. Όροι με τίτλο 1:2 είναι συνολικά 6 και καμία περίπτωση όρου θετικού μόνο στό άναρ αίωτο. Οί 4 όροι με τίτλο έξουδετερώσεως 1:128, έδωσαν τίτλο καθιζήσεως 1:2 ó ένας και 1:4 οί υπόλοιποι 3 όροι.

Όπως άναφέρουν και άλλοι κατά τόν ποσοτικό έλεγχο οί όροι πού άναρ αίωτοι έμφανίζον γραμμή καθιζήσεως πολύ πλησίον του φρεατίου του αντίγòνου, έχουν περισσότερα αντισώματα και έτσι ήδη κατά τόν ποιοτικό έλεγχο μπορούμε νά έχουμε μία ένδειξη τής περιεκτικότητάς των σε αντισώματα.

Έπίσης οί 412 όροι 45 έκτροφών άλλων περιοχών 9 Νομών τής χώρας πού ήσαν άρνητικοί στις δοκιμές τής όροεξουδετερώσεως ήσαν επίσης άρνητικοί στην δοκιμή τής διπλής άνοσοδιαχύσεως.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οί τεχνικές έξουδετερώσεως χρησιμοποιήθηκαν εύρύτατα στη Φ.Ν.Χ. γιά τήν διάγνωση, τή μελέτη τών αντιγονικών διαφορών στελεχών του Ιού, τή μελέτη τής αντιγονικής σχέσεώς του με τόν Ιό Coxsackie B5 με τόν όποίο έχει στενή όρολογική συγγένεια, καθώς επίσης γιά επιζωοτολογικές έρευνες πρòς διαπίστωση τής εκτάσεως τής νόσου σε μιá περιοχή ή τήν ανακάλυψη έστιών ύποκλινικών μορφών αυτής.

Ό τίτλος έξουδετερώσεως όρου  $> 1:32$  φαίνεται ότι έκφράζει τήν ύπαρξη ειδικών αντισωμάτων τής νόσου και με τήν προϋπόθεση αυτὴ ή δοκιμή έξουδετερώσεως είναι ειδική. Με τίς τεχνικές έξουδετερώσεως είναι δυνατὴ ή εξέταση ίκανού αριθμού όρων, έχουν όμως τó μειονέκτημα νά είναι επίπονες, άπαιτòν τουλάχιστον 2 ήμερες γιά κάποια ένδειξη άποτελέσματος, και ή τελική άνάγνωση λαμβάνει χώρα ύστερα άπό 3 έως 5 ήμερες άνάλογα με τήν χρησιμοποιουμένη τεχνική.

Ή δοκιμή διπλής άνοσοδιαχύσεως είναι πάρα πολύ ειδική τής νόσου, άπλή στην έκτέλεση, τελική άνάγνωση γίνεται μετά 24ωρο, και είναι δυνατὴ ή εξέταση μεγάλου αριθμού όρων σε σχετικά μικρό χρόνο. Ό σχηματισμός τών γραμμών καθιζήσεως αρχίζει μετά 6-8 ώρες ή άκόμη και ένωρίτερον, 3-4 ώρες. Κατά τούς Pereira και σύν.<sup>18</sup> ή διπλή άνοσοδιαχύση δέν είναι τόσο ευαίσθητη, όσο ή μέθοδος έξουδετερώσεως. Σε σύγκριση άποτελεσμάτων δοκιμών έξουδετερώσεως και διπλής άνοσοδιαχύσεως διαπίστωσαν ότι όροι με τίτλο έξουδετερώσεως  $\geq 1:128$ , στην άνοσοδιαχύση ήσαν 96,1% θετικοί και 3,9% άμφίβο-

λοι. Όροι θετικοί με τίτλο εξουδετερώσεως < 1:128, στην άνοσο-διάχυση ήσαν 46,8% θετικοί και 27,7% άμφίβολοι ή και σε χαμηλότερα ποσοστά.

Γιά την υπερπήδηση του μειονεκτήματος της σχετικώς μικρότερης ευαισθησίας της δοκιμής της διπλής άνοσοδιαχύσεως, συνιστούν την αύξηση του άριθμού των έξεταζομένων όρων κατά κτηνοτροφική έκμετάλλευση.

Στην παρούσα εργασία διαπιστώσαμε πλήρη ταύτιση των άποτελεσμάτων της όροεξουδετερώσεως και διπλής άνοσοδιαχύσεως που σημαίνει ότι ή τελευταία δέν φαίνεται να ύστερεί της πρώτης σε ευαισθησία. Έπίσης πρέπει να σημειώσουμε ότι στη μέθοδο της διπλής άνοσοδιαχύσεως δέν απαιτείται ειδική έπεξεργασία των όρων, όπως φυγοκέντρηση, άδρανοποίηση κ.λ.π. Μπορούν να έξετασθούν άμέσως άκόμη και όταν ή αίμόλυση είναι πολύ έντονη.

Τό ύψηλό ποσοστό των άνευρεθέντων θετικών όρων (96-100%) κατά δειγματοληψία, έκφράζει την μεγάλη έκταση της μολύνσεως στις θετικές έκτροφές.

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Χρησιμοποιήθηκε ή δοκιμή της διπλής άνοσοδιαχύσεως σε πηκτή άγαρόζης για την άνίχνευση ίζηματινών κατά της Φυσαλιδώδους Νόσου των Χοίρων.

Έπί 176 όρων χοίρων 13 έκροφών περιοχής Άσπρπύργου, όπου έμφανίστηκε ή νόσος τον Ιούλιο 1979 και 38 όρων 5 έκτροφών γειτονικών περιοχών, άνιχνεύτηκαν άντισώματα καθιζήσεως σε 4 έκτροφές και σε ποσοστό 96-100% κατά δειγματοληψία. Οί τίτλοι των άντισωμάτων κυμαίνονται από 1:2 έως 1:32.

Συγκρίνοντας τα έπιτευχθέντα άποτελέσματα με εκείνα προηγούμενης μελέτης των ίδιων όρων με δοκιμές όροεξουδετερώσεως διαπιστώνεται πλήρης σύμπτωση αυτών και συμπεραίνεται ότι ή δοκιμή της διπλής άνοσοδιαχύσεως είναι έξ' ίσου ευαίσθητη με τις δοκιμές όροεξουδετερώσεως.

Μέθοδος άπλή, πρακτική, ευαίσθητη, πάρα πολύ ειδική, δίνει γρήγορα άποτελέσματα, προσφέρεται για έξέταση μεγάλου άριθμού όρων και μπορεί έτσι να χρησιμοποιείται εύρέως για επιδημιολογικές έρευνες ή για άνίχνευση της Φ.Ν.Χ., ιδιαίτερα των ύποκλινικών και άτύπων μορφών αυτής, όπου οί ίολογικές έρευνες αποβαίνουν συνήθως άκαρπες.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Nardelli L., Lodetti E., Gualandi G.L., Burrows R., Goodridge D., Brown F., Catwright B: A foot-and Mouth disease syndrome in pigs caused by an enterovirus. *Nature* 1968, 219, 5160, 1275-1276.
2. Mowat G.N., Darbyshire J.H., Huntley J.F.: Differentiation of a vesicular disease of pigs in Hong Kong from foot - and - Mouth disease. *Vet.Rec* 1972,90, 618.

3. Dawe P.S., Forman A.J., Smale C.J.: A preliminary investigation of the swine vesicular disease epidemic in Britain. *Nature* 1973, 241,5391, 540-542.
4. Maladie Vesiculeuse Du Porc. Documents d' actualite. Off. int. epiz. doc. No 1, Janvier 1973.
5. A. et L. Dhennin.: La maladie vesiculeuse du porc. Son apparition en France. *Bul Acad. Vet.* XLVI, 1973,47.
6. De Simone F., Panina G.F., Lodetti E.: Diagnosi sierologica della malattia vescicolare dei suini da enterovirus. *Vet. Ital.* 1974, 5-6., 220.
7. Chapman W.G., Buckley L.S., Burrows R.: Diagnostic de Laboratoire de la maladie vesiculeuse du porc par la technique de la fixation du complement et du marquage de l' anticorps fluorescent.: XIVème Con F. Commis. Fièvre aphteuse de l' O.I.E. Paris 1975.
8. Buckley L.S., Osborn R.W., Pereira H.G. : Diagnostic de laboratoire de la fièvre aphteuse et de la maladie vesiculeuse du porc. XIVème conf. Commis. Fièvre aphteuse O.I.E. Paris 1975.
9. Chapman W.G., Burrows R.: Rapid Identification of swine vesicular disease virus in vesicular epithelium using the fluorescent antibody technique: *Res. Vet. Sci.*, 1973, 15, 397.
10. R. Burrows, A. Greig, D. Coodridge: Swine vesicular disease *Res. Vet. Sci.* 1973, 15,141 — 144.
11. Garland A.J.M., Mann J.A. : Attempts to infect pigs with coxsackie virus type B<sub>5</sub> : *J. Hyg. Camb.* 1974, 73,85.
12. Kubin G., AL-Nuktah M.: Resultats Preliminaires des études serologiques sur l' apparition de la maladie vesiculeuse du porc chez des porcs en Autriche. XIVème conf. Commis. Fièvre aphteuse O.I.E., Paris, 11-14 Mars 1975.
13. J. Watson, R.S. Hedger: Swine vesicular disease: Serological survey of pigs presented for slaughter. *Vet Rec.* 1974, 95, 23, 535.
14. Hedger R.S., Pereira H.G. : La serologie de la maladie Vesiculeuse du porc. XIVème Confer. Commis, Fièvre Aphteuse O.I.E. Paris 1975.
15. Susan M. Golding, R.S. Hedger, P. Talbot, J. Watson: Radial Immuno-Diffusion and Serum-Neutralisation techniques for the assay of antibodies to swine vesicular disease. *Res. Vet. sci.* 1976., 20,142-147.
16. B.Mc C. Adair: A survey for swine vesicular disease antibodies Inpigs In Northern Ireland. *Res. Vet., Sci.* 1976,20, 219-220.
17. Brown F., Talbot P., Burrows R. Antigenic differences between isolates of swine vesicular disease virus and their relationship to Coxsackie B<sub>5</sub> Virus. *Nature.*, 1973, 245, 315.
18. H.G. Pereira., L. Rowe., D. Baber: Use of double Immuno-Diffusion (Ouchterlony) test for the diagnosis of swine vesicular disease. *Res. Vet. Sci* 1976, 20,139-141.
19. Ι. Δημητριάδη, Χ. Παππού, Δ. Μπρόβα: 'Εστία Φυσαλιδώδους Νόσου τῶν Χοίρων στὴν Ἑλλάδα. Δελτ. Ἑλλην. Κτην. Ἐταιρ. 1979, 30, 4, 265-276.



20. Ε. Στοφόρος, Μ. Μαστρογιάννη, Ί. Ήξιώτης, Γ. Ζαφειρίου, Θ. Χατζής, Κ. Γεωργακόπουλος: Ήπιζωτολογικά στοιχεία τής Φυσαλιδώδους Νόσου τών χοίρων που έμφανίστηκε στην περιοχή Ήσπροπύργου Ήττικής Δελτ. Ήλλην. Κτην. Ήταιρ. 1979,30,4, 283-284.
21. Χ. Παππούς, Ί. Δημητριάδης, Δ. Γιαννακίδης, Α. Γκῶγκος, Γ. Ζαφειρίου, Α. Ζουπίδης, Ε. Θεοδώρου, Γ. Ήακωβίδης Β. Λυρίτσης, Σ. Μοσχοβίτης, Χ Τσίλιος, Σ. Τσιρώνης: Ήρολογική έρευνα άνιχνεύσεως έξουδετερωτικών άντισωμάτων κατά τής Φυσαλιδώδους Νόσου τών Χοίρων. Δελτ. Ήλλην. Κτην. Ήταιρ. 1980, 4, 244-252.
22. K.M. Cowan: Effect of Merthiolate on agar gel diffusion precipitin reactions with foot-and mouth disease virus J. Immunol. 1966,97,5, 647-653.
23. J.W.Mc Vicar P. Suttmoller: Three variants of foot-and —mouth disease Virus type O: Agar gel diffusion reactions. Am. J. Vet. Res. 1972, 13,8, 1635.