



Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 10, No 2 (1959)



ΔΕΛΤΙΟΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

BULLETIN
DE LA
SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE
HELLÉNIQUE



BULLETIN
OF THE
HELLENIC VET. MEDICAL
SOCIETY

ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β'. ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 1959 ΤΕΥΧΟΣ 34^{ON}

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟΝ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΕΤΟΥΣ 1956
Ν. Κοεμτζόπουλος (Πρόεδρος) - Σ. Παπασπύρου (Αντιπρόεδρος)
Κ. Ταρλατζής (Γεν. Γραμματέας) - Χ. Δουμένης (Ειδ. Γραμματέας)
Σ. Αύφαντης (Ταμίας)

•

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΕΛΤΙΟΥ
Ν. Τζωρτζάκης, 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)

ΔΕΛΤΙΟΝ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

BULLETIN

DE LA SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE HELLÉNIQUE

ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β'.

ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 1959

ΤΕΥΧΟΣ 34^{ON}

Ὁ ἐκλεκτὸς καὶ διαπρεπὴς συνάδελφος κ. Β. Χατζήολος, Καθηγητῆς τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Maryland, ὑπέκρινε εἰς παράκλησιν ὑποβληθεῖσαν αὐτῷ κατὰ τὴν ἐνταῦθα πρόσφατον παραμονὴν του, ἐδέχθη νὰ συγγράψῃ τὴν κατωτέρω μελέτην ἀποκλειστικῶς διὰ τὸ Δελτίον μας.

Ἡ Συντακτικὴ Ἐπιτροπὴ φρονεῖ ὅτι ἐκπροσωπεῖ τὰ αἰσθήματα πάντων τῶν συναδέλφων ἐκφράζουσα πρὸς τὸν ἀγαπητὸν συνάδελφον ὅστι τιμᾷ τὴν Ἑλληνικὴν πατρίδα εἰς τὴν ξένην, τὴν βαθυτάτην τῆς εὐγνωμοσύνης.

THE EFFECT OF 1, 1-DICHLORO-2,2-BIS (P-CHLOROPHENYL) ETHANE (DDD OR TDE) ON THE ADRENAL CORTEX OF GOATS

B. C. HATZIOLOS

Live Stock Sanitary Service Laboratory
University of Maryland
College Park, Maryland

DDD, like suramin sodium¹⁴ produces severe cytotoxic atrophy of the zona fasciculata, or toxic involution of the adrenal cortex, in certain animals, particularly in dogs, when administered over prolonged periods^{7, 20, 26, 28} However, reports on the effect of this agricultural insecticide, an analogue of DDT, on the adrenal cortex of small laboratory animals are inconclusive. Some researchers working with DDD on adult rats observed histological damage, or assumed, on the basis of eosinophil response, uric acid/creatinine ratio, insulin sensitivity^{3, 39} and decreased response to cold stress⁴ that adrenal disfunction had occurred. Other researchers did not observe degeneration of the zona fasciculata or adrenal cortical atrophy in similar experiments on rats, mice, and rabbits.^{6, 7, 10, 17, 21, 30} Experiments with DDD on monkeys showed no adrenal damage.²¹

When used on patients showing Cushing's syndrome, DDD pro-

duced no significant clinical effect on the condition, nor did it induce any recognizable biochemical or histological response.²⁹

The present paper reports the effect of this compound on the adrenal cortex of the goat and is based on an analysis of clinical manifestations, blood examination, and, primarily, histopathologic changes of the adrenal cortex during various periods of administration of the drug. An abstract of these findings has been published.¹⁸

MATERIALS AND METHODS

Ten goats of various ages (three months to three years) were used. Eight were administered DDD per os in gelatin capsules in doses varying from 100-280 mg/kg over periods ranging from 6 to 65 days (Table I). In order to avoid shock, the dose was increased progressively each week in accordance with the animal's physical condition and resistance to the drug. One goat which was killed within twenty-eight days had received an intramuscular injection of 100 mg of cortisone on the twenty-fourth day of DDD administration. Two of the goats were used as control animals.

Blood samples taken from the jugular vein were examined by the usual laboratory procedure. Smears of bone marrow were stained by Wright and Giemsa techniques.¹⁹

Autopsy was performed immediately after the death or slaughter of the goat. The adrenals were weighed; specimens from them and from other organs were fixed in 10 % formalin and in Zenker's and Bouin's fluids for sectioning. Some frozen sections of the adrenal were stained for lipids with Sudan IV, oil red O and Nile blue, and others were treated according to Schultz's method for cholesterol¹⁹ and according to Albert's and Leblond's technique for plasmalogens.^{1,31} Paraffin sections of adrenals were stained according to (1) Mallory's acid fuchsin, (2) Van Gieson's picric acid and acid fuchsin, (3) Heidenhain's aniline blue, (4) Masson's trichrome, (5) Foot's modification of Beilschowsky's stain for connective tissue, collagen and reticulum, and (6) Wolbach's modification of Giemsa's stain for differentiation of myeloid elements.^{16,19} Paraffin sections of the pituitaries were also stained by various techniques:

(1) Periodic Acid-Schiff¹⁶ (2) a modification of Mallowry's Azan by Gilmore's et al,⁹ and (3) Halmi's for A, B, C, and D-cell differentiation.¹² Routine paraffin sections of the other organs were stained with hematoxylin-eosin.

RESULTS

Clinical manifestations : Those goats which withstood prolonged treatment with DDD showed no signs of physical discomfort during the early stages of the administration of this drug. However, toward the end, approximately ten days before death, these animals exhibited shaggy hair and suffered loss of weight. Later, their appetites became poor or capricious and general weakness appeared. Their gait was staggering and their stance painful. Neuromuscular manifestations and abnormal postures (horizontal position of the head, loss of orientation and equilibrium) appeared thereafter. The loss of subcutaneous adipose tissue revealed enlarged and swollen lymph nodes. Shortly before death, the animals appeared to have been stricken with paralysis.

The injection of cortisone to one animal shortly after the onset of clinical manifestations produced immediate but temporary results. Two days later the symptoms reappeared with more intensity and death followed within a few days.

In the goat which died suddenly, the autopsy revealed meningeal hemorrhages in the posterior part of the cerebral floor.

Blood picture : During the period of DDD administration, the blood picture varied, apparently in relation to the progress of cortical destruction. At the beginning the circulating eosinophils and lymphocytes remained under 48 and 10 per cent respectively, but toward the end they rose above the initial levels. A typical picture of the variation of the blood elements of the goat which survived the longest period of DDD administration is presented in Figure 1. Thus, a certain degree of eosinophilia and lymphocytosis prevailed during the late phase. A few lymphoblasts were found in the blood smear of one animal. In addition, the number of erythrocytes, the hemoglobin percentage, the hematocrit values, and the blood sugar decreased progressively. Bone marrow smears revealed an increase of cellular elements of the lymphoblastic series.

Adrenal changes : Macroscopically the adrenals exhibited changes in size and color. Adrenals of goats in Group 1 to which DDD was administered for a long period weighed less than those of goats in Group 2 to which DDD was administered for a short period with the exception of the adrenals of one goat which were noticeably enlarged owing to hyperplasia of lymphatic tissue in the parenchyma. The relative weight of the adrenals per pound of body weight

averaged 58.8 mg. for the first group and 79.6 mg. for the second group, as compared to 68.2 mg for the controls (Table 2).

Eliminating the goat which showed lymphoid metaplasia, the average relative weight of the adrenals of the other three in the first group was 46.8 mg/lb of body weight.

Specifically, the adrenals exhibited the following changes: One week after DDD administration, the adrenals were slightly enlarged

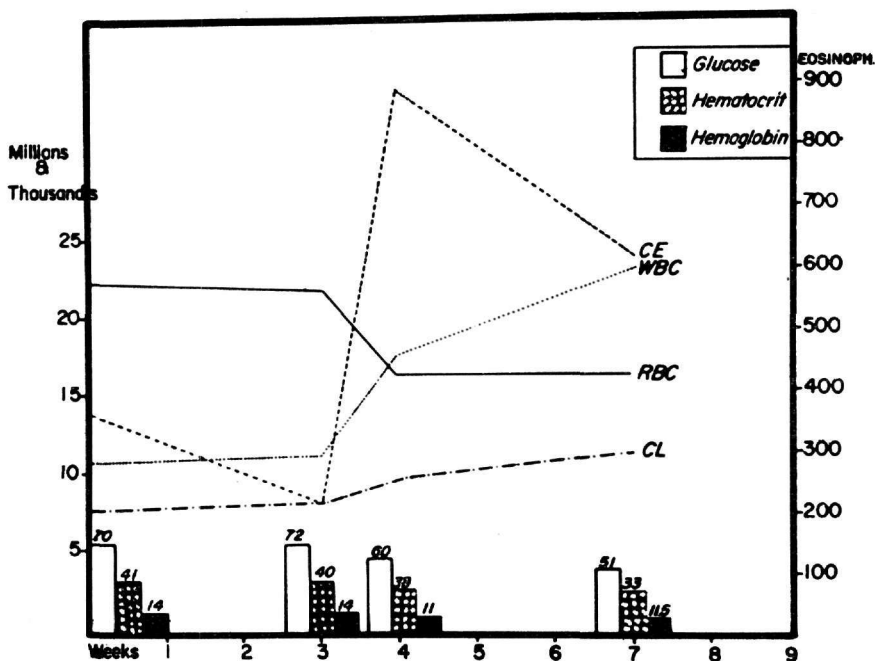


Fig. 1. Blood picture of a young goat during DDD administration indicating progress of cortical destruction; (C.E.=circulating eosinophils, W.B.C.=white blood cells, R.B.C. = red blood cells, and C.L.=circulating lymphocytes).

and discolored with a few grayish-white and dark red spots. In cross sections the cortex showed a ratio of approximately 1.8:1 with the medulla. Microscopically the subcapsular zone appeared to be thickened and the glomerulosa enlarged. The cells in the outer fasciculata were large and showed numerous lipid droplets which stained bright red with Sudan IV and oil red O and deep purple with Nile blue. Congestion, scattered tiny hemorrhages, and a few small necrotic foci were noted in the inner zones and particularly in the zona reticularis in which scattered small foci of lymphocytic infiltration were

also observed (Fig. 1-4, Plate 1). The medulla was noticeably enlarged and showed hemorrhages, cell degeneration, and eosinophilic infiltration in the clusters.

Three weeks after DDD administration, the adrenals appeared to be reduced in size. The ratio of the cortex to the medulla was 0.8 : 1. The capsule was broadened and had numerous small adenoma-like nodules. The glomerulosa was enlarged and uniform in thickness. The loops showed large cells with thin to medium lipid droplets. The cells adjacent to the junction of the zona fasciculata and glomerulosa were hyperchromatic and the capillaries distended. The zona fasciculata was narrow and was formed by distorted columns. Scattered cortical cells had a signet-ring appearance due to lipid accumulation. Here the necrotic foci were dispersed and scattered groups of lymphoid or undifferentiated cells infiltrated the area. Centripetally, the infiltration became diffuse and some myeloid elements, in addition to common leukocytes, were detected.

In addition lymphoid nodules of various sizes (Fig. 5, Pl. 1) and eosinophilic infiltration were noted in the area adjacent to the medulla. This infiltration often extended into the medullary clusters, which showed degeneration.

Four weeks after the beginning of DDD administration, the adrenals were discolored and mottled with small whitish spots. Microscopically, the glomerulosa was enlarged, occupying one-third of the cortex. The cells in the loops were large and loaded with unevenly distributed medium-sized lipid droplets which stained light purple with Nile blue. The cells adjacent to the fasciculata (sudanophobic zone) showed proliferation. The rest of the cortex was reduced and disorganized. Scattered spots of fatty metaplasia were noted, whereas the necrotic spots appeared to be larger (Fig. 6, Pl. 1). The accumulated lipids showed qualitative changes, namely negative Schultz's and Feulgen's reactions for cholesterol and plasmalogens, respectively. The sinusoids were engorged and scattered leukocytes infiltrated the area. In the inner fasciculata most of the cortical cells were atrophic or necrotic and the zone lost its architectural identity. Here numerous large foci of lymphocytic infiltration and some lymphoid nodules were present surrounded by areas of fatty metaplasia. Neutrophils, and more often eosinophils, were at the periphery of the nodules. Scattered plasma cells and some erythroblasts and other myeloid elements in mitosis were observed among the degenerated cells. A number of structures with concentrated layers, believed to

be amyloid bodies, were found in the inner fasciculata (Fig. 4, Pl. 2). The sinusoids were distended and often formed luminal - like dilations. In many places the stroma was dense and formed large bands. The zona reticularis showed numerous large lymphatic nodules. The medulla was enlarged and congested. The peripheral clusters were enlarged, but thinned out and often infiltrated with leukocytes. Degeneration of the chromaffin cells in the center was common. Cortical islands in the medulla exhibited lesions similar to those noted in the cortex.

Nine weeks after the beginning of DDD administration, the slightly enlarged adrenals exhibited grayish spots. Microscopically, the ratio between the cortex and medulla was 1.6 : 1 ; the demarcation line was inconspicuous. The zona glomerulosa was enlarged and conspicuous and showed scattered adenoma - like nodules at the periphery. Some of the loops, formed by crowded cells, were large. Characteristic also was the increased lipid material in the cells, some of which had a signet - ring appearance, and the presence of lymphocytic foci which were reminiscent of small lymph-nodules (Fig. 1, Pl. 2). Scattered neutrophils were present. In certain areas the stroma was increased and the capillaries enlarged. The rest of the cortex was reduced and its architecture had lost its identity. The outer fasciculata showed scattered areas of lipid metaplasia, or groups of cells with a signet-ring appearance among the distorted cords. Centripetally, an extensive and diffused lymphocytic infiltration was present (Fig. 2, Pl. 2). In many places the lymphocytes were thickly settled and formed large nodules. They showed germinal centers with numerous mitotic figures (Fig. 5, Pl. 2). Occasional cortical cells, less involved in the degenerative process, showed mitotic figures or bilobed nuclei with prominent nucleoli.

The capillaries had thickened walls and some showed hyalinization. The sinusoids were distended and numerous, but did not show marked luminal - like formations. The endothelial cells were prominent and numerous. Fibroblasts and winding bundles of fibers formed a strengthened stroma (Fig. 6, Pl. 2). Neutrophils were scattered about. In the zona reticularis, which fused with the fasciculata, a syncytial cell formation was common, in addition to a large lymphoid nodule formation (Fig. 3, Pl. 2). The few remaining cells showed vacuolization or reticulization. The medulla exhibited changes similar

to those mentioned previously in the animals treated for four weeks with DDD.

The main histopathologic changes in the other organs included: General hypertrophy and hyperplasia of the lymphopoietic organs and of the lymph follicles wherever they are normally found; increase in number and size of the beta cells and scattered pyknosis of the alpha cells of the pituitary. In addition, goats 544 and 568 exhibited mild fatty changes and centrilobular necrosis in the liver; mild subchronic glomerulonephritis with degeneration of the epithelium of the convoluted tubules in the kidney; fatty changes, hyalinization, and scattered inflammatory foci of the heart; desquamation of the oesophageal epithelium; congestion, small erosions and distention of the abomasum; and mild catarrhal inflammation of the intestines. The brain showed degenerative changes, including scattered pyknosis of nerve cells, perivascular edema, and occasional satellitosis.

DISCUSSION

At the beginning, the injury of the adrenal cortex is accompanied by few, if any, clinical symptoms. When these manifestations finally appeared, the adrenals were already extensively damaged.

Neuromuscular and circulatory disturbances can be attributed to adrenal insufficiency²⁷ as well as to chlorinated hydrocarbon poisoning. Cortisone temporarily alleviated this condition. Whether this improvement could be prolonged by repeated cortisone injections and/or appropriate diet and whether regeneration of the damaged cortex could occur with the restriction or suppression of DDD administration have yet to be determined. However, it appears that DDD, in the dosage administered, produces a slow but general toxic effect upon the animal.

In blood examination, the fluctuation, in percentage of eosinophils give a better and more accurate picture of the progress of cortical destruction than do the variations in the number of lymphocytes.

In goats, the degenerative process of the adrenals is generally slow; it seems to be accelerated, however, in young goats or in those suffering from diseases. Injury to the adrenal cortex starts with necrosis of individual cells or small groups of cells in the

inner zones as early as 6 - 7 days after the beginning of DDD administration. This seems to be in accord with the observation in dogs that the amount of plasma and urinary 17-hydroxycorticosteroids decreases shortly after initial DDD administration.^{3,5} Simultaneously with damage to the inner zones, a compensatory hypertrophy develops in the outer fasciculata and particularly in the glomerulosa.

The adrenal weight tended to diminish with the progress of the cortical injury. There is evidence of adrenal contraction in the early stages. However, in the late stages of one case, with lymphoid nodule formation and proliferation, the adrenals apparently regain or exceed their original weight and size. Strictly speaking, these changes represent a combination of cortical atrophy and lymphoid metaplasia. Whether a relationship exists between these changes and the adrenal-cortical hypertrophy or hyperplasia observed in the dog by others after administration of some DDD derivatives¹⁵ remains to be determined.

Unlike the above histopathologic picture in goats, the changes of the adrenals in rats limited, occurring primarily in the zona fasciculata and producing no cytologic alteration to the cortical structure.³² This lack of toxicity has been attributed to a peculiarity of this species.^{6,32}

A comparison of the adrenal cortical changes in goats with those reported in dogs shows similarity with respect to the slow necrotizing and inflammatory phenomena. However, there is a difference in the degree of cortical reduction and in the type of cellular infiltration in dogs.²¹ The more marked effect on the adrenals of dogs has been attributed to their greater susceptibility to this toxic agent,² since spontaneous cortical atrophy occurred in this animal.¹¹

The exact nature of the atrophic process of the adrenal cortex is not known. It has been reported that atrophy produced by DDD in dogs differs from that induced by hormonal means and by starvation.²¹ The mode of action of this drug has been attributed to the direct toxic effect on the cortical cells, the sustained high level of this drug in the blood, and the antenergic action of this compound on ACTH.^{22,23,24} Yet simultaneous administration of ACTH and DDD did not prevent lesions of the adrenal.¹⁸

It may be that the cytotoxic properties of this compound are

enhanced by the diminishing physiologic activity and, in general, by the aging process of the cells of the inner zones. Since this compound is taken in rapidly by cortical cells⁷ and accumulates in high concentration in body fats,⁸ the absence of early changes in the glomerulosa may be explained by the fact that lipid accumulation in noticeable amounts in this zone occurs only in later stages and, therefore, that early accumulation of the drug could not be sufficient to produce necrosis. On the other hand, it is possible that deactivation of this enzyme poison to ethylene derivatives by dehydrohalogenation takes place in the glomerular cells in the same way it occurs in the insects which have a resistance to DDT and its analogues and derivatives.^{83, 84}

The mechanism of this lymphoid metaplasia in goats may be explained by the great potentialities of the free rounded stem or reticular cells of the adrenals. These cells, under certain humoral or environmental conditions brought about by this drug perhaps from the reduction of the corticosteroid output - would produce lymphoblasts, which are comparable, if not identical, in morphology and potentialities to myeloblasts. Thus, instead of cellular elements of the myeloid series (granulocytes), lymphoid cells would be produced from the stem cells and primary lymph nodules with germinal centers would develop. That a specific property of this compound directly or indirectly stimulates lymphoid tissue development is also substantiated by the presence of lymphatic hyperplasia in all organs and glands in which lymphotic tissue exists.

S U M M A R Y

Eight goats of various ages were given DDD per os in doses varying from 100 to 280 mg/kg/day over periods ranging from 6 to 65 days. Clinical manifestations of a neuromuscular nature were noted shortly before death in those animals which withstood prolonged treatment. Simultaneously, general enlargement of the lymph nodes, anemia, low sugar level, eosinophilia, and lymphocytosis developed.

During the early stage (one to two weeks) of DDD administration, microscopic examination revealed scattered hemorrhages, cell necrosis, and leukocytic infiltration in the inner cortical zone. With the reduction of this zone, the outer fasciculata and glomerulosa become enlarged with lipid accumulation in the cells.

During the later stages, the above changes increased in intensity and resulted in the disorganization of both inner zones. In addition, a diffuse lymphoid cell infiltration and scattered lymphoid nodules with germinal centers developed in the inner zones extending sometimes to the subcapsular zone. Fibrosis was noticeable. These changes are believed to be due to the specific action of DDD upon the cortical cells.

ACKNOWLEDGEMENT

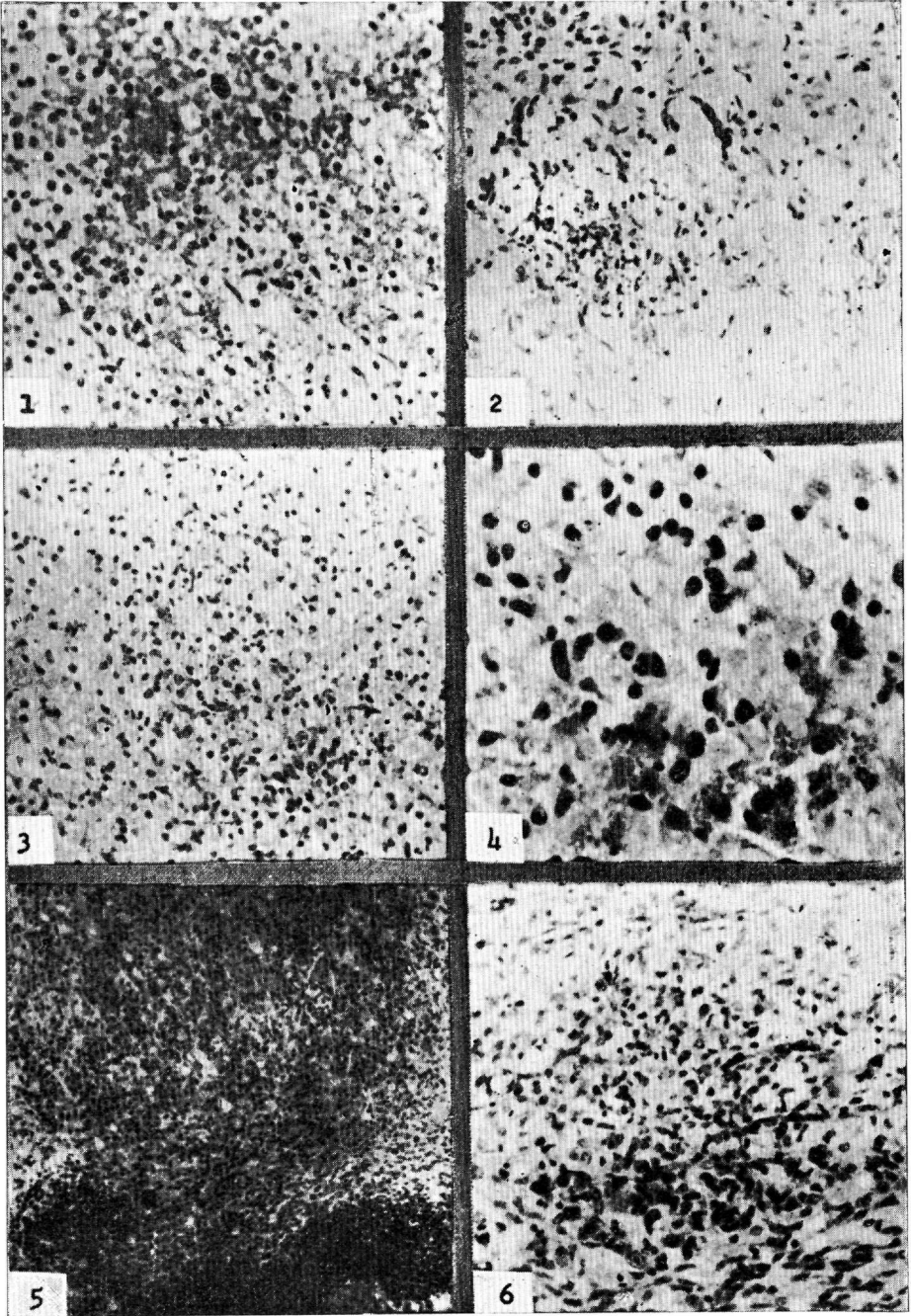
Appreciation is expressed to Dr. Arthur L. Brueckner, Director, Live Stock Sanitary Service Laboratory, College Park Maryland, for allocation of funds which made this study possible and to Major W. L. Wallenstein, also of this laboratory, for friendly assistance in the examination of blood specimens and in the preparation of the graph for publication.

T A B L E 1
Data concerning goats used, DDD administration, and duration of experiment

Goat	Age (in mos)	Sex	Initial weight (in lbs.)	Duration of exp. (in days)	Dose per day (in g.)	Total DDD administered (in g.)	Changes in the Adrenals	Remarks
572	3.5		20	6	2.4	14.4	Scattered necrotic foci ; neutrophilic infiltration.	Killed
573	3		20	7	1.2-2.4	14.4	Hemorrhages, scattered pyknosis ; neutrophilic infiltration in the cortex and medulla.	»
576	12		32	7	1.2-2.4	12.0	Fat accumulation Hemorrhages ; other minor changes in the cortex.	»
575	36		38	7	2.4-4.8	31.2	Marked lipid accumulation in the cortical cells.	»
587	3.5		25	20	1.2-2.4	42.0	Shrinkage of the cortex and fatty metaplasia in patches.	»
592	12		38	28	2.4-4.8	88.8	Similar to 587.	Cortisone injected ; died.
544	7		25	28	1.2-2.4	43.5	Advanced destruction.	Died suddenly.
568	10		45	65	1.2-7.2	238.4	Almost complete destruction of the inner cortex ; lymphoid metaplasia.	Moribund ; killed.

T A B L E 2
Weight of adrenals of goats

Goat	Age (in mos.)	Body weight (in lbs.)	Adrenals (in g.) Left - Right	Relative weight of Adrenals (in mg/lb.)	R e m a r k s
587	3.5	25	0.48 0.45	37.2	Group 1: Goats with adrenal lesions; cortical destruction and shrinkage (3 - 9 weeks of DDD administration).
544	7	25	0.98 0.93	76.2	
568	10	45	2.20 2.10	95.5	
592	12	38	0.55 0.45	26.3	
			Average 1.05 0.98	58.8	
572	3.5	20	0.72 0.70	70.0	Group 2: Goats with minor changes of the cortex (6 - 7 days of DDD administration).
573	3	20	0.90 0.70	80.0	
576	12	32	1.30 1.10	75.0	
575	36	38	1.75 1.80	93.4	
			Average 1.17 1.10	79.6	
3210	5	25	0.90 0.80	68.0	Group 3: Control animals.
5860	48	60	2.10 2.00	68.3	
			Average 1.50 1.40	68.2	



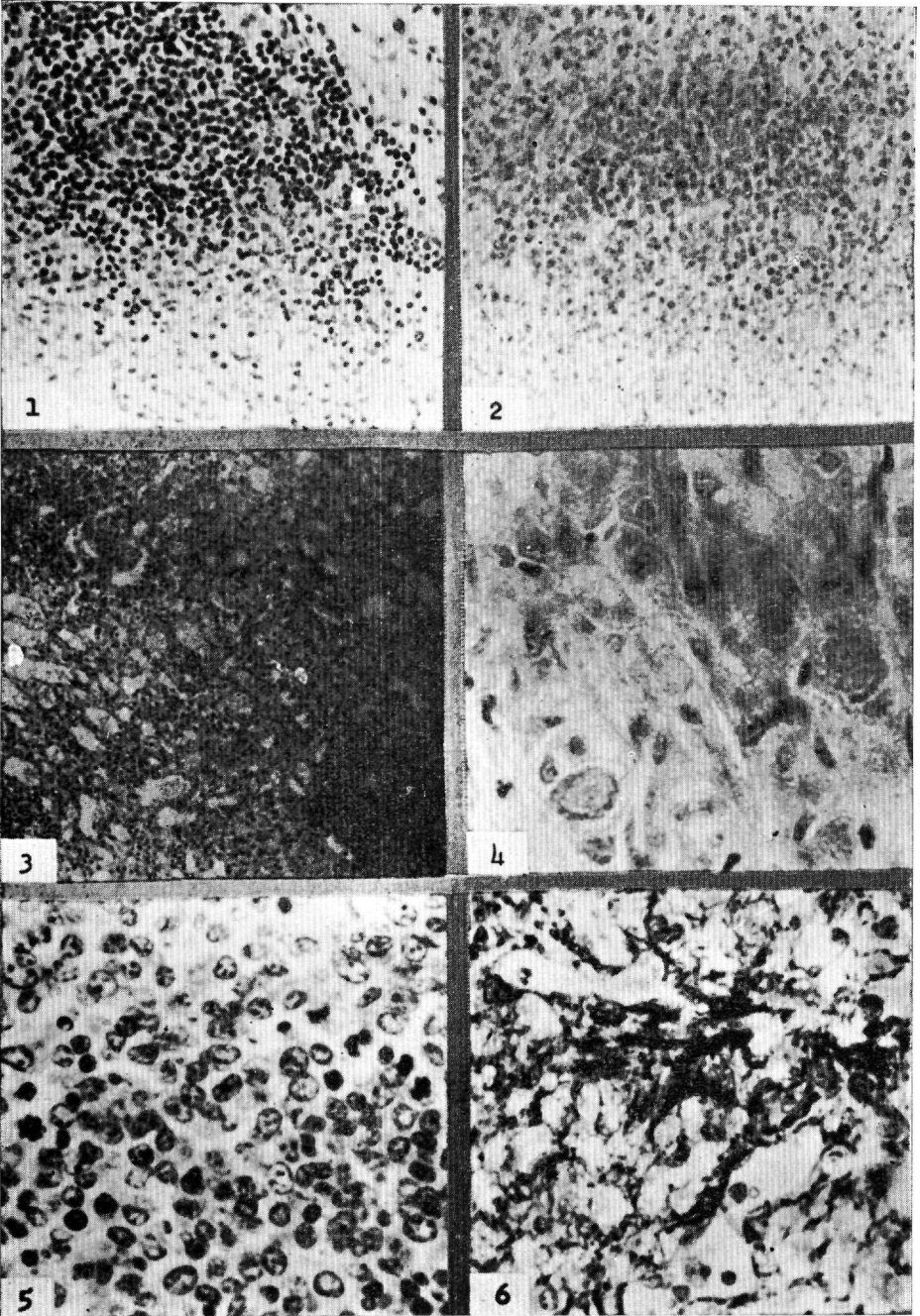


PLATE 1

- Fig. 1. A hemorrhagic area in the zona fasciculata of a goat, after six days of DDD administration. H & E stain $\times 125$.
- Fig. 2. A small necrotic area in the outer fasciculata of a goat, after seven days of DDD administration. Increase of lipid content of the surrounding cells. H & E stain $\times 125$.
- Fig. 3. Early disorganization in the reticularis of a goat, after eight days of DDD administration. Large necrotic area and increase of lipid content of the cells of the fasciculata. H & E stain $\times 125$.
- Fig. 4. High power details of area shown in Fig. 3, Plate 1. Nuclear pyknosis and fragmentation, shrunken cytoplasm, and ill defined cellular outlines with slight neutrophil, lymphoid, and undifferentiated cell infiltration. A hemorrhagic spot below. H & E stain $\times 320$.
- Fig. 5. Narrowed cortex of a goat, after three weeks of DDD administration. Nuclear pyknosis, shrinkage of the cells, and fusion of the fasciculata with the glomerulosa, part of which is pictured here. Diffuse leucocytic infiltration in the outer zone and lymphoid nodules in the zona reticularis along the medullary line. H & E stain $\times 90$.
- Fig. 6. Necrotic area in the inner fasciculata of a goat, after four weeks of DDD administration. H & E stain $\times 125$.

PLATE 2

- Fig. 1. Lymphoid nodule formation in the zona glomerulosa of a goat after nine weeks of DDD administration. H & E stain $\times 125$.
- Fig. 2. Same adrenal as above. Diffuse lymphocytic infiltration in the zona fasciculata H & E stain $\times 125$.
- Fig. 3. Same adrenal as above. Complete disorganization of the inner zones; disintegration of the cords; luminal like formation of the sinusoids; marked lymphocytic infiltration; a lymphoid nodule in the reticularis (low-right). H & E stain $\times 90$.
- Fig. 4. Amyloid bodies in the zona fasciculata of a goat after four weeks of DDD administration. H & E stain $\times 320$.
- Fig. 5. Lymphoid nodule in the zona fasciculata of a goat, after nine weeks of DDD administration. H & E stain $\times 320$.
- Fig. 6. Same adrenal as in Fig. 5, Plate 2. Cortical reticulum, (fasciculata). Note disappearance of parenchyma cells; increased collagenous fibers, condensed stroma, and lymphocytic infiltration. Foot's modification of Bielschowsky's stain $\times 320$.

REFERENCES

- 1) **Albert S. and Leblond C. P.** : The Distribution of the Feulgen and 2,4-Dinitrophenyl Hydrazine Reaction in Normal, Castrated, Adrenalectomized and Hormonally Treated Rats. *Endocrinol.* **39** : 386, 1946.
- 2) **Brown J. H. U.** : Influence of the Drug DDD on Adrenal Cortical Function in Adult Rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* **83** : 59, 1953.
- 3) **Brown J. H. U., Griffin J. and Smith R. B.** : Excretion of Urinary 17-Hydroxycorticoids in Dog Fed. DDD, *Metabol. Clin. and Exp.* **4** : 542, 1955.
- 4) **Buttle G. A. H., D'Arcy P.F., and Howard E. M.** : Effect of Cortisone Acetate in Protecting Adrenalectomized and Normal Mice Against Cold Stress. *J. Physiol.* **123** : 5, 1954.
- 5) **Cobey F. H, Taliaferro I., Haag H. B.** : Effect of DDD and Some of Its Derivatives on Plasma 17-OH-Corticosteroids in the Dog. *Science* **123** : 140, 1956.
- 6) **D'Arcy P. F.** : An Investigation Into the Effects of 2:2-bis-(p. Chlorophenyl)-1:1-Dichloroethane (DDD) on the Mouse Adrenal Cortex. *J. of Pharm. and Pharmac.* **6** : 625, 1954.
- 7) **Finnegan J. K., Haag H. B. and Larson P. S.** : Tissue Distribution and Elimination of DDD and DDT Following Oral Administration to Dogs and Rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* **72** : 357, 1949.
- 8) **Finnegan J. K., Hennigar G. R., Smith R. B., Jr. Larson P. S. and Haag H. B.** : Acute and Chronicity Studies on 2, 2-Bis-(p-Ethylphenyl)-1, 1-Dichloroethane (Perthane). *Arch. Internat. Pharmacodynamie and Therap.* **103** : 404, 1955.
- 9) **Giltmore L. O., Petersen W. E. and Rasmussen A. T.** : Some Morphological and Functional Relationships of the Bovine Hypophysis. *Tech. Bul.* 145, Univ. of Minnesota, Agricul. Exper. Station, 1941.
- 10) **Haag H. B., Finnegan J. K., Larson P. S., Dreyfuss M. L., Main R. J. and Riese W.** : Comparative Chronic Toxicity for Warm-Blooded Animals of 2, 2-bis-(p-Chlorophenyl)-1, 1, 1-Trichloroethane (DDT) and 2, 2-bis-(p-Chlorophenyl)-1, 1-Dichloroethane (DDD). *Indust. Med.* **17**:477, 1948.
- 11) **Hadlow W. J.** : Adrenal Cortical Atrophy in the Dog. Report of Three Cases. *Amer. J. Path.* **29** : 353, 1953.
- 12) **Halmi N. S.** : Two Types of Basophils in the Anterior Pituitary of the Rat and Their Respective Cytological Significance. *Endocrinol.* **47** : 289, 1950.
- 13) **Hatziolos B. C.** : Adrenal Cortical Atrophy induced on goats by per os administration of 1, 1-Dichloro-2, 2 bis (p-Chlorophenyl) Ethane (DDD or TDE) *Abst. J. Dairy Sci* **39** : 934, 1956.
- 14) **Humphreys G. M. and Donalson L.** : Degeneration of Adrenal Cortex Produced by Germanin. *Amer. J. Path.* **17** : 767, 1941.
- 15) **Larson P. S., Hennigar G. R., Finnegan J. K., Smith R. B., Jr., and Haag H. B.** : Observations on the Relation of Chemical Structure to the Production of Adrenal Cortical Atrophy or Hypertrophy in the Dog by Derivatives of 2, 2-bis-(p-Chlorophenyl)-1, 1-Dichloroethane (DDD, TDE). *J. of Pharmac. and Exp. Therapeutics* **115** : 408, 1955.
- 16) **Lillie R. D.** : *Histopathologic Techic.* The Blakiston Co., Phila, 1952.

- 17) Lillie R. D., Smith M. I., and Stohman E. F. : Pathologic Action of DDT and Certain of Its Analogs and Derivatives. *Arch. Path.* **43**:127, 1947.
- 18) Little J. M., Kelsey W. M. and Yount H. E., Jr. : Influence of the Adrenal Cortex on Renal Hemodynamics in the Dog. Effects of ACTH and Adrenal Atrophy Induced by Rhothane. *Am. J. Physiol.* **185** : 159, 1956.
- 19) Mallory F. B. : Pathological Technique. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1938.
- 20) Nelson A. A. and Woodard G. : Adrenal Cortical Atrophy and Liver Damage Produced in Dogs by Feeding 2,2-bis-(parachlorophenyl)-1,1-dichloroethane (DDD). *Fed. Proc.* **7** :276, 1948.
- 21) Nelson A. A. and Woodard G. : Severe Adrenal Cortical Atrophy (Cytotoxic) and Hepatic Damage. Produced in Dogs by Feeding 2,2-bis-(Parachlorophenyl)-1,1-Dichloroethane (DDD or TDE). *Arch. Path.* **48**:387, 1949.
- 22) Nichols J. and Davis C. Jr. : Effect of Hypophysectomy, DDD Treatment and Surgical Trauma on the Oxygen Consumption of the Adrenal Cortex. *Feder. Proc.* **12**:103, 1953.
- 23) Nichols J., Davis C. and Green H. D. : Effect of Hypophysectomy, DDD Treatment and Surgical Trauma on the Oxygen Consumption of the Various Zones of the Adrenal Cortex. *Endocrinol.* **53**:541, 1953.
- 24) Nichols J. and Gardner L. I. : Production of Insulin Sensitivity with the Adrenocortolytic Drug DDD (2,2-bis-(Parachlorophenyl)-1,1-Dichloroethane). *Lad. and Clin. Med.* **37** : 229-238, 1951.
- 25) Nichols J. and Sheehan, H. L. : Effect of Adrenal Cortical Atrophy on the Course of Alloxan Diabetes. *Fed. Proc.* **11**:112, 1952.
- 26) Nichols J. and Sheehan H. L. : Effect of Partial Adrenal Cortical Atrophy on the Course of Alloxan Diabetes. *Endocrinol.* **51** : 362-377, 1952.
- 27) Rogoff J. M. : Experimental Pathology and Physiology of the Adrenal Cortex. *Arch. Path.* **38** : 392-409. 1944.
- 28) Selye H. : Stress. ACTA Inc. Montreal. Canada, 1950.
- 29) Sheehan H. L., Summers V. K and Nichols J. : DDD Therapy in Cushing's Syndrome. *Lancet* **264** : 312-314, 1953.
- 30) Stoner H. B. : Effect of 2,2-bis-(Parachlorophenyl)-1,1-Dichloroethane (DDD) on the Adrenal Cortex of the Rat. *Nature-London.* **172**:1044-1045, 1953.
- 31) Thannhauser S. T. and Schmidt G. : Lipins and Lipidoses. *Physiolog. Reviews* **26** : 275-317, 1946.
- 32) Verne J. and Wegmann R. : Action du DDD ou rhothane sur les surrenales. *Compt. rend Soc. biol.* **146** : 1044-1046, 1952.
- 33) Weber E. : Beitrag zum Nachweis und zur Bestimmung von DDT (Bis-(chlorphenyl)-trichlormethan in Schadlingsbekämpfungsmitteln. *Ztsch. Analyt. Chem.* **132** : 26-33, 1951.
- 34) Winteringham F. P. W. : Some Aspects of Insecticide Biochemistry. *Endeavour.* **11** : 22, 1952.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ**Η ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ 1,1-ΔΙΧΛΩΡΟ-2,2-ΔΙΣ (ΠΑΡΑΧΛΩΡΟΦΕΝΥΛ-ΔΙΘΑΝΙΟΥ),
(DDD ἢ TDE) ΕΠΙ ΤΟΥ ΦΛΟΙΟΥ ΤΩΝ ΕΠΙΝΕΦΡΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΑΙΓΩΝ**

Ἵ π ό

**Καθηγητοῦ Β. Κ. ΧΑΤΖΗΟΛΟΥ
Πανεπιστήμιον Maryland, Η.Π.Α.**

Εἰς ὀκτὼ αἴγας διαφόρων ἡλικιῶν ἐχορηγήθησαν ἀπὸ τοῦ στόματος δόσεις DDD ποικίλλουσαι ἀπὸ 100 μέχρι 280 χιλστογρ. κατὰ χιλιόγραμμον ζῶντος βάρους ἡμερησίως ἐπὶ χρονικὰς περιόδους κυμαινομένης ἀπὸ 6-65 ἡμερῶν. Βραχὺ χρονικὸν διάστημα πρὸ τοῦ θανάτου τῶν ζῶων ἐκείνων, εἰς τὰ ὁποῖα ἐγένετο παρατεταμένη χορήγησις τῆς ἀνωτέρω οὐσίας, παρατηρήθησαν ἔκδηλα κλινικὰ συμπτώματα ἀπὸ τοῦ νευρο-μυϊκοῦ συστήματος. Ταῦτοχρόνως παρατηρήθησαν διόγκωσις τῶν λεμφαδένων, ἀναιμία, ὑπογλυκαιμία, ἠωσινοφιλία καὶ λεμφοκυττάρωσις.

Κατὰ τὸ πρῶτον στάδιον (ἀπὸ 1 μέχρι 2 ἑβδομάδων) τῆς χορηγήσεως τοῦ DDD, ἡ ἱστολογικὴ ἐξέτασις ἀπεκάλυψε διασπάρτους αἰμορραγίας, κυτταρικὴν νέκρωσιν καὶ λευκοκυτταρικὴν διήθησιν τῆς ἔσω στιβάδος τοῦ φλοιοῦ. Ἐκ παραλλήλου πρὸς τὴν μείωσιν τῆς ἀνωτέρω στιβάδος, ἡ δικτυωτὴ ζώνη καὶ ἡ σπειροειδῆς τοιαύτη διογκώθησαν λόγῳ συσσωρεύσεως λιπιδῶν ἐντὸς τῶν κυττάρων.

Κατὰ τὰ μεταγενέστερα στάδια, ἡ ἔντασις τῶν ἀνωτέρω ἀλλοιώσεων ηὐξήθη καὶ εἶχεν ὡς ἀποτέλεσμα τὴν διατάραξιν τῆς ὀργανώσεως ἀμφοτέρων τῶν ἔσω στιβάδων.

Ἐπὶ πλέον διάχυτος διήθησις ὑπὸ λεμφοκυττάρων καὶ διάσπαρτος τοιαύτη ὑπὸ λεμφοζιδίων παρατηρήθη εἰς τὰς ἔσω στιβάδας τοῦ φλοιοῦ, ἐκτεινομένη ἐνίοτε μέχρι τῆς κάψης· ὁμοίως ἦτο ἔκδηλος ἰνώδης ἔξεργασία.

Πιστεύεται ὅτι αἱ ἀνωτέρω ἀλλοιώσεις ὀφείλονται εἰς τὴν εἰδικὴν ἐπίδρασιν τοῦ DDD ἐπὶ τῶν κυττάρων τοῦ φλοιοῦ τῶν ἐπινεφριδίων.

ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΔΙΑ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΟΣ

ὑπό

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΒΛΑΧΟΥ

ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Ἡ διατήρησις τῆς γονιμότητος τοῦ σπέρματος ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας καὶ ἡ δυνατότης ἀποστολῆς αὐτοῦ εἰς μακρινὰς ἀποστάσεις σήμερον ἐπιτυγχάνεται διὰ τῆς ὑποβολῆς αὐτοῦ εἰς ψύξιν. Μέχρι πρὸ ὀλίγων ἀκόμη ἐτῶν ὁ μόνος τρόπος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἦτο ἡ ψύξις αὐτοῦ εἰς τοὺς 2-5° C ἐντὸς κοινῶν ἠλεκτρικῶν ψυγείων καὶ ἐν συνεχείᾳ ἡ συσκευασία ἐντὸς περιεχόντων πάγον κυτίων ἀποστελλομένων εἰς τοὺς τόπους προορισμοῦ. Ἡ μέθοδος αὕτη ἡ ὁποία καὶ σήμερον ἀκόμη εἶναι ἡ πλέον ἐν χρήσει διὰ τὴν συντήρησιν τοῦ σπέρματος, παρὰ τὴν ἀπλότητα καὶ τὸ μικρὸν κόστος τῆς, ἐν τούτοις δὲν ἐπιτρέπει νὰ ὑπολογίζωμεν διάρκειαν ζωῆς μὲ καλὴν γονιμότητα πέραν τῶν 24-48 ὥρων. Ὅσον δὲ θερμότερον εἶναι τὸ κλίμα μιᾶς χώρας καὶ ὅσον αἱ συνθῆκαι συγκοινωνίας χειρότεραι τόσον ἀνεπαρκεστέρα ἀποδεικνύεται αὕτη.

Ἀπὸ τοῦ ἔτους 1953 ἤρχισε νὰ ἐφαρμόζηται ἡ κατάψυξις τοῦ σπέρματος, καθ' ἣν τὸ σπέρμα ὑποβάλλεται εἰς ψύξιν -79° C. Ἡ μέθοδος αὕτη σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς μεγάλην κλίμακα εἰς πολλὰ κέντρα σπερματεγγύσεως τῆς τε Εὐρώπης καὶ Ἀμερικῆς. Διὰ τῆς καταψύξεως ἐπιτυγχάνεται ἐπὶ ἔτη ἡ διατήρησις τῆς γονιμότητος τοῦ σπέρματος. Ἐν τῇ πράξει ἐπετεύχθη ποσοστὸν γονιμότητος 65% διὰ σπέρματος 2-3 ἐτῶν. Ὡς ψυκτικὰ μέσα χρησιμοποιοῦνται ὁ πάγος διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος, ὁ ὑγροποιημένος ἀῆρ καὶ τὸ ὑγροποιημένον ἄζωτον. Ὁ τρόπος οὗτος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ τὴν χώραν μας ἔχει ἰδιαιτέραν σημασίαν, δεδομένου ὅτι μὲ τὴν διὰ κοινῆς πάγου ψύξιν, λόγῳ τοῦ θερμοῦ κλίματος καὶ τῶν πρωτογόνων συγκοινωνιακῶν συνθηκῶν, δὲν εἶναι δυνατόν νὰ ἐξυπηρετηθοῦν ἅπασαι αἱ κοινότητες καὶ δὴ αἱ ὄρειναι καὶ ἀπομεμακρυσμένα τοιαῦται.

Δυστυχῶς διὰ τὴν ἐφαρμογὴν τῆς μεθόδου ταύτης ἀπαιτοῦνται μεγάλαι ποσότητες ξηροῦ πάγου ἢ ὑγροποιημένων ἀερίων, διὰ τὴν παρασκευὴν τῶν ὁποίων εἶναι ἀπαραίτητοι μεγάλαι ἐγκαταστάσεις, ἡ δὲ παρασκευὴ των εἶναι πολυδάπανος. Οὕτω εἰς τὴν χώραν μας μέχρι τῆς ἐγκαταστάσεως τοιούτων ἐργοστασίων παρασκευῆς ξηροῦ πάγου ἢ ὑγρῶν ἀερίων δὲν δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ αὕτη εἰς εὐρείαν κλίμακα.

Ἀπ' ἐναντίας, ἡ ἀνεύρεσις τρόπου συντηρήσεως τῆς γονιμότητος τοῦ

σπέρματος ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου θὰ εἶχε μεγάλην σημασίαν καὶ θὰ ἀπετέλει σταθμὸν εἰς τὴν γενίκευσιν τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως εἰς ὅλας τὰς χώρας καὶ δὴ τὰς ἐχούσας θερμοὺν κλίμα καὶ συγκοινωνιακὰς συνθήκας πῆμμελεῖς.

Τὰ κυριώτερα ἐπιτεύγματα τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως, χάρις εἰς τὰ ὁποῖα σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς πολλὰ κράτη εὐρὴ πρόγραμμα βελτιώσεως τῆς κτηνοτροφίας, ὡς γνωστόν, ὀφείλονται εἰς τὴν μελέτην καὶ ἀπομίμησιν τῶν εἰς τὰ γεννητικὰ ὄργανα τοῦ ἄρρενος συμβαινόντων φαινομένων. Οὕτω εἶχε παρατηρηθῆ ὑπὸ τῶν ἐρευνητῶν ὅτι μεταξὺ τῶν ἄλλων αἰτίων σοβαρὸς λόγος τῆς ληθαργικῆς καταστάσεως, εἰς ἣν εὐρίσκονται τὰ σπερματοζωάρια εἰς τὴν ἐπιδιδυμίδα, εἶναι καὶ ἡ μεγάλη πυκνότης CO_2 , ἥτις ἐπικρατεῖ εἰς αὐτήν.

Αἱ πρῶται ἀπόπειραι μειώσεως τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν σπερματοζωαρίων καὶ διατηρήσεως τῆς γονιμότητος εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου διὰ διοχετεύσεως CO_2 , ἐγένοντο εἰς τὸ Πανεπιστήμιον τοῦ Illinois. Διὰ τῶν πειραμάτων τούτων ἀπεδείχθη ὅτι εἶναι δυνατόν τὰ σπερματοζωάρια νὰ διατηρήσουν τὴν γονιμότητά των εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας, ἐπενοήθησαν δὲ πρὸς τοῦτο καὶ εἰδικὰ μέσα ἀραιώσεως ὡς καὶ τρόπος προπαρασκευῆς τοῦ σπέρματος, ὡς τοῦτο θέλει ἐκτεθεῖ κατωτέρω.

Ἡ μέθοδος αὕτη στηρίζεται εἰς τὴν διοχέτευσιν διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος εἰς τὸ σπέρμα, τὸ ὁποῖον ἀραιοῦται δι' εἰδικῶν ἀραιωτικῶν μέσων καὶ ἐν συνεχείᾳ κατανέμεται ἐντὸς ἐρμητικῶς κλειομένων υἰαλίνων φουσίγγων τοῦ 1. cc. Τὸ ἀραιωτικὸν μέσον συνίσταται ἀπὸ 20 γραμ. κητρικοῦ νατρίου (μὲ δύο μόρια ὕδατος), 2,1 γραμ. δισανθρακικοῦ νατρίου, 0,4 γραμ. χλωριούχου καλίου, 3 γραμ. γλυκόζης καὶ 3 γραμ. σουλφανιλαμίδην. Ἄπαντα τὰ ἀνωτέρω διαλύονται εἰς μίαν λίτραν ὕδατος, θερμοινομένου μέχρι σχεδὸν βρασμοῦ.

Τὸ διάλυμα ψύχεται εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου, διοχετεύεται ἐντὸς αὐτοῦ τὸ CO_2 κατὰ φουσαλίδα ἐπὶ 10', μέχρις ὅτου τὸ pH κατέλθῃ εἰς τὸ 6,35. Μετὰ τὴν διοχέτευσιν τοῦ CO_2 προστίθενται πενικιλίνη καὶ θεικὴ διϋδροστρεπτομυκίνη ὑπολογιζόμεναι εἰς 1000 Δ. Μ. ἢ πρώτη καὶ εἰς 1000 mg. ἢ δευτέρα κατὰ κ. ἐκ. τοῦ ἀνωτέρω ἀραιωτικοῦ μέσου, εἰς ὃ ἔχει προστεθῆ καὶ 10% κρόκος ὠοῦ. Τὸ ἀραιωτικὸν τοῦτο μέσον ἐκλήθη ὑπὸ τῶν ἀνωτέρω ἐρευνητῶν Illini Variable Temperature (I.V.T.) ἀραιωτικὸν μέσον.

Ἡ μέθοδος αὕτη συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἠλέγχθη καὶ εἰς τὴν πρᾶξιν ἐν ἀντιπαραβολῇ πρὸς σπέρμα συντηρηθὲν διὰ τοῦ συνήθους τρόπου ψύξεως εἰς 2-4° C. Τὸ διὰ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος συντηρηθὲν σπέρμα ἐκρατήθη εἰς κιβώτια ἐκ πολυστερίνης εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 20-23° C. Κατεβλήθη προσπάθεια ὅπως ἀποφευχθοῦν αἱ ἀπότομοι μεταβολαὶ τῆς θερμο-

κρατίας καὶ δὴ ἡ ἀπότομος πτώσις αὐτῆς, εἰς ἣν τὸ διὰ CO_2 ἐμπλουτισθὲν σπέρμα εἶναι ἔξαιρετικῶς εὐαίσθητον. Τὰ ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα ἐμφαίνονται εἰς τὸν πίνακα I.

Π Ι Ν Α Κ Ε Ι

Γονιμότης σπέρματος δύο ταύρων, ὧν τὸ σπέρμα διαιρεθὲν εἰς δύο ἴσα μέρη ἠραιοῦθη συγχρόνως καὶ ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας :

- 1) διὰ I. V. T. καὶ διετηρήθη εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου
- 2) διὰ Κιτρικοῦ-Κρόκου ὡοῦ καὶ διετηρήθη εἰς 5°C .

Ἡλικία σπέρματος	Ἄρραισις μὲ I. V. T. εἰς Θαν δωματίου		Ἄρραισις διὰ Κιτρικοῦ-Κρόκου εἰς Θαν 5°C	
	Ἀριθ. Ἀγελ.	Ποσοστὸν γονιμότητος ἐκ μὴ ἐπιστροφῶν μετὰ 60-90 ἡμέρας %	Ἀριθ. Ἀγελ.	Ποσοστὸν γονιμότητος ἐκ μὴ ἐπιστροφῶν μετὰ 60-90 ἡμέρας %
1-2 ἡμερ.	21	81	419	72
2-3 »	22	72.7	43	41.9
3-4 »	23	78.3	15	40
4-5 »	20	70.0	2	0
5-6 »	20	70.0	6	—
6-7 »	5	100.0	—	—
Σύνολον	111	75.7	535	66.9

Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ ἀνωτέρω πίνακος, τὸ ποσοστὸν γονιμότητος τοῦ διὰ I. V. T. ἀρραιωθέντος καὶ διὰ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος ἐμπλουτισθέντος σπέρματος κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς ἐπὶ 7ῆμερον διατηρήσεώς του εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου μόνον μικρὰν μείωσιν τῆς γονιμότητος του παρουσίασεν (9 %), ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν $+5^\circ \text{C}$ διατηρηθὲν, τὸ ὁποῖον ἀπὸ τῆς 3ης ἡμέρας παρουσίασε ραγδαίαν πτώσιν (κατὰ 30 %), ἵνα καταστῇ ἔξ ὀλοκλήρου ἄγονον τὴν 5ην ἡμέραν. Ἐκ τῶν ἀνωτέρω πειραμάτων ἀπεδείχθη ὅτι διὰ τοῦ τρόπου τούτου τὸ σπέρμα εἶναι δυνατὸν νὰ διατηρήσῃ τὴν γονιμότητά του εἰς καλὴν κατάστασιν ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας. Διὰ τῶν ἰδίων πειραμάτων ἀπεδείχθη ὅτι δέον νὰ εἴμεθα λίαν προσεκτικοὶ εἰς τὴν διατήρησιν σταθερᾶς θερμοκρασίας. Αἱ ἀπότομοι αὐξομειώσεις τῆς θερμοκρασίας τοῦ περιβάλλοντος εἶναι δυνατὸν νὰ προκαλέσων ἀνεπανορθώτους ζημίας εἰς τὸ σπέρμα. Ἡ ἀνασταλτικὴ ἐνέργεια τοῦ CO_2 ἐπὶ τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν σπερματοζωαρίων. Ἐφ' ἧς στηρίζεται ἡ μέθοδος αὕτη συντηρήσεως τοῦ σπέρματος, εἶναι δυνατὸν νὰ ἐνισχυθῇ ἔτι περισσότερον διὰ τῆς προσθήκης σουλφαναμιδης.

Ἡ Σουλφαναμιδὴ ἐν ἀρχῇ εἶχε προστεθῆ εἰς τὰ ἀρραιωτικά μέσα μό-

νον διὰ τὴν βακτηριοστατικὴν αὐτῆς ἐνέργειαν, τοὔτέστιν πρὸς ἀναχαίτησιν πολλαπλασιασμοῦ τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ σπέρματος, ἐκ τῆς ὁποίας εἶναι ἀδύνατον, ὡς γνωστόν, ν' ἀπαλλαγῶμεν παρ' ὅλας τὰς προφυλάξεις μας. Κατόπιν ἀπεδείχθη ὅτι ἡ εὐεργετικὴ ἐπίδρασις τῆς σουλφανιλαμίδης ἐπὶ τῆς μακροβιότητος τοῦ σπερματοζωαρίου ὠφείλετο κυρίως εἰς τὴν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν, τὴν ὁποίαν ἔχει αὕτη ἐπὶ τῆς ἀναπνοῆς τοῦ σπερματοζωαρίου, τοὔτέστιν τῆς ἀεροβίου διασπάσεως τῶν ὕδατανθράκων καὶ δὴ ἐκείνων τοῦ ἰδίου αὐτοῦ πρωτοπλάσματος. Οὕτω σήμερον ἡ σουλφανιλαμίδη ἀποτελεῖ ἀπαραίτητον συστατικὸν τῶν περισσοτέρων ἀραιοτικῶν μέσων εἰς τὴν ἐφαρμογὴν τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως. Τελευταίως ὅμως ἀπεδείχθη ὅτι ἡ ἀνασταλτικὴ αὐτῆς ἐνέργεια δὲν περιορίζεται μόνον εἰς τὴν ἀερόβιον γλυκόλυσιν, ἥτις ἄλλωστε κατὰ τὴν συσκευασίαν τοῦ σπέρματος δι' ἀποκλεισμοῦ Ο μειοῦται εἰς τὸ ἐλάχιστον, ἀλλ' ἐπεκτείνεται καὶ εἰς τὴν ἀναερόβιον καὶ δὴ εἰς τόσον ἐντονώτερον βαθμὸν, ὅσον ἡ πυκνότης τοῦ CO₂ εἰς τὸ σπέρμα εἶναι μεγαλύτερα.

Ἐχει ἀποδειχθῆ ὅτι ἡ σουλφανιλαμίδη συντιθεμένη μετὰ τοῦ Ρ-ἀμινοβενζοϊκοῦ ὀξέος ἀναστέλλει τὴν δρασίν τούτου (Competitive Inhibitor), παρακαλῶνσα τὴν ἐνέργειαν τῆς φωσφατάσης καὶ τῆς ζωϊκῆς φύσεως καρβοανδράσης. Ἡ ὑπαρξίς ἰόντων Ζη, ἀποτελούντων σταθερὸν συστατικὸν τῆς καρβοανδράσης καὶ φωσφατάσης, ἔχει διαπιστωθῆ εἰς τὸ βόειον σπέρμα. Ἐτέρα οὐσία, ἥτις ἐνισχύει τὴν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν τοῦ CO₂ εἰς τὸν μεταβολισμόν τῶν ὕδατανθράκων τοῦ σπερματοζωαρίου, εἶναι τὸ Diamox (2-Acetyloamino - 1, 3, 4 - Thiotiasole-Sulfonamide). Τοῦτο θεωρεῖται ὡς εἰδικὴ ἀνασταλτικὴ οὐσία διὰ τὴν καρβοανδράσιν (Specific Inhibitor). Αὕτη ἀναστέλλει τὴν γλυκόλυσιν εἰς χαμηλοτέρας πυκνότητας CO₂ παρὰ ἡ σουλφανιλαμίδη.

Σπέρμα διατηρηθὲν διὰ τοῦ τρόπου τούτου παρουσιάζει ἐλάχιστην κινητικότητα. Κατὰ τὴν ἐκτίμησίν του, ὅθεν, μετὰ τὴν διάνοιξιν τῆς φύσιγγος, δέον ὅπως περιμένωμεν ἐπὶ τινα λεπτὰ μέχρις ὅτου ἀπομακρυνθῆ τὸ μεγαλύτερον μέρος τοῦ CO₂ καὶ κατόπιν ὑποβάλλωμεν τοῦτο εἰς μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν.

II. Συνδυασμὸς CO₂ μὲ ψύξιν.

Συμφώνως πρὸς νεωτέρας παρατηρήσεις, τὰ ὑπὸ τῶν ἐρευνητῶν τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Illinois (Van Demark, Sulsbury, Sharma) προστιθέμενα ἀντιβιοτικά δὲν εἶναι ἱκανὰ νὰ ἀναστείλουν τελείως τὴν ἀνάπτυξιν τῶν μικροοργανισμῶν εἰς σπέρμα διατηρούμενον μὲ CO₂ εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου. Τὰ προϊόντα τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν μικροοργανισμῶν προκαλοῦν πολλάκις τὸν θάνατον τοῦ σπερματοζωαρίου παρὰ τὴν προσθήκην ἀντιβιοτικῶν. Διὰ τὸν λόγον τοῦτον ὁ Van Demark τὸ 1958 συνέστησε τὴν

χρησιμοποίησιν τῆς μεθόδου ταύτης με σύγχρονον ὑποβολὴν τοῦ σπέρματος εἰς ψῦξιν (2°-5° C) ἀντὶ δὲ τοῦ I.V.T. ἀραιωτικοῦ συνιστᾷ τὴν χρησιμοποίησιν τοῦ κάτωθι μίγματος :

Δισαπεσταγμένον ὕδωρ	100 γρ.
NaHCO ₃	0,83 γρ.
Κιτρικὸν Νάτριον	0,09 γρ.
Καταλάση	0,01 γρ.
KCL	0,04 γρ.
Γλυκόζη	1,20 γρ.
Σουλφαναμιδίη	0,30 γρ.

Εἰς τὸ διάλυμα τοῦτο διοχετεύεται CO₂ καὶ προστίθεται κρόκος ὡοῦ εἰς ἀναλογίαν 15%. Κατόπιν προστίθενται 1000 μονάδες πενικιλίνης κρυσταλλικῆς καὶ 1000 μγ Διϋδροοστρεπτομυκίνης κατὰ κ. ἐκ. Ἡ ἀραίωσις τοῦ σπέρματος καὶ ἡ πλήρωσις τῶν φυσίγγων δι' αὐτοῦ ἐνεργεῖται εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου· μετὰ τὴν ἐργασίαν ταύτην τὸ σπέρμα ὑποβάλλεται εἰς βαθμιαίαν ψῦξιν μέχρι τῶν 2°-5° C. Διὰ τοῦ τρόπου τούτου διατηρεῖται ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας ἡ ζωτικότης τοῦ σπέρματος, ἡ ὁποία τὴν πρώτην ἡμέραν εἶναι 71%, τὴν τρίτην 65%, τὴν 10ην 68%, τὴν 14ην 63% καὶ τὴν 60ην ἡμέραν 40%.

Οἱ ἐρευνηταὶ οὗτοι καταλήγουν εἰς τὰ κάτωθι συμπεράσματα ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν ἐφαρμογὴν τῆς τροποποιημένης ταύτης μεθόδου συντηρήσεως τοῦ σπέρματος με CO₂ :

1. Τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου εἶναι δυνατόν νὰ περιέλθῃ εἰς ληθαργικὴν κατάστασιν καὶ νὰ ἀναβιώσῃ πλήρως, ἐὰν ἀραιωθῇ με ἑλαφρῶς ἀλκαλικὸν ἀραιωτικὸν μέσον ἐμπλουτισμένον εἰς CO₂. Ὁ βαθμὸς τῆς ληθαργικῆς καταστάσεως, εἰς ἣν περιπίπτουν τὰ σπερματοζωάρια, ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὴν ποσότητα τοῦ διοχετευομένου CO₂. Αἱ μεγάλαι δόσεις CO₂ ἐνδέχεται νὰ προκαλέσουν τὸν θάνατον αὐτῶν. Ἡ ζωτικότης καὶ ἡ κινητικότης τῶν ἀναβιούντων σπερματοζωαρίων εἶναι ἀνάλογος πρὸς τὸν βαθμὸν τῆς ἐπιτευχθείσης ληθαργικῆς καταστάσεως. Πυκνότης CO₂ ἀντιπροσωπεύουσα κορεσμόν τοῦ ἀραιωτικοῦ μέσου ὑπὸ θερμοκρασίαν 30°-35° C εἶναι ἀρκετὴ διὰ τὴν ἐπὶ μίαν ἐβδομάδα συντήρησιν τοῦ σπέρματος με πλήρη ἀναβιωτικὴν ἰκανότητα.

2. Ἡ διοχέτευσις τοῦ ἀπαιτουμένου CO₂ εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον καὶ ἡ ἀνάμιξις τοῦ σπέρματος εἶναι δυνατόν νὰ γίνων ἀβλαβῶς διὰ τὸ σπέρμα εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου.

3. Ἡ ληθαργικὴ κατάστασις καὶ ἀναβίωσις τῶν σπερματοζωαρίων σπέρματος διατηρουμένου εἰς ψῦξιν γίνεται κατὰ ἐντελῶς ὁμαλὸν τρόπον, ἐφ' ὅσον διοχετεύεται τὸ CO₂ εἰς τὴν ἐνδεδειγμένην πυκνότητα.

4. Τὰ ἀντιβιοτικά οὐδεμίαν δυσμενῆ ἐπίδρασιν ἔχουν ἐπὶ τῶν σπερμα-

τοξωαρίων, ἐφ' ὅσον ταῦτα προστίθενται εἰς πυκνότητα ἐπαρκοῦσαν, ὥστε νὰ παρεμποδίζηται ὁ πολλαπλασιασμός τῶν μικροοργανισμῶν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ ψυγείου. Ἡ ὑπεροχὴ τῆς τροποποιημένης αὐτῆς μεθόδου συντηρήσεως τοῦ σπέρματος μὲ CO_2 καὶ ψύξιν εἶναι ἀναμφισβήτητος.

5. Τὸ διὰ τοῦ τρόπου τούτου συντηρούμενον σπέρμα μέχρι τῆς τετάρτης μὲν ἡμέρας ἔχει ποσοστὸν γονιμότητος ἀσυγκρίτως ὑψηλότερον, ἀπὸ δὲ τῆς 5ης μέχρι καὶ τῆς 7ης ἔχει τὸ αὐτὸ ποσοστὸν γονιμότητος μὲ σπέρμα 3 ἡμερῶν συντηρηθὲν μὲ τοὺς μέχρι τοῦδε γνωστοὺς τρόπους.

6. Διὰ τῆς μεθόδου ταύτης εἵμεθα εἰς θέσιν νὰ μειώσωμεν τὸν ἀριθμὸν τῶν σπερματοληψιῶν καὶ δὴ προκειμένου περὶ ταύρων παραγόντων σπέρμα μικρᾶς μακροβιότητος. Ἐξ ἄλλου οἱ σπερματεγγῆται δύνανται νὰ ἐξοικονομοῦν σπέρμα τοῦ αὐτοῦ ταύρου ἐπὶ 2-7 ἡμέρας, κατορθώνοντες οὕτω, πρὸς αὔξησιν τοῦ ποσοστοῦ γονιμότητος, νὰ ἐκτελοῦν τὰς ἐπαναληπτικὰς τῶν σπερματεγγύσεις κατὰ τὴν διάρκειαν τοῦ αὐτοῦ ὄργανοῦ, χωρὶς νὰ εἶναι ὑποχρεωμένοι νὰ ἐκτελοῦν ταύτας μὲ σπέρμα ἄλλων ταύρων.

7. Εἰς πλείστας περιπτώσεις χρησιμοποιοῦντες τὴν μέθοδον ταύτην δὲν εἵμεθα ὑποχρεωμένοι νὰ προσφεύγωμεν εἰς τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος, ἦτις καὶ μεγάλας δαπάνας ἀλλὰ καὶ χαμηλότερον ποσοστὸν γονιμότητος προϋποθέτει.

III. Τεχνικὴ συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος

Ἡ ἐπὶ περισσοτέρας ἡμέρας συντήρησις τοῦ σπέρματος εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου διὰ διοχετεύσεως διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος χωρὶς ψύξιν, ὡς ἀνεφέρθη καὶ ἀνωτέρω, δὲν κατωρθοῦται εἰς τὴν πρᾶξιν, λόγῳ πολλαπλασιασμοῦ τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος. Διὰ τῆς προσθήκης ὁμως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον δισανθρακικοῦ νατρίου, καταλάσης καὶ κρόκου ὠοῦ, ἐλαττώσεως τῶν κιτρικῶν ἀλάτων καὶ ὑποβολῆς τῶν φυσίγγων εἰς ψύξιν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 4°C , κατωρθώθη ἡ συντήρησις αὐτοῦ εἰς ἀρίστην κατάστασιν ἐπὶ 40 ἡμέρας. Τὸ σπέρμα τῶν περισσοτέρων ταύρων διὰ τοῦ τρόπου τούτου διατηρεῖ τὴν γονιμότητά του εἰς καλὴν κατάστασιν ἐπὶ 6-7 ἡμέρας. Παρ' ὅλον ὅτι δὲ ἡ μέθοδος αὕτη δὲν ἔχει τελειοποιηθῆ ἀκόμη εἰς ὅλας τῆς τὰς λεπτομερείας, ἐν τούτοις ἀποτελεῖ οἰκονομικὸν καὶ πολλὰ ὑποσχόμενον διὰ τὸ μέλλον τρόπον συντηρήσεως τοῦ σπέρματος.

Σημεῖα εἰς τὰ ὁποῖα δεόν ὅπως γίνουιν περαιτέρω ἔρουναι πρὸς τελειοποίησιν τῆς μεθόδου ταύτης, εἶναι: 1) ἡ ἀνεύρεσις ἔτι καταλληλοτέρων διὰ τὰ σπερματοζῶαρια ρυθμιστῶν, 2) ἡ βελτίωσις τῶν ἀραιωτικῶν μέσων καὶ τοῦ τρόπου πληρώσεως τῶν φυσίγγων, 3) ἡ βελτίωσις τοῦ τρόπου συντηρήσεως τῶν πεπληρωμένων φυσίγγων καὶ ἡ ἐξασφάλισις ἐντὸς αὐτῶν ὁμοιομόρφου πυκνότητος CO_2 κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς εἰς τὸ ψυγεῖον συντηρή-

σεώς των. Ἡ τεχνικὴ συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ τῆς μεθόδου ταύτης εὐρίσκεται εἰσέτι ἐν ἐξελίξει.

1. Ἐπιλογὴ σπέρματος.

Πάν σπέρμα κρινόμενον κατάλληλον πρὸς χρησιμοποίησιν μὲ τὸν συνήθη τρόπον ἀραιώσεως καὶ συντηρήσεως εἶναι δυνατὸν νὰ συντηρηθῆ, καὶ διὰ τῆς μεθόδου ταύτης.

2. Παρασκευὴ ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ.

Τὰ ἀραιωτικά μέσα καλὸ εἶναι νὰ ἀγοράζωνται ἔτοιμα ἀπὸ τὰς φαρμακευτικὰς βιομηχανίας, καθ' ὅσον ἡ παρασκευὴ των καὶ δὴ ἀσπτικῶς εἰς τὸ ἐργαστήριον ὄχι μόνον χρόνον πολὺν ἀπαιτεῖ ἀλλὰ εἶναι καὶ δύσκολος. Εἰς τὸ ὑπὸ ψῦξιν σπέρμα δέον τὸ ἀραιωτικὸν μέσον νὰ ἐμπλουτίζεται μὲ πολὺν περισσότερον CO_2 , εἰς τρόπον ὥστε τὸ pH νὰ κατέρχεται χαμηλότερα ἀπὸ τὸ εἰς συνήθη θερμοκρασίαν συντηρούμενον. Διὰ τὴν μείωσιν τῆς κινητικότητος καὶ προστασίαν τοῦ σπερματοζωαρίου καὶ δὴ κατὰ τὴν ἀραίωσιν καὶ διοχέτευσιν τοῦ CO_2 , δέον ὅπως προσθέτωμεν κολλοειδῆ. Πρὸς τὸν σκοπὸν τοῦτον πρὸ τῆς ἀραιώσεως δέον νὰ προστίθενται 30 μέρη κρόκου ὠοῦ εἰς 70 μέρη ἀραιωτικοῦ διαλύματος. Ἡ ἀνάμιξις δέον νὰ ἐνεργῆται τὸ πολὺ εἰς 18°C ., ἡ δὲ προσθήκη τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος ὀλίγον πρὸ τῆς ἀραιώσεως.

3. Διοχέτευσις CO_2 καὶ ἀραίωσις.

Τὸ διάλυμα ἀναμιγνύεται καλῶς μὲ τὸν κρόκον ὠοῦ ἐντὸς εἰδικῆς φιάλης ἐπικοινωνούσης μὲ ἑτέραν τοιαύτην διὰ σωλῆνος ἐφωδιασμένον μὲ διακόπτην. Ἀκολουθῶς εἰσάγεται βραδέως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον ἀπεστερωμένον CO_2 , μέχρις ὅτου τὸ pH τοῦ εἰς τὴν δευτέραν φιάλην συγκεντρομένου ἀραιωτικοῦ μέσου κατέλθῃ εἰς τὸ 6.20—6.35. Ἐν συνεχείᾳ εἰσάγεται ἡ ἀπαιτουμένη ποσότης ἀντιβιοτικῶν. Πρὸς ἀποφυγὴν θερμοκῆς καταπληξίας, μετὰ τὴν λήψιν τοῦ πρὸς ἐκτίμησιν τοῦ σπέρματος ἀπαιτουμένου δείγματος, ἀραιοῦται τὸ σπέρμα εἰς ἀναλογίαν 1 : 1 μὲ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν περιέχον 10 % κρόκον ὠοῦ καὶ κιτρικόν. Κατόπιν ψύχεται εἰς τοὺς $+20^\circ \text{C}$. Κατὰ τὴν τελικὴν ἀραίωσιν, πρὸς ἀποφυγὴν ἀπωλείας CO_2 , τὸ σπέρμα διὰ προχοῦδος εἰσάγεται εἰς τὸν πυθμένα τῆς περιεχοῦσης τὸ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν φιάλης, ἐνῶ συγχρόνως διὰ προσεκτικῶν κινήσεων τῆς προχοῦδος ἐπιτυγχάνομεν τὴν ἀνάμιξιν αὐτοῦ. Ἡ φιάλη πρέπει νὰ κρατῆται ἐρμητικῶς κλειστὴ καὶ νὰ περιέχῃ εἰ δυνατόν ὀλιγώτερον ἀέρα.

4. Πλήρωσις φυσίγγων.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἀραίωσιν τὸ σπέρμα διανέμεται ἀνὰ 1 κ. ἐκ. εἰς ἑκάστην φύσιγγα χωρητικότητος 1,3 κ.ἐκ. Ἡ ἐργασία αὕτη γίνεται εἰς ᾧρον θερμοκρασίας 20°C . Ἡ σχέσις τοῦ ὄγκου τοῦ σπέρματος πρὸς τὴν χωρητι-

κότητα τῆς φύσιγγος δέον νὰ εἶναι 4 : 5. Κατὰ τὴν πλήρωσιν δέον νὰ εἴμεθα πάντοτε προσεκτικοί, ὥστε νὰ μὴν δημιουργηταί οὔτε ὑπερβολικὴ ἀλλ' οὔτε καὶ χαμηλὴ πίεσις εἰς τὰς φύσιγγας, καὶ νὰ μὴ σχηματίζωνται φουσαλίδες. Ἡ πλήρωσις ἐπιβάλλεται ὅπως ἐνεργῆται δι' εἰδικῆς συσκευῆς.

5. Σφράγις τῶν φύσιγγων.

Ἡ σφράγις δέον νὰ γίνηται ἀμέσως μετὰ τὴν ἀραιώσιν ἢ τὸ πολὺ ἐντὸς ἡμισεῖας ὥρας καὶ νὰ ἀποφεύγηται κατ' αὐτὴν ὁ ἐξ ἐλαστικοῦ ἢ φελοῦ πωματισμός, νὰ προτιμῶνται δὲ ὑάλινοι φύσιγγες, αἱ σφραγιζόμεναι διὰ τήξεως. Ἐπειδὴ ὅμως ὑπάρχει φόβος νὰ δημιουργηθοῦν φουσαλίδες λόγῳ θερμάνσεως τοῦ περιεχομένου τῶν φύσιγγων κατὰ τὴν τήξιν, εἶναι ἀνάγκη ἀφ' ἑνὸς μὲν αὕτη νὰ ἐνεργῆται ταχύτατα, ἀφ' ἑτέρου δὲ αἱ φύσιγγες νὰ ψύχωνται προηγουμένως διὰ τῆς τοποθετήσεώς των ἐντὸς ὕδατος θερμοκρασίας $+10^{\circ}$ C ἢ διὰ τῆς διοχετεύσεως ψυχροῦ ἀέρος. Κατόπιν ἐλέγχονται μετὰ προσοχῆς κατὰ πόσον ἡ σφράγις εἶναι τελεία.

6. Ἀποστολὴ σπέρματος.

Αἱ διὰ σπέρματος πληρωθεῖσαι φύσιγγες χρησιμοποιοῦνται περαιτέρω πρὸς σπερματέγχυσιν ὅπως καὶ αἱ εἰς ἀπλὴν ψύξιν ὑποβληθεῖσαι. Διὰ τῆς διοχετεύσεως εἰς τὸ σπέρμα CO_2 καὶ ἀποστερήσεως αὐτοῦ ἐκ τοῦ O ἐπιτυγχάνεται πλήρης ἀκίνησις εἰς τὰ σπερματοζωάρια. Ταῦτα ὅμως ἀπεδείχθη ὅτι καθίστανται πολὺ περισσότερον εὐαίσθητα εἰς τὰς μεταβολὰς τῆς θερμοκρασίας. Ἡ ὑποβολὴ αὐτῶν εἰς ψύξιν, ὡς ἐλέγχθη καὶ ἀνωτέρω, ἔχει σκοπὸν τὴν ἀναστολὴν ἀναπτύξεως τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος καὶ τὴν κατὰ τὸ δυνατόν προφύλαξιν ἀπὸ τὰς μεταβολὰς τῆς θερμοκρασίας.

7. Ἐξέτασις τοῦ σπέρματος.

Τὰ ἐν ἀκίνησίᾳ σπερματοζωάρια τοῦ οὕτω συντηρουμένου σπέρματος συσσωρεύονται εἰς τὸ κατώτερον σημεῖον τῆς φύσιγγος. Πρὸ τῆς ἐξετάσεως τῆς ζωτικότητος αὐτῶν εἶναι ἀνάγκη ὅπως ἡ φύσιγγα ἀναταραχθῆ καλῶς. Ἐπίσης πρὸ τοῦ ἀνοίγματος τῆς φύσιγγος δέον ὅπως αὕτη θερμοανθῆ ἐπαρκῶς, ἵνα ἐξουδετερωθῆ ἕξ ὀλοκλήρου ἡ ἐπίδρασις τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος. Ἄνευ τῆς προετοιμασίας ταύτης ἡ κινητικότης τῶν σπερματοζωαρίων εἶναι πολὺ χαμηλὴ. Μετὰ τὴν τελείαν διαφυγὴν τοῦ CO_2 , τὰ σπερματοζωάρια ἀποκτοῦν ζωηρὰν κινητικότητα, πολὺ καλυτέραν ἐκείνης τοῦ δι' ἀπλῆς ψύξεως ἄνευ CO_2 διατηρηθέντος σπέρματος. Τὸ πλεονέκτημα τοῦτο, ὡς ἀνεφέρθη καὶ ἀνωτέρω, διατηροῦν ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας.

8. Ἐξασφάλισις τῆς ἐνδεδειγμένης θερμοκρασίας κατὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ σπέρματος.

Ἐφ' ὅσον ἡ παρασκευὴ τοῦ σπέρματος (διοχέτευσις CO_2 , ἀνάμειξις, ἀραιώσις κ.λ.π.) γίνεται εἰς περιβάλλον θερμότερον τῶν 20° C, ὁ σχηματι-

σμός φυσαλίδων καὶ ἀφροῦ εἶναι ἀναπόφευκτος. Πρὸς ἀποφυγὴν αὐτοῦ καὶ ἐκλύσεως CO₂, κατὰ τοὺς θερμοὺς κυρίως μῆνας, εἶναι ἀπαραίτητον ὅπως ἡ παρασκευὴ τοῦ σπέρματος γίνηται εἰς χῶρον τοῦ ἐργαστηρίου διαθέτοντα ἔξοπλισμὸν κλιματισμοῦ. Ἄλλὰ καὶ αἱ χαμηλαὶ θερμοκρασίαι εἶναι δυνατόν κατὰ τὴ παρασκευὴν τοῦ σπέρματος νὰ ἐπιδράσουν δυσμενῶς, λόγῳ τῆς θερμοκῆς καταπληξίας τὴν ὁποίαν εἶναι εἰς θέσιν νὰ προκαλέσουν.

9. Συντήρησις καὶ χρησιμοποίησις τοῦ διὰ CO₂ διατηρηθέντος σπέρματος.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἐξεργασίαν τῶν φυσίγγων, αὐταὶ τοποθετοῦνται εἰς τὸ ψυγεῖον, εἰς θερμοκρασίαν 4° C. Τὸ διὰ CO₂ διατηρούμενον σπέρμα ἵνα διατηρήσῃ τὴν μακροβιότητά του, δεόν ὅπως 2-3 φορὰς τὴν ἡμέραν ἀναταράσσεται, ἵνα μὴ καθιζάνουν εἰς τὸν πυθμένα τὰ σπερματοζώαρια. Αἱ φύσιγγες δεόν νὰ ἀποσφραγίζωνται μόνον ὀλίγον πρὸ τῆς χρησιμοποίησεώς των, καθ' ὅσον διὰ τῆς διαφυγῆς τοῦ CO₂ καὶ τῆς ἀποτόμου ἀνυψώσεως τοῦ pH τὰ σπερματοζώαρια ἀποτόμως ἀποκτοῦν μεγάλην κινητικότητα καὶ γάνουν εἰς βραχύτερον χρονικὸν διάστημα τὴν γονιμότητά των.

R É S U M É

CONSERVATION DU SPERME DE TAUREAU PAR LE CO₂

Par

CONSTANTIN VLACHOS

Professeur de la Faculté Vétérinaire de l'Université de Thessaloniki

L'auteur dans la présente étude examine la possibilité de conservation du sperme de taureau par le CO₂ combinée à la réfrigération.

Ο ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Υπό

ΑΓΓ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ - ΙΩΑΝ. ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗ

Κτηνιάτρων - Μικροβιολόγων

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ἡ χρησιμοποίησις τοῦ γάλακτος τῶν κατοικιδίων ζώων διὰ τὴν διατροφὴν τοῦ ἀνθρώπου εἶναι παλαιοτάτη καὶ χάνεται εἰς τὰ βάρη τῶν αἰώνων.

Ἡ Ἁγία Γραφή, οἱ Ὑμνοι, Ἄσματα ἀνατολικῶν λαῶν, ὡς καὶ οἱ Ἀρχαῖοι Ἕλληνες συγγραφεῖς, ἀναφέρουν τὴν χρῆσιν τοῦ γάλακτος καὶ τῶν γαλακτοκομικῶν προϊόντων.

Ἀνεκάθεν τὸ γάλα ἐθεωρήθη, ὅπως ἄλλωστε καὶ εἶναι ὡς ἐκ τῆς συνθέσεώς του, μία πλήρης καὶ ἀρίστη τροφή οὐχὶ μόνον τῶν βρεφῶν, τῶν ἀσθενῶν καὶ τῶν γερόντων ἀλλὰ καὶ γενικῶς παντὸς ὄργανισμοῦ.

Τὸ βιολογικὸν ὅμως τοῦτο προϊόν δύναται εἰς ὀρισμένας περιπτώσεις νὰ ἀποβῇ ἐπικίνδυνον διὰ τὸν ἀνθρώπον, εἴτε διότι ἐμπεριέχει κατὰ τὴν ἄμελξιν, εἴτε διότι ἐπιμολύνεται ἀργότερον, διὰ μικροβίων παθογόνων διὰ τὸν ἀνθρώπον. Δεδομένου δὲ ὅτι τοῦτο χρησιμοποιεῖται ὡς ἐπὶ τὸ πλεῖστον ὑπὸ ὄργανισμῶν εἴτε ἐξηντημένων, εἴτε μικρᾶς ἀντιστάσεως ὃ ἐξ αὐτοῦ κίνδυνος εἶναι μέγας. Μεγίστην σημασίαν λοιπὸν διὰ τὴν ὑγιεινὴν ἀξίαν τοῦ γάλακτος ἔχει ἡ γνῶσις τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος αὐτοῦ.

Ἐν τῇ παρούσῃ ἐργασίᾳ μας θὰ προσπαθήσωμεν νὰ δώσωμεν, βάσει τῶν σημερινῶν δεδομένων, μίαν σύντομον περιγραφὴν τῶν κυριωτέρων μεθόδων Ἐργαστηριακοῦ ἐλέγχου τοῦ γάλακτος, ὑπὸ τὰς μορφὰς ὑφ' ἃς τοῦτο δίδεται εἰς τὴν κατανάλωσιν.

Α' ΕΙΔΗ ΚΑΤΑΝΑΛΙΣΚΟΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Τὰ κυκλοφοροῦντα εἰς τὸ ἐμπόριον γάλατα τὰ ὑποκείμενα εἰς μικροβιολογικὸν ἔλεγχον εἶναι τὰ κάτωθι :

1. Νωπὸν γάλα.

Τοῦτο δύναται νὰ προέρχεται ἐξ ἀγελάδος, αἰγὸς ἢ καὶ ἐκ προβάτου, κυκλοφορεῖ δὲ εὐθὺς εἰς τὴν χώραν μας ἰδίως εἰς περιοχὰς ὅπου δὲν ὑπάρχουσι εἰδικευμένα ἐργαστήσια ἐπεξεργασίας γάλακτος. Τοῦτο καταναλισκό-

μενον ὠμὸν καὶ ἄνευ προηγουμένου βρασμοῦ δύναται νὰ ἀποβῆ ἐπικίνδυνον διὰ τὴν δημοσίαν ὑγείαν.

2. Παστεριωμένον γάλα.

Εἶναι νωπὸν γάλα τὸ ὁποῖον προσφέρεται εἰς τὴν κατανάλωσιν κατόπιν διαλογῆς, μηχανικοῦ καθαρισμοῦ καὶ ἀφοῦ ὑποστῆ τὴν ἐπίδρασιν τῆς θερμότητος ἐντὸς εἰδικῶν συσκευῶν : τῶν παστεριωτήρων. Ὑπάρχουν διάφοροι μέθοδοι παστεριώσεως ἀναλόγως τοῦ βαθμοῦ τῆς χρησιμοποιουμένης θερμοκρασίας. Ἡ συνηθετέρα μέθοδος παστεριώσεως εἶναι ἡ λεγομένη «εἰς λεπτὴν στιβάδα». Κατὰ τὴν μέθοδον ταύτην τὸ γάλα ὑφίσταται τὴν ἐπίδρασιν τῆς θερμότητος (71° - 85° C.) ἀπουσία ἀέρος καὶ εἰς λεπτὸν στρώμα ἐπὶ μικρὸν χρονικὸν διάστημα κυμαινόμενον μεταξὺ 15'' - 30''.

3. Ἀποστεριωμένον γάλα.

Τοῦτο δυστυχῶς δὲν εἶναι γνωστὸν ἀκόμη ἐν Ἑλλάδι ἐλλείπει εἰδικευμένων πρὸς τοῦτο βιομηχανιῶν. Εἰς τὰ περισσότερα κράτη τῆς Δυτικῆς Εὐρώπης καὶ ἐν Ἀμερικῇ τὸ ἀποστεριωμένον γάλα συναγωνίζεται ἐσχάτως εἰς μεγάλην κλίμακα τὸ παστεριωμένον τοιοῦτον.

Τοῦτο διατίθεται εἰς τὴν κατανάλωσιν ἐντὸς φιαλῶν ἐρμητικῶς ἐσφραγισμένων καὶ εἰς ποσότητας τοῦ ἐνὸς λίτρου καὶ τοῦ ἡμίσεως λίτρου.

Τὸ γάλα τοῦτο εἶναι εὖοσμον, ὁμοιογενοποιημένον (Homogenisé) καὶ τελείως ἀπηλλαγμένον μικροοργανισμῶν καὶ σπόρων διατηρεῖ δὲ πρακτικῶς ὅλας τὰς ὀργανοληπτικὰς ιδιότητας τοῦ παστεριωμένου γάλακτος (Journées scientifiques du lait sterilisé - Paris 1954).

Αἱ χρησιμοποιούμεναι μέθοδοι ἀποστεριώσεως εἶναι πολλαί, βασίζονται δὲ εἰς τὴν ὑπερθέρμανσιν τοῦ γάλακτος εἰς 115° - 125° C. ἐπὶ διάφορα χρονικὰ διαστήματα κυμαινόμενα ἀπὸ 10' - 20'.

Ἡ νεωτέρα καὶ τελειωτέρα μέθοδος ἀποστεριώσεως εἶναι ἡ λεγομένη «Uperisation» ἢ «Ultra - Pasteurisation» (U. P.) κατὰ τὴν μέθοδον ταύτην τὸ γάλα ὑφίσταται τὴν ἐπίδρασιν τῆς θερμότητος εἰς θερμοκρασίαν 150° C. ἐπὶ ἐλάχιστον χρονικὸν διάστημα, ἰσούμενον πρὸς κλάσμα τοῦ δευτερολέπτου. Ἡ ἀποστείρωσις πραγματοποιεῖται ἐντὸς εἰδικοῦ θερμομηχανικοῦ συγκροτήματος : Uperisateur (Carvalo, Jatton, Mocquot (I.N.R.A.))

Πειραματικαὶ ἔρευναι ἀπέδειξαν ὅτι διὰ τῆς μεθόδου ταύτης τὸ γάλα ἀπαλάσσειται ἀκόμη καὶ ἀπὸ τοὺς σπόρους τοῦ στελέχους 1518 τοῦ *Bacillus stercophilus* οἵτινες ἀνθίστανται εἰς τὴν θερμοκρασίαν 100° C. ἐπὶ 14 ὥρας. Διὰ τῆς μεθόδου ταύτης τὸ γάλα διατηρεῖται ἐν καλῇ καταστάσει ἐπὶ ἕξ καὶ πλέον μῆνας ἐντὸς εἰδικῶν ὑαλίνων φιαλῶν (Jatton, Burri, Bernhard). Τὸ ἀποστεριωμένον γάλα ἀποτελεῖ λαμπρὸν προοπτικὴν τοῦ μέλλοντος διότι τὸ οὕτω προσφερόμενον προϊόν εἶναι ἀπηλ-

λαγμένον παθογόνων ἰῶν ἢ μικροβίων, ἢ δὲ νόθευσις αὐτοῦ εἶναι ἀδύνατος λόγῳ τοῦ εἰδικοῦ πωματισμοῦ τῶν φιαλῶν.

4. Γάλα ἀφυδατωμένον, συμπετυκνωμένον κλπ.

Ἡ μικροβιολογικὴ ἐξέτασις αὐτῶν ἐνεργεῖται κατὰ τὰ γνωστὰ ὡς καὶ αἱ κονσέρβαι τῶν τροφίμων, ἀφοῦ πρότερον ὑποστοῦν διάλυσιν δι' ἀποστειρωμένον ὕδατος.

Β' ΣΚΟΠΟΙ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

1. Ἡ ὀλικὴ ἐκτίμησις τοῦ συνόλου τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ γάλακτος ἀπαραίτητον στοιχεῖον διὰ τὴν γνωμάτευσιν ἐπὶ τῆς ὑγιεινῆς αὐτοῦ καταστάσεως, τῆς καταλληλότητος ὡς καὶ τῆς ἱκανότητος αὐτοῦ πρὸς διατήρησιν (Keeping-Quality).

2. Ἀναζήτησις καὶ ἀπομόνωσις παθογόνων μικροβίων ἐπικινδύνων διὰ τὴν δημοσίαν ὑγίαν ἅτινα ἐμπεριέχονται εἰς τὸ γάλα ὡς π.χ. Βρουκέλλαι, Στρεπτόκοκκοι, Σταφυλόκοκκοι, Βάκιλλος τῆς Φυματιώσεως κλπ.

3. Ἀναζήτησις καὶ εὔρεσις τοῦ κολοβακτηριδιακοῦ δείκτου διὰ τῆς καταμετρήσεως τοῦ ἀριθμοῦ τῶν κολοβακτηριδίων εἰς ἓν κ. ὑφ. γάλακτος. Ἡ παρουσία κολοβακτηριδίων εἰς μεγάλον ἀριθμὸν σημαίνει κοπρανώδη ρύπανσιν τοῦ γάλακτος κατὰ τὰς διαφόρους φάσεις συλλογῆς αὐτοῦ. Ὡσαύτως ἀναζητεῖται ὁ Streptococcus Fecalis, ἢ ἐντερόκοκκος, (ὁ ὁποῖος κατατάσσεται σήμερον εἰς τὴν ὁμάδα D τοῦ Lancefield). Τὸ ἀνωτέρω μικροβιον δὲν ἔχει παθογόνον ἱκανότητα ἢ ἀμφίβολον τοιαύτην πάντως ἐρμηνεῖ ἐλλειψιν καθαριότητος κατὰ τὴν ἀμελξιν, συλλογὴν κλπ.

Γ' ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

1. Δειγματοληψία

Ὁ μαστὸς καὶ ἡ θηλὴ αὐτοῦ ἐκπλύνονται δι' ἀφθόνου σαπωνοῦχου ὕδατος, ἀποξηραίνονται δι' ἀπεστειρωμένον διηθητικοῦ χάρτου ἢ βάμβακος καὶ ἀπολυμαίνονται δι' αἰθυλικῆς ἀλκοόλης. Ἐν συνεχείᾳ ὁ μαστὸς ἀμελγεται ἐπ' ὀλίγον διὰ τὴν ἀπομάκρυνσιν μικρᾶς ποσότητος γάλακτος.

Τὸ πρὸς ἐξέτασιν γάλα συλλέγεται ἐντὸς ἀποστειρωμένων δοκιμαστικῶν σωλῆνων. Ἡ δειγματοληψία ἐπὶ γάλακτος εὐρισκομένου ἐντὸς δεξαμενῶν ἢ δοχείων ἐνεργεῖται πάντοτε ἀσήπτως δι' ἀπεστειρωμένων σιφωνίων. Εἶναι γνωστὸν ὅτι ἡ κορυφὴ τοῦ γάλακτος ἀπορροφᾷ σχεδὸν τὰ 80% τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος αὐτοῦ καὶ οὕτω προκαλεῖται σύγχυσις εἰς τὴν καταμέτρησιν τῶν μικροβίων ἐὰν τὸ πρὸς ἐξέτασιν δειγμα ληφθῆ ἐκ τῆς ἐπιφανείας αὐτοῦ. Πρὸς ἀποφυγὴν παρομοίων ἐσφαλμένων ἀποτελεσμάτων δέον ὅπως τὸ γάλα καθίσταται ὁμοιογενὲς ἢ τοῦλάχιστον ἀναταράσσεται καλῶς πρὸ τῆς δειγματοληψίας.

Τὸ νωπὸν γάλα συμφώνως πρὸς ἔνια ξένα δεδομένα δέον νὰ ἀπορρί-

πτεται ἐὰν περιέχη πλέον τῶν 3.000.000 μικροβίων κατὰ 1 κυβ. ὑφ., θεωρεῖται μετρίως ποιότητος ἀλλὰ εἶναι ἐδῶδιμον ὅταν περιέχη ἀπὸ 1.000.000-3.000.000 μικροβία κατὰ 1 κυβ. ὑφ. Θεωρεῖται δὲ καλὸν ἐὰν ὁ ἀριθμὸς τῶν μικροβίων κυμαίνεται μεταξὺ 300.000 - 1.000.000 κατὰ 1 κυβ. ὑφ. Εἶναι φανερόν ὅτι οἱ ἀριθμοὶ οὗτοι εἶναι ποσοτικαὶ ἐνδείξεις καὶ δὲν ἀφοροῦν παθογόνα μικροβία. Τὰ ἐπίσημα καθιερωμένα ὄρια μεταβάλλονται ἀναλόγως τῶν νομοθεσιῶν τῶν κρατῶν θεσπιζόμενα βάσει τοῦ βιοτικοῦ ἐπιπέδου, τῆς οἰκονομικῆς καταστάσεως καὶ τῆς πνευματικῆς ἀναπτύξεως τῶν κτηνοτρόφων τῶν διαφόρων λαῶν.

Ἡ μεταφορὰ τῶν συλλεγέντων δειγμάτων γίνεται ἐντὸς εἰδικῶν δοχείων μετὰ πάγου, ἡ δὲ διατήρησις αὐτῶν ἐξασφαλίζεται εἰς 2° - 4° C. Ταῦτα ἐξετάζονται ὅσον τὸ δυνατόν συντομώτερον πρὸς ἀποφυγὴν ἀλλοιώσεως τῶν πραγματικῶν μικροβιακῶν ἀριθμητικῶν στοιχείων τοῦ γάλακτος.

2. Γενικὴ καταμέτρησις τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ γάλακτος

α) Καταμέτρησις ἐπὶ ὑαλίνης πλακῶς.

Διὰ τὴν πρόχειρον καὶ ἄμεσον καταμέτρησιν τῶν μικροβίων τοῦ γάλακτος λαμβάνεται διὰ σιφωνίου 0,01 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ πραγματοποιεῖται λεπτὸν ἐπίχρισμα ἐπὶ ὑελίνης πλακῶς εἰς ἐπιφάνειαν 1 cm. ἀπολιπαίνεται τὸ ἐπίχρισμα διὰ ξυλόλης καὶ στερεοποιεῖται δι' οἶνοπνεύματος 90° εἶτα χρώννυται διὰ οἶνοπνευματικοῦ διαλύματος κυανοῦ μεθυλενίου 1 : 100.

Διὰ τὰς ἐν σειρᾷ ἐξετάσεις πολλῶν δειγμάτων συνιστᾶται τὸ ἐξῆς διάλυμα (Station de microbiologie du lait de l'I.N.R.A.-Paris), τὸ ὁποῖον ἐξασφαλίζει συγχρόνως στερέωσιν καὶ χρωσιν.

Bleu de Methylene Bacteriologique	1 g.
Alcool Ethylique	54 c.c.
Tetrachlorethane	40 c.c.
Acide Acetique	6 c.c.

Μετὰ τὴν ἀποξήρανσιν τῶν ἐπιχρισμάτων ταῦτα ἀπολιπαίνονται διὰ ξυλόλης, ἐμβαπτίζονται εἰς τὴν ἀνωτέρω χρωστικὴν διάλυσιν καὶ πλύνονται ἐν συνεχείᾳ δι' ἀφθόνου ὕδατος.

Διὰ τὴν μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν θεωρεῖται πρακτικῶς ὅτι ἡ ἐπιφάνεια ἐνὸς ὀπτικοῦ μικροσκοπικοῦ πεδίου ἐπὶ τοῦ ἐπιχρίσματος τοῦ γάλακτος ἰσοδυναμεῖ μὲ τὸ 1/300.000 κυβ. ὑφ. γάλακτος ὅταν ἡ διάμετρος τοῦ μικροσκοπικοῦ πεδίου τοῦ καταδυτικοῦ φακοῦ μικροσκοπίου εἶναι 0, mm 206, ὁ ὑπολογισμὸς ὅθεν τοῦ ἀριθμοῦ τῶν μικροβίων ἀνάγεται εἰς ἀπλοῦν μαθηματικὸν ὑπολογισμὸν. Εἰς τὴν προᾶξιν 1 μικροβίον κατὰ ὀπτικὸν πεδίου ἰσοδυναμεῖ πρὸς 300.000 μικροβία κατὰ 1 κυβ. ὑφ. γάλακτος, φανερόν εἶναι ὅμως ὅτι ἡ ἀνωτέρω μέθοδος ἀπέχει πολὺ ἀπὸ τοῦ νὰ παρέχῃ ἀκριβῆ μικροβιο-

λογικὰ δεδομένα καὶ εἶναι μᾶλλον μέθοδος χονδροειδοῦς ἐκτιμῆσεως τοῦ ἀριθμοῦ τῶν μικροβίων.

β) Καταμέτρησις ἀποικιῶν ἐπὶ στερεῶν θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων.

Ἡ καταμέτρησις τῶν ἀποικιῶν πραγματοποιεῖται ἐντὸς τρυβλίων Petri ἐπὶ εἰδικῶν στερεῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν.

Τὰ χρησιμοποιούμενα θρεπτικὰ ὑποστρώματα εἶναι τὰ κάτωθι :

A) Θρεπτικὸν ὑπόστρωμα Standard.

Agar Noble	15 gr.
Extrait de Viande	3 gr.
ἢ Extrait de Levure	2,5 gr.
Bacto - Tryptone	5 gr.
Dextrose	1 gr.
Ἐπεσταγμένον ὕδωρ	1000 c.c.
P.H. 7,2	

B) Peptone pancreatique de viande

ἢ Bacto-tryptone	5 gr.
Glucose	1 gr.
Lait ecremé	5 gr.
Agar noble	15 gr.
Eau distillée	1000 c.c.
P.H. 7,4.	

Γ) Θρεπτικὸν ὑπόστρωμα τοῦ Guitonneau - Chevalier

Paraïne T. 100	1 gr.
Ἐπεσταγμένον ὕδωρ	830 c.c.

Διαλύομεν τὴν Παπαίνην ἐντὸς τοῦ ἀπεσταγμένου ὕδατος καὶ προσθέτομεν ἐν συνεχείᾳ 170 κυβ. ὑφ. ἀποβουτυρωμένου γάλακτος καὶ 15 gr. Agar - Noble. Τὸ ὅλον μείγμα τίθεται ἐντὸς φιάλης καὶ φέρεται εἰς τὸ αὐτόκαυστον εἰς 120° ἐπὶ 30', ἐν συνεχείᾳ διαμοιράζεται εἰς δοκιμαστικούς σωλήνας ἀνὰ 15 κυβ. ὑφ. εἰς ἕκαστον, οὔτινες ἀποστειροῦνται εἰς 110° C. ἐπὶ 20'. Τὸ P.H. ρυθμίζεται διὰ NaOH N/10 εἰς 7.

Ἡ σπορὰ διενεργεῖται ἐκ σειρᾶς διαλύσεων τοῦ γάλακτος ἐντὸς ἀποστειρωμένου φυσιολογικοῦ διαλύματος (1, 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000) ἀναμειγνύοντες 1 κυβ. ὑφ. ἐξ ἐκάστης διαλύσεως ἐντὸς τοῦ δοκιμαστικοῦ σωλήνος τοῦ περιέχοντος τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα καὶ κατόπιν χέομεν τοῦτο ἐντὸς τρυβλίου Petri περὶ τὴν θερμοκρασίαν τῶν 45°.

Ἐπώσας εἰς 32°-33° C. ἐπὶ 48 ὥρας. Ἡ θερμοκρασία αὕτη εἶναι ἡ πλέον ἐνδεδειγμένη διὰ τὴν ἀνάπτυξιν ὅλων σχεδὸν τῶν μικροβίων πλὴν τῶν ψυχροφίλων καὶ τῶν θερμοφίλων.

Κατὰ τὴν ἐξέτασιν τῶν τρυβλίων ἐκλέγεται τὸ τρυβλίον τὸ ὁποῖον πε-

ριέχει από 30 έως 300 άποικίας όποτε πολλαπλασιάζοντας με τον παράγοντα διαλύσεως εύρισκομεν τον άριθμόν των μικροβίων κατά 1 κυβ. ύφ.

γ) Χαρακτήρες τών άποικιών.

Αί άποικίαι τών στρεπτοκόκκων του γάλακτος (Str. Lactis, Str. Cremoris) οι όποιοι προκαλοϋν την πηξιν του γάλακτος είναι μικραί, έπίπεδοι και έχουν κυανίζουσαν χροιάν.

Αί άποικίαι τών γαλακτικών βακίλλων είναι ελάχισται διότι οι βάκιλλοι αυτοί αναπτύσσονται καλώς εις 37° - 45°, ή όψις τών άποικιών τούτων είναι ως τών άνωτέρω στρεπτοκόκκων.

Αί άποικίαι της Escher. coli είναι πλατεΐαι ημισφαιρικοί και καθ’ όλα όμοια με τας άποικίας του μικροβίου έπι κοινού θρεπτικού άγαρ.

Αί άποικίαι τών άεριογόνων Escherichiae είναι πλατύτεραι και πλέον βλενωδεις από τας άνωτέρω.

Αί άποικίαι τών σταφυλοκόκκων είναι εύάριθμοι, χαρακτηριστικοί, όπως άκριβώς και αι έπι κοινού άγαρ.

δ) ‘Ανεκτός άριθμός μικροβίων έντός του γάλακτος.

Έξαιρέσει τών ειδικών παθογόνων μικροβίων άτινα δέν πρέπει ούδόλως νά άνευρισκονται έντός του γάλακτος, ό άριθμός τών άπαθογόνων άνεκτών μικροβίων ποικίλλει αναλόγως της Νομοθεσίας εκάστης χώρας και τών συνθηκών γαλακτοπαραγωγής. Έν γενικαΐς γραμμαΐς εις Γαλλίαν (G. Mocquot) παραδέχονται ότι ένα έξαιρετικής ποιότητος και συντηρήσεως νωπών γάλα δέν θα πρέπει νά περιέχη περισσότερα τών 300.000 μικροβίων κατά 1 κυβ. ύφ. χωρίς όμως νά υπάρχουν περιοριστικοί διατάξεις.

Διά τó παστεριωμένον γάλα οι άριθμοί κυμαίνονται από 100.000-200.000 έν τούτοις υπό τας ιδικάς μας συνθήκας και κατά την γνώμη μας γάλα παστεριωμένον τó όποϊον περιέχει από 100.000-300.000 μικρόβια κατά 1 κυβ. ύφ. δέον νά θεωρεΐται καλής ποιότητος. Τέλος τó πιστοποιημένον παστεριωμένον γάλα δέν πρέπει νά περιέχη κολοβακτηρίδια (Lait Pasteurisé certifié ή conditionné) και μέχρι 50.000 μικρόβια κατά κ.ύφ.

Συμφώνως προς τας Γαλλικας άπόψεις διά νά χαρακτηρισθῆ ένα παστεριωμένον γάλα από άπόψεως ποιότητος δέον όπως διά :

I) Γάλα καλής ποιότητος ό A.O.M.X. είναι κατώτερος τών 30.000 μικροβίων κατά κυβ. ύφ. (Lait pasteurisé conditionné).

II) Γάλα μέσης ποιότητος ό A.O.M.X.* κυμαίνεται μεταξύ 30.000-100.000 μικροβίων κατά κυβ. ύφ.

ε) ‘Αριθμός κολοβακτηριδίων.

Διά τó νωπών γάλα ό άριθμός τών κολοβακτηριδίων είναι άσαφής έν-

* ‘Αριθμός όλικῆς μικροβιακῆς χλωρίδος.

δειξις καὶ δὲν θὰ ἠδύνατο τις νὰ ἐξαγάγη θετικὰ συμπεράσματα διότι ἡ ρύπανσις τοῦ γάλακτος κατὰ τὴν ἄλμεξιν ἢ τὴν μετάγγισιν εἶναι πρακτικῶς ἀναπόφευκτος. Τὸ ἀνωτέρω θέμα εἶναι ἐπίσης συνάρτησις πολλῶν παραγόντων: ἐνσταυλίσεως, τεχνικῶν μέσων, οἰκονομικῆς καταστάσεως καὶ πνευματικοῦ ἐπιπέδου τοῦ κτηνοτρόφου.

Ὡς ἐκ τούτου διὰ τὸ νωπὸν γάλα δὲν καθορίζεται κολοβακτηριδιακὸς δείκτης. Δυνάμεθα δὲ μόνον νὰ εἴπωμεν ὅτι ὅσον περισσότερα κολοβακτηριδία ὑπάρχουν εἰς τὸ νωπὸν γάλα τόσον μεγαλυτέρα εἶναι ἡ ρύπανσις καὶ κακὴ ἢ συντήρησις αὐτοῦ.

Διὰ τὸ παστεριωμένον γάλα ἰσχύουν τὰ κάτωθι, συμφώνως πρὸς τὰς ξένας νομοθεσίας ὡς πρὸς τὸν κολοβακτηριδιακὸν δείκτην διὰ νὰ χαρακτηρισθῇ τὸ γάλα ἀπὸ ἀπόψεως ποιότητος.

- α) Γάλα καλῆς ποιότητος, ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων 1 κατὰ κυβ. ὑφ.
- β) Γάλα μέσης ποιότητος, ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων ἀπὸ 1 μέχρι 10 κατὰ κυβ. ὑφ.
- γ) Γάλα κατωτέρας ποιότητος, ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων ἀπὸ 10-100 κατὰ κυβ. ὑφ.
- δ) Γάλα ἀκάθαρτον, ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων ἄνω τῶν 100 κατὰ κυβ. ὑφ.

3. Ἀναζήτησις εἰδικῶν μικροβίων

A) Ἀπαθογόνων ἢ ὀλίγον παθογόνων

α) Κολοβακτηριδίων.

Σπείρομεν διαφόρους ποσότητας γάλακτος (1 κυβ. ὑφ., 0,1 κυβ. ὑφ., 0,01 κυβ. ὑφ.) εἰς εἰδικὰ θρεπτικὰ ὑποστρώματα ὡς τοῦ Kriestensen-Kauffmann, τοῦ Durham - Shaelein, θρεπτικὸν ὑπόστρωμα τοῦ Dorner ἢ ἄγαρ μετὰ γαλακτοσακχάρου καὶ δεσοξυχολικοῦ νατρίου.

Τὰς ἀναφυομένας ἀποικίας μικροβίων δοκιμάζομεν κειχωρισμένως ἐπὶ εἰδικοῦ ὑποστρώματος πρὸς ἀνίχνευσιν τῆς Ἰνδόλης (Indol test medium) τοῦ ὁποίου ἡ σύνθεσις ἔχει ὡς κατωτέρω :

Bactotryptone	15 gr.
Chlorure de Sodium	5 gr.
Phosphate Dissodique	7,1 gr.
Phosphate Monopotassique	3,6 gr.
Ἀπεσταγμένον ὕδωρ	1000 c.c.
P.H.	7-7,4

Ἀποστειρώσις ἐπὶ 15' εἰς 115°.

Ἡ ἀναζήτησις τῆς Ἰνδόλης γίνεται ἐπὶ τῶν καλλιεργειῶν μετὰ ἐπώαν 24 ὡρῶν εἰς 37° C. διὰ τοῦ ἀντιδραστηρίου τοῦ Erlich-Kovacs.

Εἰς περίπτωσιν ἀμφιβόλου ἀντιδράσεως ἀνασπορὰ ἐκ νέου, ἐπώα-

σις 48 ὥρῶν καὶ νέα δοκιμὴ. Ἡ δοκιμὴ τῆς Ἰνδόλης χαρακτηρίζεται θετικὴ διὰ τῆς ἐμφανίσεως ἐρυθροῦ δακτυλίου ἐπιπολάζοντος τοῦ ὑγροῦ.

Ἡ ἀναζήτησις τῶν Ἰνδολογόνων Ἐντεροβακτηριακῶν διὰ τῆς δοκιμῆς τῆς Ἰνδόλης δὲν εἶναι ἀπόλυτος, διότι ἔνια μικρόβια τῶν Escherichiae δὲν παράγουν ἰνδόλην, ὅθεν δέον ἀπαραιτήτως νὰ ἐφαρμόζηται συγχρόνως μὲ τὴν ἀνωτέρω δοκιμὴν καὶ ἡ δοκιμὴ τοῦ Braun ἢ δοκιμὴ τοῦ κυνιούχου καλίου ὡς καὶ ἡ δοκιμὴ τῆς οὐρίας. Ἐὰν δὲ παρίσταται ἀνάγκη περαιτέρω ἐρεῦνης ἢ εἰς περίπτωσιν ἀμφιβολίας, πολύτιμον βοήθειαν θὰ προσέφερον αἱ ἀντιδράσεις τῆς δεκαρβοξυλάσης τῆς λυσίνης (L.D.C.) καὶ τῆς δεσαμινάσης τῆς τρυπτοφάνης (T.D.A.).

β) **Ἐντερόκοκκος** (Streptococcus Fecalis)

Ὁ μ ἄ ς Δ'.

Μικροοργανισμὸς εὐκόλως διαχωριζόμενος τῶν λοιπῶν παθογόνων στρεπτοκόκκων, καθόλου αἰμολυτικός, δὲν προκαλεῖ λύσιν τῶν πρωτεϊνῶν, ζυμοῖ τὸν μαννίτην καὶ τὴν σαλικίνην, φύεται καὶ εἰς ἐχθρικά διὰ τὴν ἀνάπτυξιν ἐτέρων στρεπτοκόκκων θρεπτικὰ ὑπόστρώματα.

Τὸ κατωτέρω θρεπτικὸν ὑπόστρωμα εἶναι ἐκλεκτικὸν διὰ τὴν ἀπομόνωσιν τοῦ Str. Fecalis.

Θρεπτικὸν ὑπόστρωμα τῶν White et Sherman

Glucose	5 gr.
Bacto-Tryptone	5 gr.
Extrait de Levure (Frais)	5 gr.
Agar	15 gr.
Azide de Sodium	0,03 gr.
Penicilline	325 UO/Litre
Ἀπεσταγμένον ὕδωρ	1000 cc.

Διαλύομεν τὴν τρυπτόνην, τὸ ἐκχύλισμα τῶν ζυμομυκήτων καὶ τὸ ἄγαρ ἐντὸς 1000 c.c. ἀπεσταγμένου ὕδατος, τοποθετοῦμεν τὸ μείγμα εἰς τὸ αὐτόκαυστον ἐπὶ 20' εἰς 120° C. ὅπως καθιζήση, διηθοῦμεν διὰ γάζης καὶ προσθέτομεν τὴν γλυκόζην καὶ τὸ ἀζίδιον τοῦ νατρίου. Διαμοιράζομεν εἰς δοκιμαστικούς σωλήνας καὶ ἀποστειροῦμεν εἰς 115° C. ἐπὶ 15'. Ἡ Πενικιλίνη προστίθεται ἐντὸς τῶν δοκιμαστικῶν σωλήνων εἰς θερμοκρασίαν 45° C. κατὰ τὴν στιγμὴν τῆς χρησιμοποιήσεως.

Κατωτέρω παρατίθεται ἓν νεώτατον θρεπτικὸν ὑπόστρωμα τὸ ὁποῖον δίδει ἄριστα ἀποτελέσματα διὰ τὴν ἀπομόνωσιν καὶ τὸν χαρακτηρισμὸν τοῦ Str. Fecalis (P. Morelis et L. Colobert).

Peptone vaillant 5 B ἢ Tryptone	10 gr.
Glycocolle	5 gr.
Agar Noble	16 gr.
Eau Distillee	800 c.c.

Φέρομεν ἀκριβῶς εἰς τὸν ὄγκον τῶν 800 c. c. καὶ εἰς P. H. 9,3 διὰ NaOH N/10.

Παρασκευάζομεν κεχωρισμένως τὴν ἐξῆς διάλυσιν ἐν θερμοῦ.

Nitrate de Sodium	2 gr.
Esculine	1 gr.
Citrate de Fer Ammoniacal	2 gr.
Eau distillée	200 cm ³

Ἀναμιγνύομεν τὰς δύο διαλύσεις, διαμοιράζομεν τὸ ὑλικὸν εἰς σωλῆνας καὶ ἀποστειροῦμεν εἰς 115° C. ἐπὶ 20'.

B) Π α θ ο γ ό ν α

α) Σαλμονέλλαι καὶ Σιγκέλλαι.

Ἡ ἀναζήτησις καὶ ἡ ἀπομόνωσις τῶν ἀνωτέρω μικροβίων πραγματοποιεῖται κατὰ τὰς κλασσικὰς μεθόδους τῆς Μικροβιολογίας τῶν ἐντεροβακτηριακῶν, ἡ ἀπομόνωσις καὶ ἡ μετὰ ταύτην ἐπιδημιολογικὴ ἔρευνα προκειμένου περὶ τοῦ βακίλλου τοῦ Eberth (Salmonella Typhi) καθὼς καὶ διαφόρων ἄλλων παρατυφικῶν, ἐνέχει ὑψίστην σημασίαν καθ' ὅσον εἰς περίπτωσιν ἀλμεκτοῦ, χρονίου φορέως τυφικοῦ ἢ παρατυφικοῦ μικροβίου μεγάλα ποσότητες γάλακτος δύνανται νὰ καταστοῦν ἐπικίνδυνοι διὰ τὴν δημοσίαν ὑγιάν.

Διὰ τὴν ἀπομόνωσιν, σπεῖρεται ποσότης 1 κυβ. ὑφ. γάλακτος ἢ καλλίτερον 1 κυβ. ὑφ. ἰζήματος καὶ κορυφῆς γάλακτος μετὰ φυγοκέντησιν 20 λεπτῶν εἰς 3000 στροφὰς κατὰ λεπτόν ἐντὸς 10 κυβ. ὑφ. θρεπτικοῦ ὑποστρώματος Müller-Kauffmann ἢ Selenite M. Μετὰ 24 ὥρων ἐπώασιν εἰς 37° ἀνασπορὰ ἐκ τῶν ἐμπλουτισμένων καλλιιεργειῶν εἰς θρεπτικὰ ὑποστρώματα SS ἢ K.K.

Ἐν συνεχείᾳ προβαίνομεν εἰς βιοχημικὸν καὶ ὀρολογικὸν χαρακτηρισμὸν τῶν ἀναφουμένων μικροβίων τῇ βοθηθείᾳ εἰδικῶν ὀρῶν, ὁμάδων, φάσεων κλπ.

β) Ἀναερόβια σπορογόνα μικρόβια.

Δοκιμὴ τοῦ Weinzirl.

Ἐξ ἐκάστου δείγματος γάλακτος ἐτοιμάζονται 5 δοκιμαστικοὶ σωλῆνες περιέχοντες ἕκαστος 5 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ 1 κυβ. ὑφ. παραφίνης, οἱ σωλῆνες οὗτοι τίθενται ἐντὸς ὕδατολούτρου 85° ἐπὶ 15'.

Ἐν συνεχείᾳ ἐξάγονται ἐκ τοῦ ὕδατολούτρου καὶ ἡ παραφίνη στερεοποιουμένη διατηρεῖ πλήρη ἀναεροβίωσιν. Ἐπώασιν ἐπὶ 3 ἡμέρας εἰς 37°.

Ἡ ἀνάπτυξις τῶν ἀναεροβίων μικροβίων ἐμφανίζεται διὰ τῆς ὑψώσεως τῶν πωμάτων τῆς παραφίνης ἐντὸς τῶν σωλῆνων.

Δοκιμὴ τοῦ Buttiaux καὶ Berens.

Τὸ γάλα θερμαίνεται ἐπὶ 15' εἰς 75° τὰ ἀσπορογόνα μικρόβια καταστρέφονται. Ἡ σπορὰ πραγματοποιεῖται διὰ ποσότητος 0,5 κυβ. ὑφ. ἐκ πέντε ἀραιώσεων τοῦ γάλακτος, 1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 ἐντὸς εἰδικοῦ ἄγαρ ἀναεροβίων.

Ἄγαρ Veillon δι' ἀναζήτησιν διαθλαστικῶν.

Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλήνος ἄγαρ Veillon προστίθενται 2 κ.ὑφ. διαλύσεως θειώδους νατρίου 20 % ἀποστειρωμένης, καθὼς καὶ 2-3 σταγόνες διαλύσεως στυπτηρίας σιδήρου 5 % ἀποστειρωμένης ἐπίσης. Κατόπιν σπορᾶς καὶ ἐπώσεως εἰς 37° αἱ ἀποικίαι τῶν διαθλαστικῶν φαίνονται μέλαναι.

γ) Ἐντεροτοξινογόνοι σταφυλόκοκκοι.

Ἡ ἀναζήτησις καὶ ἡ ἀπομόνωσις σταφυλοκόκκων προκαλούντων σιτιογενεῖς τοξινώξεις πραγματοποιεῖται διὰ τῶν συνήθων μεθόδων: ἦτοι ἀπομόνωσις καὶ βιοχημικὴ ἐξέτασις τοῦ μικροβίου ἐπὶ εἰδικῶν θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων διὰ τὴν ζύμωσιν τοῦ μαννίτου, τὴν πρόκλησιν αἰμολύσεως τύπου α ἢ β ἀντιστοίχως ἐπὶ ἄγαρ περιέχοντος ἐρυθρὰ αἰμοσφαίρια κονίκλου καὶ προβάτου, δοκιμὴ τῆς πηκτάσεως ἐπὶ πλάσματος κονίκλου καὶ δοκιμασίαν λύσεως τῆς ἰνικῆς.

Αἱ τεχνικαὶ τῶν ἀνωτέρω μεθόδων εἶναι κλασσικαί. Διὰ τὸν ἔλεγχον τῆς τοξικῆς ἰκανότητος αὐτοῦ, σπορὰ τοῦ μικροβίου ἐπὶ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος τοῦ Dollman-Wilson τὸ ὁποῖον εὐνοεῖ τὴν παραγωγὴν τῆς ἐντεροτοξίνης καὶ δοκιμὴ διὰ τῆς χορηγήσεως εἰς νεαρὰν γαλῆν ἢ πίθηκον.

Κατωτέρω παρατίθεται ἓν ἄριστον θρεπτικὸν ὑπόστρωμα τοῦ Institut Pasteur τῆς Lille.

Beef Extract	6 gr.
Peptone	10 gr.
Chlorure de Sodium	150 gr.
Lactose	15 gr.
Agar Noble	1 gr.
Eau Distillée	1000 c.c.
Ρυθμίζομεν τὸ P.H.	εἰς 7,4

Σπείρομεν 1/2 κυβ. ὑφ. γάλακτος εἰς ἕκαστον δοκιμαστικὸν σωλήνα (σωλήνες τῶν 22/22). Ἐπώσας 48 ὥρας εἰς 37° C. καὶ μετὰ ἀνασπορὰ ἐπὶ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος μαννίτου Charmann.

Ἐξέτασις τῶν ἀποικιῶν μετὰ 48-72 ὥρας. Ἡ ὑπόλοιπος διαδικασία κατὰ τὰ γνωστὰ δεδομένα.

δ) Στρεπτόκοκκοι.

Ὁ συνηθέστερον ἀπαντῶν παθογόνος στρεπτόκοκκος εἶναι ὁ Str. Agalaxiae, δυνατὸν ὅμως νὰ ὑπάρχουν καὶ ἄλλαι ποικιλίαι προκαλοῦ-

σαι μαστιτίδας ἢ πυογόνους ἐστίας. Ἡ ἀπομόνωσις γίνεται ἐπὶ εἰδικοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος.

Beef Extract	10 gr.
Peptone	10 gr.
Chlorure de Sodium	5 gr.
Ἀπεσταγμένον ὕδωρ	1000 c.c.

Προστίθεται ἄγαρ 18 γραμμάρια προκειμένου περὶ παρασκευῆς στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος. Τὰ ἀνωτέρω θρεπτικά ὕλικά ἐμπλουτίζονται ἀντιστοίχως διὰ 5 % αἵματος βοός.

Ἄτερον θρεπτικὸν ὑπόστρωμα (Edwards) χρησιμοποιοῦν Ἐσκουλίην 1/1000 καὶ κρυσταλλικὸν ἰῶδες 1/500.000.

Αἱ ἀποικίαι τοῦ στρεπτοκόκκου εἶναι μικραὶ, κεχωρισμέναι, δίδουν ἀρνητικὴν δοκιμὴν τῆς καταλάσης καὶ εἶναι διαφόρου αἰμολυτικῆς ἰκανότητος.

ε) Βάκιλλος τῆς Φυματιώσεως (Mycob. Tuberculosis).

Ἡ ἀναζήτησις τοῦ βακίλλου τοῦ Κῶχ εἰς τὸ γάλα μόνον διὰ τῆς χρώσεως ἐπιχρίσματος ἐκ τοῦ ἰζήματος φυγοκεντρηθέντος γάλακτος δὲν μᾶς ἐπιτρέπει νὰ ἀποφανθῶμεν μετὰ βεβαιότητος ἐπὶ τῆς ὑπάρξεως ἢ μὴ τούτου, διότι ὑπάρχουν πολλοὶ βάκιλλοι οἰνοπνευματοξυάντοχοι οἱ ὅποιοι δύνανται νὰ προκαλέσουν σύγχυσιν καὶ νὰ δημιουργήσουν ἀμφιβολίας εἰς τὴν διάγνωσιν.

Διὰ ταῦτα δέον ἀπαραιτήτως ὅπως ἀπομονωθῇ ὁ βάκιλλος ἐπὶ θρεπτικοῦ ὕλικου Löwenstein ἢ νὰ ἐπιβεβαιωθῇ ἡ διάγνωσις δι' ἐνοφθαλμισμού εἰς ἰνδοχοίρους.

Τεχνικὴ

Εἰς τὸ ἴζημα 50 κυβ. ὑφ. γάλακτος λαμβανομένου κατόπιν ἐντόνου φυγοκεντρήσεως προστίθεται εἰς ἴσον ὄγκον καυστικὸν νάτριον N/10 καὶ ὀλίγαι σταγόνες δείκτου pH. Τίθεται ἐπὶ 1/2 ὥραν εἰς 37° C. Ἐξουδετεροῦται τὸ καυστικὸν νάτριον δι' ὕδροχλωρικοῦ ὀξέος N/10, φυγοκεντρεῖται ἐκ νέου τὸ μείγμα καὶ σπεῖρεται τὸ ἴζημα ἐντὸς 5 δοκιμαστικῶν σωλῆνων μὲ εἰδικὸν θρεπτικὸν ὑπόστρωμα. (Löwenstein) καὶ τίθεται εἰς ἐπάσιν εἰς 37° ἐπὶ 15-20 ἡμέρας.

Ἐνίεται ἐπίσης ὑποδοριῶς εἰς τὴν ἐσωτερικὴν παρεῖαν τοῦ μηροῦ ἰνδοχοριδίου, ποσότης 2 κυβ. ὑφ. ἰζήματος καὶ κορυφῆς διὰ τὴν ἰν νίνο διάγνωσιν.

στ) Ἀναζήτησις τῆς Brucella.

Ἡ ἀναζήτησις τῶν μικροβίων τοῦ μελιταίου πυρετοῦ καὶ τῆς ἐπιζωοτικῆς ἀποβολῆς τῶν ἀγελάδων εἰς τὸ γάλα ἐνέχει μεγάλην σημασίαν ἀπὸ ἀπόψεως δημοσίας ὑγείας, ἰδίως ἐκεῖ ὅπου τοῦτο δὲν ὑφίσταται παστερίωσιν.

Ἡ ἀπομόνωσις τοῦ μικροβίου ἐπὶ συνήθων θρεπτικῶν ὕλικῶν δυσκό-

λως ἢ οὐδόλως ἐπιτυγχάνεται. Ἡ σπορὰ πραγματοποιεῖται ἐκ τῆς κορυφῆς καὶ ἐκ τοῦ ἰζήματος φυγοκεντρηθέντος γάλακτος. Διὰ τὴν *Brucella Abortus* ἡ ἐπάσις δέον ὅπως πραγματοποιηθῆ ἀπαραιτήτως ἐντὸς ἀτμοσφαίρας CO₂. Ἡ χρῆσις τοῦ εἰδικοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος τοῦ Huddleson εἶναι ἐξαιρετικῶς λεπτὴ καθότι πολλάκις ὁ ἀναφυόμενος ἐπ’ αὐτοῦ στρεπτόκοκκος μεταβάλλει τὰς ιδιότητας τοῦ ὑποστρώματος εἰς τοιοῦτον σημεῖον, ὥστε ἡ ἀνάπτυξις τῆς *Brucella* νὰ καθίσταται ἀδύνατος.

Κατὰ τὰ τελευταῖα ἔτη ἡ χρησιμοποίησις συνδυασμοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος καὶ ἀντιβιοτικῶν ἐπέτρεψε νὰ ἐπιτευχθῶσι ἄριστα ἀποτελέσματα εἰς τὴν ἀπομόνωσιν τῶν *Brucella*. Τὸ χρησιμοποιούμενον διὰ τὴν σπορὰν θρεπτικὸν ὑπόστρωμα περιέχει ἀκτιδιόνην, Milien de Kuzdas καὶ Morse (Milieu W) καὶ ἐπ’ αὐτοῦ σπείρεται ἡ κορυφὴ γάλακτος τεθέντος ἀπὸ 48 ὥρῶν εἰς 2°.

Agar - Albimi	1000 c.c.
Sulfate de Polymyxine	6000 U.I.
Actidione	100 mg.
Bacitracine	25000 U.I.
Circuline	15000 U.I.
Cristal Violet	1,4 mg.

Μία τροποποίησις τοῦ ἀνωτέρω θρεπτικοῦ ὑποστρώματος (Renoux) Milieu W.E. καθ’ ἣν ἀντὶ τοῦ ἰώδους τοῦ μεθυλίου χρησιμοποιεῖται τὸ ἰώδες τοῦ αἰθυλίου δίδει ἔτι καλλίτερα ἀποτελέσματα εἰς τὴν ἀπομόνωσιν τῶν *Brucella*.

Τὸ ἰώδες τοῦ αἰθυλίου χρησιμοποιεῖται εἰς διάλυσιν 1/100 καὶ εἰς ποσότητα 1,25 κυβ. ὑφ. διὰ 1000 κυβ. ὑφ. θρεπτικοῦ ὑποστρώματος. Ἐξαιρετικὴ ἐπίσης μέθοδος διαγνώσεως εἶναι ἡ βραδεῖα ὀρροσυγκόλλησις τοῦ ὀρροῦ τοῦ γάλακτος, ἐν τούτοις ὅμως εἰς τὴν προᾶξιν ὡς ἀπλουστέρα, προτιμᾶται ἡ δοκιμὴ τοῦ δακτυλίου.

Δοκιμὴ τοῦ δακτυλίου (Ring-Test).

Ἡ μέθοδος βασίζεται εἰς τὴν ιδιότητα τὴν ὁποῖαν ἔχουν αἱ *Brucellae* νὰ συγκολλῶνται ἐπὶ τῶν λιποσφαιρίων τοῦ γάλακτος καὶ νὰ συναθροίζονται ἐντὸς τῆς κορυφῆς αὐτοῦ εἰς τὴν ἐπιφάνειαν. Τὸ χρησιμοποιούμενον ἀντιγόνον διὰ τὴν ἀνωτέρω δοκιμὴν εἶναι διεθνῶς τὸ αὐτό, διαφορὰν δὲ μόνον παρουσιάζει εἰς ὅτι ἀφορᾷ τὴν χρωστικὴν οὐσίαν ἣτις ἐμπεριέχεται εἰς αὐτὸ καὶ ἣτις εἶναι ἡ αἵματοξυλίνη ἢ τὸ τετραζόλιον.

Τ Ε Χ Ν Ι Κ Ἡ

Ἐντὸς σωληναρίων ὀρρολογίας τίθενται 2 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ δύο σταγόνες ἀντιγόνου, ἀνακινοῦνται ἑλαφρῶς καὶ τίθενται εἰς θερμοκρα-

σίαν 32°-37° C. ἐπὶ 1-2 ὥρας. Μετὰ τὴν πάροδον τοῦ χρονικοῦ τούτου διαστήματος γίνεται ἡ ἀνάγνωσις τῆς ἀντιδράσεως.

	Τετραζόλιον	Αἵματοξυλίνη
Ἐνδίδρασις θετικὴ	Δακτύλιος Ἐρυθρὸς	Δακτύλιος Κυανοῦς
» ἀρνητικὴ	» Λευκὸς	» Λευκὸς

Εἶναι φανερὸν ὅτι μεταξὺ τῶν δύο τούτων ἐνδείξεων ὑπάρχουν καὶ ἐνδιάμεσα στάδια.

Προκειμένου περὶ γάλακτος αἰγὸς ἡ δοκιμὴ τοῦ Ring - Test δυσκόλως ἐπιτυγχάνει καὶ παρέχει ἀμφιβόλους ἐνδείξεις καθ' ὅτι δὲν σχηματίζεται δακτύλιος. Πρὸς ἄρσιν τῆς δυσκολίας ταύτης διάφοροι ἐρευνῆται προτείνουσι μέθοδον προσομοιάζουσαν πρὸς συγκόλλησιν καὶ ἐφαρμοζομένην εἰδικῶς ἐπὶ τοῦ ἀποκορυφωμένου γάλακτος τῆς αἰγὸς (Ἐλεβιζάτος, Ἐμμανουηλίδου).

Δυναμέθα ἐπίσης νὰ ἐπιτύχωμεν τὴν ἀπομόνωσιν τοῦ μικροβίου δι' ἐνοφθαλμισμοῦ ἰζήματος προερχομένου ἐξ 20 κ. ὑφ. γάλακτος εἰς ἰνδόχοιρον καθὼς καὶ διὰ τῆς καλλιεργείας ὑπόπτου γάλακτος ἐπὶ ἐμβρυοφόρων ὄσων ὄρνιθος 10 ἡμερῶν (Metzger, Baudelle, Stokes).

Δ' ΠΡΑΚΤΙΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΙ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Διὰ τῆς ἀναζητήσεως ἐνζύμων ἅτινα καταβιβάζουν τὸ δυναμικὸν τῆς δξειδο-ἀναγωγῆς (r. H) τοῦ γάλακτος, εὐρίσκεται ὁ βαθμὸς τῆς μικροβιακῆς μολύνσεως αὐτοῦ.

1) Δοκιμὴ τοῦ κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου.

Ἡ ἀντίδρασις ἔχει ὡς σκοπὸν τὴν ἀνίχνευσιν τοῦ ἐνζύμου (Reductase). Πρὸς τὸν σκοπὸν τοῦτον χρησιμοποιεῖται διάλυσις μικροβιολογικοῦ κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου 0,02 % ἐντὸς ἀπεστερωμένου ἀπεσταγμένου ὕδατος. Λαμβάνεται ὄγκος 20 κ. ὑφ. γάλακτος ἐξ ἐκάστου δείγματος ἐντὸς ἀπεστερωμένων δοκιμαστικῶν σωλῆνων μετὰ πώματος ἐξ ἐλαστικοῦ καὶ ἀναμιγνύεται μετὰ 0,5 κ. ὑφ. διαλύσεως κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου. Ἀνακινεῖται δύο - τρεῖς φορὰς διὰ νὰ ἀναμιχθῇ καλῶς εἴτα ἐμβαπτίζεται εἰς ὕδατόλουτρον 37,5° καὶ σημειοῦται ὁ χρόνος τοῦ ἀποχρωματισμοῦ.

Ἀποχρωματισμὸς ἐντὸς 15'. Τὸ γάλα εἶναι ἐντόνως μεμολυσμένον ὑπὸ μικροβίων.

Ἀποχρωτισμὸς ἐντὸς 1 ὥρας. Τὸ γάλα εἶναι ὀλιγώτερον μεμολυσμένον. Ἀποχρωματισμὸς ἐντὸς 1-3 ὥρῶν τὸ γάλα εἶναι ἐλαφρῶς μεμολυσμένον. Ἀποχρωματισμὸς ἄνω τῶν 3 ὥρῶν τὸ γάλα θεωρεῖται ἱκανοποιητικῆς ποιότητος. Πέραν δὲ τῶ 4-5 ὥρῶν ἀρίστης ποιότητος καὶ συντηρήσεως.

Γάλα περιέχον 1.000.000 μικρόβια κατὰ κυβ. ὑφ. ἀποχρωματίζεται εἰς χρόνον ὀλίγον ἀτέχοντα τῆς μιᾶς ὥρας. Ὁ ταχὺς ἀποχρωματισμὸς ἐνὸς γάλακτος χαρακτηρίζει γάλα ἀκατάλληλον πρὸς βρωθῶσιν.

2) Δοκιμή τῆς ρεσαζουρίνης (οὐρανίνης).

Χρησιμοποιεῖται διάλυσις 0,5 ‰ μᾶς εἰδικῆς χρωστικῆς οὐσίας φερομένης εἰς τὸ ἐμπόριον ὑπὸ μορφὴν δισκίων (Bengers Ltd Holmes Chapel. (Cheshire England). Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλήνος, περιέχοντος 10 κυβ. ὑφ. γάλακτος προστίθεται 1 κυβ. ὑφ. διαλύσεως ρεσαζουρίνης καὶ τίθενται ἐντὸς ὑδατολούτρου 37,5°. Ἀνάγνωσις διὰ τοῦ συγκριτῆρος του Lovibond. Ὁ χρόνος τῆς ἐπωάσεως εἶναι συνάρτησις τῆς ἐξωτερικῆς θερμοκρασίας καὶ δίδεται δι’ εἰδικῶν πινάκων.

Ἡ μέθοδος ὑπερτερεῖ τῆς προηγουμένης ὡς πρὸς τὴν ταχύτητα εἶναι ὅμως ὀλίγον λεπτοτέρα τῆς ἄλλης διότι ἐπηρεάζεται ἀπὸ τὴν ποσότητα τῶν εὐρισκομένων εἰς τὸ γάλα λευκοκυττάρων.

3) Δοκιμή τῆς αἰθυλικῆς ἀλκοόλης.

Ἡ χρησιμοποιουμένη αἰθυλικὴ ἀλκοόλη δέον νὰ εἶναι 68°.

Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλήνος προστίθενται 2 κυβ. ὑφ. γάλακτος πρὸς ἐξέτασιν καὶ 2 κυβ. ὑφ. αἰθυλικῆς ἀλκοόλης 68°. Ἀνακινεῖται τὸ μείγμα καλῶς, προστίθεται ἀμέσως 2-3 σταγόνες διαλύσεως πορφυροῦ τῆς βρωμοκρεζόλης καὶ ἐξετάζεται ἡ πῆξις τοῦ μείγματος εἰς τὸ φῶς τῆς ἡμέρας καὶ εἰς τὴν συνήθη θερμοκρασίαν τοῦ περιβάλλοντος

Ἐνα γάλα καλῆς ποιότητος δὲν πήγνυται ἢ πήγνυται ἐντὸς λίαν μακροῦ χρονικοῦ διαστήματος, καὶ ἡ πῆξις αὐτοῦ δὲν εἶναι τελεία. Ἐὰν τὸ γάλα περιέχει μεγάλον ἀριθμὸν μικροβίων ἢ πῆξις εἶναι ἄμεσος ἢ ταχεῖα.

4) Δοκιμή τοῦ βρασμοῦ.

Λαμβάνομεν ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλήνος 5 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ θέτομεν τοῦτο ἐντὸς ζέοντος ὑδατολούτρου ἐπὶ 5’.

Παρατηρεῖται ἡ παρουσία ἢ ἡ ἀπουσία πύξως. Γάλατα κακῆς συντηρήσεως ἢ περιέχοντα μεγάλον ἀριθμὸν μικροβίων ἢ ἐνζύμων πήγνυται κατὰ τὴν ἐξαγωγὴν τῶν ἐκ τοῦ ὑδατολούτρου.

5) Μέτρησις τῆς ὀξύτητος.

Ἡ ἀνάπτυξις τῶν μικροβίων ἐντὸς τοῦ γάλακτος χαρακτηρίζεται ἀπὸ τὸ σχηματισμὸν γαλακτικοῦ ὀξέος διὰ τῆς ζυμώσεως τοῦ γαλακτοζακχάρου. Ἡ μέτρησις τῆς ὀξύτητος τοῦ γάλακτος ἐκφράζεται εἰς βαθμοὺς Dornic.

Διὰ λυμα Dornic

Sodium Hydroxide	4,44 gr.
Eau Distillée	1000 c.c.

Λαμβάνομεν ποσότητα 10 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ προσθέτομεν ὀλίγας σταγόνας Φαινολοφθαλείνης 1 ‰. Ἐν συνεχείᾳ δι’ ἠορθμημένου ὀγκομετρικοῦ σιφωνίου χέομεν ποσότητα τινὰ ἐκ τοῦ διαλύματος Dornic μέχρι ἐξουδετερώσεως τῆς ὀξύτητος, ἣτις γίνεται ἀντιληπτὴ διὰ τῆς ἀλλαγῆς τοῦ

χρώματος τοῦ δείκτου. Ἡ μέση ὀξύτης τοῦ γάλακτος εἶναι 1,4 - 1,8 gr. γαλακτικοῦ ὀξέος δι' ἕκαστον λίτρον γάλακτος ἢ 14°-18° Dornic.

6) Δοκιμὴ τῆς καταλάσης.

Γάλα περιέχον μεγάλην ποσότητα μικροβίων ἢ προερχόμενον ἐξ ἀγελάδων πασχουσῶν ἐκ φλεγμονωδῶν ἐξεργασιῶν τῶν μαστῶν (ὁπότε ὑπάρχει ηὔξημένον ποσοστὸν λευκοκυττάρων ἐν αὐτῷ) περιέχει καὶ ηὔξημένον ποσοστὸν καταλάσης. Εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ἡ ἀπλή μέθοδος τῆς ἀνιχνεύσεως τῆς καταλάσης διὰ τοῦ ὀξυγονοῦχου ὕδατος ἀραιωμένου ἀποτελεῖ ἀρίστην μέθοδον ταχέως ἐλέγχου τοῦ γάλακτος. Ἡ δοκιμὴ πραγματοποιεῖται διὰ τῆς μετρήσεως τοῦ ἐκλυομένου ὀξυγόνου ἐντὸς εἰδικῆς συσκευῆς. (Catalasimetre de Thiéulin). Πρακτικωτέρα ὁμῶς μέθοδος ἀνιχνεύσεως τῆς καταλάσης δυναμένη νὰ εφαρμοσθῇ καὶ ἐκτὸς Ἐργαστηρίου εἶναι ἡ ἀκόλουθος (Ehrlich). Ἐπὶ εἰδικῆς ὑελίνης πλακὸς φερούσης κοιλότητα καὶ στηριζομένης ἐπὶ σκοτεινῆς βάσεως τίθεται μία σταγὼν γάλακτος καὶ ἐν συνεχείᾳ μία σταγὼν ὀξυγονοῦχου ὕδατος 8-10 ὄγκων. Τὸ μεμολυσμένον γάλα παράγει φυσαλίδας ἀέρος αἱ ὁποῖαι καλύπτουν τὴν ἐπιφάνειαν ἐν εἴδει ἀφροῦ σάπωνος, ἐνῶ εἰς ὑγιᾶς γάλα ἐλάχισται φυσαλίδες παρατηροῦνται.

7) Δοκιμὴ τῆς Φωσφατάσης.

Εἶναι γνωστὸν ὅτι τὸ εἰδικὸν ἔνζυμον τοῦ νωποῦ γάλακτος ἡ φωσφατάση καταστρέφεται κατὰ τὴν παστερίωσιν αὐτοῦ σχεδὸν εἰς τὴν αὐτὴν θερμοκρασίαν μετὰ τοῦ βακίλλου τῆς φυματίωσεως (Mycob. Tuberculosis). Οὕτω διὰ τῆς ἀνιχνεύσεως τῆς φωσφατάσης ἐλέγχεται ἡ κανονικὴ παστερίωσις καὶ ἡ νοθεία τοῦ παστεριωμένου γάλακτος διὰ νωποῦ τοιοῦτου. Ἡ μέθοδος αὕτη χρησιμοποιεῖται εὐρέως εἰς τὰ ἐργοστάσια παστερίωσεως καὶ εἰς τὰ ἐργαστήρια ἐλέγχου τῶν νοθειῶν καὶ ὑγιεινῆς τοῦ γάλακτος.

Δοκιμὴ τοῦ Kay-Graham τροποποιηθεῖσα ὑπὸ τοῦ L. H. P. Rochester N. Y.

Τεχνικὴ

Ἄναγκαῖα ἀντιδραστῆρια.

α) Ρυθμιστικὸν διάλυμα.

Phenylphosphate Dissodique	1,09 gr.
Diethylbarbiturate de Sodium	11,54 gr.
Eau Distillée	994 c.c.

προστίθενται ἀκόμη εἰς τὴν ἀνωτέρω διάλυσιν 4 c. c. χλωροφορμίου καὶ φυλάσσεται ἐντὸς ψυγείου.

β) Ἀντιδραστήριον τοῦ Gibbs.

Τὸ ἀντιδραστήριον τοῦτο χρησιμοποιεῖται διὰ τὴν ἀνίχνευσιν τῆς φαινόλης.

2,6 Dibromoquinonechlorimide	0,2 gr.
Alcool Éthylique à 95°	50 ml

Ἡ διάλυσις φυλάσσεται ἐντὸς φιαλιδίου σκοτεινοῦ χρώματος μεθ' ὑε-
λίνου πάματος εἰς 4° C.

Τὸ διάλυμα τοῦτο ἀλλοιοῦται εὐκόλως καὶ διὰ τοῦτο δὲν χρησιμοποιεῖ-
ται πέραν τῆς μιᾶς ἐβδομάδος.

γ) Τυτλοποιημένη διάλυσις φαινόλης.

Phenol Neige	0,1 gr.
Eau Distillée	1000 ml.

δ) Χλωροφόρμιον 500 ml.

Ἀπαρίτητα ὄργανα.

- α) Δοκιμαστικοὶ σωλῆνες.
- β) Σιφώνια ἠριθμημένα τοῦ 1 καὶ 0,1 κυβ. ὑφ.
- γ) Ὑδατόλουτρον ρυθμιζόμενον εἰς 37°.

Τεχνικὴ

Ἐντὸς 10 κυβ. ὑφ. ρυθμιστικοῦ διαλύματος εὐρισκομένου ἐντὸς δοκι-
μαστικοῦ σωλῆνος προστίθεται 1 κυβ. γάλακτος ἐκ τοῦ δείγματος καὶ
μία σταγὼν χλωροφορμίου, κατόπιν μετρίας ἀνακινήσεως τίθεται ἐντὸς ὕδα-
τολούτρον 37° καὶ ἐπὶ χρονικὸν διάστημα 12-18 ὥρων.

Μετὰ τὴν ἐξαγωγήν ἐκ τοῦ ὕδατολούτρον προστίθεται 0,1 κυβ. ὑφ.
ἀντιδραστηρίου τοῦ Gibbs καὶ ἀναμιγνύεται καλῶς, ἡ ἀνάγνωσις ἐνεργεῖται
διὰ τῆς συγκρίσεως τῶν χρωματισμῶν τοῦ ἐξεταζομένου δείγματος καὶ τῶν
δύο μαρτύρων ἐκ τῶν ὁποίων ὁ εἷς περιέχει γάλα ἐβρασμένον ἄνευ φαινόλης.

Ἀποτελέσματα

Ἡ ἀπουσία κυανῆς χροιάς τοῦ δείγματος δεικνύει κανονικὴν παστερίω-
σιν τοῦ γάλακτος καὶ ὅτι δὲν ἐνοθεύθη διὰ νοποῦ τοιοῦτου. Ἐὰν τὸ ἐξετα-
ζόμενον δείγμα παρουσιάζει κυανὴν χροιάν ἴσης ἢ ἀνωτέρας ἐντάσεως τοῦ
μάρτυρος τοῦ περιέχοντος φαινόλην ἀποδεικνύει κακὴν παστερίωσιν ἢ νοθείαν.

Κατὰ τὴν δειγματοληψίαν δέον νὰ ἀποφεύγωνται τὰ ἐκ πλαστικῶν
ὕλων πάματα διότι εἶναι φαινολογικῆς βάσεως συνθέσεις καὶ δύνανται τὰ
δι' αὐτῶν σφραγισμένα δείγματα νὰ δώσουν θετικὰ ἀποτελέσματα διὰ
φωσφατάσην.

Ἡ ἀνωτέρω μέθοδος προσδιορισμοῦ τῆς φωσφατάσης εἶναι λίαν ἀκρι-

βῆς ἀλλὰ ἀπαιτεῖ ἀρκετὸν χρόνον ἐπωάσεως διὰ τοῦτο ἐφ' ὅσον εἶναι δυνατὸν δεόν νὰ προτιμᾶται εἰς ἐπειγούσης φύσεως ἐξετάσεις ἢ κατὰ Sharer τροποποιηθεῖσα μέθοδος, ἣτις δὲν ἀπαιτεῖ χρόνον πλεόν τῆς ὥρας.

Ἡ δοκιμὴ τῆς φωσφατάσης δὲν χρησιμοποιεῖται διὰ τὸν ἔλεγχον τῆς παστεριώσεως γάλακτος αἰγός.

Πλὴν τῶν ἀνωτέρω μεθόδων ὑπάρχουν καὶ μερικαὶ ἄλλαι ὅπως ἡ παλαιὰ ἀμερικανικὴ μέθοδος Folin-Ciocalteu ἢ ὁποία λόγῳ τοῦ πολυπλόκου αὐτῆς καθὼς καὶ διὰ τὰς δυσσευρέτους χημικὰς οὐσίας ἄτινας χρησιμοποιεῖ δὲν δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ παρ' ἡμῶν.

Μία ἐξαιρετικὴ μέθοδος ταχείας ἀνιχνεύσεως τῆς φωσφατάσης εἶναι ἡ μέθοδος τῶν Aschaffenburg καὶ Müllen ἣτις εὐρέως χρησιμοποιεῖται εἰς Γαλίαν καὶ μόνον εἰς περιπτώσεις ἀντιδικίων καὶ ἀμφιβολίας χρησιμοποιεῖται ἡ μέθοδος τῶν P. Sanders καὶ O. Sager χρησιμοποιοῦσα διὰ τὴν ἀνάγνωσιν τῶν ἀποτελεσμάτων τὸ ἠλεκτροφωτόμετρον.

8) Δοκιμὴ τῆς Ὑπεροξειδάσης (Peroxidase).

Διὰ τὸν ἔλεγχον τῆς ὑψηλῆς παστεριώσεως τοῦ γάλακτος εἰς 80°-85° χρησιμοποιεῖται ἡ ἀνωτέρω δοκιμὴ ἢ ὁποία εἶναι ἀπλουστάτη, ἐν τούτοις ὀλίγον χρησιμοποιεῖται σήμερον.

Ἄ ν τ ι δ ρ α σ τ ῆ ρ ι α .

α) Ὑδατικὴ διάλυσις Gaïacol 2 %.

β) Ὄξυγονοῦχον ὕδωρ 10 ὄγκων.

Τ ε χ ν ι κ ῆ

Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος τίθεμεν 2 κ. ὑφ. γάλακτος πρὸς ἐξέτασιν, 2 κ. ὑφ. διαλύσεως Gaïacol καὶ μίαν σταγόνα ὀξυγονοῦχου ὕδατος 10 ὄγκων.

Ἀνακινοῦμεν καλῶς καὶ θέτομεν εἰς ὑδατόλουτρον 30°.

Ἀντίδρασις θετικὴ—χρῶμα ἐλαφρὸν καφέρουθρον.

Ἀντίδρασις ἀρνητικὴ—οὐδεμία ἀλλαγὴ χρώματος τοῦ ὑγροῦ.

Ἡ ἀντίδρασις ἐπηρεάζεται ἐκ διαφόρων οὐσιῶν τὰς ὁποίας δυνατὸν νὰ περιέχῃ τὸ γάλα.

ΗΜΕΤΕΡΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Προκειμένου νὰ ἐπιχειρήσωμεν ἐντὸς τοῦ προσεχοῦς μέλλοντος μίαν λεπτομερῆ στατιστικὴν ὑγιεινομικὴν ἐξέτασιν ἐνδεικτικοῦ ἐνδιαφέροντος ἐπὶ τοῦ παραγομένου ἐν τοῖς λεκανοπεδίοις «Ἀθηνῶν - Ἀσπροπύργου» γάλακτος, προέβημεν εἰς τὴν ἐξέτασιν μικροῦ ἀριθμοῦ δειγμάτων διὰ τὸν σχηματισμὸν μιᾶς αὐθεντικῆς ἡμῶν γνώμης περὶ τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἐν αὐτῷ περιεχομένων μικροβίων.

Αἱ δειγματοληψίαι ἐγένοντο ὑφ' ἡμῶν τῶν ἰδίων καὶ ὑπὸ τὰς πλέον

ιδεώδεις συνθήκας καὶ ἡ ἐξέτασις τῶν δειγμάτων ἦτο σχεδὸν ἄμεσος. Δὲν προέβημεν εἰς δειγματοληψίαν ὑπόπτων ἢ κακῶς διατηρουμένων γαλάτων.

Αἱ μικροβιολογικαὶ ἐξετάσεις ἐγένοντο τῇ βοηθείᾳ νεωτάτων θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων.

Ἡ ἐπώασις τῶν τρυβλίων Petri ἐγένετο εἰς 33° διὰ τὰ διάφορα μικροβία ἀνεξαρκῆτως εἶδους καὶ εἰς 37° διὰ τὰ ἐντεροβακτηριακὰ τοῦ τύπου «Escherichia» καὶ «Aerobacter».

Οἱ ἀνευρεθέντες ἀριθμοὶ μικροβίων κατὰ κυβικὸν ὕψεκ. δὲν δύνανται νὰ θεωρηθῶσι ὑπερβολικοί, λαμβανομένων ὑπ' ὄψει τῶν ἀνεπαρκῶν μέσων τὰ ὅποια διαθέτουν οἱ Ἕλληνες ἀγελαδοτρόφοι καὶ εἰς πολλὰς περιπτώσεις αἱ πρωτόγονοι συνθήκαι, αἱ ὅποια ὑπάρχουν ἀκόμη εἰς τὸν κτηνοτροφικὸν κόσμον. Κατ' ἀντίθεσιν μὲ ἄλλους Ἕλληνας ἐρευνητάς, ἀσχοληθέντας πρὸ ἐτῶν μὲ τὸ θέμα τοῦ γάλακτος, οἱ ἀριθμοὶ τῶν ἀνευρεθέντων μικροβίων ἀποδεικνύουν τὴν ἐπιτευχθεῖσαν πρόοδον ἐπὶ τοῦ θέματος τούτου, χάρις εἰς τὸ ἀδιάπτωτον ἐνδιαφέρον καὶ τὰς ἀόκνους προσπαθείας τῶν κτηνιατρικῶν ὑπηρεσιῶν τοῦ Ὑπουργείου Γεωργίας, καθὼς καὶ τῶν προσπαθειῶν τῶν ἰδιωτῶν συναδέλφων κτηνιάτρων, πρὸς ἀνύψωσιν τοῦ ἐπιπέδου μορφώσεως καὶ ὑγιεινῆς τοῦ ἀγελαδοτρόφου εἰς τὸν τομέα τῆς παραγωγῆς ὑγιεινοῦ γάλακτος. Λαμβανομένου λοιπὸν ὑπ' ὄψει ὅτι ὁ ἀριθμὸς τῶν μικροβίων τοῦ γάλακτος δύο ὥρας μετὰ τὴν ἄλμειν εἶναι μέγας, εὐκόλως συμπεραίνει τις, ὅτι ἓνα νωπὸν γάλα καθίσταται ἐντόνως μολυσμένον μετὰ παρέλευσιν ὀλίγων ὥρῶν ἰδίως τὸ θέρος καὶ πρὸ παντός, ὅταν δὲν ὑπάρχουν τ' ἀνάλογα μέσα συντηρήσεως. Διὰ τοῦτο τασσόμεθα ὑπὲρ μιᾶς καθολικῆς καὶ ὑποχρεωτικῆς παστεριώσεως τοῦλάχιστον ἐν τῷ Νομῷ Ἀττικῆς, ἐλπίζομεν δὲ ὅτι οὕτω σκεπτόμενοι εἴμεθα βέβαιοι ὅτι θ' ἀποκτήσωμεν γάλα ὑγιεινὸν ἄνευ προσφυγῆς εἰς μέτρα δυσεφάρμοστα καὶ καταθλιπτικά διὰ τοὺς παραγωγούς.

Κατωτέρω παραθέτομεν πίνακα ἀποτελεσμάτων ἐνίων δειγμάτων* διὰ τὰ ὅποια ἐτηρήθη λεπτομερὲς πρωτόκολλον.

*) Ἐκφράζομεν τὰς εὐχαριστίας μας εἰς τοὺς ἐπιστημονικοὺς τεχνικοὺς διευθυντὰς ἐργουσιῶν καὶ συνεταιρισμῶν διὰ τὴν πρόθυμον βοήθειαν τὴν ὅποιαν παρέσχον διὰ τὴν ἀπόκτησιν τῶν δειγμάτων μας.

Π Ι Ν Α Ξ
Μικροβιολογικοῦ ἐλέγχου δειγμάτων γάλακτος

α/α	Εἶδος δείγματος γάλακτος	Ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων κατὰ κ. ὑφ.	Ἀριθμὸς ὀλικῆς μικροβιακῆς χλωρίδος κατὰ κ. ὑφ.	Παρατηρήσεις
1	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Α)	4	108.000	Ἄπαντα ἠγοράσθησαν ἐκ συνοικιακῶν πρατηρίων διαφόρων ἐργοστασίων.
2	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Β)	18	450.000	
3	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Γ)	1200	1.420.000	
4	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Δ)	2	84.000	
5	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Ε)	0	14.000	
6	Γάλα παστεριωμένον ληφθὲν κατὰ τὴν ἔξοδον ἐκ τοῦ ἐργοστασίου (Ε)	0	280	Ἐλήφθη ὑφ' ἡμῶν ἐπὶ τόπου.
7	Γάλα παστεριωμένον ληφθὲν κατὰ τὴν ἔξοδον ἐκ τοῦ ἐργοστασίου (Δ)	0	26.000	Ἐλήφθη ὑφ' ἡμῶν ἐπὶ τόπου
8	Γάλα μεγάλης ἀναμείξεως ἐργοστασίου (Χ)	11.000	250.000	
9	Γάλα μεγάλης ἀναμείξεως ἐργοστασίου (Ψ)	28.000	2.490.000	
10	Γάλα μεγάλης ἀναμείξεως ἐργοστασίου (Ζ)	14.000	1.850.000	
11	Γάλα πλανοδίου συνοικιακοῦ γαλακτοπώλου	12.000	453.000	Ἠγοράσθη μίαν ὥραν μετὰ τὴν ἀλμεξιν, ἐξητάσθη 1 ὥραν μετὰ τὴν ἀγοράν
12	Μεῖγμα γάλακτος μεγάλου πρωτύπου βουστασίου.	18.000	1.760.000	Ἀθῆναι
13	Μεῖγμα γάλακτος βουστασίου.	4.500	123.000	Ἀσπρόπυργος, πρωτῆ, 1 ὥραν μετὰ τὴν ἀλμεξιν.

α/α	Είδος δείγματος γάλακτος	Αριθμός κολοβακτηρίων κατά κ. ύφ.	Αριθμός ολικής μικροβιακής χλωρίδος κατά κ. ύφ.	Παρατηρήσεις
14	Μείγμα γάλακτος βουστασίου	1.400	258.000	Ασπρόπυργος, πρωία, 1 ώρα μετά την άλμexιν.
15	»	7.500	180.000	»
16	»	13.300	435.000	»
17	»	9.400	162.000	»
18	»	14.800	242.000	»
19	»	70.000	12.400.000	Ασπρόπυργος, απόγευμα 1 - 2 ώρας μετά την άλμexιν.
20	»	24.000	3.100.000	Ετέθησαν εις ψυγειον +4°. Εξέτασις την επομένην.
21	»	18.000	2.850.000	
22	»	88.000	14.990.000	»
23	»	60.000	12.440.000	»
24	»	14.600	3.550.000	»
25	»	4.700	2.560.000	»
26	»	32.200	38.900.000	»
27	»	1.200	18.200.000	»
28	»	13.000	3.960.000	»
29	»	2.400	1.350.000	»
30	»	10.200	17.780.000	»
31	»	30.800	2.560.000	»
32	»	7.600	37.700.000	»

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- J. Dumas : Bacteriologie Médicale, Paris.
- A. Βέλτοσς : Ἀπλὰι μέθοδοι δι' ἓναν σύντομον ποιοτικὸν ἔλεγχον τοῦ γάλακτος. Κτην. Ἐπιθ. Γ.Ε.Σ. II 1956.
- Bulletin de l'Office Intern. des Epizooties : T. XLII, Mai 1954, Σελίς 525 - 607.
- A. Caimette, A. Boquet, L. Negre, J. Bretey : Manuel technique de Microbiologie et de Serologie, 1948.
- C. N. R. S. : Le Lait Sterilisé, Paris 1955.
- A. Ἐμμανουηλίδου : Τὸ γάλα τῶν Ἀθηνῶν ἀπὸ ὑγειονομικῆς ἀπόψεως. (Διατριβὴ ἐπὶ διδακτορία), 1950.
- J. C. Godfrain : Cours de l'Hygiene du lait Toulouse 1952. E. N V.
- M. Jean-Blain : Les aliments d'origine animale destinés à l'homme, 1948.
- Jour. Offic. : 9-6-1955 (Decrêt No 56-771/21-5-1955), Paris.
- C. D. Kuzdas, E. V. Morse : Jour Bact 1953, 66, 502.
- G. Moquot : Cours de Microbiologie du lait, 1956. I. P. Paris.
- A. Rochaix et A. Tapernoux : Le Lait et ses dérivés. 1948.
- I. Morelis, H. Colobert : Annales de l'I. Pasteur. 1958, 95, 568
- K. Μουτούσης, Ι. Παπαθασιλείου : Δελτίον Ἑλληνικῆς Μικροβιολογικῆς Ἑταιρείας T. 2, 1957, Σελίς 87.
- A. Nevoï : Contrôle bacteriologique pratique des denrées alimentaires d'origine animale, 1947.
- A. Papadooulos : La production, l'Industrie et l'Hygiène du lait en Grèce. (thèse de Doctorat) 1952, Toulouse.
- G. Renoux : Annales de l'I Pasteur. 1954, 87, 323.
- A. Nevoï, P. Lafont, J. Lafont : La Destruction des Bacteries par la chaleur. Etude de l'Efficacité de la Pasteurisation du lait. Monographie. Paris 1958.
- G. Thieulin - L. Villaume : Elements pratiques de contrôle hygienique du lait. Paris 1947, IIe.
- J. G Davis : Milk. testing. The laboratories control of Milk. London 1951.

SOMMAIRE

LE CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DU LAIT
ET QUELQUES TECHNIQUES MODERNES DE L'ANALYSE DU LAIT

Par

A. PAPADOPOULOS - J. KARAVALAKIS

Les auteurs entreprennent l'étude des techniques modernes de l'analyse bactériologique et biochimique du lait, afin de pouvoir donner dans quelques pages une notion aussi complète qu'il est possible du travail que peut aborder un laboratoire de controle du lait. En terminant leur étude les auteurs ajoutent quelques observations personnelles issues des examens bacteriologiques de differents echantillons de lait collecté à Athènes et à Aspropyrgos.

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΞΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

RENOUX. G. et KARVOUNARIS P. : Μελέται ἐπὶ τῆς Βρουκελλώσεως τῶν αἰγοπροβάτων. XXI.—Συγκριτικὴ μελέτη τῶν καλλιεργείων μετὰ πειραματικὴν ἀναπαραγωγὴν Μελιταίου Πυρετοῦ ἐπὶ προβάτων Σουηδικῆς καὶ Τυνησιακῆς Προελεύσεως. (Études sur la Brucellose Ovine et Caprine. XXI.— Étude comparative des cultures obtenues après infection artificiel le par *Brucella Melitensis* chez des brebis d'origine suédoise ou tunisienne). Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 1939, Vol. XXXVI, pp. 3-28.

Πρόκειται περὶ τῆς 21ης ἐκ τῶν ἐρευνῶν ἐπὶ τῆς Βουκελλώσεως τῶν αἰγοπροβάτων, αἱ ὁποῖαι διεξάγονται εἰς τὸ Ἰνστιτούτον Παστέρ τῆς Τύνιδος ἀπὸ τοῦ Καθηγητοῦ κ. Renoux τῇ συνεργασίᾳ εἰδικῶν ἐπὶ τῶν θεμάτων τῶν Βρουκελλώσεων Μικροβιολόγων.

Οἱ συγγραφεῖς ἠρεύνησαν τὸ θέμα τῆς ἐπιδράσεως τῆς φυλῆς τοῦ προβάτου ἐπὶ τοῦ βαθμοῦ τῆς ὑπὸ *Br. Melitensis* λοιμώξεως καὶ ἐπὶ τῆς ἐξελίξεως ταύτης. Πρὸς τοῦτο συναέκριναν, μετὰ τὸ Σουηδικὸ καὶ Τυνησιακὸν προκάτου, τὸν βαθμὸν τῆς διὰ *Br. Melitensis* πειραματικῆς λοιμώξεως καὶ τὴν ἐξέλιξιν ταύτης διὰ τῆς συγκριτικῆς μελέτης τῶν καλλιεργείων, αἱ ὁποῖαι ἐπετεύχθησαν μετὰ τὴν πειραματικὴν ἀναπαραγωγὴν Μελιταίου Πυρετοῦ. Ὡς κριτήρια δὲ διὰ τὴν σύγκρισιν ἐλήφθησαν ὑπ' ὄψιν ἡ κατανομή, ἡ συχνότης παρουσίας καὶ ὁ βαθμὸς ἀναπτύξεως τῆς *Br. Melitensis* εἰς τὰ ὄργανα καὶ τοὺς ἰστούς τούτων, ὡς καὶ ἡ ἐπ' αὐτῶν ἐπίδρασις τῆς χρησιμοποιοῦμενης διὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸν δόσεως καὶ τοῦ χρόνου τοῦ διαρρυσάντος ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ μέχρι τῆς θανατώσεως.

Ἐδομήκοντα τέσσαρα πρόβατα, ἕξ' ὧν 41 προελεύσεως Σουηδίας, ἐνθα δὲν ὑφίσταται Μελιταῖος Πυρετὸς καὶ 33 Προελεύσεως Τυνησίας, ἐνθα ἡ νόσος ἐνδημεῖ, ἀφοῦ ἠλέγχθησαν αὐστηρῶς διὰ σειρᾶς ὀρολογικῶν ἐξετάσεων καὶ αἱματοκαλλιεργείων καὶ εὑρέθησαν ἀπηλλαγμένα Μελιταίου Πυρετοῦ, ἐνοφθαλμίσθησαν διὰ δόσεων, ἀπὸ 2×10^6 μέχρι $1,8 \times 10^6$ *Br. Melitensis* 53 H 38, δι' ἐνσταλλάξεως ἐπὶ τοῦ ἐπιπεφυκότος. Μετὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸν καὶ μέχρι τῆς θανατώσεως ἕκαστον πρόβατον ἐξητάσθη διὰ πέντε διαδοχικῶν αἱματοκαλλιεργείων, κατὰ τὴν μέθοδον τοῦ Castaneda πρὸς ἀνίχνευσιν τῶν προσβληθέντων.

Ἡ διενέργεια τῶν νεκροψιῶν ἤρξατο μετὰ ἓνα μῆνα ἀπὸ τοῦ ἔνοφθαλμιμοῦ καὶ διεξήχθη τμηματικῶς ἐπὶ 20 ἡμέρας. Ἐξ ἐκάστου νεκροτομηθέντος προβάτου ἐλήφθησαν 26 δείγματα ὀργάνων καὶ ἰστῶν, καλλιεργηθέντα δι' ἀπλῆς ἐπιστρώσεως ἐπὶ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος WE, διὰ τὴν ἀνίχνευσιν τῶν προσβληθέντων. Ὁ ἔλεγχος τῶν ἀποικιῶν ἐγένετο μακροσκοπικῶς καὶ ὀρρολογικῶς, ἡ δὲ ταυτοποίησις τῆς *Br. Melitensis* ἐγένετο βακτηριοστατικῶς, βιοχημικῶς καὶ δι' ὀρροσυγκόλλητινἀντιδράσεως διὰ μονοδυνάμων ὀρῶν Ἀντι-Abortus καὶ Ἀντι-Melitensis.

Τὰ ἀποτελέσματα τῶν 354 αἱματοκαλλιεργειῶν καὶ τῶν καλλιεργειῶν τῶν 1794 δειγμάτων ὀργάνων καὶ ἰστῶν ἀπέδειξαν, ὅτι εἰς 50 ἦτοι 27 Σουηδικὰ καὶ 23 Τυνησιακὰ, ἐκ τῶν ἔνοφθαλμισθέντων προβάτων, ἀναπαρήχθη Μελιταῖος Πυρετός πραγμ' ὅπερ ἐπέτρεψεν εἰς τοὺς δύο ἐρευνητὰς νὰ προσδιορίσουν τὴν D.I. 50 (λοιμογόνος δόσις 50 %) τῆς *Br. Melitensis* διὰ τὸ Σουηδικὸν καὶ Τυνησιακὸν πρόβατον.

Οἱ συγγραφεῖς ἠρεύνησαν τὴν κατανομήν, τὴν συχνότητα παρουσίας καὶ τὸν πολλαπλασιασμόν τῆς *Br. Melitensis*, εἰς τὰ ὄργανα καὶ τοὺς ἰστούς τῶν 50 τούτων προβάτων, πρὸς τὸν σκοπὸν τῆς συγκρίσεως, μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν, τοῦ πειραματικῶς ἀναπαραχθέντος Μελιταίου Πυρετοῦ.

Ὅσον ἀφορᾷ τὴν κατανομήν τῆς *Br. Melitensis* διεπιστώθη, ὅτι αὕτη ἀπαντᾷται εἰς μεγαλύτερον ἀριθμὸν ὀργάνων εἰς τὸ Σουηδικὸν Πρόβατον, ὡς πρὸς δὲ τὴν συχνότητα παρουσίας ταύτης, ἀπεδείχθη, ὅτι τὸ ποσοστὸν τῶν δειγμάτων τῶν ὁποίων ἡ καλλιέργεια ἀπέβη θετικὴ εἶναι κατὰ πολὺ μεγαλύτερον εἰς τὸ Σουηδικὸν πρόβατον (38,6 %) ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ Τυνησιακὸν (19,8 %), ἡ δὲ διαφορὰ αὕτη, εἶναι σταθερά, μεταξὺ τῶν ὀργάνων τοῦ αὐτοῦ εἴδους, εἰς ὅλην τὴν σειρὰν τῶν ὀργάνων. Ἦτοι ἡ διασπορὰ τοῦ μικροβίου ἐν τῷ ὀργανισμῷ εἶναι περισσότερον ἐκτεταμένη εἰς τὸ Σουηδικὸν πρόβατον. Ὅσον δὲ ἀφορᾷ τὸν βαθμὸν τῆς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων καὶ ἰστῶν, προέκυψεν, διὰ τῆς καταμετρήσεως τῶν ἀποικιῶν *Br. Melitensis* τῶν καλλιεργειῶν τῶν 1794 δειγμάτων, ὅτι ὁ ἀριθμὸς τῶν δειγμάτων ἐξ ὧν ἀνεπτύχθησαν πλούσιαι καλλιέργειαι εἶναι κατὰ πολὺ μεγαλύτερος εἰς τὸ Σουηδικὸν πρόβατον (132 ἐπὶ 252) ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ Τυνησιακὸν (39 ἐπὶ 110).

Ἐπίσης διηρευθῆθη καὶ συνεκρίθη μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν, ἡ κατὰ χώρας τοῦ σώματος κατανομή καὶ ἡ συχνότης παρουσίας τῆς *Br. Melitensis*, ὡς καὶ ἡ ἐπίδρασις τῆς χρησιμοποιοῦμαι διὰ τὸν ἔνοφθαλμισμὸν δόσεως ἐπὶ τοῦ βαθμοῦ τῆς ἀναπαραχθείσης λοιμώξεως.

Ἐξ ἄλλου διὰ τῆς τμηματικῆς θανατώσεως τῶν ἔνοφθαλμισθέντων προβάτων οἱ συγγραφεῖς ἠρεύνησαν τὴν ἐπίδρασιν τοῦ χρόνου, τοῦ διαρρευσαντος ἀπὸ τοῦ ἔνοφθαλμιμοῦ μέχρι τῆς θανατώσεως, ἐπὶ τῆς ἐξελίξεως τοῦ πειραματικῶς ἀναπαραχθέντος Μελιταίου Πυρετοῦ, ἣν καὶ συνέ-

κριναν μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν. Πρὸς τοῦτο διηρηνήθη ἡ ἐπίδρασις τοῦ χρόνου ἐπὶ τῆς, ἐν τῷ ὄργανισμῷ τῶν προβάτων τῶν δύο φυλῶν, ἐκτάσεως τῆς λοιμώξεως, ὡς καὶ ἐπὶ τοῦ βαθμοῦ τῆς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων καὶ ἰσιῶν, ἀφ' ἑνὸς διὰ τοῦ προσδιορισμοῦ, προϊόντος τοῦ χρόνου, τοῦ ἀριθμοῦ τῶν δειγμάτων, τῶν ὁποίων αἱ καλλιέργειαι ἀπέβησαν θετικαὶ καὶ ἀφ' ἑτέρου διὰ τῆς, προϊόντος τοῦ χρόνου, παρακολουθήσεως τοῦ βαθμοῦ ἀναπτύξεως τῶν καλλιεργειῶν.

Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἐρεῦνης ἀναλύονται λεπτομερῶς εἰς τοὺς ἐν τῷ κειμένῳ παρατιθεμένους 11 πίνακας καὶ 1 σχῆμα, τὰ δὲ ἐκ ταύτης συμπεράσματα συνοψίζονται ὡς ἀκολουθῶς :

I. Ἡ D.I. 50 Br. Melitensis 53 H. 38 εἶναι ἡ αὐτὴ περίπου διὰ τὸ Σουηδικὸν καὶ Τυνησιακὸν πρόβατον (5×10^5 καὶ $4,5 \times 10^5$ Br. Melitensis ἀντιστοίχως).

II. Ἡ διὰ τῆς Br. Melitensis πειραματικὴ λοίμωξις, διαβλεπνογονίως, παρουσιάζει εἰς τὸ Σουηδικὸν καὶ Τυνησιακὸν πρόβατον τοὺς ἐξῆς κοινούς χαρακτήρας : Ἡ Br. Melitensis διασπείρεται ἐν τῷ ὄργανισμῷ εὐθρῶς καὶ μὲ ταχὺν ρυθμὸν, χωρὶς ἐν τούτοις νὰ εἶναι πάντοτε ἐφικτὴ ἡ ἀπομόνωσις αὐτῆς ἐξ ὄλων τῶν ὀργάνων καὶ ἰσιῶν. Ἡ βακιλλαιμία εἶναι ἀσταθῆς καὶ παροδικὴ διαπιστοῦται δὲ μετὰ δεκαήμερον ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού. Ἡ αἵματοκαλλιέργεια εἶναι μέθοδος ἀνεπαρκῆς διὰ τὴν ἀπομόνωσιν τῆς Βρουκέλλας καὶ ἐνδείκνυται συχνότερα ἐπανάληψις τῶν αἵματοληψιῶν. Τούναντίον ἡ καλλιέργεια τῶν ὀργάνων καὶ ἰσιῶν εἶναι μέθοδος ταχεῖα καὶ ἀκριβής, ἐνδείκνυται ὅμως ὅπως, πλὴν τῆς δι' ἀπλῆς ἐπιστροφῆς καλλιεργείας συντελεῖται αὕτη καὶ μετὰ λειοτριβήσιν τοῦ δείγματος. Ἐξ ἄλλου ὁ συνδυασμὸς τῆς αἵματοκαλλιεργείας καὶ τῆς καλλιεργείας τῶν ὀργάνων ἐπιτρέπει ἀσφαλέστερον τὴν ἀπομόνωσιν τοῦ μικροβίου. Κατὰ κανόνα ἡ Br. Melitensis ἀπαντᾷται συχνότερον εἰς τοὺς λεμφαδένας καὶ τὸν σπλῆνα, χωρὶς ἐν τούτοις αἱ καλλιέργειαι τῶν ὀργάνων τούτων νὰ ἀποβαίνουν πάντοτε θετικαὶ 100 %. Ὁ βαθμὸς τῆς λοιμώξεως συμβαδίζει μὲ τὴν χρησιμοποιομένην διὰ τὸν ἐνοφθαλμισμόν δόσιν τῶν μικροβίων, ἐλαττοῦται δὲ βαθμιαίως ἀπὸ τῆς 35ης ἡμέρας ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού.

III Ὁ βαθμὸς τῆς διὰ Br. Melitensis λοίμωξεως εἶναι κατώτερος εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ Σουηδικόν. Ἡ ἑκτασις τῆς διασπορᾶς τοῦ μικροβίου ἐν τῷ ὄργανισμῷ εἶναι μικροτέρα καὶ ὁ βαθμὸς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων κατώτερος εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον, δεδομένου, ὅτι εἰς τὸ πρόβατον τοῦτο τὸ μικρόβιον ἀπαντᾷται εἰς μικρότερον ἀριθμὸν ὀργάνων, αἱ καλλιέργειαι τῶν ὁποίων εἶναι σταθερῶς πτωχότεραι τῶν καλλιεργειῶν τῶν ἀντιστοιχῶν ὀργάνων τοῦ Σουηδικοῦ. Ἐξ ἄλλου ἡ βακιλλαιμία εἶναι σπανιωτέρα εἰς τὸ πρόβατον Τυνησιακῆς προελεύσεως.

IV. Ὁ πειραματικῶς ἀναπαραγόμενος Μελιταῖος Πυρετὸς ἐξελίσσεται

μὲ ταχύτερον ρυθμὸν καὶ ὑπὸ ἐλαφροτέραν μορφήν εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ Σουηδικόν. Ἡ, προϊόντος τοῦ χρόνου ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού, ἐλάττωσις τῆς συχνότητος παρουσίας τοῦ μικροβίου εἰς τὰ ὄργανα καὶ ἡ ἐλάττωσις τοῦ βαθμοῦ τῆς λοιμώξεως τούτων εἶναι σημαντικώτεροι καὶ ἐμφανίζονται ἐνωρίτερον εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον, δεδομένου ὅτι ἡ βαθμιαία ἐλάττωσις τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ὀργάνων καὶ ἰσθῶν θετικῆς καλλιεργείας καὶ ἡ βαθμιαία ἐλάττωσις τοῦ βαθμοῦ ἀναπτύξεως τῶν καλλιεργείων εἶναι σταθερῶς σημαντικώτεροι καὶ ἐμφανίζονται ἐνωρίτερον εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον.

V. Μεταξὺ τῆς διὰ Βρουκέλλας πειραματικῆς καὶ φυσικῆς λοιμώξεως παρατηρεῖται διαφορὰ, ὅσον ἀφορᾷ τὴν κατανομήν τοῦ μικροβίου εἰς τοὺς ἰστούς καὶ τὰ ὄργανα, εἰς πλείστα τῶν ὁποίων τὸ ποσοστὸν συχνότητος παρουσίας τοῦ μικροβίου ἐμφανίζεται ἀντίστροφον εἰς τὰς δύο περιπτώσεις· ἡ διαφορὰ αὕτη ὀφείλεται, πιθανῶς, εἰς τὴν διαφορὰν τῆς ὁδοῦ εἰσόδου τοῦ μικροβίου καὶ εἰς τὴν δημιουργίαν νέου κύκλου λοιμώξεως διὰ τῆς διασπορᾶς τῶν μικροβίων ἐκ τῶν εἰς τοὺς λεμφαδένους κυρίως ἐστιῶν αὐτῶν, ὑπὸ τὴν ἐπίδρασιν τῆς κνοφορίας, κακῆς διατροφῆς κλπ.

Διὰ τῆς παρουσίας ἐρεύνης τοῦ Καθηγητοῦ κ. Ρεπουκ καὶ τοῦ συνεργάτου αὐτοῦ κ. Π. Καρβουνάρη, ἥτις συντελεσθή τῇ οἰκονομικῇ ἀρωγῇ τῶν διεθνῶν Ὄργανισμῶν F.A.O. καὶ O.M.S. καὶ τῆς Τυνησιακῆς Κυβερνήσεως, ἐπλουτίσθησαν διὰ νέων γνώσεων μεγίστης σημασίας, ἀφ' ἐνὸς ἡ παθογένεια καὶ ἡ ἐπιζωοτιολογία τῶν Βρουκελλώσεων καὶ ἀφ' ἑτέρου ὁ κλάδος ἐδωδίων ζωϊκῆς προελεύσεως τῆς ὑγιεινῆς τῶν τροφίμων.

Π.Ν.Δ.

R. K. EVANS : Περίπτωσης τετάνου εἰς κύνα νοσηλευθέντα διὰ Chloropromazine. (A Case of tetanus in the dog treated with Chloropromazine. The Vet. Rec. 1959, Vol. 71. No 23 p. 476-477).

Ὁ Συγγραφεὺς περιγράφει μίαν περίπτωσιν κλινικῶς διαπιστωθέντος τετάνου εἰς κύνα. Ὡς πηγὴ μόλυνσεως εὗρέθη μόνον μία ἀμυγλὴ ἐπὶ τοῦ ρύγγου τοῦ ζώου, προερχομένη πιθανὸν ἐκ διενέξεώς του μὲ γαλῆν.

Ἐχορηγήθησαν ἀντιτετανικὸς ὀρός, ἀντιβιοτικά καὶ Chloropromazine. Ἐκ τοῦ τελευταίου τὴν πρώτην μὲν ἡμέραν ἐγένετο ἔγχυσις 25 mg. ἐνδομυϊκῶς, τὰς δὲ ἀκολουθίους τέσσαρας ἐβδομάδας ἐδόθησαν ἀπὸ τοῦ στόματος 200 mg. ἡμερησίως εἰς 4 ἢ 5 δόσεις. Ἡ ἐπίδρασις τῆς Chloropromazine ἦτο ἱκανοποιητικὴ.

Μετὰ παρέλευσιν δύο ἐβδομάδων, ἀπὸ τῆς ἐμφανίσεως τῶν πρώτων συμπτωμάτων ὁ κύων ἤρχισε νὰ ἀναλαμβάνῃ (ἐπάνοδος τῆς ἱκανότητος πρὸς πόσιν, πρὸς κατάποσιν κ.λ.π.). Τὴν τετάρτην ἐβδομάδα, ὅτε διεκόπη ἡ παροχὴ φαρμάκων, ὁ κύων (*) ἦτο εἰς θέσιν, νὰ βαδίξῃ. Ε.Π.

*) Ὁ κύων εἶναι 65 φορὰς ὀλιγώτερον εὐπαθὴς τοῦ ἵππου ἔναντι τῆς τετανοτοξίνης (Ἑλ. Παρίσι: Ἑλλ. Κτηνiatr., Β', 1959, Τεύχ. 2., σελ. 93).

ΕΠΙΣΗΜΟΣ ΕΙΔΗΣΕΟΓΡΑΦΙΑ

Α'. ΥΠΟΥΡΓΕΙΟΝ ΓΕΩΡΓΙΑΣ

—Ο κτηνίατρος κ. Έμμ. Σκουλάς άπεσπάσθη εκ του Νομ/κού Γραφείου Χανίων εις τὸ Κτηνιατρικὸν Μικροβιολογικὸν Ἰνστιτούτον Υ. Γ. ἐπὶ ἑξάμηνον πρὸς εἰδίκευσιν εἰς τὴν μικροβιολογίαν.

—Ο Νομοκτηνίατρος Ἡλείας κ. Βασ. Κοῦκος, μετετέθη εἰς τὸ Λοιμοκαθαρητήριον Ζῶων Πειραιῶς.

—Διωρίσθησαν οἱ κτηνίατροι κ. κ. Δημήτριος Γιαννακοῦλας, Δημήτριος Γκουλιάμας καὶ Βασ. Μπαρκούρας, τοποθετηθέντες ἀντιστοίχως εἰς Νομ/κὸν Γραφεῖον Θεσσαλονίκης, Νομοκτηνιατρικὸν Γραφεῖον Δράμας καὶ Νομ/κὸν Γραφεῖον Ἡλείας.

—Εἰς τὸ ὑπ' ἀριθμ. 89 (τεῦχος πρῶτον) 16-5-1959 φύλλον τῆς Ἐφημερίδος τῆς Κυβερνήσεως, ἐδημοσιεύθη Β. Δ. περὶ «Κτηνιατρικοῦ ὕγειο-νομικοῦ ἐλέγχου τοῦ γάλακτος».

Β'. ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ

1. Ἐφεδρὸι Κτηνίατροι.

α) Μεταθέσεις : Ὁ Δ.Ε.Α. Σμοκοβίτης Ἀθανάσιος ἐκ τῆς 975 ΠΑΚΥ εἰς Δ.Σ.Κ.Ι./Γ.Σ.Σ.

β) Κατετάγησαν εἰς τὸ Στράτευμα οἱ κάτωθι Διπλωματοῦχοι Κτηνίατροι 50ης Ε.Σ.Σ.Ο. :

Ἀθανασίου Βάιος, Μάτσιος Θεόδωρος, Παρασκευᾶς Κωνσταντῖνος, Ποῦλας Σαράντης.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΚΙΝΗΣΙΣ

—Ἐτελέσθησαν οἱ γάμοι τοῦ συναδέλφου κ. Εὐθ. Στοφόρου μετὰ τῆς δίδος Μαρίνης Ταρλατζῆ, θυγατρὸς τοῦ συναδέλφου κ. Κ. Β. Ταρλατζῆ.

—Ἀνεχώρησαν διὰ μετεκπαίδευσιν εἰς τὴν Μικροβιολογίαν εἰς Ἴταλιαν οἱ συνάδελφοι κ.κ. Ἀδαμ. Φραγκόπουλος καὶ Εὐθ. Στοφόρος.

ΔΙΕΘΝΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΚΙΝΗΣΙΣ

— Διήλθεν ἐξ Ἀθηνῶν ἐπιστρέφων ἐξ Ἰσραήλ εἰς Η.Π.Α. ὁ Πρόεδρος τῆς Ἀμερικανικῆς Κτηνιατρικῆς Ἐνώσεως (AVMA) κ. S. F. Scheidy μετὰ τῆς συζύγου του. Τούτους ἐξενάγησεν κατὰ τὴν παραμονὴν των ἐνταῦθα ὁ Γεν. Γραμματεὺς τῆς Ἑταιρείας κ. Κ. Β. Ταρλατζῆς.

— Ἐπίσης, ἠγούμενος ἐκδρομῆς τῶν τελειοφοίτων τῆς Κτηνιατρικῆς Σχολῆς τοῦ Alfort, διήλθεν ἐξ Ἀθηνῶν ὁ Διευθυντὴς τῆς Σχολῆς καθηγητῆς κ. Ferando. Κατὰ τὴν βραχυχρόνιον ἐνταῦθα παραμονὴν των οἱ νεαροὶ συνάδελφοι ἐγένοντο ἀντικείμενον πλείστων περιποιήσεων ἐκ μέρους τοῦ Ὑπ. Γεωργίας.

ΣΤΗΛΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ ΤΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

— Ἄπαντα τὰ μέχρι σήμερον λαμβανόμενα ἐπ' ἀνταλλαγῆς περιοδικά.

— Ἐξήκοντα ὀκτὼ διατριβαὶ ἐπὶ διδακτορικῆ τῆς Ἀνωτ. Κτηνιατρικῆς Σχολῆς Ἀννοβέρου.

— Veterinaria (Periodical on the Animal Production - Sarajevo, Jugoslavia). Τόμος 1955 καὶ 1959, τεῦχος 1ον.

ΕΛΛΗΝΙΚΑΙ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΑΙ ΕΚΔΟΣΕΙΣ

Ἐξεδόθη καὶ κυκλοφορεῖ τὸ σύγγραμμα: «**Ἡ Τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὰ κατοικίδια ζῶα**» τοῦ κ. Κωνσταντίνου Βλάχου, Καθηγητοῦ Κτηνιατρικῆς Σχολῆς τοῦ Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Τοῦτο ἀποτελούμενον ἐκ 300 σελίδων περιέχει πλείστας εἰκόνας, ἐξ ὧν μερικαὶ ἐγχρωμοὶ καὶ περιλαμβάνει τὰ κάτωθι κεφάλαια :

- 1) Ἐξέλιξις τεχνητῆς σπερματεγγύσεως.
- 2) Ἀνατομία ὀργάνων Γεννητικοῦ συστήματος ἄρρενος.
- 3) Φυσιολογία Γεννητικοῦ συστήματος ἄρρενος.
- 4) Παθολογία ἀναπαραγωγῆς ἄρρενος.
- 5) Γενικαὶ ἀρχαὶ τεχνητῆς σπερματεγγύσεως καὶ κατάψυξις σπέρματος.
- 6) Ἡ τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὰ βοοειδή.
- 7) Ἡ τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὰ μόνοπλα.
- 8) Ἡ τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὸ πρόβατον.
- 9) Ἡ τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὴν αἶγα.

(Πωλεῖται εἰς τὸ Βιβλιοπωλεῖον «Προμηθεύς»,
Ἁγίας Σοφίας, ἀριθ. 35, Θεσσαλονίκη)

ΝΕΚΡΟΛΟΓΙΑΙ**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΛΙΒΑΔΑΣ**

Τὴν 22αν Ἀπριλίου ἐ.ἔ. ἀπεβίωσεν ἐν Θεσσαλονίκῃ ὁ καθηγητὴς τῆς Κτηνιατρικῆς ἐν τῇ Γεωπονικῇ Σχολῇ τοῦ Πανεπιστημίου τῆς Θεσσαλονίκης Κωνσταντῖνος Λιβαδάς. Γεννηθεὶς εἰς Ληξούριον Κεφαλληνίας τὸ 1896, ἐσπούδασεν τὴν Κτηνιατρικὴν εἰς τὴν Σχολὴν τοῦ Ἄλφου Παρισίων. Ἐπανελθὼν εἰς Ἑλλάδα, ἔλαβε μέρος εἰς τὴν Μικρασιατικὴν ἐκστρατείαν μὲ τὸν βαθμὸν τοῦ Λοχαγοῦ καὶ εἶτα ὑπηρέτησεν ἐπὶ πολλὰ ἔτη εἰς τὴν Ὑπηρεσίαν Ἐποικισμοῦ Μακεδονίας καὶ εἰς τὴν Ἐλευθέραν Ζώνην Θεσσα-



λονίκης. Τὸ 1935 διορίσθη τακτικὸς καθηγητὴς τῆς Φυσικομαθηματικῆς Σχολῆς καὶ τὸ 1937 τῆς Γεωπονικῆς καὶ Δασολογικῆς τοιαύτης. Κατὰ τὴν μακρὰν καὶ εὐδόκιμον σταδιοδρομίαν του ὁ Κ. Λιβαδάς ἠσχολήθη μὲ πλεῖστα ἐπιστημονικὰ θέματα καὶ συνέγραψεν πολυαρίθμους ἐπιστημονικὰς πραγματείας, καταλαβὼν τὰ ἀνώτατα ἀξιώματα τῆς Πανεπιστημιακῆς ἱεραρχίας, καὶ γενόμενος διαδοχικῶς Συγκλητικὸς, Κοσμητὼρ καὶ τέλος Πρύτανης τοῦ Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Κατὰ τὴν μακρὰν καὶ γόνιμον σταδιοδρομίαν του ὁ μεταστὰς ἠτύχησε νὰ πρωτοστατήσῃ εἰς τὴν ἴδρυσιν τῆς Κτηνιατρικῆς Σχολῆς τοῦ Πανεπιστημίου Θεσ/νίκης.

Ἡ Ἑλληνικὴ Κτηνιατρικὴ Ἐπιστῆμη ἀπώλεσεν ἐν τῷ προσώπῳ τοῦ Κων. Λιβαδά ἐπίλεκτον μέλος της, τὸ δὲ Πανεπιστήμιον Θεσσαλονίκης ἐκλεκτὸν καὶ διακεκριμένον Διδάσκαλον.

Ἡ Ἑλλ. Κτην. Ἐταιρεία ἐκφράζει εἰς τοὺς οἰκείους του τὰ βαθύτατα συλλυπητήριά της.

ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΑΧ. ΑΨΦΑΝΤΗΣ

᾽Οδυνηρότατον πλήγμα υπέστη ἡ Ἑλληνικὴ Κτηνιατρικὴ Ἐπιστῆμη καὶ ἡ Οἰκογένεια τοῦ Σωτηρίου ᾽Αχ. ἈΨφαντῆ διὰ τοῦ σκληροῦ καὶ προώρου θανάτου του ἐπισυμβάντος μετὰ μακρὰν νόσον τὴν 11ην Ἰουνίου 1959.

᾽Ο ἀγαπητὸς συνάδελφος γεννηθεὶς ἐν Καλάμαις τὸν Σεπτέμβριον 1918, μετέβη ὡς ὑπότροφος τοῦ Κράτους τὸ 1937, κατόπιν διαγωνισμοῦ, εἰς Βρυξέλλας πρὸς σπουδὴν τῆς Κτηνιατρικῆς. Περαιώσας ἐπιτυχῶς τὰς σπουδὰς του, ἐπανῆλθεν τὸ 1945. Διωρίσθη τὸ 1946 καὶ ἐτοποθετήθη εἰς τὸ Νομοκτηνιατρικὸν Γραφεῖον Καρδίτσας, ἔνθα ὑπηρέτησεν ἐπὶ βραχὺ χρονικὸν διάστημα,



κληθεὶς κατὰ τὸ αὐτὸ ἔτος εἰς τὰς τάξεις τοῦ Στρατοῦ. Ἐλαβεν μέρος εἰς ὅλας τὰς μάχας μέχρι Γράμμου καὶ Βίτσι παρὰ τὴν κακὴν κατάστασιν τῆς υγείας του, μέχρι τοῦ 1950, ὅποτε ἀπολυθεὶς ἐπανῆλθεν εἰς τὴν θέσιν του.

Τὸ 1953 ἀπεστάλη εἰς Γιουγκοσλαβίαν πρὸς εἰδίκευσιν εἰς τὴν μικροβιολογίαν, τοποθετηθεὶς ἐν συνεχείᾳ εἰς τὸ Κτηνιατρικὸν Μικροβιολογικὸν Ἰνστιτοῦτον τοῦ Ἑλληνικοῦ Υπουργείου Γεωργίας, ὡς ἐπιμελητής. Κατὰ τὴν βραχεῖαν, δυστυχῶς, σταδιοδρομίαν του διεκρίθη διὰ τὸ ἦθος του, τὴν ἐργατικότητά του καὶ τὴν καλωσύνην

του, αἱ ὁποῖαι τὸν κατέστησαν ἀγαπητὸν καὶ ἐκλεκτὸν μέλος τοῦ προσωπικοῦ τοῦ Ἰδρύματος, εἰς τὸ ὁποῖον ἠγάωσε τὰ τελευταῖα ἔτη τῆς ζωῆς του, διότι πιστὸς ἐκτελεστὴς τῆς ἀνατεθείσης αὐτῷ ὑπηρεσίας ἂν καὶ νοσῶν καὶ συχνάκις πυρέσσων προσήρχετο εἰς τὸ Ἰδρυμα καὶ προσέφερεν προθύμως τὰς ὑπηρεσίας του.

Ἦσυχολήθη εἰδικῶς μὲ τὰς νόσους τῶν ὀρνιθοειδῶν καὶ προσέφερεν σημαντικωτάτας ὑπηρεσίας τόσον διὰ τῶν ἐπιστημονικῶν του μελετῶν ὅσον καὶ τῶν προφορικῶν του ὁδηγῶν εἰς τὴν Ἑλληνικὴν Πτηνοτροφίαν.

Ἡ Ἑλληνικὴ Κτηνιατρικὴ Ἑταιρεία ἐκφράζει πρὸς τοὺς βαρῦτατα πληγέντας γονεῖς καὶ τὴν ἀπορφανισθεῖσαν οἰκογένειαν τοῦ ἐκλιπόντος φιλάτου συναδέλφου τὰ εἰλικρινῆ της συλλυπητήρια.

ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ ΠΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΟΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ

ΕΛΛΑΔΟΣ

ΘΕΣΠΡΩΤΙΑΣ & ΑΓΙΑΣ ΣΟΦΙΑΣ - ΤΗΛ. 523.075

ΑΘΗΝΑΙ

Ἀθῆναι τῆ 30-6-59

Ἄριθ. Πρωτ. 2794

Π ρ ὶ ς

Τὴν Ἑλληνικὴν Κτηνιατρικὴν Ἑταιρείαν

Βοτανικὸν Κήπον

Τ 3

Ἐ ν τ α ὕ θ α

Κ ὕ ρ ι ο ι,

Τὸ Διοικητικὸν Συμβούλιον τοῦ Συνδέσμου, μνημον τῶν πολυτίμων ὑπηρεσιῶν τὰς ὁποίας προσέφερον ὁ αἰμνηστος Σωτήριος Ἀϋφαντῆς εἰς τὴν πτηνοτροφίαν, εἰς ἕκτακτον συνεδριάσιν του ἀπεφάσισε:

I. Νὰ ἐκφράσῃ τὰ θερμὰ συλλυπητήρια τοῦ Πτηνοτροφικοῦ κόσμου:

α) Πρὸς τὴν οἰκογένειαν τοῦ μεταστάντος διὰ τὸν ἀδόκητον θάνατον προσφιλοῦς συζύγου, πατρὸς καὶ υἱοῦ.

β) Πρὸς τὴν Κτηνιατρικὴν Ἑταιρείαν διὰ τὴν ἀπώλειαν μέλους αὐτῆς τιμήσαντος τὴν Ἑλληνικὴν Κτηνιατρικὴν Ἐπιστήμην, ἰδιαίτερα εἰς τὸν τομέα τῆς πτηνοτροφίας εἰς τὴν ὁποίαν εἶχεν εἰδικευθῆ καὶ ἡ ὁποία ὡς νεαρὸς κλάδος ἔχει τόσῃν μεγάλην ἀνάγκην τῆς συνδρομῆς τῆς ἐπιστήμης,

II. Νὰ προσφέρῃ εἰς μνήμην τοῦ θανόντος εἰς τὴν Ἑλληνικὴν Κτηνιατρικὴν Ἑταιρείαν δρχ. 300 ἀντὶ στεφάνου.

III. Νὰ δημοσιευθῆ ἡ παροῦσα εἰς τὰ περιοδικὰ «Πτηνοτροφικὸν Δελτίον» καὶ «τὸ Δελτίον τῆς Ἑλληνικῆς Κτηνιατρικῆς Ἑταιρείας».

Μετά τιμῆς

Ὁ Πρόεδρος
Κ. ΠΙΤΣΙΟΣ

Ὁ Γεν. Γραμματεὺς
ΙΕΡ. ΚΑΤΣΟΥΛΗΣ

