ePublishing
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

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 34ον

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟΝ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΝ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΕΤΟΥΣ 1956

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

•

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

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Βοτανικός Κήπος - 'Αθήναι (Τ3)

SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE HELLÉNIQUE
Jardin Botanique - Athènes (T3)

HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY
Botanical Gardens - Athens (T3)

https://epublishing.ekt.gr | e-Publisher: EKT | Downloaded at: 17/02/2026 16:40:21

ΔΕΛΤΙΟΝ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

BULLETIN

DE LA SOCIÉTÉ VÉTÉRINAIRE HELLÈNIQUE

ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β'. ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 1959 ΤΕΥΧΟΣ 34ον

Ὁ ἐκλεκτὸς καὶ διαπρεπὴς συνάδελφος κ. Β. Χατζήολος, Καθηγητὴς τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Maryland, ὑπείκων εἰς παράκλησιν ὑποβληθεῖσαν αὐτῷ κατὰ τὴν ἐνταῦθα πρόσφατον παραμονήν 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 τιμᾶ τὴν Ἑλληνικὴν πατρίδα εἰς τὴν ξένην, τὴν βαθυτάτην της εὐγνωμοσύνην.

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 sodium [14] 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/creatine ratio, insulin sensitivity [2,32] and decreased response to cold stress [4] 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, histophathologic changes of the adrenal cortex during various periods of administration of the drug. An abstract of these findings has been published.[13]

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 Sudad IV, oil red 0 and Nile blue, and others were treated according to Schultz's method for cholesterol [19] 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 Giesson'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-Schiff [16] (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 parrafin 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 erythorocytes, 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

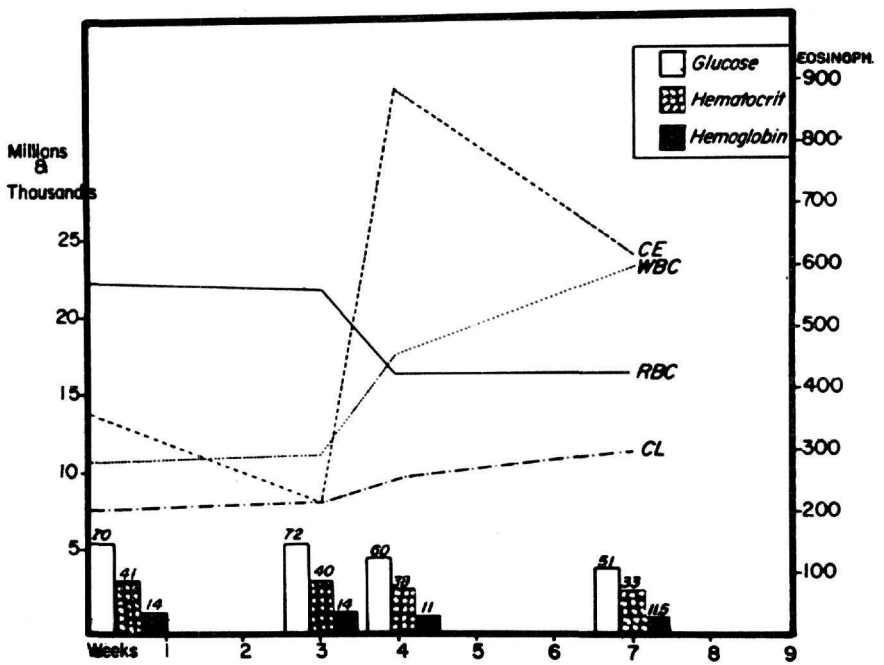


Fig. 1. Blood picture of a young goat during DDD administration indicating progress of cortical destruction; (C.E.=circulating eosinophils, W.B.C.=white blood cells, R.B.C. = red blood cells, and C.L.=circulating lymphocytes).

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 0 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 prolifertation. 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 sisusoids were engorged and scattered keukocytes 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 dilatations. 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 betwen 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 (Fih. 1, Pl. 2). Scattered neutrophils were present In certain areas the stroma mas 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 lipoid metaplasia, or proups 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 streghened stroma (Fig. 6, Pl. 2). Neutrophils were scattered about. In the zona reticularis, which fused with the fasciculata, a syncytial cell formation has 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 additiod, 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 insufficiency[27] as well as to chlorinated hydrocarbon poisoning. Cortisone temporarily alleviated this condition. Whether fhis 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 de 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 amountt of plasma and urinary 17-hydroxycorticostergids 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 derivatives[15] 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 cells[7] and accumulates in high concentration in body fats,[8] the absence of early changes in the gromerulosa 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 subtantiated by the presence of lymphatic hyperplasia in all organs and glands in which lymphotic tissue exists.

SUMMARY

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.

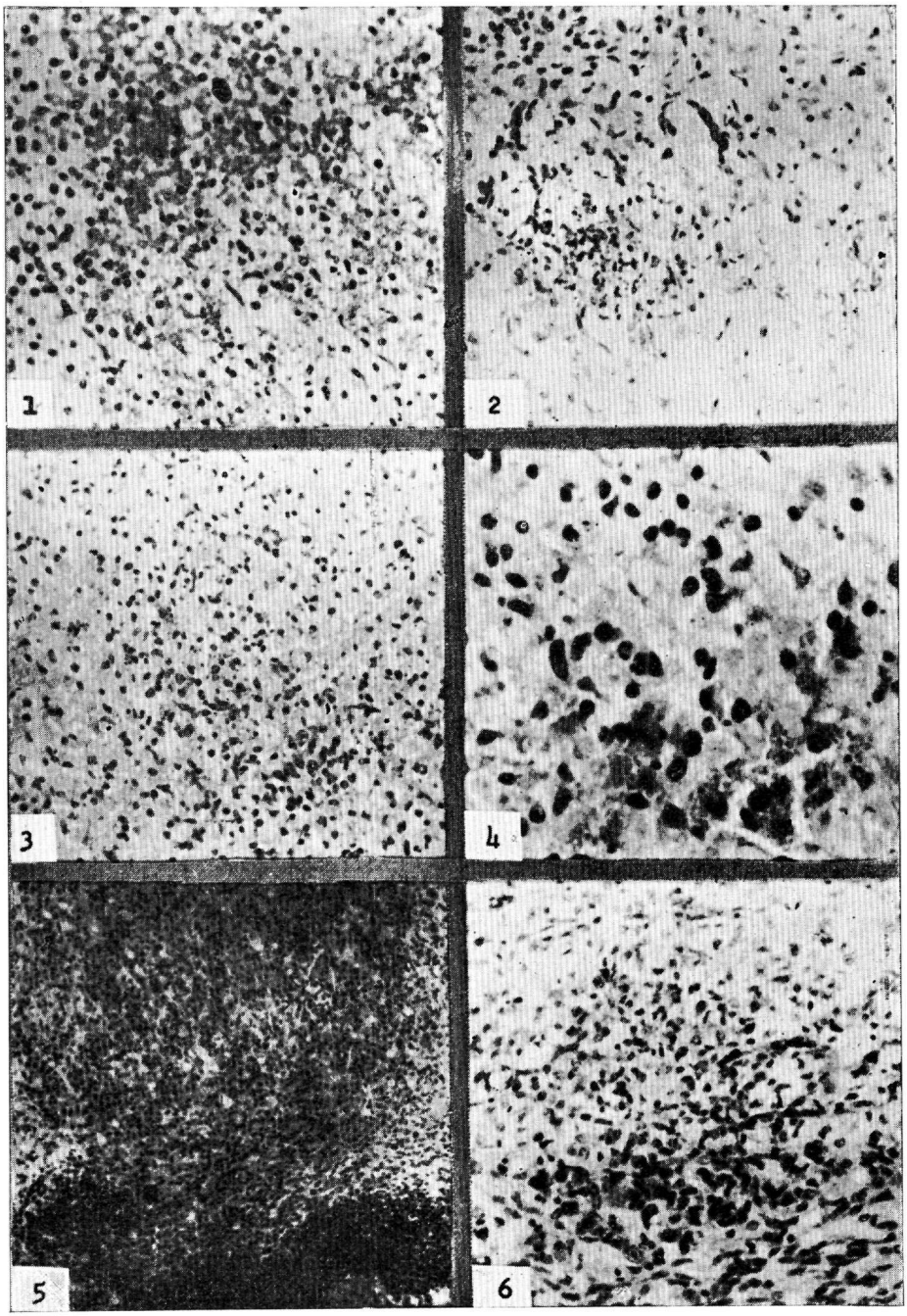
TABLE 1

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.

TABLE 2
Weight of adrenals of goats

Goat	Age (in mos.)	Body weight (in lbs.)	Adrenals (in g.) Left	Adrenals (in g.) Right	Relative weight of Adrenals (in mg/lb.)	Remarks
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	


1
2
3
4
5
6

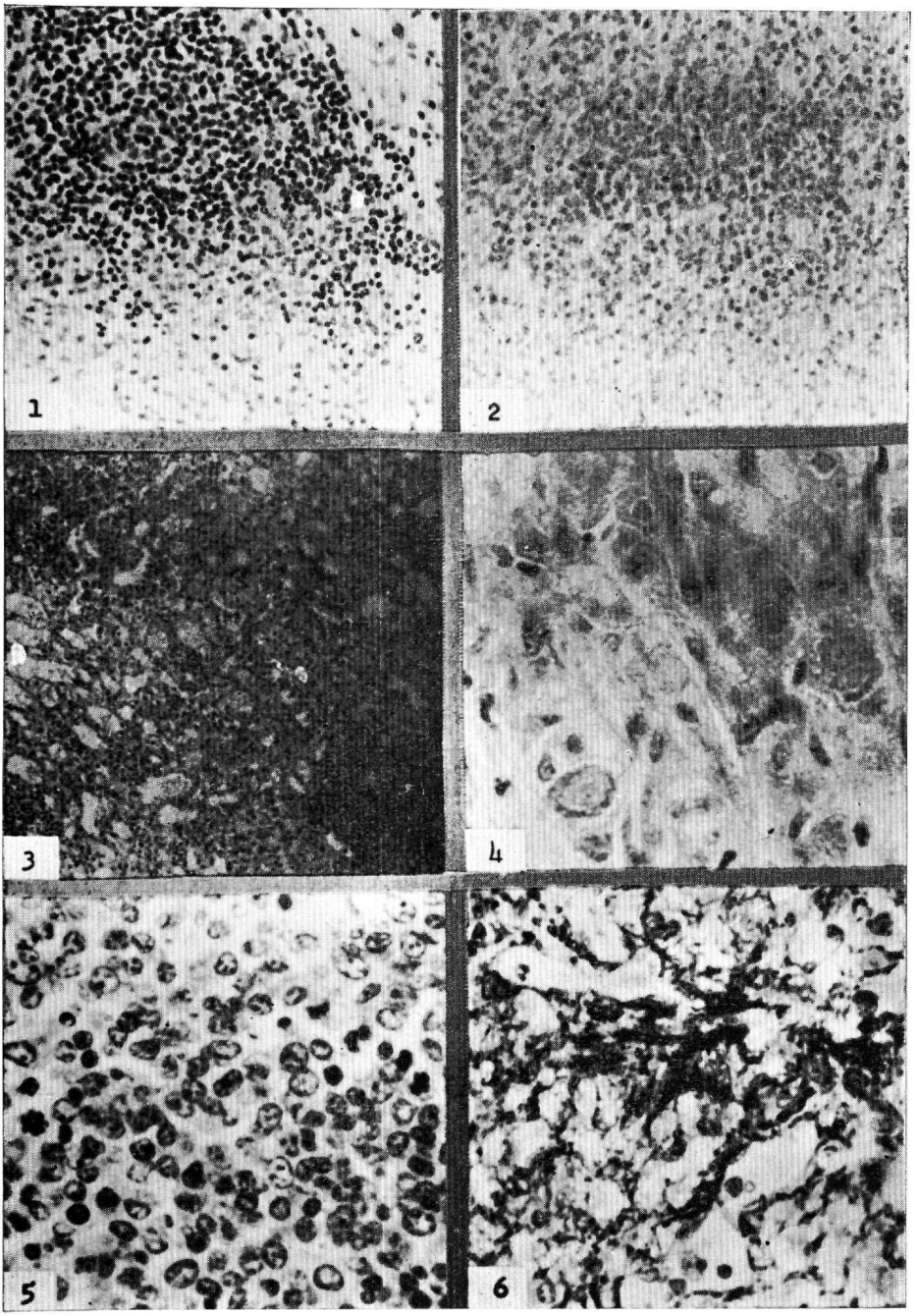

1
2
3
4
5
6

PLATE 1

Fig. 1. A hemorrhagic area in the zona fasciculata of a goat, after six days of DDD administration. H & E stain×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×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×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×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 x 90.

Fig. 6. Necrotic area in the inner fasciculata of a goat, after four weeks of DDD administration. H & E stain×125.

PLATE 2

Fig. 1. Lymphoid nodule formation in the zona glomerulosa of a goat after nine weeks of DDD administration. H & E stain×125.

Fig. 2. Same adrenal as above. Diffuse lymphocytic infiltration in the zona fasciculata H & E stain×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×90.

Fig. 4. Amyloid bodies in the zona fasciculata of a goat after four weeks of DDD administration. H & E stain×320.

Fig. 5. Lymphoid nodule in the zona fasciculata of a goat, after nine weeks of DDD administration. H & E stain×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×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-Hydroxycorticords 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-Corticorteroids 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 Chronictoxicity Studies on 2, 2-Bis-(P-Ethylphenyl)-1, 1-Dichloroethane (Perthane). Arch. Internat. Pharmacodynamie and Therap. **103** : 404, 1955.

9) **Gilmore 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 Produduction 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 **Stohlman 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.: Infuence 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 Techique. 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 Oxigen 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 Adrenocorticolytic 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 Bestinmung von DDT (Bis-(chlorphenyl)-trichlormethan in Schadlingsbekampfungsmitteln. Ztsch. Analyt. Chem. **132** : 26-33, 1951.
34) **Winteringham F. P. W.** : Some Aspects of Insecticide Biochemistry. Endeavour. **11** : 22, 1952.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ 1,1-ΔΙΧΛΩΡΟ-2,2-ΔΙΣ (ΠΑΡΑΧΛΩΡΟΦΕΝΥΛ-ΑΙΘΑΝΙΟΥ), (DDD ἢ TDE) ΕΠΙ ΤΟΥ ΦΛΟΙΟΥ ΤΩΝ ΕΠΙΝΕΦΡΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΑΙΓΩΝ

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

Εἰς ὀκτὼ αἶγας διαφόρων ἡλικιῶν ἐχορηγήθησαν ἀπὸ τοῦ στόματος δόσεις DDD ποικίλλουσαι ἀπὸ 100 μέχρι 280 χιλστγρ. κατὰ χιλιόγραμμον ζῶντος βάρους ἡμερησίως ἐπὶ χρονικὰς περιόδους κυμαινομένας ἀπὸ 6-65 ἡμερῶν. Βραχὺ χρονικὸν διάστημα πρὸ τοῦ θανάνου τῶν ζώων ἐκείνων, εἰς τὰ ὁποῖα ἐγένετο παρατεταμένη χορήγησις τῆς ἀνωτέρω οὐσίας, παρετηρήθησαν ἔκδηλα κλινικὰ συμπτώματα ἀπὸ τοῦ νευρο-μυϊκοῦ συστήματος. Ταὐτοχρόνως παρετηρήθησαν διόγκωσις τῶν λεμφαδένων, ἀναιμία, ὑπογλυχαιμία, ἠωσινοφιλία καὶ λεμφοκυττάρωσις.

Κατὰ τὸ πρώϊμον στάδιον (ἀπὸ 1 μέχρι 2 ἑβδομάδων) τῆς χορηγήσεως τοῦ DDD, ἡ ἱστολογικὴ ἐξέτασις ἀπεκάλυψε διασπάρτους αἱμορραγίας, κυτταρικὴν νέκρωσιν καὶ λευκοκυτταρικὴν διήθησιν τῆς ἔσω στιβάδος τοῦ φλοιοῦ. Ἐκ παραλλήλου πρὸς τὴν μείωσιν τῆς ἀνωτέρω στιβάδος, ἡ δικτυωτὴ ζώνη καὶ ἡ σπειροειδὴς 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 παρετηρήθη εἰς τὰς ἔσω στιβάδας τοῦ φλοιοῦ, ἐκτεινομένη ἐνίοτε μέχρι τῆς κάψης· ὁμοίως ἦτο ἔκδηλος ἰνώδης ἐξεργασία.

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

Ὑπὸ
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 ψῦξιν. Μέχρι πρὸ ὀλίγων ἀκόμη ἐτῶν ὁ μόνος τρόπος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἦτο ἡ ψῦξις 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 ἁπλότητα καὶ τὸ μικρὸν κόστος της, ἐν τούτοις δὲν ἐπιτρέπει νὰ ὑπολογίζωμεν διάρκειαν ζωῆς μὲ καλὴν γονιμότητα πέραν τῶν 24-48 ὡρῶν. Ὅσον δὲ θερμότερον εἶναι τὸ κλῖμα 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 ψῦξιν -79° C. Ἡ μέθοδος αὕτη σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς μεγάλην κλίμακα εἰς πολλὰ κέντρα σπερματεγχύσεως 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 ἄνθρακος, ὁ ὑγροποιημένος ἀὴρ καὶ τὸ ὑγροποιημένον ἄζωτον. Ὁ τρόπος οὗτος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ τὴν χώραν μας ἔχει ἰδιαιτέραν σημασίαν, δεδομένου ὅτι μὲ τὴν διὰ κοινοῦ πάγου ψῦξιν, λόγῳ τοῦ θερμοῦ κλίματος καὶ τῶν πρωτογόνων συγκοινωνιακῶν συνθηκῶν, δὲν εἶναι δυνατὸν νὰ ἐξυπηρετηθοῦν ἅπασαι αἱ κοινότητες καὶ δὴ αἱ ὀρειναὶ καὶ ἀπομεμακρυσμέναι 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 παρασκευή των εἶναι πολυδάπανος. Οὕτω εἰς τὴν χώραν μας μέχρι τῆς ἐγκαταστάσεως τοιούτων ἐργοστασίων παρασκευῆς ξηροῦ πάγου ἢ ὑγρῶν ἀερίων δέν δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ αὕτη εἰς εὐρεῖαν 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 σπερματεγχύσεως εἰς ὅλας τὰς χώρας καὶ δὴ τὰς ἐχούσας θερμὸν κλῖμα καὶ συγκοινωνιακὰς συνθήκας πλημμελεῖς.

Τὰ κυριώτερα ἐπιτεύγματα τῆς τεχνητῆς σπερματεγχύσεως, χάρις εἰς τὰ ὁποῖα σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς πολλὰ κράτη εὐρὺ 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 εὑρίσκονται 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 δυνατὸν 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 ἄνθρακος εἰς τὸ σπέρμα, τὸ ὁποῖον ἀραιοῦται δι᾽εἰδικοῦ ἀραιωτικοῦ μέσου καὶ ἐν συνεχείᾳ κατανέμεται ἐντὸς ἑρμητικῶς κλειομένων ὑαλίνων φυσίγγων τοῦ 1. cc. Τὸ ἀραιωτικὸν μέσον συνίσταται ἀπὸ 20 γραμ. κιτρικοῦ νατρίου (μὲ δύο μόρια ὕδατος), 2,1 γραμ. δισανθρακικοῦ νατρίου, 0,4 γραμ. χλωριούχου καλίου, 3 γραμ. γλυκόζης καὶ 3 γραμ. σουλφανιλαμίδην. Ἅπαντα τὰ ἀνωτέρω διαλύονται εἰς μίαν λίτραν ὕδατος, θερμαινομένου μέχρι σχεδὸν βρασμοῦ.

Τὸ διάλυμα ψύχεται εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου, διοχετεύεται ἐντὸς αὐτοῦ τὸ CO_2 κατὰ φυσαλίδας ἐπὶ 10′, μέχρις ὅτου τὸ pH κατέλθῃ εἰς τὸ 6,35. Μετὰ τὴν διοχέτευσιν τοῦ CO_2 προστίθενται πενικιλλίνη καὶ θειϊκὴ διϋδροστρεπτομυκίνη ὑπολογιζόμεναι εἰς 1000 Δ. Μ. ἡ πρώτη καὶ εἰς 1000 mg. ἡ δευτέρα κατὰ κ. ἑκ. 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 ἄνθρακος συντηρηθὲν σπέρμα ἐκρατήθη εἰς κιβώτια ἐκ πολυστερίνης εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 20-23° C. Κατεβλήθη προσπάθεια ὅπως ἀποφευχθοῦν αἱ ἀπότομοι μεταβολαὶ τῆς θερμο-

κραθίας καὶ δὴ ἡ ἀπότομος πτῶσις αὐτῆς, εἰς ἣν τὸ διὰ CO_2 ἐμπλουτισθὲν σπέρμα εἶναι ἐξαιρετικῶς εὐαίσθητον. Τὰ ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα ἐμφαίνονται εἰς τὸν πίνακα I.

ΠΙΝΑΞ I

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

1) διὰ I.V T. *καὶ διετηρήθη εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου*

2) διὰ Κιτρικοῦ-Κρόκου ὠοῦ καὶ διετηρήθη εἰς 5° C.

Ἡλικία σπέρματος	Ἀραίωσις μὲ I.V.T. εἰς Θαν δωματίου		Ἀραίωσις 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. ἀραιωθέντος καὶ διὰ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος ἐμπλουτισθέντος σπέρματος κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς ἐπὶ 7ήμερον διατηρήσεώς του εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου μόνον μικρὰν μείωσιν τῆς γονιμότητός του παρουσίασεν (9 %), ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν+5° C διατηρηθέν, τὸ ὁποῖον ἀπὸ τῆς 3ης ἡμέρας παρουσίασε ραγδαίαν πτῶσιν (κατὰ 30 %), ἵνα καταστῇ ἐξ ὁλοκλήρου 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 προκαλέσουν 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 σουλφανιλαμίδης.

Ἡ Σουλφανιλαμίδη ἐν ἀρχῇ εἶχε προστεθῇ εἰς τὰ ἀραιωτικὰ μέσα μό-

νον διὰ τὴν βακτηριοστατικὴν αὐτῆς ἐνέργειαν, τοὐτέστιν 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, τοὐτέστιν τῆς ἀεροβίου διασπάσεως τῶν ὑδατανθράκων καὶ δὴ ἐκείνων τοῦ ἰδίου αὐτοῦ πρωτοπλάσματος. Οὕτω σήμερον ἡ σουλφανιλαμίδη ἀποτελεῖ ἀπαραίτητον συστατικὸν τῶν περισσοτέρων ἀραιωτικῶν μέσων εἰς τὴν ἐφαρμογὴν τῆς τεχνητῆς σπερματεγχύσεως. 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 βαθμόν, ὅσον ἡ πυκνότης τοῦ CO_2 εἰς τὸ σπέρμα εἶναι μεγαλυτέρα.

Ἔχει ἀποδειχθῆ ὅτι ἡ σουλφανιλαμίδη συντιθεμένη μετὰ τοῦ P-ἀμινοβενζοϊκοῦ ὀξέος ἀναστέλλει τὴν δρᾶσιν τούτου (Competitive Inhibitor), παρακωλύουσα τὴν ἐνέργειαν τῆς φωσφατάσης καὶ τῆς ζωϊκῆς φύσεως καρβοανυδράσης. Ἡ ὕπαρξις ἰόντων Ζη, ἀποτελούντων σταθερὸν συστατικὸν τῆς καρβοανυδράσης καὶ φωσφατάσης, ἔχει διαπιστωθῆ εἰς τὸ βόειον σπέρμα. Ἑτέρα οὐσία, ἥτις ἐνισχύει τὴν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν τοῦ CO_2 εἰς τὸν μεταβολισμὸν τῶν ὑδατανθράκων τοῦ σπερματοζωαρίου, εἶναι τὸ Diamox (2-Acetyloamino - 1, 3, 4 - Thiotiasole-Sulfonamide). Τοῦτο θεωρεῖται ὡς εἰδικὴ ἀνασταλτικὴ οὐσία διὰ τὴν καρβοανυδράσην (Specific Inhibitor). Αὕτη ἀναστέλλει τὴν γλυκόλυσιν εἰς χαμηλοτέρας πυκνότητας CO_2 παρὰ ἡ σουλφανιλαμίδη.

Σπέρμα διατηρηθὲν διὰ τοῦ τρόπου τούτου παρουσιάζει ἐλαχίστην κινητικότητα. Κατὰ τὴν ἐκτίμησίν του, ὅθεν, μετὰ τὴν διάνοιξιν τῆς φύσιγγος, δέον ὅπως περιμένωμεν ἐπί τινα λεπτὰ μέχρις ὅτου ἀπομακρυνθῆ τὸ μεγαλύτερον μέρος τοῦ CO_2 καὶ κατόπιν ὑποβάλλωμεν τοῦτο εἰς μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν.

II. Συνδυασμὸς CO_2 μὲ ψῦξιν.

Συμφώνως πρὸς νεωτέρας παρατηρήσεις, τὰ ὑπὸ τῶν ἐρευνητῶν τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Illinois (Van Demark, Sulsbury, Sharma) προστιθέμενα ἀντιβιοτικὰ δὲν εἶναι ἱκανὰ νὰ ἀναστείλουν τελείως τὴν ἀνάπτυξιν τῶν μικροοργανισμῶν εἰς σπέρμα διατηρούμενον μὲ CO_2 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 μὲ 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.
Σουλφανιλαμίδη	0,30	γρ.

Εἰς τὸ διάλυμα τοῦτο διοχετεύεται CO_2 καὶ προστίθεται κρόκος ὠοῦ εἰς ἀναλογίαν 15%. Κατόπιν προστίθενται 1000 μονάδες πενικιλλίνης κρυσταλλικῆς καὶ 1000 μγ Διϋδροστρεπτομυκίνης κατὰ κ. ἑκ. 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 μὲ CO_2. :

1. Τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου εἶναι δυνατὸν νὰ περιέλθῃ εἰς ληθαργικὴν κατάστασιν καὶ νὰ ἀναβιώσῃ πλήρως, ἐὰν ἀραιωθῇ μὲ ἐλαφρῶς ἀλκαλικὸν ἀραιωτικὸν μέσον ἐμπλουτισμένον εἰς CO_2. Ὁ βαθμὸς τῆς ληθαργικῆς καταστάσεως, εἰς ἣν περιπίπτουν τὰ σπερματοζωάρια, ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὴν ποσότητα τοῦ διοχετευομένου CO_2. Αἱ μεγάλαι δόσεις CO_2 ἐνδέχεται νὰ προκαλέσουν τὸν θάνατον αὐτῶν. Ἡ ζωτικότης καὶ ἡ κινητικότης τῶν ἀναβιούντων σπερματοζωαρίων εἶναι ἀνάλογος πρὸς τὸν βαθμὸν τῆς ἐπιτευχθείσης ληθαργικῆς καταστάσεως. Πυκνότης CO_2 ἀντιπροσωπεύουσα κορεσμὸν τοῦ ἀραιωτικοῦ μέσου ὑπὸ θερμοκρασίαν 30°-35° C εἶναι ἀρκετὴ διὰ τὴν ἐπὶ μίαν ἑβδομάδα συντήρησιν τοῦ σπέρματος μὲ πλήρη ἀναβιωτικὴν ἱκανότητα.

2. Ἡ διοχέτευσις τοῦ ἀπαιτουμένου CO_2 εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον καὶ ἡ ἀνάμιξις τοῦ σπέρματος εἶναι δυνατὸν νὰ γίνουν 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 CO_2 εἰς τὴν ἐνδεδειγμένην πυκνότητα.

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

τοζωαρίων, ἐφ' ὅσον ταῦτα προστίθενται εἰς πυκνότητα ἐπαρκοῦσαν, ὥστε νὰ παρεμποδίζηται ὁ πολλαπλασιασμὸς τῶν μικροοργανισμῶν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ ψυγείου. Ἡ ὑπεροχὴ τῆς τροποποιημένης αὐτῆς μεθόδου συντηρήσεως τοῦ σπέρματος μὲ CO_2 καὶ ψῦξιν 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 εἴμεθα εἰς θέσιν νὰ μειώσωμεν τὸν ἀριθμὸν τῶν σπερματοληψιῶν καὶ δὴ προκειμένου περὶ ταύρων παραγόντων σπέρμα μικρᾶς μακροβιότητος. Ἐξ ἄλλου οἱ σπερματεγχῦται δύνανται νὰ ἐξοικονομοῦν σπέρμα τοῦ αὐτοῦ ταύρου ἐπὶ 2-7 ἡμέρας, κατορθώνοντες οὕτω, πρὸς αὔξησιν τοῦ ποσοστοῦ γονιμότητος, νὰ ἐκτελοῦν τὰς ἐπαναληπτικάς των σπερματεγχύσεις κατὰ τὴν διάρκειαν τοῦ αὐτοῦ ὀργασμοῦ, χωρὶς νὰ εἶναι ὑποχρεωμένοι νὰ ἐκτελοῦν ταύτας μὲ σπέρμα ἄλλων ταύρων.

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

III. Τεχνικὴ συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος

Ἡ ἐπὶ περισσοτέρας ἡμέρας συντήρησις τοῦ σπέρματος εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου διὰ διοχετεύσεως διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος χωρὶς ψῦξιν, ὡς ἀνεφέρθη καὶ ἀνωτέρω, δὲν κατωρθοῦται εἰς τὴν πρᾶξιν, λόγῳ πολλαπλασιασμοῦ τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος. Διὰ τῆς προσθήκης ὅμως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον δισανθρακικοῦ νατρίου, καταλάσης καὶ κρόκου ὠοῦ, ἐλαττώσεως τῶν κιτρικῶν ἁλάτων καὶ ὑποβολῆς τῶν φυσίγγων εἰς ψῦξιν 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 της τὰς λεπτομερείας, ἐν τούτοις ἀποτελεῖ οἰκονομικὸν καὶ πολλὰ ὑποσχόμενον διὰ τὸ μέλλον τρόπον συντηρήσεως τοῦ σπέρματος.

Σημεῖα εἰς τὰ ὁποῖα δέον ὅπως γίνουν περαιτέρω ἔρευναι πρὸς τελειοποίησιν τῆς μεθόδου ταύτης, εἶναι: 1) ἡ ἀνεύρεσις ἔτι καταλληλοτέρων διὰ τὰ σπερματοζωάρια 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 εὑρίσκεται εἰσέτι ἐν ἐξελίξει.

1. Ἐπιλογὴ σπέρματος.

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

2. Παρασκευὴ ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ.

Τὰ ἀραιωτικὰ μέσα καλὸ εἶναι νὰ ἀγοράζωνται ἕτοιμα ἀπὸ τὰς φαρμακευτικὰς βιομηχανίας, καθ' ὅσον ἡ παρασκευή των καὶ δὴ ἀσηπτικῶς εἰς τὸ ἐργαστήριον ὄχι μόνον χρόνον πολὺν ἀπαιτεῖ ἀλλὰ εἶναι καὶ δύσκολος. Εἰς τὸ ὑπὸ ψῦξιν σπέρμα δέον τὸ ἀραιωτικὸν μέσον νὰ ἐμπλουτίζηται μὲ πολὺ περισσότερον CO_2, εἰς τρόπον ὥστε τὸ pH νὰ κατέρχηται 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 ἄνθρακος 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. Ἀκολούθως εἰσάγεται βραδέως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον ἀπεστειρωμένον Co_2, μέχρις ὅτου τὸ pH τοῦ εἰς τὴν δευτέραν φιάλην συγκεντρουμένου ἀραιωτικοῦ μέσου κατέλθῃ εἰς τὸ 6.20—6.35. Ἐν συνεχείᾳ εἰσάγεται ἡ ἀπαιτουμένη ποσότης ἀντιβιοτικῶν. Πρὸς ἀποφυγὴν θερμικῆς καταπληξίας, μετὰ τὴν λῆψιν 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° C. Κατὰ τὴν τελικὴν ἀραίωσιν, πρὸς ἀποφυγὴν ἀπωλείας CO_2, τὸ σπέρμα διὰ προχοΐδος εἰσάγεται εἰς τὸν πυθμένα τῆς περιεχούσης τὸ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν φιάλης, ἐνῷ συγχρόνως διὰ προσεκτικῶν κινήσεων τῆς προχοΐδος ἐπιτυγχάνομεν τὴν ἀνάμιξιν αὐτοῦ. Ἡ φιάλη πρέπει νὰ κρατῆται ἑρμητικῶς κλειστὴ καὶ νὰ περιέχῃ εἰ δυνατὸν ὀλιγώτερον ἀέρα.

4. Πλήρωσις φυσίγγων.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἀραίωσιν τὸ σπέρμα διανέμεται ἀνὰ 1 κ. ἑκ. εἰς ἑκάστην φύσιγγα χωρητικότητος 1,3 κ.ἑκ. Ἡ ἐργασία αὕτη γίνεται εἰς χῶρον 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 δημιουργῆται οὔτε ὑπερβολικὴ ἀλλ' οὔτε καὶ χαμηλὴ πίεσις εἰς τὰς φύσιγγας, καὶ νὰ μὴ σχηματίζωνται φυσαλίδες. Ἡ πλήρωσις ἐπιβάλλεται ὅπως ἐνεργῆται δι' εἰδικῆς συσκευῆς.

5. Σφράγισις τῶν φυσίγγων.

Ἡ σφράγισις δέον νὰ γίνηται ἀμέσως μετὰ τὴν ἀραίωσιν ἢ τὸ πολὺ ἐντὸς ἡμισείας 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 φυσαλίδες λόγῳ θερμάνσεως τοῦ περιεχομένου τῶν φυσίγγων κατὰ τὴν τῆξιν, εἶναι ἀνάγκη ἀφ' ἑνὸς μὲν αὕτη νὰ ἐνεργῆται ταχύτατα, ἀφ' ἑτέρου δὲ αἱ φύσιγγες νὰ ψύχωνται προηγουμένως διὰ τῆς τοποθετήσεώς των ἐντὸς ὕδατος θερμοκρασίας $+10^0$ C ἢ διὰ τῆς διοχετεύσεως ψυχροῦ ἀέρος. Κατόπιν ἐλέγχονται μετὰ προσοχῆς κατὰ πόσον ἡ σφράγισις εἶναι τελεία.

6. Ἀποστολὴ σπέρματος.

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

7. Ἐξέτασις τοῦ σπέρματος.

Τὰ ἐν ἀκινησίᾳ σπερματοζωάρια τοῦ οὕτω συντηρουμένου σπέρματος συσσωρεύονται εἰς τὸ κατώτερον σημεῖον τῆς φύσιγγος. Πρὸ τῆς ἐξετάσεως τῆς ζωτικότητος αὐτῶν εἶναι ἀνάγκη ὅπως ἡ φύσιγξ ἀναταραχθῇ καλῶς. Ἐπίσης πρὸ τοῦ ἀνοίγματος τῆς φύσιγγος δέον ὅπως αὕτη θερμανθῇ ἐπαρκῶς, ἵνα ἐξουδετερωθῇ ἐξ ὁλοκλήρου ἡ ἐπίδρασις τοῦ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος. Ἄνευ τῆς προετοιμασίας ταύτης ἡ κινητικότης τῶν σπερματοζωαρίων εἶναι πολὺ χαμηλή. Μετὰ τὴν τελείαν διαφυγὴν τοῦ CO_2 τὰ σπερματοζωάρια ἀποκτοῦν ζωηρὰν κινητικότητα, πολὺ καλυτέραν ἐκείνης τοῦ δι' ἁπλῆς 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, ἀνάμιξις, ἀραίωσις κ.λ.π.) γίνεται εἰς περιβάλλον θερμότερον τῶν 20^0 C, ὁ σχηματι-

σμὸς φυσαλίδων καὶ ἀφροῦ εἶναι ἀναπόφευκτος. Πρὸς ἀποφυγὴν αὐτοῦ καὶ ἐκλύσεως CO_2, κατὰ τοὺς θερμοὺς κυρίως μῆνας, εἶναι ἀπαραίτητον ὅπως ἡ παρασκευὴ τοῦ σπέρματος γίνηται εἰς χῶρον τοῦ ἐργαστηρίου διαθέτοντα ἐξοπλισμὸν κλιματισμοῦ. Ἀλλὰ καὶ αἱ χαμηλαὶ θερμοκρασίαι εἶναι δυνατὸν κατὰ τὴ παρασκευὴν τοῦ σπέρματος νὰ ἐπιδράσουν δυσμενῶς, λόγῳ τῆς θερμικῆς καταπληξίας τὴν ὁποίαν εἶναι εἰς θέσιν νὰ προκαλέσουν.

9. Συντήρησις καὶ χρησιμοποίησις τοῦ διὰ CO_2 διατηρηθέντος σπέρματος.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἐξεργασίαν τῶν φυσίγγων, αὗται τοποθετοῦνται εἰς τὸ ψυγεῖον, εἰς θερμοκρασίαν 4^0 C. Τὸ διὰ CO_2 διατηρούμενον σπέρμα ἵνα διατηρήση τὴν μακροβιότητά του, δέον ὅπως 2-3 φορὰς τὴν ἡμέραν ἀναταράσσηται, ἵνα μὴ καθιζάνουν εἰς τὸν πυθμένα τὰ σπερματοζωάρια. Αἱ φύσιγγες δέον νὰ ἀποσφραγίζωνται μόνον ὀλίγον πρὸ τῆς χρησιμοποιήσεώς των, καθ' ὅσον διὰ τῆς διαφυγῆς τοῦ CO_2 καὶ τῆς ἀποτόμου ἀνυψώσεως τοῦ pH τὰ σπερματοζωάρια ἀποτόμως ἀποκτοῦν μεγάλην κινητικότητα καὶ χάνουν εἰς βραχύτερον χρονικὸν διάστημα τὴν γονιμότητά των.

RÉSUMÉ

CONSERVATION DU SPERME DE TAUREAU PAR LE CO_2

Par

CONSTANTIN VLACHOS

Professeur de la Faculté Vétérinaire de l'Universite de Thessaloniki

L'autenr dans la presente étude éxamine la possibilité de conservation du sperme de tanreau par le CO_2 combinée à la refrigeration.

Ο ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Ὑπὸ

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 βάθη τῶν αἰώνων.

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

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

Τὸ βιολογικὸν ὅμως τοῦτο προϊὸν δύναται εἰς ὡρισμένας περιπτώσεις νὰ ἀποβῇ ἐπικίνδυνον διὰ τὸν ἄνθρωπον, εἴτε διότι ἐμπεριέχει κατὰ τὴν ἄμελξιν, εἴτε διότι ἐπιμολύνεται ἀργότερον, διὰ μικροβίων παθογόνων διὰ τὸν ἄνθρωπον. Δεδομένου δὲ ὅτι τοῦτο χρησιμοποιεῖται ὡς ἐπὶ τὸ πλεῖστον ὑπὸ ὀργανισμῶν εἴτε ἐξηντλημένων, εἴτε μικρᾶς ἀντιστάσεως ὁ 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 εὐρέως εἰς τὴν χώραν μας ἰδίως εἰς περιοχὰς ὅπου δὲν ὑπάρχουσι εἰδικευμένα ἐργοστάσια ἐπεξεργασίας γάλακτος. Τοῦτο καταναλισκό-

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

2· Παστεριωμένον γάλα.

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

3. Ἀποστειρωμένον γάλα.

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

Τοῦτο διατίθεται εἰς τὴν κατανάλωσιν ἐντὸς φιαλῶν ἑρμητικῶς ἐσφραγισμένων καὶ εἰς ποσότητας τοῦ ἑνὸς λίτρου καὶ τοῦ ἡμίσεως λίτρου.

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

Αἱ χρησιμοποιούμεναι μέθοδοι ἀποστειρώσεως 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 ἀποστειρώσεως 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, Jaton, Mocquot (I.N.R.A.)

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

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

4. Γάλα ἀφυδατωμένον, συμπεπυκνωμένον κλπ.

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

Β' ΣΚΟΠΟΙ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

1. Ἡ ὁλικὴ ἐκτίμησις τοῦ συνόλου τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ γάλακτος ἀπαραιτήτου στοιχείου 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 ὑγείαν ἅτινα ἐμπεριέχονται εἰς τὸ γάλα ὡς π.χ. Βρουκέλλαι, Στρεπτόκοκκοι, Σταφυλόκοκκοι, Βάκιλλος τῆς Φυματιώσεως κλπ.

3. Ἀναζήτησις καὶ εὕρεσις 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 μικρόβιον δὲν ἔχει παθογόνον ἱκανότητα ἢ ἀμφίβολον τοιαύτην πάντως ἑρμηνεύει ἔλλειψιν καθαριότητος κατὰ τὴν ἄμελξιν, συλλογὴν κλπ.

Γ' ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΕΩΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

1. Δειγματοληψία

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

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

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

πτεται ἐὰν περιέχῃ πλέον τῶν 3.000.000 μικροβίων κατὰ 1 κυβ. ὑφ., θεωρεῖται μετρίας ποιότητος ἀλλὰ εἶναι ἐδώδιμον ὅταν περιέχῃ ἀπὸ 1.000.000-3.000.000 μικρόβια κατὰ 1 κυβ. ὑφ. Θεωρεῖται δὲ καλὸν ἐὰν ὁ ἀριθμὸς τῶν μικροβίων κυμαίνεται μεταξὺ 300.000 - 1.000.000 κατὰ 1 κυβ. ὑφ. Εἶναι φανερὸν ὅτι οἱ ἀριθμοὶ οὗτοι εἶναι ποσοτικαὶ ἐνδείξεις καὶ δὲν ἀφοροῦν παθογόνα μικρόβια. Τὰ ἐπίσημα καθιερωμένα ὅρια 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 δυνατὸν συντομώτερον πρὸς ἀποφυγὴν ἀλλοιώσεως τῶν πραγματικῶν μικροβιακῶν ἀριθμητικῶν στοιχείων τοῦ γάλακτος.

2. Γενικὴ καταμέτρησις τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ γάλακτος

α) Καταμέτρησις ἐπὶ ὑαλίνης πλακός.

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

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

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 ἑνὸς ὀπτικοῦ μικροσκοπικοῦ πεδίου ἐπὶ τοῦ ἐπιχρίσματος τοῦ γάλακτος ἰσοδυναμεῖ μὲ τὸ 1/300.000 κυβ. ὑφ. γάλακτος ὅταν ἡ διάμετρος τοῦ μικροσκοτικοῦ πεδίου τοῦ καταδυτικοῦ φακοῦ μικροσκοπίου εἶναι 0, mm 206, ὁ ὑπολογισμὸς ὅθεν τοῦ ἀριθμοῦ τῶν μικροβίων ἀνάγεται εἰς ἁπλοῦν μαθηματικὸν ὑπολογισμόν. Εἰς τὴν πρᾶξιν 1 μικρόβιον κατὰ ὀπτικὸν πεδίον ἰσοδυναμεῖ πρὸς 300.000 μικρόβια κατὰ 1 κυβ. ὑφ. γάλακτος, φανερὸν εἶναι ὅμως ὅτι ἡ ἀνωτέρω μέθοδος ἀπέχει πολὺ ἀπὸ τοῦ νὰ παρέχῃ ἀκριβῆ μικροβιο-

λογικὰ δεδομένα καὶ εἶναι μᾶλλον μέθοδος χονδροειδοῦς ἐκτιμήσεως 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.
Ἀπεσταγμένον 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

Papaïne T. 100	1 gr.
Ἀπεσταγμένον ὕδωρ	830 c.c.

Διαλύομεν τὴν Παπαΐνην ἐντὸς τοῦ ἀπεσταγμένου ὕδατος καὶ προσθέτομεν ἐν συνεχείᾳ 170 κυβ. ὑφ. ἀποβουτυρωμένου γάλακτος καὶ 15 gr. Agar - Noble. Τὸ ὅλον μεῖγμα τίθεται ἐντὸς φιάλης καὶ φέρεται εἰς τὸ αὐτόκαυστον εἰς 120° ἐπὶ 30′, ἐν συνεχείᾳ διαμοιράζεται εἰς δοκιμαστικοὺς σωλῆνας ἀνὰ 15 κυβ. ὑφ. εἰς ἕκαστον, οἵτινες 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) ἀναμιγνύοντες 1 κυβ. ὑφ. ἐξ ἑκάστης διαλύσεως ἐντὸς τοῦ δοκιμαστικοῦ σωλῆνος τοῦ περιέχοντος τὸ θρεπτικὸν ὑπόστρωμα καὶ κατόπιν χέομεν τοῦτο ἐντὸς τρυβλίου Petri περὶ τὴν θερμοκρασίαν τῶν 45°.

Ἐπώασις 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 ἀπὸ 30 ἕως 300 ἀποικίας ὁπότε πολλαπλασιάζοντας μὲ τὸν παράγοντα διαλύσεως εὑρίσκομεν τὸν ἀριθμὸν τῶν μικροβίων κατὰ 1 κυβ. ὑφ.

γ) **Χαρακτῆρες τῶν ἀποικιῶν.**

Αἱ ἀποικίαι τῶν στρεπτοκόκκων τοῦ γάλακτος (Str. Lactis, Str. Cremoris) οἱ ὁποῖοι προκαλοῦν τὴν πῆξιν τοῦ γάλακτος εἶναι μικραί, ἐπίπεδοι καὶ ἔχουν κυανίζουσαν χροιάν.

Αἱ ἀποικίαι τῶν γαλακτικῶν βακίλλων εἶναι ἐλάχισται διότι οἱ βάκιλλοι αὐτοὶ ἀναπτύσσονται καλῶς εἰς 37° - 45°, ἡ ὄψις τῶν ἀποικιῶν τούτων εἶναι ὡς τῶν ἀνωτέρω στρεπτοκόκκων.

Αἱ ἀποικίαι τῆς Escher. coli εἶναι πλατεῖαι ἡμισφαιρικαὶ καὶ καθ' ὅλα ὅμοιαι μὲ τὰς ἀποικίας τοῦ μικροβίου ἐπὶ κοινοῦ θρεπτικοῦ ἄγαρ.

Αἱ ἀποικίαι τῶν ἀεριογόνων Escherichiae εἶναι πλατύτεραι καὶ πλέον βλεννώδεις ἀπὸ τὰς ἀνωτέρω.

Αἱ ἀποικίαι τῶν σταφυλοκόκκων εἶναι εὐάριθμοι, χαρακτηριστικαί, ὅπως ἀκριβῶς καὶ αἱ ἐπὶ κοινοῦ ἄγαρ.

δ) **Ἀνεκτὸς ἀριθμὸς μικροβίων ἐντὸς τοῦ γάλακτος.**

Ἐξαιρέσει τῶν εἰδικῶν παθογόνων μικροβίων ἅτινα δὲν πρέπει οὐδόλως νὰ ἀνευρίσκωνται ἐντὸς τοῦ γάλακτος, ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀπαθογόνων ἀνεκτῶν μικροβίων ποικίλλει ἀναλόγως τῆς Νομοθεσίας ἑκάστης χώρας καὶ τῶν συνθηκῶν γαλακτοπαραγωγῆς. Ἐν γενικαῖς γραμμαῖς εἰς Γαλλίαν (G. Mocquot) παραδέχονται ὅτι ἕνα ἐξαιρετικῆς ποιότητος καὶ συντηρήσεως νωπὸν γάλα δὲν θὰ πρέπῃ νὰ περιέχῃ περισσότερα τῶν 300.000 μικροβίων κατὰ 1 κυβ. ὑφ. χωρὶς ὅμως νὰ ὑπάρχουν περιοριστικαὶ διατάξεις.

Διὰ τὸ παστεριωμένον γάλα οἱ ἀριθμοὶ κυμαίνονται ἀπὸ 100.000-200.000 ἐν τούτοις ὑπὸ τὰς ἰδικάς μας συνθῆκας καὶ κατὰ τὴν γνώμην μας γάλα παστεριωμένον τὸ ὁποῖον περιέχει ἀπὸ 100.000-300.000 μικρόβια κατὰ 1 κυβ. ὑφ. δέον νὰ θεωρεῖται καλῆς ποιότητος. Τέλος τὸ πιστοποιημένον παστεριωμένον γάλα δὲν πρέπει νὰ περιέχῃ κολοβακτηρίδια (Lait Pasteurisé certifié ἢ conditionné) καὶ μέχρι 50.000 μικρόβια κατὰ κ.ὑφ.

Συμφώνως πρὸς τὰς Γαλλικὰς ἀπόψεις διὰ νὰ χαρακτηρισθῇ ἕνα παστεριωμένον γάλα ἀπὸ ἀπόψεως ποιότητος δέον ὅπως διά :

I) Γάλα καλῆς ποιότητος ὁ Α.Ο.Μ.Χ. εἶναι κατώτερος τῶν 30.000 μικροβίων κατὰ κυβ. ὑφ. (Lait pasteurisé conditioné).

II) Γάλα μέσης ποιότητος ὁ Α.Ο.Μ.Χ.* κυμαίνεται μεταξὺ 30.000-100.000 μικροβίων κατὰ κυβ. ὑφ.

ε) **Ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων.**

Διὰ τὸ νωπὸν γάλα ὁ ἀριθμὸς τῶν κολοβακτηριδίων εἶναι ἀσαφὴς ἐν-

* Ἀριθμὸς ὁλικῆς μικροβιακῆς χλωρίδος.

δειξις καὶ δὲν θὰ ἠδύνατο τις νὰ ἐξαγάγῃ 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 κολοβακτηρίδια ὑπάρχουν εἰς τὸ νωπὸν γάλα τόσον μεγαλυτέρα εἶναι ἡ ρύπανσις καὶ κακὴ ἡ 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

Α) Ἀπαθογόνων ἢ ὀλίγον παθογόνων

α) Κολοβακτηρίδιον.

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 κεχωρισμένως 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	

Ἀποστείρωσις ἐπὶ 15′ εἰς 115°.

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

Εἰς περίπτωσιν ἀμφιβόλου ἀντιδράσεως ἀνασπορὰ ἐκ νέου, ἐπώα-

σις 48 ὡρῶν καὶ νέα δοκιμή. 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 κυανιούχου καλίου ὡς καὶ ἡ δοκιμὴ τῆς οὐρίας. Ἐὰν δὲ παρίσταται ἀνάγκη περαιτέρω ἐρεύνης 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)

Ὁμὰς Δ'.

Μικροοργανισμὸς εὐκόλως διαχωριζόμενος τῶν λοιπῶν παθογόνων στρεπτοκόκκων, καθόλου αἱμολυτικός, δὲν προκαλεῖ λύσιν τῶν πρωτεϊνῶν, ζυμοῖ τὸν μαννίτην καὶ τὴν σαλικίνην, φύεται καὶ εἰς ἐχθρικὰ διὰ τὴν ἀνάπτυξιν ἑτέρων στρεπτοκόκκων θρεπτικὰ ὑποστρώματα.

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 μεῖγμα εἰς τὸ αὐτόκαυστον ἐπὶ 20' εἰς 120° C. ὅπως καθιζήση, διηθοῦμεν διὰ γάζης καὶ προσθέτομεν τὴν γλυκόζην καὶ τὸ ἀζίδιον τοῦ νατρίου. Διαμοιράζομεν εἰς δοκιμαστικοὺς σωλῆνας καὶ ἀποστειροῦμεν εἰς 115° C. ἐπὶ 15'. Ἡ Πενικιλλίνη 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 ἑξῆς διάλυσιν ἐν θερμῷ.

Nitrure de Sodium	2 gr.
Esculine	1 gr.
Citrate de Fer Ammoniacal	2 gr.
Eau distillée	200 cm³

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

B) Παθογόνα

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 μεγάλαι ποσότητες γάλακτος δύνανται νὰ καταστοῦν ἐπικίνδυνοι διὰ τὴν δημοσίαν ὑγιείαν.

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

Ἐν συνεχείᾳ προβαίνομεν εἰς βιοχημικὸν καὶ ὀρρολογικὸν χαρακτηρισμὸν τῶν ἀναφυομένων μικροβίων τῇ βοηθείᾳ εἰδικῶν ὀρρῶν, ὁμάδων, φάσεων κλπ.

β) Ἀναερόβια σπορογόνα μικρόβια.

Δοκιμὴ τοῦ Weinzirl.

Ἐξ ἑκάστου δείγματος γάλακτος ἑτοιμάζονται 5 δοκιμαστικοὶ σωλῆνες περιέχοντες ἕκαστος 5 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ 1 κυβ. ὑφ. παραφίνης, οἱ σωλῆνες οὗτοι τίθενται ἐντὸς ὑδατολούτρου 85° ἐπὶ 15′.

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

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

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 γάκακτος, 1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 ἐντὸς εἰδικοῦ ἄγαρ ἀναεροβίων.

Ἄγαρ Veillon δι' ἀναζήτησιν διαθλαστικῶν.

Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος ἄγαρ Veillon προστίθενται 2 κ.ὑφ. διαλύσεως θειώδους νατρίου 20 % ἀποστειρωμένης, καθὼς καὶ 2-3 σταγόνες διαλύσεως στυπτηρίας σιδήρου 5 % ἀπεστειρωμένης ἐπίσης. Κατόπιν σπορᾶς καὶ ἐπωάσεως 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: ἤτοι ἀπομόνωσις καὶ βιοχημικὴ ἐξέτασις τοῦ μικροβίου ἐπὶ εἰδικῶν θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων διὰ τὴν ζύμωσιν τοῦ μαννίτου, τὴν πρόκλησιν αἱμολύσεως τύπου α ἢ β ἀντιστοίχως ἐπὶ ἄγαρ περιέχοντος ἐρυθρὰ αἱμοσφαίρια κονίκλου καὶ προβάτου, δοκιμὴ τῆς πηκτάσης ἐπὶ πλάσματος κονίκλου καὶ δοκιμασίαν λύσεως τῆς ἰνικῆς.

Αἱ τεχνικαὶ τῶν ἀνωτέρω μεθόδων εἶναι κλασσικαί. Διὰ τὸν ἔλεγχον τῆς τοξικῆς ἱκανότητος 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 σωλῆνα (σωλῆνες τῶν 22/22). Ἐπώασις 48 ὥρας εἰς 37° C. καὶ μετὰ ἀνασπορὰ ἐπὶ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος μαννίτου Chapmann.

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 ἑστίας. 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 θρεπτικὰ ὑλικὰ ἐμπλουτίζονται ἀντιστοίχως διὰ 5 % αἵματος βοός.

Ἕτερον θρεπτικὸν ὑπόστρωμα (Edwards) χρησιμοποιοῦν Ἐσκουλίνην 1/1000 καὶ κρυσταλλικὸν ἰῶδες 1/500.000.

Αἱ ἀποικίαι τοῦ στρεπτοκόκκου εἶναι μικραί, κεχωρισμέναι, δίδουν ἀρνητικὴν δοκιμὴν τῆς καταλάσης καὶ εἶναι διαφόρου αἱμολυτικῆς ἱκανότητος.

ε) **Βάκιλλος τῆς Φυματιώσεως** (Mycob. Tuberculosis).

Ἡ ἀναζήτησις τοῦ βακίλλου τοῦ Κὼχ 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 ὁποῖοι δύνανται νὰ προκαλέσουν σύγχυσιν καὶ νὰ δημιουργήσουν ἀμφιβολίας εἰς τὴν διάγνωσιν.

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

Τεχνική

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' ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος N/10, φυγοκεντρεῖται ἐκ νέου τὸ μεῖγμα καὶ σπείρεται τὸ ἴζημα ἐντὸς 5 δοκιμαστικῶν σωλήνων μὲ εἰδικὸν θρεπτικὸν ὑπόστρωμα. (Löwenstein) καὶ τίθεται εἰς ἐπώασιν εἰς 37° ἐπὶ 15-20 ἡμέρας.

Ἐνίεται ἐπίσης ὑποδορίως εἰς τὴν ἐσωτερικὴν παρειὰν τοῦ μηροῦ ἰνδοχοιριδίου, ποσότης 2 κυβ. ὑφ. ἰζήματος καὶ κορυφῆς διὰ τὴν in vivo 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 ὑλικῶν δυσκό-

λως ἢ οὐδόλως ἐπιτυγχάνεται. Ἡ σπορὰ πραγματοποιεῖται ἐκ τῆς κορυφῆς καὶ ἐκ τοῦ ἰζήματος φυγοκεντρηθέντος γάλακτος. Διὰ τὴν Brucella Abortus ἡ ἐπώασις δέον ὅπως πραγματοποιηθῇ ἀπαραιτήτως ἐντὸς ἀτμοσφαίρας CO_2. Ἡ χρῆσις τοῦ εἰδικοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος τοῦ Huddleson εἶναι ἐξαιρετικῶς λεπτὴ καθότι πολλάκις ὁ ἀναφυόμενος ἐπ' αὐτοῦ στρεπτόκοκκος μεταβάλλει τὰς ἰδιότητας 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 σποράν θρεπτικὸν ὑπόστρωμα περιέχει ἀκτιδιόνην, Milien de Kuzdas καὶ Morse (Milieu W) καὶ ἐπ' αὐτοῦ σπείρεται ἡ κορυφὴ γάλακτος τεθέντος ἀπὸ 48 ὡρῶν 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 ἰῶδες τοῦ αἰθυλίου δίδει ἔτι καλλίτερα ἀποτελέσματα εἰς τὴν ἀπομόνωσιν τῶν Brucella.

Τὸ ἰῶδες 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 πρᾶξιν ὡς ἁπλουστέρα, προτιμᾶται ἡ δοκιμὴ τοῦ δακτυλίου.

Δοκιμὴ τοῦ δακτυλίου (Ring-Test).

Ἡ μέθοδος βασίζεται εἰς τὴν ἰδιότητα τὴν ὁποίαν ἔχουν αἱ Brucellae νὰ συγκολλῶνται ἐπὶ τῶν λιποσφαιρίων τοῦ γάλακτος καὶ νὰ συναθροίζωνται ἐντὸς τῆς κορυφῆς αὐτοῦ εἰς τὴν ἐπιφάνειαν. Τὸ χρησιμοποιούμενον ἀντιγόνον διὰ τὴν ἀνωτέρω δοκιμὴν εἶναι διεθνῶς τὸ αὐτό, διαφορὰν δὲ μόνον παρουσιάζει εἰς ὅτι ἀφορᾶ τὴν χρωστικὴν οὐσίαν ἥτις ἐμπεριέχεται εἰς αὐτὸ καὶ ἥτις εἶναι ἡ αἱματοξυλίνη ἢ τὸ τετραζόλιον.

Τεχνική

Ἐντὸς σωληναρίων ὀρρολογίας τίθενται 2 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ δύο σταγόνες ἀντιγόνου, ἀνακινοῦνται ἐλαφρῶς 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	Αἱματοξυλίνη
Ἀντίδρασις 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 ἐρευνηταὶ προτείνουν μέθοδον προσομοιάζουσαν πρὸς συγκόλλησιν καὶ ἐφαρμοζομένην εἰδικῶς ἐπὶ τοῦ ἀποκορυφωμένου γάλακτος τῆς αἰγὸς (Ἀλεβιζάτος, Ἐμμανουηλίδου).

Δυνάμεθα 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 ὠῶν ὄρνιθος 10 ἡμερῶν (Metzger, Baudelle, Stokes).

Δ' ΠΡΑΚΤΙΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΙ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Διὰ τῆς ἀναζητήσεως ἐνζύμων ἅτινα καταβιβάζουν τὸ δυναμικὸν τῆς ὀξειδο-ἀναγωγῆς (r.H) τοῦ γάλακτος, εὑρίσκεται 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 ἀπεστειρωμένου ἀπεσταγμένου ὕδατος. Λαμβάνεται ὄγκος 20 κ. ὑφ. γάλακτος ἐξ ἑκάστου δείγματος ἐντὸς ἀπεστειρωμένων δοκιμαστικῶν σωλήνων μετὰ πώματος ἐξ ἐλαστικοῦ καὶ ἀναμιγνύεται μετὰ 0,5 κ. ὑφ. διαλύσεως κυανοῦ τοῦ μεθυλενίου. Ἀνακινεῖται δύο - τρεῖς φορὰς διὰ νὰ ἀναμιχθῇ καλῶς εἶτα ἐμβαπτίζεται εἰς ὑδατόλουτρον 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 ὡρῶν τὸ γάλα εἶναι ἐλαφρῶς μεμολυσμένον. Ἀποχρωματισμὸς ἄνω τῶν 3 ὡρῶν τὸ γάλα θεωρεῖται ἱκανοποιητικῆς ποιότητος. Πέραν δὲ τῶ 4-5 ὡρῶν ἀρίστης ποιότητος καὶ συντηρήσεως.

Γάλα περιέχον 1.000.000 μικρόβια κατὰ κυβ. ὑφ. ἀποχρωματίζεται εἰς χρόνον ὀλίγον ἀτέχοντα τῆς μιᾶς ὥρας. Ὁ ταχὺς ἀποχρωματισμὸς ἑνὸς γάλακτος χαρακτηρίζει γάλα ἀκατάλληλον προς βρῶσιν.

2) **Δοκιμὴ τῆς ρεσαζουρίνης (οὐρανίνης).**

Χρησιμοποιεῖται διάλυσις 0,5 ‰ μιᾶς εἰδικῆς χρωστικῆς οὐσίας φερομένης εἰς τὸ ἐμπόριον ὑπὸ μορφὴν δισκίων (Bengers Ltd Holmes Chapel. (Chesire England). Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος, 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 εὑρισκομένων εἰς τὸ γάλα λευκοκυττάρων.

3) **Δοκιμὴ τῆς αἰθυλικῆς ἀλκοόλης.**

Ἡ χρησιμοποιουμένη αἰθυλικὴ ἀλκοόλη δέον νὰ εἶναι 68°.

Ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος προστίθενται 2 κυβ. ὑφ. γάλακτος πρὸς ἐξέτασιν καὶ 2 κυβ. ὑφ. αἰθυλικῆς ἀλκοόλης 68°. Ἀνακινεῖται τὸ μεῖγμα 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

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

4) **Δοκιμὴ τοῦ βρασμοῦ.**

Λαμβάνομεν ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος 5 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ θέτομεν τοῦτο ἐντὸς ζέοντος ὑδατολούτρου ἐπὶ 5'.

Παρατηρεῖται ἡ παρουσία ἢ ἡ ἀπουσία πήξεως. Γάλατα κακῆς συντηρήσεως ἢ περιέχοντα μεγάλον ἀριθμὸν μικροβίων ἢ ἐνζύμων πήγνυνται κατὰ τὴν ἐξαγωγήν των 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.

Διάλυμα Dornic

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

Λαμβάνομεν ποσότητα 10 κυβ. ὑφ. γάλακτος καὶ προσθέτομεν ὀλίγας σταγόνας Φαινολοφθαλεΐνης 1 %. Ἐν συνεχείᾳ δι' ἠριθμημένου ὀγκομετρικοῦ σιφωνίου χέομεν ποσότητα τινὰ ἐκ τοῦ διαλύματος Dornic μέχρι ἐξουδετερώσεως τῆς ὀξύτητος, ἥτις 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 ηὐξημένον ποσοστὸν λευκοκυττάρων ἐν αὐτῷ) περιέχει καὶ ηὐξημένον ποσοστὸν καταλάσης. Εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ἡ ἁπλῆ μέθοδος τῆς ἀνιχνεύσεως τῆς καταλάσης διὰ τοῦ ὀξυγονούχου ὕδατος ἀραιωμένου ἀποτελεῖ ἀρίστην μέθοδον ταχέος ἐλέγχου τοῦ γάλακτος. Ἡ δοκιμὴ πραγματοποιεῖται διὰ τῆς μετρήσεως τοῦ ἐκλυομένου ὀξυγόνου ἐντὸς εἰδικῆς συσκευῆς. (Catalasimetre de Thieulin). Πρακτικωτέρα ὅμως μέθοδος ἀνιχνεύσεως τῆς καταλάσης δυναμένη νὰ ἐφαρμοσθῇ 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 ὀξυγονούχου ὕδατος 8-10 ὄγκων. Τὸ μεμολυσμένον γάλα παράγει φυσαλίδας ἀέρος αἱ ὁποῖαι καλύπτουν τὴν ἐπιφάνειαν ἐν εἴδει ἀφροῦ σάπωνος, ἐνῶ εἰς ὑγιὲς 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 φυματιώσεως (Mycob. Tuberculosis). Οὕτω διὰ τῆς ἀνιχνεύσεως τῆς φωσφατάσης ἐλέγχεται ἡ κανονικὴ παστερίωσις καὶ ἡ νοθεία τοῦ παστεριωμένου γάλακτος διὰ νωποῦ τοιούτου. Ἡ μέθοδος αὕτη χρησιμοποιεῖται εὐρέως εἰς τὰ ἐργοστάσια παστεριώσεως καὶ εἰς τὰ ἐργαστήρια ἐλέγχου τῶν νοθειῶν καὶ ὑγιεινῆς τοῦ γάλακτος.

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

Τεχνική

Ἀναγκαῖα ἀντιδραστήρια.

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 Ethylique à 95°	50 ml

Ἡ διάλυσις φυλάσσεται ἐντὸς φιαλιδίου σκοτεινοῦ χρώματος μεθ' ὑελίνου πώματος εἰς 4° C.

Τὸ διάλυμα τοῦτο ἀλλοιοῦται εὐκόλως καὶ διὰ τοῦτο δὲν χρησιμοποιεῖται πέραν τῆς μιᾶς ἑβδομάδος.

γ) **Τιτλοποιημένη διάλυσις φαινόλης.**

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

δ) **Χλωροφόρμιον 500** ml.

Ἀπαραίτητα ὄργανα.

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

Τεχνική

Ἐντὸς 10 κυβ. ὑφ. ρυθμιστικοῦ διαλύματος εὑρισκομένου ἐντὸς δοκιμαστικοῦ σωλῆνος προστίθεται 1 κυβ. ὑφ. γάλακτος ἐκ τοῦ δείγματος καὶ μία σταγὼν χλωροφορμίου, κατόπιν μετρίας ἀνακινήσεως τίθεται ἐντὸς ὑδατολούτρου 37° καὶ ἐπὶ χρονικὸν διάστημα 12-18 ὡρῶν.

Μετὰ τὴν ἐξαγωγὴν ἐκ τοῦ ὑδατολούτρου 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 χροιᾶς τοῦ δείγματος δεικνύει κανονικὴν παστερίωσιν τοῦ γάλακτος καὶ ὅτι δὲν ἐνοθεύθη διὰ νωποῦ τοιούτου. Ἐὰν τὸ ἐξεταζόμενον δεῖγμα παρουσιάζει κυανὴν χροιὰν ἴσης ἢ ἀνωτέρας ἐντάσεως τοῦ μάρτυρος τοῦ περιέχοντος φαινόλην ἀποδεικνύει κακὴν παστερίωσιν ἢ νοθείαν.

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

Ἡ ἀνωτέρω μέθοδος προσδιορισμοῦ τῆς φωσφατάσης εἶναι λίαν ἀκρι-

βὴς ἀλλὰ ἀπαιτεῖ ἀρκετὸν χρόνον ἐπωάσεως διὰ τοῦτο ἐφ' ὅσον εἶναι δυνατὸν δέον νὰ προτιμᾶται εἰς ἐπειγούσης φύσεως ἐξετάσεις ἡ κατὰ Sharer τροποποιηθεῖσα μέθοδος, ἥτις δὲν ἀπαιτεῖ χρόνον πλέον 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 ἡ ὁποία λόγῳ τοῦ πολυπλόκου αὐτῆς καθὼς καὶ διὰ τὰς δυσευρέτους χημικὰς οὐσίας ἅτινας χρησιμοποιεῖ δὲν δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ παρ' ἡμῖν.

Μία ἐξαιρετικὴ μέθοδος ταχείας ἀνιχνεύσεως τῆς φωσφατάσης εἶναι ἡ μέθοδος τῶν Aschaffenburg καὶ Müllen ἥτις εὑρέως χρησιμοποιεῖται εἰς Γαλλίαν καὶ μόνον εἰς περιπτώσεις ἀντιδικιῶν καὶ ἀμφιβολίας χρησιμοποιεῖται ἡ μέθοδος τῶν P. Sanders καὶ O. Sager χρησιμοποιοῦσα διὰ τὴν ἀνάγνωσιν τῶν ἀποτελεσμάτων τὸ ἠλεκτροφωτόμετρον.

8) **Δοκιμὴ τῆς Ὑπεροξυδάσης** (Peroxydase).

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

Ἀ ν τ ι δ ρ α σ τ ή ρ ι α.

α) Ὑδατικὴ διάλυσις Gaïacol 2 %.

β) Ὀξυγονοῦχον ὕδωρ 10 ὄγκων.

Τ ε χ ν ι κ ή

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

Ἀνακινοῦμεν καλῶς καὶ θέτομεν εἰς ὑδατόλουτρον 30°.

Ἀντίδρασις θετικὴ—χρῶμα ἐλαφρὸν καφέρυθρον.

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

ἰδεώδεις 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 μικρόβια ἀνεξαρτήτως εἴδους καὶ εἰς 37° διὰ τὰ ἐντεροβακτηριακὰ τοῦ τύπου «Escherichia» καὶ «Aerobacter».

Οἱ ἀνευρεθέντες ἀριθμοὶ μικροβίων κατὰ κυβικὸν ὑφεκ. δὲν δύνανται νὰ θεωρηθῶσι ὑπερβολικοί, λαμβανομένων ὑπ' ὄψει τῶν ἀνεπαρκῶν μέσων τὰ ὁποῖα διαθέτουν οἱ Ἕλληνες ἀγελαδοτρόφοι καὶ εἰς πολλὰς περιπτώσεις αἱ πρωτόγονοι συνήθειαι, αἱ ὁποῖαι 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 ἄλμεξιν εἶναι μεγάλος, εὐκόλως συμπεραίνει τις, ὅτι ἕνα νωπὸν γάλα καθίσταται ἐντόνως μολυσμένον μετὰ παρέλευσιν ὀλίγων ὡρῶν ἰδίως τὸ θέρος καὶ πρὸ παντός, ὅταν δὲν ὑπάρχουν τ' ἀνάλογα μέσα συντηρήσεως. Διὰ τοῦτο τασσόμεθα ὑπὲρ μιᾶς καθολικῆς καὶ ὑποχρεωτικῆς παστεριώσεως τοὐλάχιστον ἐν τῷ Νομῷ Ἀττικῆς, ἐλπίζομεν δὲ ὅτι οὕτω σκεπτόμενοι εἴμεθα βέβαιοι ὅτι θ' ἀποκτήσωμεν γάλα ὑγιεινὸν ἄνευ προσφυγῆς εἰς μέτρα δυσεφάρμοστα καὶ καταθλιπτικὰ διὰ τοὺς παραγωγούς.

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

---

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

ΠΙΝΑΞ

Μικροβιολογικοῦ ἐλέγχου δειγμάτων γάλακτος

α/α	Εἶδος δείγματος γάλακτος	Ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων κατὰ κ. ὑφ.	Ἀριθμὸς ὁλικῆς μικροβιακῆς χλωρίδος κατὰ κ. ὑφ.	Παρατηρήσεις
1	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Α)	4	108.000	Ἅπαντα ἠγοράσθησαν ἐκ συνοικιακῶν πρατηρίων διαφόρων ἐργοστασίων.
2	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Β)	18	450.000	
3	Παστεριωμένον γάλα πρατηρίου (Γ)	1200	1.420.000	Τὸ ὑπ'ἀριθ. 3 = κακὴ διατήρησις ἢ νοθεία διὰ νωποῦ ;
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 ἅλμεξιν, ἐξητάσθη 1 ὥραν μετὰ τὴν ἀγορὰν
12	Μεῖγμα γάλακτος μεγάλου πρωτύπου βουστασίου.	18.000	1.760.000	Ἀθῆναι
13	Μεῖγμα γάλακτος βουστασίου.	4.500	123.000	Ἀσπρόπυργος, πρωΐα, 1 ὥραν μετὰ τὴν ἅλμεξιν.

α/α	Εἶδος δείγματος γάλακτος	Ἀριθμὸς κολοβακτηριδίων κατὰ κ. ὑφ.	Ἀριθμὸς ὁλικῆς μικροβιακῆς χλωρίδος κατὰ κ. ὑφ.	Παρατηρήσεις
14	Μεῖγμα γάλακτος βουστασίου	1.400	258.000	Ἀσπρόπυργος, πρωία, 1 ὥραν μετὰ τὴν ἄλμεξιν.
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	Ἀσπρόπυργος, ἀπόγευμα 1 - 2 ὥρας μετὰ τὴν ἄλμεξιν. Ἐτέθησαν εἰς ψυγεῖον +4°.
20	»	24.000	3.100.000	Ἐξέτασις τὴν ἑπομένην.
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	»

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

J. Dumas : Bacteriologie Médicale, Paris.

Α. Βέλτσος : Ἁπλαὶ μέθοδοι δι' ἕναν σύντομον ποιοτικὸν ἔλεγχον τοῦ γάλακτος. Κτην. Ἐπιθ. Γ.Ε.Σ. II 1956.

Bulletin de l'Office Intern. des Epizooties : T. XLII, Mai 1954, Σελὶς 525 - 607.

A. Calmette, A. Boquet, L. Negre, J. Bretey : Manuel technique de Microbiologie et de Serologie, 1948.

C. N. R. S. : Le Lait Sterilisé, Paris 1955.

Α. 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 derivés. 1948.

I. Morelis, H. Colobert : Annales de l'I. Pasteur. 1958, 95, 568

Κ. Μουτούσης, Ι. Παπαβασιλείου : Δελτίον Ἑλληνικῆς Μικροβιολογικῆς Ἑταιρείας Τ. 2, 1957, Σελὶς 87.

A. Nevot : Contrôle bacteriologique pratique des denrées alimentaires d'origine animale, 1947.

A. Papadopoulos : 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. Nevot, P. Lafont, J. Lafont : La Destruction des Bacterics 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 pâges une notion aussi complête qu'il est possible du travail que peut aborder un laboratoire de controle du lait. En terminant leur étude les auteurs ajoutent quelques observations personelles 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 καλλιεργειῶν 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 artificial 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 Ἰνστιτοῦτον Παστὲρ 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 συαέκριναν, μεταξὺ τοῦ Σουηδικοῦ καὶ Τυνησιακοῦ προκάτου, τὸν βαθμὸν τῆς διὰ Br. Melitensis πειραματικῆς λοιμώξεως καὶ τὴν ἐξέλιξιν ταύτης διὰ τῆς συγκριτικῆς μελέτης τῶν καλλιεργειῶν, 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 ἱστοὺς τούτων, ὡς καὶ ἡ ἐπ' αὐτῶν ἐπίδρασις τῆς χρησιμοποιηθείσης διὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸν δόσεως καὶ τοῦ χρόνου τοῦ διαρρεύσαντος ἀπὸ τοῦ ἐνοφαλμισμοῦ μέχρι τῆς θανατώσεως.

Ἑδομήκοντα τέσσαρα πρόβατα, ἐξ' ὧν 41 προελεύσεως Σουηδίας, ἔνθα δὲν ὑφίσταται Μελιταῖος Πυρετὸς καὶ 33 Προελεύσεως Τυνησίας, ἔνθα ἡ νόσος ἐνδημεῖ, ἀφοῦ ἠλέγχθησαν αὐστηρῶς διὰ σειρᾶς ὀρρολογικῶν ἐξετάσεων καὶ αἱματοκαλλιεργειῶν καὶ εὑρέθησαν ἀπηλλαγμένα Μελιταίου Πυρετοῦ, ἐνωφθαλμίσθησαν διὰ δόσεων, ἀπὸ 2×10^5 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 αἱματοκαλλιεργειῶν, κατὰ τὴν μέθοδον τοῦ Castaneda πρὸς ἀνίχνευσιν τῶν προσβληθέντων.

Ἡ διενέργεια τῶν νεκροψιῶν ἤρξατο μετὰ ἕνα μῆνα ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ καὶ διεξήχθη τμηματικῶς ἐπὶ 20 ἡμέρας. Ἐξ ἑκάστου νεκροτομηθέντος προβάτου ἐλήφθησαν 26 δείγματα ὀργάνων καὶ ἱστῶν, καλλιεργηθέντα δι' ἁπλῆς 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 ὀρρῶν Ἀντι-Abortus καὶ Ἀντι-Melitensis.

Τὰ ἀποτελέσματα τῶν 354 αἱματοκαλλιεργειῶν καὶ τῶν καλλιεργειῶν τῶν 1794 δειγμάτων ὀργάνων καὶ ἱστῶν ἀπέδειξαν, ὅτι εἰς 50 ἤτοι 27 Σουηδικὰ καὶ 23 Τυνησιακά, ἐκ τῶν ἐνοφθαλμισθέντων 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 πολλαπλασιασμὸν τῆς Br. Melitensis, εἰς τὰ ὄργανα καὶ τοὺς ἱστοὺς τῶν 50 τούτων προβάτων, πρὸς τὸν σκοπὸν τῆς συγκρίσεως, μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν, τοῦ πειραματικῶς ἀναπαραχθέντος Μελιταίου Πυρετοῦ.

Ὅσον ἀφορᾷ τὴν κατανομὴν τῆς Br. Melitensis διεπιστώθη, ὅτι αὕτη ἀπαντᾶται 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. Ἤτοι ἡ διασπορὰ τοῦ μικροβίου ἐν τῷ ὀργανισμῷ εἶναι περισσότερον ἐκτεταμένη εἰς τὸ Σουηδικὸν πρόβατον. Ὅσον δὲ ἀφορᾷ τὸν βαθμὸν τῆς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων καὶ ἱστῶν, 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 διηρευθήθη καὶ συνεκρίθη μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν, ἡ κατὰ χώρας τοῦ σώματος κατανομὴ καὶ ἡ συχνότης παρουσίας τῆς Br. Malitensis, ὡς καὶ ἡ ἐπίδρασις τῆς χρησιμοποιηθείσης διὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸν δόσεως ἐπὶ τοῦ βαθμοῦ τῆς ἀναπαραχθείσης λοιμώξεως.

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

κριναν μεταξὺ τῶν δύο φυλῶν. Πρὸς τοῦτο διηρευνήθη ἡ ἐπίδρασις τοῦ χρόνου ἐπὶ τῆς, ἐν τῷ ὀργανισμῷ τῶν προβάτων τῶν δύο φυλῶν, ἐκτάσεως τῆς λοιμώξεως, ὡς καὶ ἐπὶ τοῦ βαθμοῦ τῆς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων καὶ ἱστῶν, 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 ἐρεύνης ἀναλύονται λεπτομερῶς εἰς τοὺς ἐν τῷ κειμένῳ παρατιθεμένους 11 πίνακας καὶ 1 σχῆμα, τὰ δὲ ἐκ ταύτης συμπεράσματα συνοψίζονται ὡς ἀκολούθως :

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, διαβλεννογονίως, παρουσιάζει εἰς τὸ Σουηδικὸν καὶ Τυνησιακὸν πρόβατον τοὺς ἑξῆς κοινοὺς χαρακτῆρας : Ἡ Br. Melitensis διασπείρεται ἐν τῷ ὀργανισμῷ εὐρέως καὶ μὲ ταχὺν ρυθμόν, χωρὶς ἐν τούτοις νὰ εἶναι πάντοτε ἐφικτὴ ἡ ἀπομόνωσις αὐτῆς ἐξ ὅλων τῶν ὀργάνων καὶ ἱστῶν. Ἡ βακιλλαιμία εἶναι ἀσταθὴς καὶ παροδικὴ διαπιστοῦται δὲ μετὰ δεκαήμερον ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ. Ἡ αἱματοκαλλιέργεια εἶναι μέθοδος ἀνεπαρκὴς διὰ τὴν ἀπομόνωσιν τῆς Βρουκέλλας καὶ ἐνδείκνυται συχνοτέρα ἐπανάληψις τῶν αἱματοληψιῶν. Τοὐναντίον ἡ καλλιέργεια τῶν ὀργάνων καὶ ἱστῶν εἶναι μέθοδος ταχεῖα καὶ ἀκριβής, ἐνδείκνυται ὅμως ὅπως, πλὴν τῆς δι' ἁπλῆς ἐπιστρώσεως καλλιεργείας συντελῆται αὕτη καὶ μετὰ λειοτρίβησιν τοῦ δείγματος. Ἐξ ἄλλου ὁ συνδυασμὸς τῆς αἱματοκαλλιεργείας καὶ τῆς καλλιεργείας τῶν ὀργάνων ἐπιτρέπει ἀσφαλέστερον τὴν ἀπομόνωσιν τοῦ μικροβίου. Κατὰ κανόνα ἡ Br. Melitensis ἀπαντᾶται 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 χρησιμοποιμένην διὰ τὸν ἐνοφθαλμισμὸν δόσιν τῶν μικροβίων, ἐλαττοῦται δὲ βαθμιαίως ἀπὸ τῆς 35ης ἡμέρας ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ.

III Ὁ βαθμὸς τῆς διὰ Br. Melitensis λοιμώξεως εἶναι κατώτερος εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον ἐν συγκρίσει προς τὸ Σουηδικόν. Ἡ ἔκτασις τῆς διασπορᾶς τοῦ μικροβίου ἐν τῷ ὀργανισμῷ εἶναι μικροτέρα καὶ ὁ βαθμὸς λοιμώξεως τῶν ὀργάνων κατώτερος εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον, δεδομένου, ὅτι εἰς τὸ πρόβατον τοῦτο τὸ μικρόβιον ἀπαντᾶται εἰς μικρότερον ἀριθμὸν ὀργάνων, αἱ καλλιέργειαι τῶν ὁποίων εἶναι σταθερῶς πτωχότεραι τῶν καλλιεργειῶν τῶν ἀντιστοίχων 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 μορφὴν εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ Σουηδικόν. Ἡ, προϊόντος τοῦ χρόνου ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμοῦ, ἐλάττωσις τῆς συχνότητος παρουσίας τοῦ μικροβίου εἰς τὰ ὄργανα καὶ ἡ ἐλάττωσις τοῦ βαθμοῦ τῆς λοιμώξεως τούτων εἶναι σημαντικώτεραι καὶ ἐμφανίζονται ἐνωρίτερον εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον, δεδομένου ὅτι ἡ βαθμιαία ἐλάττωσις τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ὀργάνων καὶ ἱστῶν θετικῆς καλλιεργείας καὶ ἡ βαθμιαία ἐλάττωσις τοῦ βαθμοῦ ἀναπτύξεως τῶν καλλιεργειῶν εἶναι σταθερῶς σημαντικώτεραι καὶ ἐμφανίζονται ἐνωρίτερον εἰς τὸ Τυνησιακὸν πρόβατον.

V. Μεταξὺ τῆς διὰ Βρουκέλλας πειραματικῆς καὶ φυσικῆς λοιμώξεως παρατηρεῖται διαφορά, ὅσον ἀφορᾶ τὴν κατανομὴν τοῦ μικροβίου εἰς τοὺς ἱστοὺς καὶ τὰ ὄργανα, εἰς πλεῖστα 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 λεμφαδένας κυρίως ἑστιῶν αὐτῶν, ὑπὸ τὴν ἐπίδρασιν τῆς κυοφορίας, κακῆς διατροφῆς κλπ.

Διὰ τῆς παρούσης ἐρεύνης τοῦ Καθηγητοῦ κ. Renoux καὶ τοῦ συνεργάτου αὐτοῦ κ. Π. Καρβουνάρη, ἥτις συνετελέσθη τῇ οἰκονομικῇ ἀρωγῇ τῶν διεθνῶν Ὀργανισμῶν F.A.O. καὶ O.M.S. καὶ τῆς Τυνησιακῆς Κυβερνήσεως, ἐπλουτίσθησαν διὰ νέων γνώσεων μεγίστης σημασίας, ἀφ' ἑνὸς ἡ παθογένεια καὶ ἡ ἐπιζωοτιολογία τῶν Βρουκελλώσεων καὶ ἀφ' ἑτέρου ὁ κλάδος ἐδωδίμων ζωϊκῆς προελεύσεως τῆς ὑγιεινῆς τῶν τροφίμων.

Π.Ν.Δ.

R. K. EVANS : **Περίπτωσις 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 μολύνσεως εὑρέθη μόνον μία ἀμυχὴ ἐπὶ τοῦ ρύγχους τοῦ ζώου, προερχομένη πιθανὸν ἐκ διενέξεώς του μὲ γαλῆν.

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

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

*) Ὁ κύων εἶναι 65 φορὰς ὀλιγώτερον εὐπαθὴς τοῦ ἵππου ἔναντι τῆς τετανοτοξίνης (Ἐλ. Παρίση : Ἑλλην. Κτηνιατρ., Β', 1959, Τεῦχ. 2., σελ. 93).

ΕΠΙΣΗΜΟΣ ΕΙΔΗΣΕΟΓΡΑΦΙΑ

Α'. ΥΠΟΥΡΓΕΙΟΝ ΓΕΩΡΓΙΑΣ

—Ὁ κτηνίατρος κ. Ἐμμ. Σκουλᾶς ἀπεσπάσθη ἐκ τοῦ Νομ/κοῦ Γραφείου Χανίων εἰς τὸ Κτηνιατρικὸν Μικροβιολογικὸν Ἰνστιτοῦτον Υ. Γ. ἐπὶ ἑξάμηνον πρὸς εἰδίκευσιν εἰς τὴν μικροβιολογίαν.

—Ὁ Νομοκτηνίατρος Ἠλείας κ. Βασ. Κοῦκος, μετετέθη εἰς τὸ Λοιμοκαθαρτήριον Ζώων Πειραιῶς.

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

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

Β'. ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ

1. Ἔφεδροι 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 Βάϊος, Μάτσιος Θεόδωρος, Παρασκευᾶς Κωνσταντῖνος, Ποΐλας 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 Ἰταλίαν οἱ συνάδελφοι κ.κ. Ἀδαμ. Φραγκόπουλος καὶ Εὐθ. Στοφόρος.

ΔΙΕΘΝΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΚΙΝΗΣΙΣ

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

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

ΣΤΗΛΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ ΤΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

—Ἅπαντα τὰ μέχρι σήμερον λαμβανόμενα ἐπ' ἀνταλλαγῇ περιοδικά.

—Ἑξήκοντα ὀκτὼ διατριβαὶ ἐπὶ διδακτορίᾳ 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 ἔγχρωμοι καὶ περιλαμβάνει τὰ κάτωθι κεφάλαια:

1) Ἐξέλιξις τεχνητῆς σπερματεγχύσεως.
2) Ἀνατομία ὀργάνων Γεννητικοῦ συστήματος ἄρρενος.
3) Φυσιολογία Γεννητικοῦ συστήματος ἄρρενος.
4) Παθολογία ἀναπαραγωγῆς ἄρρενος.
5) Γενικαὶ ἀρχαὶ τεχνητῆς σπερματεγχύσεως καὶ κατάψυξις σπέρματος.
6) Ἡ τεχνητὴ σπερματέγχυσις εἰς τὰ βοοδειδῆ.
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 Λιβαδᾶς. Γεννηθεὶς εἰς Ληξούριον Κεφαλληνίας τὸ 1896, ἐσπούδασεν τὴν Κτηνιατρικὴν εἰς τὴν Σχολὴν τοῦ Ἀλφὸρ 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 διωρίσθη τακτικὸς καθηγητὴς τῆς Φυσικομαθηματικῆς Σχολῆς καὶ τὸ 1937 τῆς Γεωπονικῆς καὶ Δασολογικῆς τοιαύτης. Κατὰ τὴν μακρὰν καὶ εὐδόκιμον σταδιοδρομίαν του ὁ Κ. Λιβαδᾶς ἠσχολήθη μὲ πλεῖστα ἐπιστημονικὰ θέματα καὶ συνέγραψεν πολυαρίθμους ἐπιστημονικὰς πραγματείας, καταλαβὼν τὰ ἀνώτατα ἀξιώματα τῆς Πανεπιστημιακῆς ἱεραρχίας, καὶ γενόμενος διαδοχικῶς Συγκλητικός, Κοσμήτωρ καὶ τέλος Πρύτανις τοῦ Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

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

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

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

ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΑΧ. ΑΫΦΑΝΤΗΣ

Ὀδυνηρότατον πλῆγμα ὑπέστη ἡ Ἑλληνικὴ Κτηνιατρικὴ Ἐπιστήμη καὶ ἡ Οἰκογένεια τοῦ Σωτηρίου Ἀχ. Ἀϋφαντῆ διὰ τοῦ σκληροῦ καὶ προώρου θανάτου του ἐπισυμβάντος μετὰ μακρὰν νόσον τὴν 11ην Ἰουνίου 1959.

Ὁ ἀγαπητὸς συνάδελφος γεννηθεὶς ἐν Καλάμαις τὸν Σεπτέμβριον 1918, μετέβη ὡς ὑπότροφος τοῦ Κράτους τὸ 1937, κατόπιν διαγωνισμοῦ, εἰς Βρυξέλλας πρὸς σπουδὴν τῆς Κτηνιατρικῆς. Περατώσας ἐπιτυχῶς τὰς σπουδάς του, ἐπανῆλθεν τὸ 1945. Διωρίσθη τὸ 1946 καὶ ἐτοποθετήθη εἰς τὸ Νομοκτηνιατρικὸν Γραφεῖον Καρδίτσης, ἔνθα ὑπηρέτησεν ἐπὶ βραχὺ χρονικὸν διάστημα, κληθεὶς κατὰ τὸ αὐτὸ ἔτος εἰς τὰς τάξεις τοῦ Στρατοῦ. Ἔλαβεν μέρος εἰς ὅλας τὰς μάχας μέχρι Γράμμου καὶ Βίτσι παρὰ τὴν κακὴν κατάστασιν τῆς ὑγείας του, μέχρι τοῦ 1950, ὁπότε 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 Ὑπουργείου Γεωργίας, ὡς ἐπιμελητής. Κατὰ τὴν βραχεῖαν, δυστυχῶς, σταδιοδρομίαν του διεκρίθη διὰ τὸ ἦθος του, τὴν ἐργατικότητα καὶ τὴν καλωσύνην του, αἱ ὁποῖαι τὸν κατέστησαν ἀγαπητὸν καὶ ἐκλεκτὸν μέλος τοῦ προσωπικοῦ τοῦ Ἱδρύματος, εἰς τὸ ὁποῖον ἠνάλωσε τὰ τελευταῖα ἔτη τῆς ζωῆς του, διότι πιστὸς ἐκτελεστὴς τῆς ἀνατεθείσης αὐτῷ ὑπηρεσίας ἂν καὶ νοσῶν καὶ συχνάκις πυρέσσων προσήρχετο εἰς τὸ Ἵδρυμα καὶ προσέφερεν προθύμως τὰς ὑπηρεσίας του.

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

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

ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ ΠΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΟΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ
ΕΛΛΑΔΟΣ
ΘΕΣΠΡΩΤΙΑΣ & ΑΓΙΑΣ ΣΟΦΙΑΣ - ΤΗΛ. 523.075
ΑΘΗΝΑΙ

Ἀθῆναι τῇ 30-6-59

Ἀριθ. Πρωτ. 2794

Πρὸς
Τὴν Ἑλληνικὴν Κτηνιατρικὴν Ἑταιρείαν
Βοτανικὸν Κῆπον

Τ 3
Ἐνταῦθα

Κύριοι,

Τὸ Διοικητικὸν Συμβούλιον τοῦ Συνδέσμου, μνῆμον τῶν πολυτίμων ὑπηρεσιῶν τὰς ὁποίας προσέφερεν ὁ ἀείμνηστος Σωτήριος Ἀϋφαντῆς εἰς τὴν πτηνοτροφίαν, εἰς ἔκτακτον συνεδρίασίν του ἀπεφάσισε:

Ι. 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 Ἑταιρίαν 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 τόσην μεγάλην ἀνάγκην τῆς συνδρομῆς τῆς ἐπιστήμης,

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

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

Μετὰ τιμῆς

Ὁ Πρόεδρος
Κ. ΠΙΤΣΙΟΣ

Ὁ Γεν. Γραμματεὺς
ΙΕΡ. ΚΑΤΣΟΥΛΗΣ