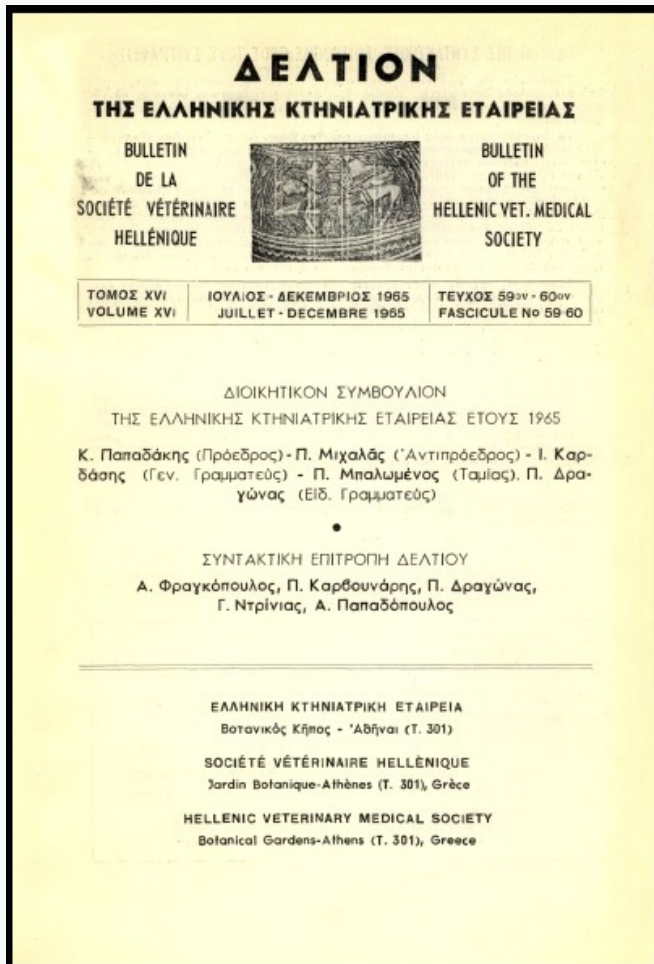


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 16, No 2 (1965)



### ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΣΠΟΡΑΣ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΕΠΙ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΑΠΗΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ ΤΟΥΤΟΥ ΕΙΣ ΙΟΝ ΑΦΘΩΔΟΥΣ ΠΥΡΕΤΟΥ

Ι. ΚΑΡΔΑΣΗΣ, Π. ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ, ΧΡ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Δ.  
ΜΠΡΟΒΑΣ

doi: [10.12681/jhvms.18748](https://doi.org/10.12681/jhvms.18748)

Copyright © 2018, Ι.ΚΑΡΔΑΣΗΣ, Π.ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ ΧΡ.ΠΑΠΠΟΥΣ  
Δ.ΜΠΡΟΒΑΣ



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

#### To cite this article:

ΚΑΡΔΑΣΗΣ Ι., ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ Π., ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., & ΜΠΡΟΒΑΣ Δ. (1965). ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΣΠΟΡΑΣ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΕΠΙ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΑΠΗΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ ΤΟΥΤΟΥ ΕΙΣ ΙΟΝ ΑΦΘΩΔΟΥΣ ΠΥΡΕΤΟΥ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 16(2), 144-151. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18748>

# ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΣΠΟΡΑΣ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΕΠΙ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΑΠΗΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ ΤΟΥΤΟΥ ΕΙΣ ΙΟΝ ΑΦΘΩΔΟΥΣ ΠΥΡΕΤΟΥ

Υ π ό

Ι. ΚΑΡΔΑΣΗ, Π. ΣΤΟΥΡΑΪΤΗ, ΧΡ. ΠΑΠΠΟΥ, και Δ. ΜΠΡΟΒΑ

Ἡ ἐφαρμοζομένη ἐν τῷ Ἰνστιτούτῳ τεχνικὴ παρασκευῆς ἱστοκαλλιεργημάτων, πρὸς ἀνάπτυξιν τοῦ ἰοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ (Α.Π.), ἔχει περιγραφῆ εἰς προηγουμένης ἡμῶν ἀνακοινώσεις<sup>(1 2 3)</sup>. Ἐκτοτε ὅπως ἐπηνέχθησαν ἀρκετὰ τροποποιήσεις, ἀφορῶσαι τὰ διάφορα στάδια τῆς καλλιέργειας τῶν κυττάρων καὶ τῆς ἐν συνεχείᾳ παραγωγῆς καὶ ἐπεξεργασίας τοῦ ἰοῦ, πρὸς τὸν σκοπὸν βελτιώσεως τῆς ποιότητος τοῦ παραγομένου ἰοῦ καὶ αὐξήσεως τῆς ποσότητος αὐτοῦ εἰς βιομηχανικὴν κλίμακα.

Εἰς τὰ πλαίσια τῶν ἐπενεχθεισῶν τροποποιήσεων περιλαμβάνεται καὶ ἡ παροῦσα ἐργασία, δι' ἧς διηρηνήθη τὸ πλέον πρόσφορον ποσοστὸν νεφρικῶν κυττάρων σπορᾶς διὰ τὴν καλυτέραν ἀνάπτυξιν τοῦ ταπητίου καὶ τὴν ἀπόδοσιν τούτου εἰς ἰόν.

Οἱ τὸ πρῶτον ἀσχοληθέντες μὲ τὸ θέμα τοῦτο ἐρευνηταὶ (Dulbecco καὶ Vogt<sup>4</sup>, Youngner<sup>5</sup>, Rappaport<sup>6</sup>, Sellers<sup>7</sup>, Bachrach<sup>8</sup>, Baldelli καὶ Torlone<sup>9</sup>,<sup>10</sup> Mazzaracchio καὶ συνεργ.<sup>11</sup>, Ubertini καὶ συνεργ.<sup>12</sup>, κ.λ.π.) ἐχρησιμοποιοῦν διάφορον καὶ συνήθως μέγαν ἀριθμὸν νεφρικῶν κυττάρων χοιριδίου, μόσχου, ἢ πιθήκου, κυμαινόμενον ἀπὸ 300.000 - 700.000 κατὰ ml ὑποστρώματος ἀναπτύξεως.

Προκειμένου ὅμως περὶ παραγωγῆς ἰοῦ εἰς βιομηχανικὴν κλίμακα, ὁ προσδιορισμὸς τοῦ ἐλαχίστου ποσοστοῦ κυττάρων σπορᾶς διὰ τὴν ἀνάπτυξιν, ἐντὸς τοῦ βραχυτέρου δυνατοῦ χρόνου, πλήρους ταπητίου, ἐνέχει ὅλως ἰδιαιτέραν σημασίαν τόσον ἀπὸ ἀπόψεως οἰκονομίας κυττάρων σπορᾶς ὅσον καὶ ἀπὸ ἀπόψεως ἀποδόσεως τοῦ ταπητίου εἰς ἰόν, δεδομένου ὅτι ἡ ποιότης τοῦ παραγομένου ἰοῦ ἐξαρτᾶται μεγάλως ἐκ τοῦ ἀριθμοῦ καὶ τῆς ποιότητος τῶν ἀναπτυχθέντων κυττάρων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ἡ παροῦσα ἐρευνητικὴ ἐργασία περιλαμβάνει δύο μέρη:

α) τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ποσοστοῦ τῶν κυττάρων σπορᾶς ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων καὶ β) τὴν ἀπόδοσιν τῶν ἐν λόγῳ ἱστοκαλλιεργημάτων εἰς ἰόν Α.Π. Ὡς ἐκ τούτου ἐγένοντο δύο σειραὶ πειραματισμῶν, ἐκάστη τῶν ὁποίων ἀνεφέρετο εἰς ἓν τῶν προαναφερθέντων ἀντικειμένων ἐρεῦνης.

1) ΚΥΤΤΑΡΑ: Τὰ χρησιμοποιούμενα κύτταρα προέρχονται ἐκ θρυψίνσεως, ἐν θερμῷ, νεφρῶν μύσχου, λαμβανομένων ἐκ προσφάτως σφαγέντων ζώων, ἡλικίας μέχρις 6 μηνῶν. Μετὰ τὴν θρυψίνισιν, τὰ κύτταρα φυγοκεντροῦνται ἐπὶ 15' εἰς 20.000Xg, ἐν συνεχείᾳ δὲ προστίθενται ἐντὸς τοῦ ὑποστρώματος ἀναπτύξεως (Hanks + 10% ὄρος μύσχου + 0,5% Ὑδρόλυμα Λακταλβουμίνης + 0,05% ἐκχύλισμα ζυθοζύμης + Ἀντιβιοτικά, PH = 7,4 - 7,5), ὅπου διανέμεται εἰς φιάλας Roux, εἰς ποσότητα 100 ml κυτταρικοῦ ἐναιωρήματος ἀνά φιάλην (Ubertini καὶ συνεργ.)<sup>13</sup>.

Κατὰ τὰς ἡμετέρας δοκιμὰς, ἐχρησιμοποιήθησαν τὰ κάτωθι ποσοστὰ νεφρικών κυττάρων, κατὰ 100 ml θρεπτικοῦ ὑποστρώματος: 0,20%, 0,30%, 0,40%, 0,50% καὶ 0,60%, ἀντιστοιχοῦντα, κατὰ μέσον ὄρον, εἰς 15, 18, 25, 36 καὶ 42 ἑκατομμύρια κύτταρα, κατὰ φιάλην Roux. Δι' ἐκάστην ἀναλογίαν κυττάρων ἐχρησιμοποιοῦντο 5 φιάλαι Roux, αἵτινες ἐποθετοῦντο εἰς τὸν ἐπωαστικὸν κλίβανον, εἰς 37° K., ἐν στατικῇ καλλιέργειᾳ. Οὕτω δι' ἕκαστον πειραματισμὸν ἐχρησιμοποιοῦντο 25 φιάλαι Roux, ἐλήφθη δὲ μέριμνα ὥστε αἱ συνθήκαι ἐργασίας νὰ εἶναι ὁμοίμορφοι.

Εὐθὺς πρὸ τῆς σπορᾶς, καθὼς καὶ τὴν 3ην, 4ην, 5ην, 6ην, καὶ 7ην ἡμέραν τῆς κυτταροκαλλιέργειας, ἐγένοντο καταμετρήσεις τῶν κυττάρων δι' ἐκάστην ἀναλογίαν κυττάρων καὶ ἔλεγχος τοῦ PH.

Διὰ τὴν καταμέτρησιν τῶν κυττάρων ἐφηρμόσθη ἡ μέθοδος τοῦ Sanford καὶ συνεργ.,<sup>14</sup> τροποποιηθεῖσα ὑπὸ τοῦ Youngner<sup>15</sup>, δι' ἧς προσδιορίζεται ὁ ἀριθμὸς τῶν πυρήνων τῶν ζώντων κυττάρων, κατόπιν καταστροφῆς τοῦ κυτταροπλάσματος διὰ κιτρικοῦ ὀξέος καὶ χρώσεως τοῦ πυρήνος διὰ διαλύματος κρυσταλλικοῦ ἰώδους.

2) Ι Ο Σ. Διὰ τὴν μελέτην τῆς ἀποδόσεως τῶν ἱστοκαλλιερρημάτων εἰς Ἴον ἐγένοντο ἐξ ὑπαρχῆς νέαι καλλιέργειαι, ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας καὶ μὲ τὰ αὐτὰ ποσοστὰ κυττάρων, ὡς αἱ προηγούμεναι, πλην τοῦ ποσοστοῦ 0,20%, κριθέντος ἀνεπαρκοῦς διὰ τὴν καλὴν ἀνάπτυξιν κυτταρικοῦ ταπητίου. Δι' ἐκάστην κατηγορίαν ποσοστοῦ κυττάρων σπορᾶς ἐχρησιμοποιήθησαν ὡσαύτως 5 φιάλαι Roux, ἐξ ὧν αἱ 2 διὰ τὴν καταμέτρησιν τῶν ἀναπτυχθέντων κυττάρων, αἱ δὲ ὑπόλοιποι 3 διὰ τὴν καλλιέργειαν τοῦ ἰοῦ. Ἡ ὡς ἄνω καταμέτρησις τῶν κυττάρων ἐγένετο διὰ τῆς προαναφερθείσης μεθόδου τοῦ Youngner<sup>15</sup>, τὴν 1ην ἡμέραν τῆς καλλιέργειας καὶ πρὸ τῆς μόλυνσεως (7η ἡμέρα).

Διὰ τὴν μόλυνσιν τῶν ἱστοκαλλιερρημάτων ἐχρησιμοποιήθη ἰὸς Α. Π., τύπων Α καὶ Ο, πλήρως προσηρμοσμένος ἐπὶ κυτταροκαλλιερρημάτων νεφρῶν μύσχου, 2ας μέχρι 10ης διόδου, τίτλου 10<sup>6</sup>,<sup>15</sup> ἕως 10<sup>7</sup>,<sup>25</sup> DITC 50 (Reed and Muench<sup>16</sup>).

Ἀμφότεροι οἱ τύποι τοῦ ἰοῦ ἀνήκουν εἰς στελέχη Ὀλλανδικῆς προσελεύσεως καὶ χρησιμοποιοῦνται εἰς τὸ Ἰνστιτούτον πρὸς παρασκευὴν τῶν ἐμβολίων.

Ἡ μόλυνσις τῶν ἱστοκαλλιερρημάτων ἐγένετο τὴν 7ην ἡμέραν, ἡ δὲ ποσότης τοῦ ἐνοφθαλμιζομένου εἰς ἐκάστην φιάλην Roux ἰοῦ ἐρρυθμίσθη, ὥστε εἰς ἕκαστον κύτταρον νὰ ἀναλογοῦν 0,20 λοιμογόνοι μονάδες DITC 50% ἰοῦ προσφάτου τιτλοποιήσεως.

Πρὸ τῆς μόλυνσεως ἐγένετο ἀφαίρεσις τοῦ ὑλικοῦ ἀναπτύξεως καὶ ἐκ-

πλυσίς τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου διὰ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος συντηρήσεως (Hanks ἄνευ ὁροῦ), τὸ αὐτὸ δὲ ὑπόστρωμα προσετίθετο εἰς ποσότητα 80 ml κατὰ Roux.

Λί φιάλαι ἐπανετοποθετοῦντο εἰς ἐπωαστικὸν κλίβανον (37 K) καὶ μετὰ 20 ὥρας ἐγένετο ἡ συλλογὴ τοῦ ἰοῦ. Ὁ ἰὸς ἐκάστης κατηγορίας φιαλῶν ἀνεμυγνύετο καὶ ὑφίστατο τοὺς ἐξῆς ἐλέγχους:

α) Ἐκτροπὴν τοῦ συμπληρώματος 50 % κατὰ τὴν μέθοδον Brooksby<sup>17</sup> καὶ β) Τιτλοποίησιν ἐπὶ κυτταροκαλλιεργημάτων νεφρῶν μύσχου εἰς δοκιμαστικούς σωλῆνας.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α) Ἐπίδρασις τοῦ ποσοστοῦ κυττάρων σπορᾶς ἐπὶ τῆς ἀνάπτυξεως τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων.

Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ διαγράμματος Α, τὸ ποσοστὸν τῶν ζώντων κυττάρων, ἅτινα ἐπικαλῶνται ἐπὶ τῆς ἐπιφανείας τῆς φιάλης, ἀνέρχεται κατὰ τὴν 3ην ἡμέραν, εἰς 25 % τῶν κυττάρων σπορᾶς, διὰ τὰς ἀραιώσεις 0,2, 0,3 καὶ 0,4 %, διὰ δὲ τὰς πυκνοτέρας τοιαύτας 0,5 καὶ 0,6 % τὸ ποσοστὸν τοῦτο μειοῦται ἀντιστοίχως εἰς 21,3 καὶ 19,8 %.

Ἐκ παραλλήλου ἐγένοντο καταμετρήσεις τῶν κυττάρων τῶν περιεχομένων εἰς τὸ ἀφαιρηθὲν θρεπτικὸν ὑπόστρωμα, ἀνευρέθη δὲ ὅτι κατὰ τὴν 3ην καὶ 4ην ἡμέραν ὑπάρχει εἰσέτι σημαντικὸν ποσοστὸν ζώντων κυττάρων, μέρος τῶν ὁποίων πιθανὸν νὰ πολλαπλασιασθῇ κατὰ τὸ μετέπειτα χρονικὸν διάστημα. Τὸ ποσοστὸν τοῦτο ποικίλλει, εἰς τὰς διαφόρους ἀραιώσεις κυττάρων ἀπὸ 50 - 70 % διὰ τὴν 3ην ἡμέραν καὶ ἀπὸ 23-52 % τὴν 4ην ἡμέραν.

Ἀπὸ τῆς 3ης καὶ ἐντεῦθεν ἡμέρας σημειοῦται σταθερὰ καὶ προοδευτικὴ αὔξησις τοῦ ἀριθμοῦ τῶν καλλιεργηθέντων κυττάρων, ὥστε τὴν 6ην ἡμέραν ὁ ἀριθμὸς τῶν ἐν λόγῳ κυττάρων ἐγγίζει τὸν τοιοῦτον τῆς σπορᾶς. Τὴν 7ην τέλος ἡμέραν ὁ ἀριθμὸς τῶν καλλιεργηθέντων κυττάρων ὑπερβαίνει, δι' ὅλας τὰς ἀραιώσεις, τὸν τοιοῦτον τῆς σπορᾶς ἀπὸ 17 ἕως 50,7 %.

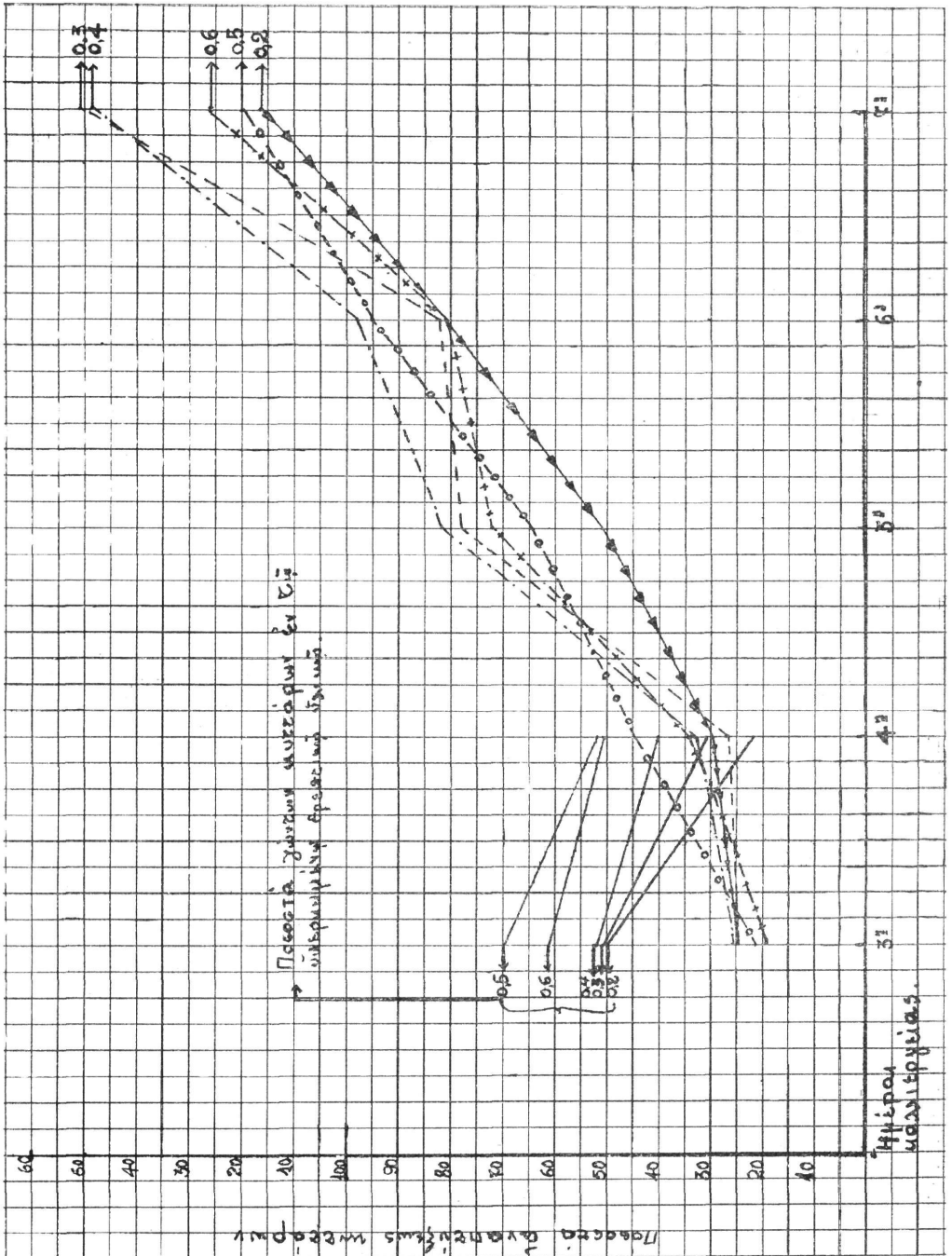
Ἡ μεγαλύτερα αὔξησις, 50,7 καὶ 48,5 %, παρατηρεῖται μὲ ποσοστὰ κυττάρων σπορᾶς ἀντιστοίχως 0,3 καὶ 0,4 %, ἀντιστοιχοῦντα πρὸς ἀριθμὸν κυττάρων σπορᾶς ἀπὸ 18.000.000 - 25.000.000 περίπου, δι' ἐκάστην φιάλην Roux ἐν στατικῇ καλλιέργειᾳ, περιέχουσαν 100 ml θρεπτικοῦ ὑποστρώματος, ἡ δὲ μικροτέρα τοιαύτη εἰς τὴν ἀραίωσιν 0,2 % (17 %).

Ἀξίζει νὰ σημειωθῇ ὅτι μὲ ποσοστὰ σπορᾶς, 0,5 καὶ 0,6 %, ἡ σημειομένη αὔξησις, τὴν 7ην ἡμέραν τῆς καλλιέργειας, ἐγγίζει τὴν τοιαύτην τοῦ ποσοστοῦ τῆς ἀραιώσεως 0,2 %.

Συνεπῶς αἱ ἀραιώσεις κυττάρων σπορᾶς 0,3 καὶ 0,4 %, ἀποδεικνύονται αἱ πλέον κατάλληλαι διὰ τὴν ἀνάπτυξιν ἑνὸς πλήρους κυτταρικοῦ ταπητίου κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας.

Τὸ PH τοῦ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων διατηρεῖται εἰς τὸ αὐτὸ περίπου ἐπίπεδον (7,4) μέχρι καὶ τῆς 4ης ἡμέρας, μεθ' ὅ, συνεπείᾳ τοῦ ἐντόνου μεταβολισμοῦ τῶν πολλαπλασιαζομένων κυττάρων, τοῦτο κατέρχεται προοδευτικῶς, ὥστε τὴν 7ην ἡμέραν, καθ' ἣν ἡ ἀνάπτυξις

Σχέσις μεταξύ ποσοστών κυττάρων σποράς και αναπτύξεως τούτων εἰς στατική καλλιέργειαν.



Σημ.: Τὰ ποσοστὰ ἀναπτύξεως τῶν κυττάρων ἀναφέρονται ἐπὶ τοῖς 100, τοῦ ἀριθμοῦ 100 ἐκφράζοντος τὸ σύνολον τῶν κυττάρων σποράς εἰς ἐκάστην ἀραίωσιν.

τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου εἶναι πλήρης, ἡ τιμὴ τοῦ ΡΗ κυμαίνεται μεταξύ 7 καὶ 8.

Β) Ἀπόδοσις ἱστοκαλλιεργημάτων εἰς ἰόν.

Ἡ ἀπόδοσις τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων εἰς ἰόν ἐκτίθενται εἰς τὸν πίνακα 1

### Π Ι Ν Α Κ Ε Νο 1

Πολλαπλασιασμός τοῦ ἰοῦ εἰς διάφορα ποσοστὰ κυττάρων σποράς.

Ποσοστὸν κυττάρων σποράς o/o	Ἄρ. κυττάρων 7ην ἡμέρ. ἀπὸ τῆς σποράς	Α.Μ. (U.I.) ἐνοφθαλ. ιοῦ κατὰ κύτταρον	Πολ.σμός τοῦ ἰοῦ	Ἐκτροπή συμπλ)τος 50 o/o c.c. ἀλεξίνης 4 o/o
0,3	23.200.000	0,20	81 X	0,463
0,4	32.100.000	0,20	78 X	0,310
0,5	32.100.000	0,20	81 X	0,330
0,6	34.500.000	0,20	93 X	0,558

Ἐκ τῆς μελέτης τοῦ πίνακος τούτου προκύπτει ὅτι ὁ ἐνοφθαλμισθεὶς ἰός, κατὰ τὴν ὥραν τῆς συλλογῆς του, ἦτοι 20 ὥρας μετὰ τὴν μόλυνσιν τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων, ἔχει πολλαπλασιασθῆ 78 ἕως 93 φορές, κατὰ μέσον ὄρον, εἰς τὰς χρησιμοποιηθείσας ἀραιώσεις κυττάρων σποράς. Συνεπῶς, διὰ τὰς χρησιμοποιηθείσας τέσσαρας ἀραιώσεις κυττάρων σποράς, ἦτοι 0,3, 0,4, 0,5 καὶ 0,6 o/o, ἡ διαφορὰ πολλαπλασιασμοῦ τοῦ ἰοῦ δὲν εἶναι οὐσιώδης.

Τοῦτ' αὐτὸ ἰσχύει καὶ διὰ τὴν ἰκανότητα ἐκτροπῆς τοῦ συμπληρώματος τοῦ παραγομένου, διὰ τῶν ὡς ἄνω ἀραιώσεων κυττάρων σποράς, ἰοῦ.

Ὡς ἐκ τούτου καὶ δεδομένου ὅτι ἡ καλλιτέρα ἀνάπτυξις τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων, ὑπὸ τὰς συνθήκας πειραματισμοῦ καὶ ἐργασίας ἐν τῷ Ἰνστιτούτῳ, ἐπιτυγχάνεται διὰ ποσοστοῦ κυττάρων σποράς 0,3 καὶ 0,4 o/o, τὸ ποσοστὸν τοῦτο κρίνεται ὡς τὸ πλέον πρόσφορον, τόσον διὰ τὴν παρασκευὴν τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων, ὅσον καὶ διὰ τὴν παραγωγὴν τοῦ ἰοῦ τοῦ Α.Π. Τὰ πορίσματα τῶν ἐρευνῶν τῶν Youngner<sup>15</sup> καὶ Ubertini καὶ συνεργ.<sup>18</sup>, καθ' ἃ ὑπάρχει ἄμεσος σχέσις μεταξύ ἀριθμοῦ κυττάρων καὶ ἀποδόσεως τούτων εἰς ποσότητα ἰοῦ, δὲ δύνανται νὰ συσχετισθῶσιν πρὸς τὰ ἡμέτερα εὐρήματα, καθ' ὅσον ταῦτα ἐξήχθησαν διὰ τῆς χρησιμοποιήσεως κυτταροκαλλιεργημάτων παρουνιαζόντων μεταξὺ τῶν σημαντικῆς διαφορᾶς ἀριθμοῦ κυττάρων.

R É S U M É

## INFLUENCE DU TAUX D'ENSEMENCEMENT DES CELLULES RENALES DE VEAU SUR LA CROISSANCE DU TAPIS CELLULAIRE EN BOUTEILLES DE ROUX ET RENDEMENT DE CE DERNIER EN VIRUS APHTEUX.

P a r

J. CARDASSIS, P. STOURAITIS, C. PAPPOUS et D. BROVAS

Dans le but de déterminer le taux optimum de cellules rénales de veau utilisées pour l'ensemencement des cultures en couche monocellulaire pour la production du virus aphteux, on a utilisé différents taux de cellules d'ensemencement, soit: 0,20 ml, 0,30 ml, 0,40 ml, 0,50 ml et 0,60 ml  $\sigma$  de culot cellulaire, en milieu Hanks enrichi de 20 $\sigma$  de sérum de veau.

Le 3<sup>me</sup> jour de culture, le taux des cellules fixées sur le verre s'élève à 25,0 $\sigma$  de cellules ensemencées pour les dilutions 0,20, 0,30 et 0,40, tandis qu'il est de 21,3,0 $\sigma$  et 19,8,0 $\sigma$  pour les dilutions 0,50 et 0,60 respectivement. 50-70,0 $\sigma$  de cellules ont été trouvées vivantes dans le liquide surnageant.

Le 7<sup>me</sup> jour, le pourcentage de cellules cultivées dépasse le nombre de cellules ensemencées de 50,7,0 $\sigma$  et 48,5,0 $\sigma$  respectivement, pour les dilutions d'ensemencement 0,30 et 0,40, alors qu'il est seulement de 17,0 $\sigma$  pour la dilution 0,20, 20,0 $\sigma$  pour la dilution 0,50 et 26,0 $\sigma$  pour la dilution 0,60. Il en résulte un taux optimum d'ensemencement des cellules rénales, situé entre 0,30 et 0,40 ml  $\sigma$  de culot cellulaire, correspondant de 18.000.000 à 25.000.000 des cellules par bouteille de Roux, contenant 100 ml. de liquide nutritif de croissance. Il a été prouvé, d'autre part, qu'il n'y a pas de différence notable dans le rendement en virus du tapis cellulaire constitué à partir des dilutions utilisées ci-dessus, ce tapis ayant été infecté avec 0,20 unités D.I.C.T. 50,0 $\sigma$  de virus. La multiplication du virus a varié de 78 à 93 fois aux différentes dilutions de cellules expérimentées.

\*Institut de la Fièvre Aphteuse

Aghia Paraskevi-Attikis  
Athènes-Grèce

S U M M A R Y

## INFLUENCE OF THE AMOUNT OF SEEDED CALF KIDNEY CELLS ON THE GROWTH OF CELL MONOLAYERS IN ROUX FLASKS AND YIELD OF THESE LAYERS IN FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS.

By

\*J. CARDASSIS, P. STOURAITIS, C. PAPPOUS and D. BROVAS

In order to determine the optimum amount of calf kidney cells used to seed cell monolayers for the production of Foot-and-Mouth Disease virus, we have used different amounts of seeded cells, that is: 0,20 ml., 0,30 ml., 0,40 ml., 0,50 ml. and 0,60 ml. of cells sediment, in Hanks medium enriched with 10.0% calf serum.

The 3rd day of culture, the amount of cells fixed on the glass goes up to 25.0% of seeded cells for the dilutions 0,20, 0,30 and 0,40, while it is 21,3.0% and 19,8.0% for the dilutions 0,50 and 0,60 respectively. 50-70.0% of cells were found living in the supernatant.

The 7th day, the percentage of cultured cells exceeds the number of seeded cells by 50,7.0% et 48,5.0% respectively for the dilutions of seeding 0,30 and 0,40, while this percentage is only 17.0% for the dilution 0,20, 20.0% for the dilution 0,50 and 26.0% for the dilution 0,60. It results an optimum amount of seeded kidney cells lying between 0,30 and 0,40 ml. of cells sediment, corresponding to 18.000.000 till 25.000.000 of cells per Roux flask, containing 100 ml. of growth medium. It has been proved, on the other hand, that there is not a significant difference in the virus yield of cell monolayers grown from the dilutions used in these experiments, these layers having been infected with 0,30 units D.I.C.T. 50.0% of virus. The multiplication of virus varied from 78 to 93 times with the different dilutions of experimented cells.

\*Foot-and-Mouth Disease Institute.

## B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- 1) ΤΖΩΡΤΖΑΚΙΣ Ν., ΜΠΟΒΑΣ Δ., ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ Ι., καὶ ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., Πρακτικὰ Ἀκαδημίας Ἀθηνῶν, Τόμ. 35, 179, 1960.
- 2) ΤΖΩΡΤΖΑΚΙΣ Ν., ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., ΣΤΟΦΟΡΟΣ Ε., ΜΠΟΒΑΣ Δ., ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ Ι., καὶ ΣΕΙΜΕΝΗΣ Α., Δελτ. Ε.Κ.Ε., Τεῦχ. 44, 87, 1961.
- 3) ΚΑΡΔΑΣΗΣ Ι., ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., ΜΠΟΒΑΣ Δ., ΚΑΡΑΒΑΛΑΚΗΣ Ι., ΣΕΙΜΕΝΗΣ Α., Δελτ. Ε.Κ.Ε., 14 75, 1964.
- 4) DULBECCO R. and VOGT M., J. Exp. Med., 99, 167, 1954.
- 5) JOUNGNER J. S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 85, 202, 1954.
- 6) RAPPAPORT C., Bull., Wld' Hlth. Or., 14, 147, 1956.
- 7) SELLERS R. F., Nature, London, 176, 547, 1955.



- 8) BACHRACH H. L., HESS W. R. and CALLIS J. J., Science, 122, 1269, 1955.
- 9) BALDELLI B. e TORLONE V., Atti Soc. Ital. Sci. Vet., 12, 1958.
- 10) BALDELLI B. e TORLONE V., Ann. Fac. Med. Chir. Perugia, 50, 93, 1959.
- 11) MAZZARACCHIO V., ORFEI Z., D'AMORE A., RAVAIOLI L. e CASTAGNOLI B., Zooprofilassi, 11, 277, 1956.
- 12) UBERTINI B., NARDELLI L., SANTERO G. e PANINA G., J. Bioch. Microb. Tech. Eng., 11, 327, 1960.
- 13) UBERTINI B., NARDELLI L., DAL'PRATO A., PANINA G. e SANTERO G., Zbl. Vet. Med., 10, 93, 1963.
- 14) SANFORD K. K., EARLE W. R., EVANS V. J., WALTZ H.K. and SHANNON J. E. J. Nat. Cancer Inst., 11, 773, 1951.
- 15) YOUNGNER J. S., J. of Immunol., 73, 392, 1954.
- 16) REED L. and MUENCH H., Am. J. Hyg., 27, 493, 1958.
- 17) BROOKSLY J. B., A.R.C. Report Ser. No. 12, 1952.

## ΣΥΜΒΟΛΗ ΕΙΣ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗΝ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΠΟΔΟΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ

Υ π ό

ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ ΓΚΩΓΚΟΥ

Κτηνιάτρου

Είσαγωγή.

Τὰ λοιμώδη νοσήματα τῶν μικρῶν μηρυκαστικῶν ἐλέγχονται προληπτικῶς μὲν διὰ τῶν βιολογικῶν προϊόντων, θεραπευτικῶς δὲ διὰ τῶν χημειοθεραπευτικῶν καὶ ἰδίως τῶν ἀντιβιοτικῶν.

Ἐπειδὴ ὅμως εἰς τὸ τομέα τῆς θεραπευτικῆς ἀγωγῆς ὑπάρχει ὁ οἰκονομικὸς φραγμὸς λόγῳ τῆς μικρᾶς ἀξίας τῶν μικρῶν μηρυκαστικῶν καὶ τῆς ὀμαδικῆς καὶ ταυτοχρόνου προσβολῆς των, δι' αὐτὸ ἡ προσπάθεια ἀντιμετωπίσεως τῶν μεταδοτικῶν νοσημάτων στρέφεται κυρίως πρὸς τὴν ὀλιγώτερον δαπανηρὰν καὶ ἀσφαλεστέραν μέθοδον τῆς προλήψεως.

Αὕτη ἔχει ἐπιτευχθῆ βεβαίως μὲ ἱκανοποιητικὰ ἀποτελέσματα προκειμένου περὶ τοῦ ἐμβολίου κατὰ τοῦ Σπληνάνθρακος, μὲ ἀμφίβολα ἀποτελέσματα ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν μονοδύναμον ἀνακαλλιέργειαν τύπου C κατὰ τῆς αὐτοτοξилоιμώξεως τῆς ἐντεροτοξιναιμίας, ἐνῶ δι' ἄρκετὰ νοσήματα διεξάγονται ἐπιτυχῶς φαίνεται ἔρουναι προληπτικοῦ ἐλέγχου (Λοιμώδης Ἀγαλαξία, Μελιταῖος Πυρετός), καὶ διὰ σημαντικὸν ἀριθμὸν ἰώσεων ἢ μικροβιακῶν λοιμωδῶν νοσημάτων δὲν θὰ καταστῆ ἴσως δυνατὴ ἡ παρασκευὴ ἀνοσοβιολογικῶν προϊόντων. Μεταξὺ τῶν τελευταίων συγκαταλέγεται καὶ ἡ διαπραγματευομένη Λοιμώδης Ποδοδερματίτις, ἡ ὁποία ἔχει λάβη τεραστίαν ἐξάπλωσιν εἰς τὴν νομαδικὴν καὶ χωρικήν ποιμενικήν αἰγοπροβατοτροφίαν καὶ ἔχει καταστῆ «Πρόβλημα Δυσεπίλυτον» διὰ τὸν ἐφαρμοστὴν Κτηνίατρον, τὸν ὁποῖον θέτει ὑπὸ δοκιμασίαν, διότι εἰς τὴν μάρσπον τῶν ἐφοδίων φέρει