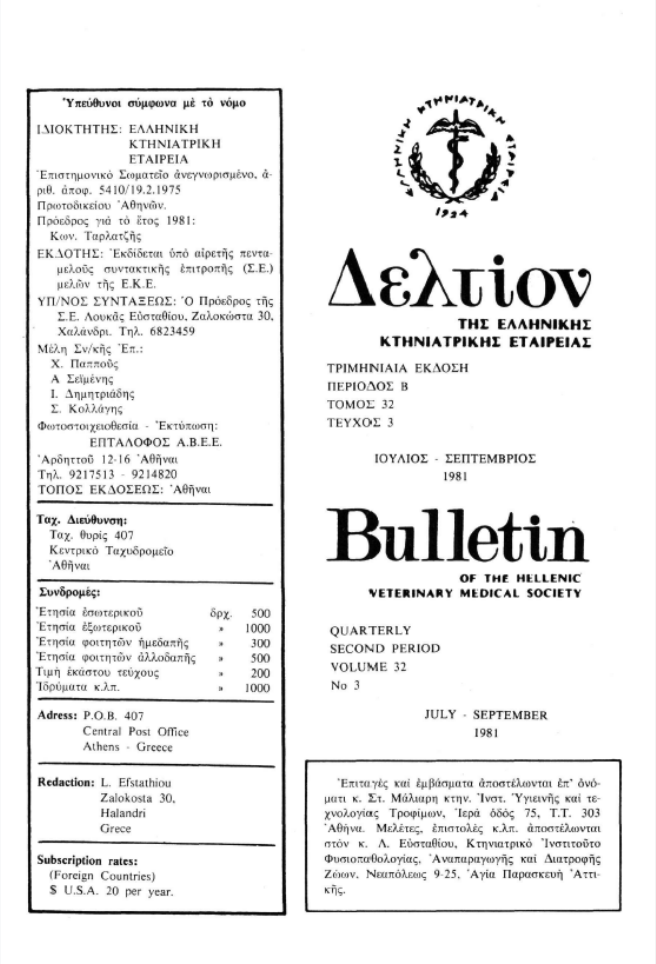
ePublishing
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 32, No 3 (1981)



Ὑπεύθυνοι σύμφωνα μὲ τὸ νόμο
ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Ἐπιστημονικὸ Σωματεῖο ἀνεγνωρισμένο, ἀριθ. ἀποφ. 5410/19.2.1975
Πρωτοδικείου Ἀθηνῶν.
Πρόεδρος γιὰ τὸ ἔτος 1981: Κων. Ταρλατζῆς
ΕΚΔΟΤΗΣ: Ἐκδίδεται ὑπὸ αἱρετῆς πενταμελοῦς συντακτικῆς ἐπιτροπῆς (Σ.Ε.) μελῶν τῆς Ε.Κ.Ε.
ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: Ὁ Πρόεδρος τῆς Σ.Ε. Λουκᾶς Εὐσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι. Τηλ. 6823459
Μέλη Συ/κῆς Ἐπ.:
Χ. Παπποῦς
Α Σεῖμένης
Ι. Δημητριάδης
Σ. Κολλάγης
Φωτοστοιχειοθεσία - Ἐκτύπωση: ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.
Ἀρδηττοῦ 12-16 Ἀθῆναι
Τηλ. 9217513 - 9214820
ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: Ἀθῆναι

Ταχ. Διεύθυνση:
Ταχ. θυρίς 407
Κεντρικὸ Ταχυδρομεῖο
Ἀθῆναι

Συνδρομές:

Ἐτησία ἐσωτερικοῦ	δρχ.	500
Ἐτησία ἐξωτερικοῦ	»	1000
Ἐτησία φοιτητῶν ἡμεδαπῆς	»	300
Ἐτησία φοιτητῶν ἀλλοδαπῆς	»	500
Τιμὴ ἑκάστου τεύχους	»	200
Ἰδρύματα κ.λπ.	»	1000

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

Redaction: L. Efstathiou
Zalokosta 30,
Halandri
Grece

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

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ 1934

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 32
ΤΕΥΧΟΣ 3

ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 1981

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 32
No 3

JULY - SEPTEMBER 1981

Ἐπιταγὲς καὶ ἐμβάσματα ἀποστέλλονται ἐπ' ὀνόματι κ. Στ. Μάλιαρη κτην. Ἰνστ. Ὑγιεινῆς καὶ τεχνολογίας Τροφίμων, Ἱερὰ ὁδὸς 75, Τ.Τ. 303 Ἀθῆνα. Μελέτες, ἐπιστολὲς κ.λπ. ἀποστέλλονται στὸν κ. Λ. Εὐσταθίου, Κτηνιατρικὸ Ἰνστιτοῦτο Φυσιοπαθολογίας, Ἀναπαραγωγῆς καὶ Διατροφῆς Ζώων. Νεαπόλεως 9-25, Ἁγία Παρασκευὴ Ἀττικῆς.

BHK cell suspension cultures and foot and mouth disease virus production for vaccines

Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Π. ΒΕΡΜΠΕΛΗΣ, Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ

doi: 10.12681/jhvms.21497

Copyright © 2019, Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ, Π. ΒΕΡΜΠΕΛΗΣ, Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ

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

To cite this article:

ΠΑΠΠΟΥΣ Χ., ΒΕΡΜΠΕΛΗΣ Π., & ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ Ι. (2019). BHK cell suspension cultures and foot and mouth disease virus production for vaccines. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *32*(3), 195–205. https://doi.org/10.12681/jhvms.21497

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 26/03/2026 03:30:56

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ, 1981, Τ. 32. τ. 3

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ BHK ΑΙΩΡΗΣΕΩΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΙΟΥ ΑΦΘΩΔΟΥΣ ΠΥΡΕΤΟΥ ΓΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΜΒΟΛΙΩΝ*

Ὑπὸ

Χ. ΠΑΠΠΟΥ*, Π. ΒΕΡΜΠΕΛΗ*, Ι. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗ*

BHK CELL SUSPENSION CULTURES AND FOOT AND MOUTH DISEASE VIRUS PRODUCTION FOR VACCINES

By

CH. PAPPOUS, P. VERBELIS, I. DIMITRIADIS

SUMMARY

Using the BHK cell suspension culture method in fermentor of 100 lt. capacity 1,5 – 3 × 10^6 cells/ml are obtained in 48 – 72 hours.

The cells maintain their susceptibility to the vaccine strains of F.M.D. virus and the parameters of the virus produced on such cells are satisfactory.

Vaccines prepared with this virus induced good immunity for bovines and sheep.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ἡ χρησιμοποίηση καλλιεργειῶν κυττάρων BHK – 21, C_{13} γιὰ παραγωγὴ ἰοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ (Α.Π.) ἀποτελεῖ σταθμὸ στὴν παραγωγὴ ἀντιαφθωδικῶν ἐμβολίων.

Οἱ Mac Pherson καὶ Stoker[1] περιγράφουν τὸ 1962 τὴν προέλευση τῆς κυτταρικῆς γραμμῆς BHK – 21 (Baby Hamster Kidney). Τὸν ἴδιο χρόνο οἱ Mowatt καὶ Chapmann[2] ἀποδεικνύουν τὴν εὐαισθησία τοῦ κλώνου C_{13} (Clone) τῆς κυτταρικῆς αὐτῆς γραμμῆς στὸν ἰὸ Α.Π. Στὴν συνέχεια, ἡ κυτταρικὴ γραμμὴ BHK – 21, C_{13} χρησιμοποιεῖται εὐρύτατα γιὰ τὴν καλλιέργεια τοῦ ἰοῦ Α.Π. σὲ μεγάλη κλίμακα, εἴτε σὲ μορφὴ μονόστοιβων (Monolayer) κυτταροκαλλιεργειῶν σὲ περιστρεφόμενες φιάλες (Polatnik καὶ Bachrach[3] 1964, Ubertini καὶ συν[4] 1967), εἴτε σὲ μορφὴ καλλιεργειῶν αἰωρήσεως (Capstick καὶ συν.[5] 1962 Telling καὶ Ellsworth[6] 1965) μὲ σκοπὸ τὴν παραγωγὴ ἀντιαφθωδικῶν ἐμβολίων.

---

* Κτηνιατρικὸ Ἰνστιτοῦτο Ἀφθώδους Πυρετοῦ, Ἁγ. Παρασκευὴ Ἀττικῆς.
Institute FMD. Ag. Paraskevi, Attiki. Greece.

*Ἀνακοινώθηκε στὸ Πανελλήνιο Συνέδριο Γεωτεχνικῶν Ἐρευνῶν – Καλλιθέα Χαλκιδικῆς 5-8 Μαΐου 1981.

Μὲ τὴν παρέλευση τοῦ χρόνου τὰ περισσότερα Ἰνστιτοῦτα παραγωγῆς ἀντιαφθωδικῶν ἐμβολίων ἐγκατέλειψαν τὶς παλαιότερες μεθόδους παραγωγῆς ἰοῦ ὅπως, φυσικοῦ ἰοῦ μὲ ἐνδογλωσσικὴ μόλυνση βοοειδῶν ἢ ἰοῦ καλλιεργείας σὲ ἐπιθήλιο γλώσσας βοοειδῶν (Μέθοδος Frenkel) σὲ κύτταρα νεφρῶν μόσχου ἢ χοίρου καὶ προσάρμοσαν τὶς μεθόδους παραγωγῆς του σὲ κύτταρα BHK αἰωρήσεως ἐντὸς ζυμωτῶν (Fermentors) διάφορης χωρητικότητας (500 – 1000 – 2000 λ. ἢ καὶ μεγαλυτέρων).

Τὸ Ἰνστιτοῦτο Ἀφθώδους Πυρετοῦ χρησιμοποιεῖ ἀπὸ τὸ 1964 μονόστοιβες κυτταροκαλλιέργειες BHK σὲ περιστρεφόμενες φιάλες γιὰ παραγωγὴ ἰοῦ Α.Π. καὶ παρασκευὴ ἀντιαφθωδικῶν ἐμβολίων[7]. Τὸ 1974 τὸ Ἰνστιτοῦτο ἐξοπλίστηκε μὲ ζυμωτὲς καὶ ἄρχισε παράλληλα ἡ πειραματικὴ παραγωγὴ ἰοῦ Α.Π. σὲ κύτταρα BHK αἰωρήσεως. Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἔρευνας αὐτῆς ἐκθέτουμε στὴν παροῦσα ἐργασία.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:

1. Ἐξοπλισμός: Στὶς μικρὲς καλλιέργειες κυττάρων αἰωρήσεως, ποὺ χρησιμεύουν γιὰ τὴν ἀνανέωση τῆς κυτταρικῆς γραμμῆς καὶ γιὰ τὴν παραγωγὴ κυττάρων σπορᾶς τῶν μεγάλων καλλιεργειῶν, χρησιμοποιοῦνται ὑάλινοι ζυμωτὲς τύπου φιαλῶν Pirbright τῶν 500 κ.ἑκ. ἢ φιαλῶν Belco τοῦ ἑνὸς καὶ δέκα λίτρων, ἐφοδιασμένων μὲ μαγνητικὸ ἀναδευτῆρα ἐπικαλυμμένο μὲ Teflon. Στὶς μεγάλες καλλιέργειες χρησιμοποιοῦνται ἕνας ζυμωτὴς ὠφέλιμης χωρητικότητας 20 λίτρων καὶ δύο τῶν 100 λίτρων. Οἱ ζυμωτὲς αὐτοὶ εἶναι κατασκευασμένοι ἀπὸ εἰδικὸ ἀνοξείδωτο χάλυβα, φέρουν ἠλεκτρόδια αὐτομάτου ρυθμίσεως Ph καὶ θερμοκρασίας, παροχὲς ἀέρα καὶ CO_2 στὸ βάθος καὶ τὴν ἐπιφάνεια τῆς καλλιέργειας, ὅπως ἐπίσης καὶ σύστημα ἀναδεύσεως τῶν κυττάρων διὰ δονήσεων ρυθμιζομένου πλάτους (Vibromixer).

2. Κυτταρικὴ γραμμὴ BHK

Χρησιμοποιεῖται τὸ στέλεχος κυττάρων BHK αἰωρήσεως ποὺ προέρχεται ἀπὸ τὸ Ζωοπροφυλακτικὸ Ἰνστιτοῦτο Πάδοβας*. Μὲ τὸ ἀρχικὸ καλλιέργημα (100 κ.ἑκ. περίπου) πραγματοποιήσαμε δύο ἀκόμη διόδους αἰωρήσεως γιὰ τὸν σχηματισμὸ ἱκανοῦ ἀποθέματος κυττάρων.

Τὰ κύτταρα αὐτὰ ὕστερα ἀπὸ φυγοκέντρηση καὶ συμπύκνωση σὲ ὑλικὸ συντηρήσεως [(55% Eagle ÷ 25% ὀρὸς μόσχου ÷ 10% TPB ÷ 10% DMSO (-Dimethyl Sulfoxide 50%)], διανεμήθηκαν σὲ φύσιγγες τοῦ 1 κ.ἑκ. περίπου 15 × 10^6 κύτταρα κατὰ κ.ἑκ., καὶ τοποθετήθηκαν σὲ ὑγρὸ ἄζωτο.

3. Θρεπτικὰ ὑλικὰ

α) Ὑλικὸ ἀναπτύξεως κυττάρων: Χρησιμοποιεῖται γιὰ ὅλα τὰ εἴδη καλλιεργειῶν (μικρῶν-μεγάλων) τὸ ὑλικὸ τῶν Mac Pherson καὶ Stoker[1] ποὺ εἶναι ὑλικὸ Eagle ἐντὸς Earle (B.M.E.), τροποποιημένο γιὰ νὰ περιέχει διπλάσια ποσότητα ἀμινοξέων, μὲ 10% T.P.B. (Tryptose Phosphate Broth) καὶ 10% ὀρὸ

---

* Στὸ Ἰνστιτοῦτο αὐτὸ ὁ πρῶτος ἀπὸ μᾶς παρακολούθησε κυτταροκαλλιέργειες στὸν τομέα Α.Π. ὑπὸ τὴν καθοδήγηση τοῦ καθηγητοῦ R. ZOLETTO.

μόσχου. Δὲν προσθέτουμε Edifas καὶ ἀντιαφρῶδες. Τὸ PH τοῦ ὑλικοῦ ἀναπτύξεως ρυθμίζεται μεταξὺ 7,4 — 7,6 μὲ CO_2. Τὸ ὑλικὸ ὑφίσταται διπλὴ διήθηση διὰ φίλτρων SEITZ, EKS καὶ EKS_1.

β) Ὑλικὸ συντηρήσεως κυττάρων: Ὡς ὑλικὸ συντηρήσεως κυττάρων ποὺ προορίζονται γιὰ καλλιέργεια τοῦ ἰοῦ Α.Π. χρησιμοποιεῖται ὑλικὸ HANKS μὲ (2‰) ἐνζυματικὸ ὑδρόλυμα λακταλβουμίνης ὅπως χρησιμοποιεῖται στὸ Ἰνστιτοῦτο Πάδοβας. Τὸ ὑλικὸ διηθεῖται σὲ φίλτρα SEITZ, EKS.

Στὰ παραπάνω ὑλικὰ καλλιέργειας προστίθενται ἀντιβιοτικὰ ὡς ἑξῆς: Πενικιλίνη 0,13 γρ., Στρεπτομυκίνη 0,20 γρ., Νεομυκίνη ἢ Καναμυκίνη 0,015 γρ. καὶ Fungizone 0,25 γρ./λ.

4. Ἰὸς Α.Π.

Τὰ στελέχη ἰοῦ ποὺ χρησιμοποιοῦνται γιὰ τὴν παραγωγὴ ἐμβολίου εἶναι:
— Ἰὸς O_1 Πέπλου, στέλεχος ἐπιζωοτίας Α.Π. 1972.
— Ἰὸς Α, στέλεχος ἑστίας Α.Π. 1977 στὸ Πλατὺ Ἡμαθίας.
— Ἰὸς C_1 Detmold ποὺ μᾶς προμήθευσε τὸ Ἰνστιτοῦτο Pirbright.

Τὰ στελέχη αὐτὰ συντηροῦνται ὑπὸ μορφὴ ἀφθῶν σὲ συντηρητικὸ ὑλικὸ στοὺς — 20°C καὶ ὑφίστανται περιοδικὰ ἀνανέωση σὲ βοοειδῆ. Τὰ στελέχη αὐτὰ προσαρμόζονται σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα BHK περιστρεφομένων φιαλῶν τῆς ἰδίας προελεύσεως μὲ τὰ κύτταρα BHK αἰωρήσεως καὶ παρασκευάζεται ἱκανὴ ποσότητα ἰοῦ σπορᾶς γιὰ τὶς ἀνάγκες ἐνοφθαλμισμοῦ τῶν κυτταροκαλλιεργειῶν αἰωρήσεως.

5. Μέθοδος καλλιεργείας κυττάρων

α) Μικρὲς καλλιέργειες

Γιὰ τὴν ἔναρξη τῆς καλλιέργειας λαμβάνονται 1-2 φύσιγγες ἀπὸ τὸ ἀπόθεμα τῶν κυττάρων στὸ ὑγρὸ ἄζωτο καὶ ἀποψύχονται ἀμέσως σὲ ὑδατόλουτρο 37°C. Τὰ κύτταρα φυγοκεντροῦνται γιὰ τὴν ἀφαίρεση τοῦ συντηρητικοῦ των ὑλικοῦ καὶ στὴν συνέχεια ἐνοφθαλμίζονται σὲ θρεπτικὸ ὑλικὸ ἐντὸς φιάλης τύπου Pirbright γιὰ ἀπ' εὐθείας ἔναρξη καλλιεργείας κυττάρων αἰωρήσεως συνήθως ὅμως γίνονται προηγουμένως 1-2 δίοδοι τῶν κυττάρων αὐτῶν σὲ στατικὴ καλλιέργεια ἐντὸς φιαλῶν Brockway καὶ Roux καὶ μετὰ πραγματοποιεῖται ἡ δίοδος σὲ ζυμωτὲς γιὰ καλλιέργεια σὲ αἰώρηση.

Πραγματοποιοῦνται 2-3 δίοδοι αἰωρήσεως σὲ φιάλες τύπου Pirbright καὶ μετά, συνεχεῖς δίοδοι ἀνὰ 48ωρο μικρὲς καλλιέργειες τῶν 500 κ.έκ. σὲ φιάλες τύπου Belco 1 λ. Τὰ κυτταροκαλλιεργήματα αὐτὰ συντηροῦνται σὲ ÷ 4°C μέχρι 20 ἡμέρες τὸ πολὺ καὶ χρησιμεύουν γιὰ τὸ ξεκίνημα τῶν μεγάλων καλλιεργειῶν.

α) Μεγάλες καλλιέργειες. Πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτὸ πραγματοποιεῖται δίοδος κυττάρων σὲ φιάλες τύπου Belco 10 λ. παρασκευάζεται ποσότητα ἐναιωρήματος κυττάρων 2-4 λ., ποὺ χρησιμεύει γιὰ σπορὰ καλλιέργειας τοῦ ζυμωτὴ τῶν 20 λ. Μετὰ 48-72 ὧρες καλλιέργεια, τὰ κύτταρα τοῦ ζυμωτῆ αὐτοῦ διανέμον-

ται σὲ δύο ἄλλους τῶν 100 λ. προστίθεται ὑλικὸ ἀναπτύξεως 60 λ. περίπου στὸν καθένα καὶ μετὰ 48-72 ὧρες λαμβάνεται ποσότητα κυττάρων 140 λ. περίπου, ποὺ προορίζεται γιὰ τὴν παραγωγὴ ἰοῦ.

6. Παραγωγὴ ἰοῦ Α.Π.

Μὲ τὸ πέρας τῆς καλλιέργειας τὰ κύτταρα συλλέγονται σὲ ὑάλινα δοχεῖα ψύχονται ἀμέσως σὲ κρῦο νερὸ καὶ τοποθετοῦνται σὲ + 4°C ὥστε νὰ κατακαθήσουν πλήρως στὸν πυθμένα τοῦ δοχείου. Ἀφαιρεῖται τὸ ὑπερκείμενο ὑλικὸ μὲ ἀντλία καὶ σὲ ζυμωτὴ ποὺ περιέχει 100 λ. ὑλικὸ συντηρήσεως κυττάρων (Hanks) προστίθενται τὰ κύτταρα ὥστε τὸ τελικὸ ἐναιώρημα νὰ περιέχει 2 — 2.500.000 κύτταρα/κ.ἑκ.

Προστίθεται στὴ συνέχεια ὁ ἰὸς Α.Π., πρόσφατης καλλιέργειας σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα ΒΗΚ, σὲ ἀναλογία 0,5—2,5 μονάδες κυτταροπαθογόνου δράσης 50% ($TCID_{50}$)/κύτταρο ἢ 3—4% ἐναιώρημα ἰοῦ, ὕστερα δὲ ἀπὸ 24 ὧρες περίπου, ὁ ἰὸς ἔχει καταστρέψει σχεδὸν ὅλα τὰ κύτταρα, ὁπότε γίνεται συλλογὴ τοῦ ὑλικοῦ αὐτοῦ ποὺ χρησιμεύει γιὰ παρασκευὴ ἐμβολίου.

7. Ἔλεγχος ἀποτελεσματικότητας ἐμβολίων

ι) Βοοειδῆ

Χρησιμοποιοῦνται βοοειδῆ πλήρως εὐαίσθητα στὸν Α.Π. Πρὸ τῆς χρησιμοποιήσεώς των ἐλέγχονται γιὰ τυχὸν ὕπαρξη ὀροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων, ἔναντι τῶν τύπων τοῦ ἰοῦ ποὺ περιέχονται στὰ ὑπὸ ἔλεγχο ἐμβόλια.

Ἐμβολιάζονται 5 βοοειδῆ μὲ κανονικὴ δόση ἐμβολίου (5 κ.ἑκ.) καὶ μετὰ 21 μέρες ἐλέγχεται ἡ κτηθεῖσα ἀνοσία ἔναντι ἑνὸς τῶν τύπων τοῦ ἰοῦ ποὺ περιέχονται στὸ ἐμβόλιο, μὲ μόλυνση τῶν ἐμβολιασθέντων βοοειδῶν κι ἕνα μάρτυρα, μὲ ἰὸ Α.Π. 10^4 DL_{50}/0,10 κ.ἑκ. ἐνδογλωσσικῶς σὲ 2 σημεῖα. Ἐπίσης ἐλέγχεται ὁ τίτλος τῶν ὀροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων τῶν ἐμβολιασθέντων βοοειδῶν. Ἐλέγχθηκαν ἔτσι δύο σειρές διδυνάμου ἐμβολίου τύπου ΑΟ.

ιι) Πρόβατα. 6 ἀμνοὶ ἡλικίας 9 μηνῶν περίπου ἐμβολιάσθηκαν μὲ τριδύναμο ἐμβόλιο Α Ο C κι' ἔγινε ἔλεγχος ὀροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων πρὸ καὶ 21 ἡμέρες μετὰ τὸν ἐμβολιασμό των.

ιιι) Ἰνδόχοιροι. Ὅλα τὰ ἀναφερθέντα ἐμβόλια ἐλέγχθηκαν καὶ σὲ ἰνδόχοιρους. Προσδιορίστηκε ἡ προστατευτικὴ δόση ἰνδοχοίρου 50% ($ΠΔI_{50}$) ἔναντι τῶν τύπων τοῦ ἰοῦ ποὺ περιεῖχαν τὰ ἐμβόλια[8].

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. Καλλιέργειες κυττάρων: Στὸν πίνακα Ι καταχωροῦνται τὰ ἀποτελέσματα 20 καλλιεργημάτων γιὰ κάθε τύπο ζυμωτοῦ.

Ἡ παρακολούθηση τῆς ἀναπτύξεως καὶ ζωτικότητος τῶν κυττάρων, πραγματοποιεῖται μὲ καταμέτρηση αὐτῶν σὲ αἱμοκυττόμετρο τύπου ΤΟΜΑ, ὕστερα ἀπὸ χρώση μὲ Trypan Blue.

ΠΙΝΑΚΑΣ I

Ἀποτελέσματα ἀναπτύξεως κυττάρων BHK_{21} ἐν αἰωρήσει

Results of BHK_{21} cell growth in suspension

Ποσότητα Volume	Ἀριθμὸς καλλιεργημάτων Number of cultures	Ἔναρξη** Starting	Καλλιέργεια * Cultivation					
			24 ὡρῶν hours	Συντελεστὴς*** ratio	48 ὡρῶν hours	Συντελεστὴς ratio	72 ὡρῶν hours	Συντελεστὴς ratio
0.3 – 0.500 lt	6	24 (17,5–30)	108.7 (60–202.5)	4.53 (1.85–6.75)	293.7 (200–400)	12.23 (9.09–15.53)		
	14	47.6 (35–65)	138.2 (100–210)	2.9 (1.66–6)	323.4 (235–395)	6.8 (3.9–9.9)		
2 – 4 lt	10	27.8 (21–30)	74.75 (55–120)	2.68 (1.66–4.8)	205.5 (130–300)	7.39 (5–14.28)		
	10	42.2 (32–50)	81.85 (50–150)	1.94 (1.11–3)	245.75 (170–375)	5.82 (4.11–7.5)		
15 – 20 lt	4	26.1 (22–30)	69.4 (47.5–110)	2.65 (1.58–4)	125.4 (91.5–150)	4.8 (4.1–6)		
	16	54.84 (31–92.5)	121.81 (57.5–232.5)	2.22 (1.44–6.71)	239.22 (137.5–375)	4.36 (3.25–7.85)		
70 – 80 lt	9	24.40 (17.5–30)	51.77 (32.5–66)	2.12 (1.3–3.13)	119.2 (75–155)	4.88 (3–7.42)	204.75 (150–272.5)	8.39 (6–15)
	11	43 (31–62.5)	84.45 (42.5–122.5)	1.96 (1.21–2.77)	218.5 (151–300)	5.08 (2.68–7.05)		

* 20 καλλιεργήματα γιὰ κάθε τύπο ζυμωτοῦ
20 cultures for each kind of vessel.

** Μέσος ὅρος καὶ σὲ παρένθεση ἐλάχιστος καὶ μέγιστος ἀριθμὸς κυττάρων × 10^4/κ.ἑκ.
Mean and in parentheses range of cells × 10^4/ml.

*** Συντελεστὴς ἀναπτύξεως κυττάρων = ἀριθ. ἀναπτυχθέντων κυττάρων/ἀριθ. κυττάρων σπορᾶς

1. Μικρὲς καλλιέργειες

Βασικὸ παράγοντα στὶς καλλιέργειες κυττάρων αἰωρήσεως ἀποτελεῖ τὸ Ph τοῦ ὑλικοῦ ἀναπτύξεως. Στὴν ἀρχὴ τῆς καλλιέργειας τὸ Ph ἔχει τάση νὰ ἀνέρχεται λόγῳ τῆς ἀναδεύσεως τοῦ ὑλικοῦ. Τὰ κύτταρα δὲν μποροῦν νὰ τὸ σταθεροποιήσουν λόγω τῆς φάσεως προσαρμογῆς των (Lag Phase) καὶ τῆς περιορισμένης ἀναπτύξεώς των (ἔναρξη πολλαπλασιασμοῦ). Γι' αὐτὸ κατὰ τὸ πρῶτο 24ωρο ἡ ἀνάδευση ρυθμίζεται σὲ λίγες στροφὲς 160/1΄) καὶ σφραγίζονται τὰ στόμια τοῦ ζυμωτοῦ μὲ ἐλαστικὰ πώματα. Μετά, λόγω τοῦ ἔντονου πολλαπλασιασμοῦ τῶν κυττάρων, τὸ Ph κατέρχεται πρὸς τὸ ὄξινο, τότε αὐξάνεται ὁ ἀριθμὸς τῶν στροφῶν ἀναδεύσεως σὲ 200/1΄ καὶ ἀντικαθίστανται ἕνα ἢ καὶ τὰ δύο ἐλαστικὰ πώματα τοῦ ζυμωτοῦ (Belco) μὲ πώματα γάζας, ὥστε μὲ τὸν ἐμπειρικὸ αὐτὸ τρόπο διελεύσεως ἀέρα στὸ ζυμωτὴ νὰ διατηρηθεῖ τὸ Ph σὲ ἀνεκτὰ γιὰ τὴν ζωτικότητα τῶν κυττάρων ὅρια (ἕως 6,8) καὶ τὸ ἑπόμενο 24ωρο.

Στὸ πρῶτο τύπο μικρῆς καλλιέργειας 0.3 — 0.5 λ. παρατηροῦμε ὅτι, ὅταν γίνεται σπορὰ τῆς καλλιέργειας μὲ 20—30×10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. ὁ μέσος ὅρος συντελεστοῦ ἀναπτύξεως κυττάρων εἶναι στὶς 24 καὶ 48 ὧρες 4.53 καὶ 12.23 ἀντίστοιχα καὶ ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων κατὰ μέσο ὅρο εἶναι 293,7 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. Ὅταν ἡ σπορὰ γίνεται μὲ μεγαλύτερο ἀριθμὸ κυττάρων, κατὰ μέσο ὅρο 47,6 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ., τότε ὁ συντελεστὴς ἀναπτύξεως τῶν κυττάρων εἶναι 2,9 καὶ 6,8 ἀντίστοιχα στὰ πάρα πάνω χρονικὰ διαστήματα καὶ ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων κατὰ μέσο ὅρο εἶναι 323,4 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.

Στὶς μεγαλύτερες καλλιέργειες ἐντὸς φιαλῶν Belco 10 λ. (ποσότητα κυτταροκαλλιεργημάτων 2—4 λ./φιάλη) μὲ ἀριθμὸ κυττάρων σπορᾶς 20 — 30 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. ὁ μέσος ὅρος συντελεστοῦ ἀναπτύξεως κυττάρων εἶναι στὶς 24 καὶ 48 ὧρες 2,68 καὶ 7,39 ἀντίστοιχα καὶ ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων εἶναι 205,5 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. Μὲ μεγαλύτερο ἀριθμὸ κυττάρων σπορᾶς — μέσος ὅρος 42,2 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ., οἱ συντελεστὲς ἀναπτύξεως κυττάρων εἶναι 1,94 καὶ 5,82 ἀντίστοιχα στὰ ἴδια χρονικὰ διαστήματα μὲ τελικὸ ἀριθμὸ κυττάρων 245,75 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.

Παρατηρεῖται δηλαδὴ ὅτι: μὲ μεγαλύτερο ἀριθμὸ κυττάρων σπορᾶς ἐιτυχνάνονται μικρότεροι συντελεστὲς ἀναπτύξεως αὐτῶν καὶ στοὺς δύο τύπους μικρῶν καλλιεργειῶν. Ἀκόμη στοὺς δύο αὐτοὺς τύπους καλλιεργειῶν ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων κατὰ τὴν συλλογή των, εἶναι μεγαλύτερος ὅταν εἶναι αὐξημένος ὁ ἀριθμὸς κυττάρων σπορᾶς.

2. Καλλιέργειες σὲ μεγάλους ζημωτὲς

Ἡ περιεκτικότητα σὲ κύτταρα μπορεῖ τελικῶς σὲ 48 ὧρες, νὰ φθάσει ἕως 400 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.

Λόγω κατασκευῆς τοῦ συστήματος ἀναδεύσεως, ἡ ἀνάδευση τῶν κυττάρων παραμένει σταθερὴ καθ' ὅλη τὴ διάρκεια τῆς καλλιέργειας κι' ὕστερα ἀπὸ πειραματικὲς καλλιέργειες ἔχει ρυθμιστεῖ σὲ ὡρισμένο πλάτος δονήσεως ξεχω-

ριστὰ γιὰ κάθε ζυμωτή. Στὸν ζυμωτὴ τῶν 20 λ. ὅταν γίνεται ἡ σπορὰ καλλιεργείας μὲ 20 — 30 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. ὁ μέσος ὅρος συντελεστοῦ, ἀναπτύξεως κυττάρων εἶναι στὶς 24 καὶ 48 ὧρες 2,65 καὶ 4,8 ἀντίστοιχα καὶ ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων κατὰ μέσο ὅρο 125,4 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.

Μὲ μεγαλύτερο ἀριθμὸ κυττάρων σπορᾶς, μέσος ὅρος 54,84 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ., ὁ συντελεστὴς ἀναπτύξεως κυττάρων εἶναι 2,22 καὶ 4,36 στὰ πιὸ πάνω χρονικὰ διαστήματα καὶ ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων εἶναι 239,22 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. Κι ἐδῶ οἱ συντελεστὲς ἀναπτύξεως εἶναι μικρότεροι ὅταν ὁ ἀριθμὸς κυττάρων σπορᾶς εἶναι πάνω ἀπὸ 30 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. (κατὰ μέσο ὅρο 54,84 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.).

Ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων ποὺ συλλέγεται εἶναι ἱκανοποιητικὸς (137,5 — 375 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ.). Τὸ ἴδιο περίπου συμβαίνει καὶ στοὺς ζυμωτὲς τῶν 100 λ., γι' αὐτὸ ὅταν ἡ ἔναρξη τῆς καλλιέργειας γίνεται μὲ 20 — 30 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. παρατείνεται ἡ καλλιέργεια συνήθως ἕως 72 ὧρες ὥστε νὰ φθάσει ὁ τελικὸς ἀριθμὸς κυττάρων σὲ ἱκανοποιητικὰ ὅρια γιὰ συλλογή, μέσος ὅρος 204,75 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. Ἐνῶ γιὰ μεγαλύτερο ἀριθμὸ κυττάρων σπορᾶς τὸ 48ωρο τῆς καλλιέργειας εἶναι ἀρκετὸ γιὰ νὰ πραγματοποιηθεῖ ἡ συλλογὴ τῶν κυττάρων. Μέσος ὅρος 218,5 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. Ἔτσι ἡ συνεχὴς λειτουργία τοῦ ζυμωτοῦ τῶν 20 λ. γιὰ παραγωγὴ κυττάρων σπορᾶς τῶν δύο μεγαλυτέρων ζυμωτῶν, ἐπιτρέπει τὴν παραγωγὴ 70 — 80 λ. ἐναιωρήματος κυττάρων ἀνὰ ζυμωτήν, μὲ 150 — 300 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. ἀνὰ 2ήμερο ἢ 3ήμερο. Τὰ κύτταρα συλλέγονται σὲ ὑάλινα δοχεῖα τὰ ὁποῖα τοποθετοῦνται σὲ ÷4°C. Παραμονὴ αὐτῶν ἐπὶ 24ωρο στὸ ψυγεῖο δὲν εἶναι ἀρκετὴ γιὰ τὴν καθίζηση τῶν κυττάρων στὸν πυθμένα τῶν δοχείων. Χρειάζεται 48ωρος παραμονὴ γιὰ νὰ κατακαθήσουν πλήρως τὰ κύτταρα. Τότε τὸ ὑπερκείμενο ὑλικὸ ποὺ ἀφαιρεῖται στὴ συνέχεια, περιέχει ἐλάχιστα αἰωρούμενα κύτταρα <20 × 10^4 κύτταρα/κ.ἑκ. κι' ἔτσι ἡ ἀπώλεια κυττάρων εἶναι ἐλάχιστη.

Β. Παραγωγὴ ἰοῦ Α.Π.

Τὰ κύτταρα ἐπαναιωροῦνται σὲ ὑλικὸ συντηρήσεως Hanks: (Ph = 7,4 — 7,6) ἐντὸς μεγάλου ζυμωτοῦ ὥστε ὁ ἀριθμός των νὰ εἶναι περίπου 2 — 2,5 × 10^6 κύτταρα/κ.ἑκ. ὑλικοῦ καὶ προστίθεται ἰὸς Α.Π., πρόσφατης παρασκευῆς σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα ΒΗΚ. Λόγω τοῦ ὑψηλοῦ ἀριθμοῦ κυττάρων, τὸ Ph τοῦ ὑλικοῦ κατέρχεται κατὰ τὶς πρῶτες ὧρες τῆς καλλιέργειας. Ρυθμίζεται μὲ τὴ βοήθεια ἠλεκτροδίου τὸ Ph ἔτσι, ὥστε μὲ τὴν παροχὴ ἀέρα βάθους νὰ μὴν κατέρχεται < τοῦ 7,2. Ἔτσι ἀποφεύγεται ἡ ὀξίνιση τοῦ ὑλικοῦ ποὺ εἶναι ἐπιζήμια γιὰ τὴν ἀκεραιότητα τοῦ ἰοῦ Α.Π. Ἡ καλλιέργεια τοῦ ἰοῦ διαρκεῖ περίπου 24 ὧρες. Τὰ κύτταρα καταστρέφονται, στὴ μικροσκοπικὴ ἐξέταση τὰ νεκρὰ παίρνουν τὸ χρῶμα τῆς χρωστικῆς (Trypan Blue) καὶ ὁ ἰὸς συλλέγεται ὅταν στὸ καλλιέργημα δὲν ὑπάρχουν παρὰ ἐλάχιστα ζῶντα κύτταρα. Ἐπακολουθεῖ ἡ συνήθης ἐπεξεργασία τοῦ ἰοῦ γιὰ τὴν παρασκευὴ ἐμβολίων. Μὲ 140 λ. ἐναιωρήματος κυττάρων παράγονται 100 λ. περίπου ἰοῦ Α.Π. μὲ τὸν ὁποῖο παρασκευάζεται μονοδύναμο ἀντιαφθωδικὸ ἐμβόλιο 20.000 δό-

σεων περίπου. Οἱ παράμετροι τοῦ ἰοῦ Α.Π. ποὺ παράγεται ἐπὶ κυττάρων ΒΗΚ αἰωρήσεως εἶναι στὰ ἴδια περίπου ὅρια μὲ αὐτὲς τοῦ ἰοῦ ποὺ παράγεται σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα, διατηρεῖται δηλαδὴ ἡ εὐαισθησία τῶν κυττάρων στὰ ἐμβολιαστικὰ στελέχη τοῦ Α.Π. O_1, Α πλατὺ καὶ C_1 Detmold. Οἱ τίτλοι τοῦ παραχθέντος ἰοῦ ἔχουν ὡς ἑξῆς:

— Ἐκτροπὴ τοῦ συμπληρώματος: Αἱμόλυση 50% = 0,50 κ.ἑκ. C′ $^1/_{25}$.
— Κυτταροπαθογόνος δράση ($DICT_{50}$) = 10^{-7} – 10^{-8}/κ.ἑκ.
— Μονάδες σχηματισμοῦ πλακῶν (PFU_{50}) =
— Θανατηφόρος δόση νεογ. μυῶν (DL_{50}) = $10^{-6,5}$ – $10^{-8,5}$/κ.ἑκ.

Αὐτὲς οἱ παράμετροι ἀποτελοῦν ἐνδείξεις μόνο τῆς ποιότητας τοῦ ἰοῦ Α.Π. Ὁ ἔλεγχος τῆς ἀνοσοποιητικῆς ἱκανότητας τῶν παραγομένων μὲ τέτοιο ἰὸ ἐμβολίων σὲ πειραματόζωα καὶ ἰδίως βοοειδῆ, ἀποτελεῖ τὸ τελικὸ κριτήριο γιὰ τὴν ποιότητα τῶν ἐμβολίων αὐτῶν.

Γ. Ἔλεγχοι ἐμβολίων

Στὸν πίνακα ΙΙ ἀναφέρονται τὰ δεδομένα ἐλέγχων δύο σειρῶν διδυνάμου ἀντιαφθωδικοῦ ἐμβολίου τύπου ΑΟ καὶ μιᾶς σειρᾶς τριδυνάμου τύπου ΑΟC.

1. Προστατευτικὴ δόση ἰνδοχοίρων 50%

Ὅπως φαίνεται στὸν πίνακα ΙΙ ἡ $ΠΔΙ_{50}$ στὰ διδύναμα ἐμβόλια εἶναι γιὰ τὸν τύπο Α = 0,06 καὶ 0,08 κ.ἑκ. ἐμβολίου καὶ γιὰ τὸν τύπο Ο 0,12 καὶ 0,20 κ.ἑκ. ἐμβολίου. Στὸ τριδύναμο ἐμβόλιο ἡ $ΠΔΙ_{50}$ γιὰ τὸν τύπο Α εἶναι 0,48 γιὰ τὸν Ο = 0,12 καὶ γιὰ τὸν τύπο C = 0,20 κ.ἑκ. ἐμβολίου. Τὰ δεδομένα αὐτὰ μᾶς δείχνουν ὅτι τὰ ἐμβόλια ποὺ παράγονται μὲ ἰὸ καλλιεργηθέντα σὲ κύτταρα ΒΗΚ αἰωρήσεως εἶναι στὰ ἴδια ὅρια προστασίας ἰνδοχοίρων μὲ τὰ παρασκευαζόμενα μὲ ἰὸ καλλιεργείας σὲ μονόστοιβα κύτταρα ΒΗΚ.

2. Ἔλεγχος ἀποτελεσματικότητας σὲ βοοειδῆ

Ἐλέγχθηκαν σὲ βοοειδῆ δύο σειρὲς διδυνάμου ἐμβολίου. Στὴ μιὰ σειρά, ἡ μόλυνση τῶν βοοειδῶν ἔγινε μὲ ἰὸ Α. Τὰ 5 ἐμβολιασθέντα βοοειδῆ ἀντέστησαν στὴ μόλυνση, προστασία 100%, ἐνῶ ὁ μάρτυρας τοῦ ἰοῦ ἐγενίκευσε. Ἡ ἄλλη σειρὰ ἐλέγχθηκε μὲ ἰὸ 0 καὶ 4 ἐμβολιασθέντα βοοειδῆ ἀντέστησαν στὴ μόλυνση, προστασία 80%, ἕνα ἐμβολιασθὲν καὶ ὁ μάρτυρας ἐγενίκευσαν. Παρατηροῦμε δηλαδὴ ὅτι τὰ ἐλεγχθέντα ἐμβόλια προστατεύουν ἱκανοποιητικὰ τὰ βοοειδῆ ποὺ ἀποτελοῦν τὸ πρότυπο πειραματόζωον, ὡς κατ' ἐξοχὴν εὐαίσθητα στὸν Α.Π., γιὰ τὸν ἔλεγχο ἀποτελεσματικότητας τῶν ἀντιαφθωδικῶν ἐμβολίων.

Ἡ στάθμη τῶν ὀροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων τῶν ἐμβολιασθέντων βοοειδῶν εἶναι ὑψηλή· οἱ μέσοι ὅροι τῶν τίτλων τῶν δύο σειρῶν ἐμβολίου εἶναι: γιὰ τὸν τύπο Ο = $10^{-1,90}$ καὶ $10^{-1,99}$,γιὰ τὸν τύπο Α = $10^{-2,02}$ καὶ $10^{-2,19}$

ΠΙΝΑΚΑΣ II

Ἀποτελέσματα Ἐλέγχων ἐμβολίων Α.Π. σὲ βοοειδῆ πρόβατα καὶ ἰνδόχοιρους

Data of FMD vaccine control in bovine, sheep and guineapigs

Ἐμβόλια Vaccines Σειρά Batch	Τύπος Type	Ποσότητα Quantity	Βοοειδῆ Bovine No	Τίτλος ὀξοεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων Serum O	Neutralising A	Titre C	Ἰὸς ἐνοφθαλμισμοῦ Challenge Virus	Ἀλλοιώσεις** Lesions Γλώσσα Tongue	Στόμα Mouth	ΠΔΙ$_{50}$*** Ἄκρα 1	2	3	4	GPD$_{50}$ Feet
288	A O	5 ml	1	2.17*	2.40			O	O	O	O	O	O	
			2	≥2.55	≥2.55			O	O	O	O	O	O	Ἰὸς A=0.06 ml
			3	1.72	2.10		A	X	O	O	O	O	O	(Virus)
			4	2.17	2.17			X	X	O	O	O	O	
			5	0.90	0.90			X	O	O	O	O	O	» O=0.12 ml
			M. ὅρος (mean)	1.90	2.02									
			Μάρτυς (Control)	<0.45	<0.45			X	X	X	X	X	X	
289	A O	5 ml	6	2.47	2.47			X	X	O	O	O	O	
			7	1.60	2.17			X	X	X	X	X	X	» A=0.08 ml
			8	2.17	2.25			X	O	O	O	O	O	
			9	2.00	2.40		O	X	O	O	O	O	O	» O=0.20 ml
			10	1.72	1.68			X	O	O	O	O	O	
			M. ὅρος (mean)	1.99	2.19									
			Μάρτυς (Control)	<0.45	<0.45			X	X	X	X	X	X	
			Πρόβατα Sheep No											
292	A O C	2 ml	1	1.95	2.25	≥2.55								
			2	1.65	1.75	1.80								
			3	2.10	2.05	2.17								» A=0.48 ml
			4	2.10	≥2.55	2.40								
			5	1.35	1.57	1.72								» O=0.12 ml
			6	2.25	1.80	2.17								» C=0.20 ml
			M. ὅρος (mean)	1.90	2.00	1.83								

* Λογ$_{10}$ τοῦ ἀντιστρόφου τῆς διαλύσεως τοῦ ὀροῦ ($\log_{10}$ of reciprocal of serum dilution)

** X= ἀλλοιώσεις ΑΠ (FMD lesions)

O= χωρὶς ἀλλοιώσεις (No lesions)

*** Προστατευτικὴ δόση ἰνδοχοίρων 50% (Guineapig Protection dose 50%)

3. Ὀρολογικὸς ἔλεγχος στὰ πρόβατα

Ἐλέγχθηκε τριδύναμο ἐμβόλιο AOC. Ὅπως παρατηροῦμε στὸν πίνακα II καὶ στὰ πρόβατα ἡ στάθμη τῶν ὀροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων εἶναι ἐξ' ἴσου ὑψηλὴ μὲ τὰ βοοειδῆ. Ὁ μέσος ὅρος τῶν τίτλων εἶναι: γιὰ τὸν τύπο O = $10^{-1,90}$,γιὰ τὸν τύπο A = $10^{-2,00}$,γιὰ τὸν τύπο C = $10^{-1,83}$.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ἀπὸ τὸ 1964 ἄρχισε στὸ Ἰνστιτοῦτο Ἀφθώδους Πυρετοῦ ἡ χρησιμοποίηση μεθόδου καλλιεργειῶν κυττάρων BHK σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα περιστρεφομένων φιαλῶν γιὰ παραγωγὴ ἰοῦ Α.Π. προοριζομένου γιὰ ἀντιαφθωδικὰ ἐμβόλια. Ἡ μέθοδος ὅμως αὐτὴ παρουσιάζει τὸ μειονέκτημα νὰ ἀπαιτεῖ χρόνο, πολὺ προσωπικό, εἶναι δηλαδὴ δαπανηρὴ καθὼς ἐπίσης καὶ πολὺ κοπιαστική.

Μὲ τὴν ἐγκατάσταση στὸ Ἰνστιτοῦτο ζυμωτῶν ὠφέλιμης χωρητικότητας ἑνὸς τῶν 20 λίτρων καὶ 2 τῶν 100 λίτρων ἀρχίσαμε πειράματα γιὰ τὴν παραγωγὴ κυττάρων BHK αἰωρήσεως καὶ τὴν παραγωγὴ ἐπ' αὐτῶν ἰοῦ Α.Π. Ἀπὸ τὰ ἀποτελέσματα ποὺ ἀναφέρθηκαν παραπάνω προκύπτουν τὰ ἑξῆς:

Μὲ τὴν μέθοδο αὐτὴ τῶν κυτταροκαλλιεργημάτων αἰωρήσεως, ἐπιτυγχάνονται κυτταροκαλλιεργήματα 70—80 λίτρων/1 ζυμωτὴ μὲ 1,5 — 3 × 10^6 κύτταρα/κ.ἑκ. ἐντὸς 2-3 ἡμερῶν. Μὲ τὰ κύτταρα αὐτὰ μπορεῖ νὰ παρασκευασθεῖ, ἐντὸς ὑλικοῦ Hanks, ἐναιώρημα 100 λίτρων περίπου μὲ 2 — 2,5 × 10^6 κύτταρα/κ.ἑκ. γιὰ καλλιέργεια ἰοῦ Α.Π. Ὁ ἰὸς καλλιεργεῖ ἐντὸς 24 ὡρῶν περίπου καὶ οἱ παράμετροι ἀντιγονικότητάς του εἶναι στὰ ἴδια περίπου ὅρια μὲ ἐκεῖνες τοῦ ἰοῦ ποὺ παράγεται σὲ μονόστοιβα κυτταροκαλλιεργήματα. Δηλαδὴ τὰ κύτταρα διατηροῦν πλήρως τὴν εὐαισθησία των στὸν ἰὸ τοῦ Α.Π.

Οἱ ἔλεγχοι τῶν ἐμβολίων ποὺ παρήχθησαν μὲ ἰὸ καλλιεργηθέντα σὲ κύτταρα BHK αἰωρήσεως ἔδειξαν ὅτι τὰ ὀρολογικὰ δεδομένα καὶ ἡ χορηγουμένη ἀνοσία σὲ πειραματόζωα (Ἰνδόχοιροι — βοοειδῆ — πρόβατα), κυμαίνονται ἐπίσης στὰ ἴδια ὅρια μὲ τὸν ἰὸ ποὺ παράγεται ἐπὶ μονόστοιβων κυτταροκαλλιεργημάτων. Μὲ τὴν μέθοδο καλλιεργείας κυττάρων BHK αἰωρήσεως, οἱ χειρισμοὶ περιορίζονται στὸ ἐλάχιστο, οἱ ἐργασίες γίνονται στὸν ἴδιο χῶρο· μὲ τὴν προμήθεια δὲ ζυμωτῶν μεγαλύτερης χωρητικότητας εἶναι δυνατὸν ν' αὐξηθῆ ἡ παραγωγὴ ἀκόμη περισσότερο. Ἀποφεύγεται ἡ διασπορὰ τοῦ ἰοῦ λόγω τοῦ κλειστοῦ κυκλώματος τῶν ἐργασιῶν, ἡ ποιότητα δὲ τοῦ παραγομένου ἰοῦ Α.Π., μὲ τὴν μέθοδο αὐτή, ἐπιτρέπει τὴν παρασκευὴ ἐμβολίων ποὺ χορηγοῦν ἱκανοποιητικὴ ἀνοσία. Τὰ μειονεκτήματα τῆς μεθόδου εἶναι, τὸ πρόβλημα τῶν μολύνσεων τῶν κυτταροκαλλιεργημάτων ἀπὸ μικρόβια, μύκητες κ.λ.π. καὶ ἡ ἐξεύρεση ἱκανῆς ποσότητας ὀροῦ γιὰ τὴν παρασκευὴ ὑλικῶν καλλιεργείας κυττάρων, ὅπως τὸ ἴδιο ἄλλωστε ἰσχύει καὶ γιὰ τὶς μονόστοιβες κυτταροκαλλιέργειες· αὐτὸ συμβαίνει διότι ὁ ἀριθμὸς τῶν σφαζομένων μόσχων στὰ σφαγεῖα τῆς περιοχῆς μας, ἀπ' ὅπου προμηθευόμαστε τὸν ὀρό, εἶναι περιορισμένος.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μὲ τὴν ἐφαρμογὴ τῆς μεθόδου καλλιεργείας κυττάρων BHK αἰωρήσεως σὲ ζυμωτὲς τῶν 100 λίτρων, ἐπιτυγχάνονται ἐντὸς 48-72 ὡρῶν κυτταροκαλλιεργήματα 1,5 – 3 × 10^6 κυττάρων/κ.ἑκ. Τὰ κύτταρα διατηροῦν τὴν εὐαισθησία τους στὰ ἐμβολιαστικὰ στελέχη ἰοῦ O_1 A Πλατὺ καὶ C_1 Detmold, οἱ περάμετροι ἀντιγονικότητας τοῦ ἰοῦ ποὺ παράγεται σὲ τέτοια κύτταρα εἶναι ἱκανοποιητικὲς καὶ παρασκευάζονται ἐξ' αὐτοῦ ἐμβόλια ποὺ παρέχουν ἱκανοποιητικὴ ἀνοσία στὰ βοοειδῆ καὶ πρόβατα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mac Pherson I.A. and Stoker M.G.P.: Virology 1962, 96, 147-151.
2. Mowat G.N. and Chapman W.G..: Nature 1962, 194, 253-255.
3. Polatnick J. and Bachrach H.L..: Appl. Microb. 1964, 12, 4, 368-373
4. Ubertini B. Nardelli L. Dal Prato A., Panina G., Barei S.: Zbl vet med 1967, 14, 432-441.
5. Capstick P.B., Telling R.C., Chapman W.G., Stewart D.L.: Nature 1962, 195, 4847, 1163-1164.
6. Telling R.C. and Elsworth R.: Biotechnology and Bioengineering 1965, 7 414-434.
7. Pappous C., Zordoumis C., Bull. off. Int. Epiz. 1975, 83, (1–2) 71-80.
8. Χ. Παπποῦ, Δ. Μπρόβα, Π. Στουραΐτη, Ι. Καραβαλάκη καὶ Ι. Καρδάση.: Δελτ. Ἑλλην. Κτην. Ἑταιρ. 1967, 21, 1, 1-13.