

Masters of Virology



Leer wat de uitvinders van de meest succesvolle vaccins in de jaren '60 en '70 deden om ze te ontwikkelen en produceren.

We leggen het uit in gewone taal, met duidelijke illustraties en aan de hand van hun eigen documenten.

Met
Stanley Plotkin (Rodehond),
John Enders (Mazelen),
Maurice Hilleman (Bof)
Jonas Salk (Polio)
Leonard Hayflick (WI-38 cellijn)

Download dit gratis e-book op <https://diederikengelen.nl/masters-of-virology>

Of scan de code



Alle rechten voorbehouden. Deze uitgave is bedoeld voor educatieve doeleinden.

Niets uit deze uitgave mag voor commerciële doeleinden worden gebruikt zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de auteur.

Hoe worden vaccins gemaakt?

Het **Rijksvaccinatieprogramma** is de lijst van de vaccins die de **Nederlandse overheid** wil geven aan alle kinderen in Nederland.

Op de pagina 'Bijsluiters' van de website van het Rijksvaccinatieprogramma staan alle vaccins die in het kader van dit programma worden aangeboden op een rij.

Het eerste vaccin op deze lijst is het **BMR, (Bof, Mazelen, Rodehond) vaccin**, in Nederland is dit het **M-M-RVAXPRO vaccin**.



Vaccin in het kort

Hieronder staan alle vaccins van het Rijksvaccinatieprogramma op een rij. Je vindt er ook links naar de pagina Vaccin in het kort. Daar lees je meer over alle voordelen en nadelen van het vaccin. 'Vaccin in het kort' is een aanvulling op de officiële bijsluiter. Het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) heeft deze gemaakt.

BMR-vaccin	Verbergen ^
Patiëntenbijsluiter M-M-RVAXPRO (ga naar pagina 37)	→
Productinformatie M-M-RVAXPRO	→
Vaccin in het kort	→

Website rijksvaccinatieprogramma <https://rijksvaccinatieprogramma.nl/over-vaccineren/bijsluiters> (geraadpleegd 24 nov 2024)

Op het eerste gezicht zou je denken dat de overheid ons graag goed wil informeren.

Maar is dit wel zo?

De bijsluiter van het **M-M-RVAXPRO BMR-vaccin** zegt dat het vaccin geproduceerd is in **WI-38 humane diploïde longfibroblasten**.

Dit is heel technische taal.

Hoeveel mensen weten wat **WI-38 humane diploïde longfibroblasten** zijn?

Niet zo veel mensen denk ik.

Hoe kunnen mensen dan een goed geïnformeerde beslissing nemen over dit vaccin?

Bijsluiter van het BMR, (Bof, Mazelen, Rodehond) M-M-RvaxPro vaccin van het rijksvaccinatieprogramma, pagina 2

2. KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE SAMENSTELLING

Na reconstitutie bevat één dosis (0,5 ml):

Mazelenvirus ¹ Enders' Edmonston stam (levend, verzwakt)	niet minder dan 1×10^3 TCID ₅₀ *
Bofvirus ¹ Jeryl Lynn [Level B] stam (levend, verzwakt)	niet minder dan $12,5 \times 10^3$ TCID ₅₀ *
Rubellavirus ² Wistar RA 27/3 stam (levend, verzwakt)	niet minder dan 1×10^3 TCID ₅₀ *

* 50 % weefselcultuur infectieuze dosis

¹ geproduceerd in kippenembryocellen.

² geproduceerd in WI-38 humane diploïde longfibroblasten.

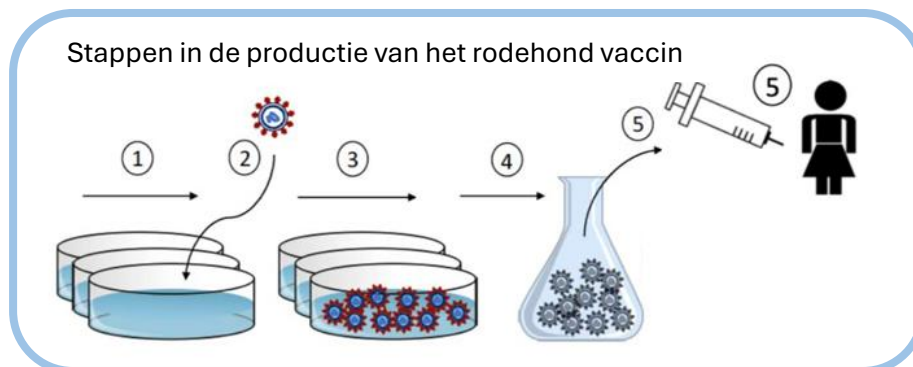
Website rijksvaccinatieprogramma klik op **Patientenbijsluiter M-M-RVAXPRO**

<https://rijksvaccinatieprogramma.nl/over-vaccineren/bijsluiters> (geraadpleegd 24 nov 2024) of zie **Europees Medicijnagentschap EMA**. https://www.ema.europa.eu/nl/documents/product-information/m-m-rvaxpro-epar-product-information_nl.pdf (geraadpleegd 24 nov 2024)

Volgens de bijsluiter van het **BMR vaccin** wordt het **rubella-** ofwel **rodehond-virus** in dit vaccin “geproduceerd in **WI-38 humane diploïde longfibroblasten**”.

Dit betekent in gewone taal dat de zogenaamde virussen in het vaccin worden vermenigvuldigd in **menselijke longcellen (longfibroblasten)**. In dit geval de longcellen van een **embryo**.

De zogenaamde rubellavirussen die geproduceerd zijn, worden verzameld en gebruikt in het **BMR, (Bof, Mazelen, Rodehond) vaccin**.



1 Bereid groeimedium voor virussen. (de longcellen van een menselijk embryo)

-> WI-38 menselijke diploïde longfibroblasten.

2 Besmet de menselijke embryocellen met het rubellavirus

-> Wistar RA 27/3.

3 Laat de virussen groeien.

4 Verzamel de virussen en voeg hulpstoffen toe (om het immuunsysteem te stimuleren) en **conserveermiddelen** (om het vaccin te bewaren) etc.

5 Maak doses vaccin voor injectie.

Nou ja, dat is de theorie...

De realiteit is heel anders.

Maar om te begrijpen hoe het rodehond vaccin in het **BMR-vaccin** (Bof, Mazelen, Rodehond) - **M-M-RvaxPro** vaccin wordt gemaakt, moeten we iets meer weten over virologie en hoe virologen “dingen” maken.

Zoals reeds vermeld, zijn **WI-38 menselijke diploïde longfibroblasten** de **longcellen** van een **menselijke foetus die werd geaborteerd toen deze 16 weken oud was**.

In de virologie worden deze WI-38 menselijke diploïde cellen een **cellijn of celstam genoemd**. En geloof het of niet, het **verzwakte/afgezwakte rubellavirus**, het Wistar RA 27/3, is ook een cellijn/celstam.

(1) Het **eerste** dat we dus moeten begrijpen van de productie van vaccins is **hoe celstammen/cellijnen worden gemaakt**, zodat we kunnen begrijpen hoe de WI-38-celstam en de zogenaamde Wistar RA27/3-rubella-celstam zijn gemaakt.

(Het is ook interessant om te onderzoeken hoe de mazelen celstam is gemaakt, aangezien dit op een zeer vergelijkbare manier is gebeurd.)

(2) De **volgende stap** is te begrijpen **hoe deze twee celstammen/cellijnen** worden gebruikt bij de **massaproductie** van het zogenaamde **rubellavaccin**.

(3) Wanneer virologen celstammen zoals de Wistar RA27/3 rubella-celstam en de mazelencelstam maken, verwijderen ze **nooit** het vermeende rodehond- of mazelen virus uit de menselijke monsters die het virus zouden bevatten.

Het enige dat ze doen is het **kweken/cultiveren van de cellijnen die de vermeende virussen bevatten**.

We onderzoeken waarom dit het geval is en wat hun motieven hiervoor zijn.

(4) Sommige bacteriofagen zijn zelfs kleiner dan bepaalde vermeende virussen en zijn wél geïsoleerd. Dus als virologen écht vermeende virussen wilden isoleren, hoe zouden ze dat dan kunnen doen?

Hier bekijken we **hoe je bacteriofagen kunt isoleren uit rioolwater- en bodemonsters**.

(5) Conclusie: Wat zegt dit alles over de huidige stand van de microbiologie?

Hoofdstukken in dit document

(1) Hoe cellijnen worden gemaakt

- (a) Hoe je een cellijn maakt in 4 stappen
- (b) Hoe Leonard Hayflick cellijnen maakte op het Wistar Instituut in de jaren '60
- (c) Hoe Leonard Hayflick de **WI-38 cellijn** maakte in **1962**
- (d) Hoe Stanley Plotkin de **Rubella virus Wistar RA 27/3 cellijn** maakte in **1964**
- (e) Hoe John Enders de **Measles virus Enders Edmonston cellijn** maakte in **1954**

(2) Hoe het mazelen en rodehond vaccin worden geproduceerd

(3) Waarom virologen alleen cellen hebben gekweekt en nooit een micro-organisme dat 'virus' wordt genoemd, hebben 'geïsoleerd'

(4) Als virologen echt vermeende virussen zouden willen isoleren, hoe zouden ze dat dan kunnen doen?

(5) Conclusie: wat zegt dit alles ons over de staat van de microbiologie vandaag?

Appendix 1: Definitie van woorden die in microbiologie en virologie gebruikt worden

Appendix 2: Verwijzingen en weblinks

1(a) Hoe cellijnen worden gemaakt in 4 stappen

Laten we kijken hoe **cellijnen** worden gemaakt van **dierlijke** en **menselijke embryo's**. We beginnen met het voorbeeld van een cellijn gemaakt van hippocampus- (hersen)cellen van een muizenembryo.

Hoe maak je een cellijn?

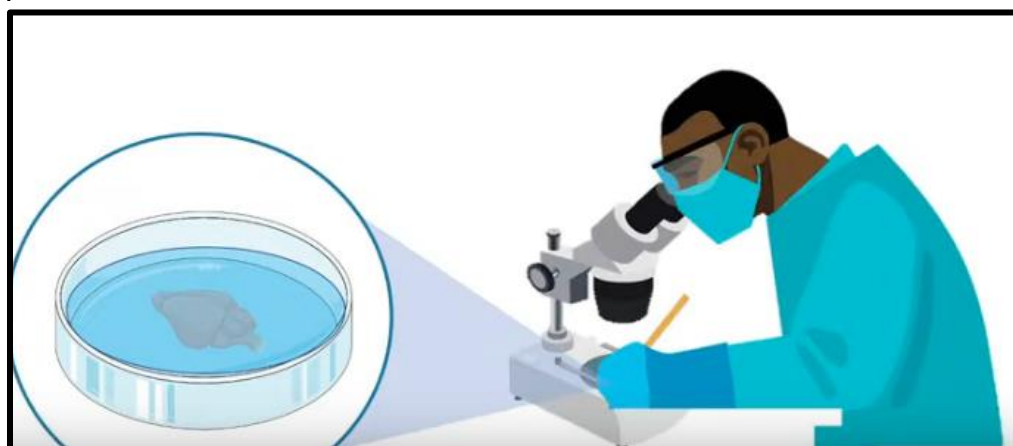
Stap 1 Verkrijgen van de nodige cellen van een geschikt embryo



- Selecteer een **muizenfoetus** van de juiste leeftijd en verwijder de foetus uit de moeder



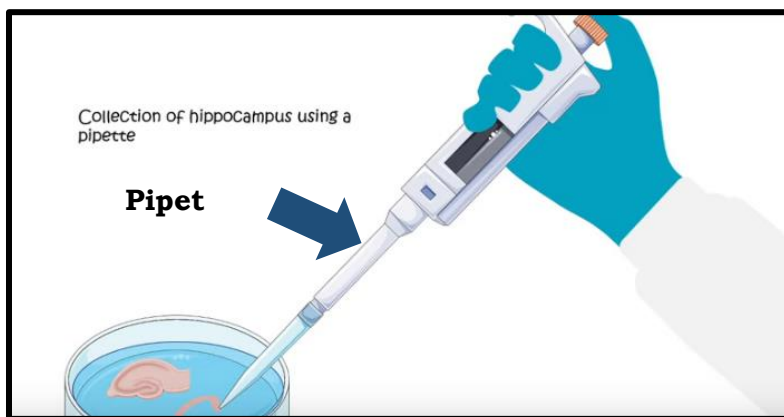
- Snijd de **hersenen** met de gewenste 'explantaatorganen of -weefsels' eruit



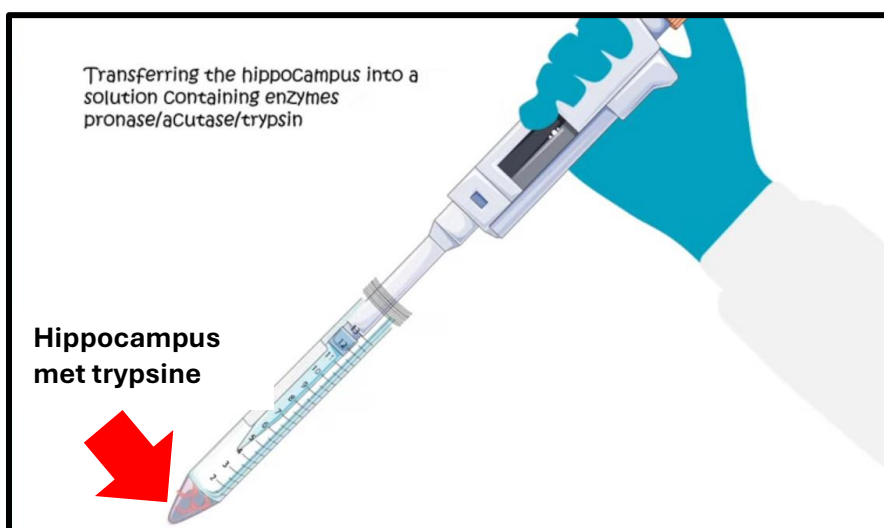
- Snijd de **hippocampus** uit de **hersenen** onder een microscoop.

(De **hippocampus** is een deel van de hersenen, menselijke hersenen hebben ook een **hippocampus**.)

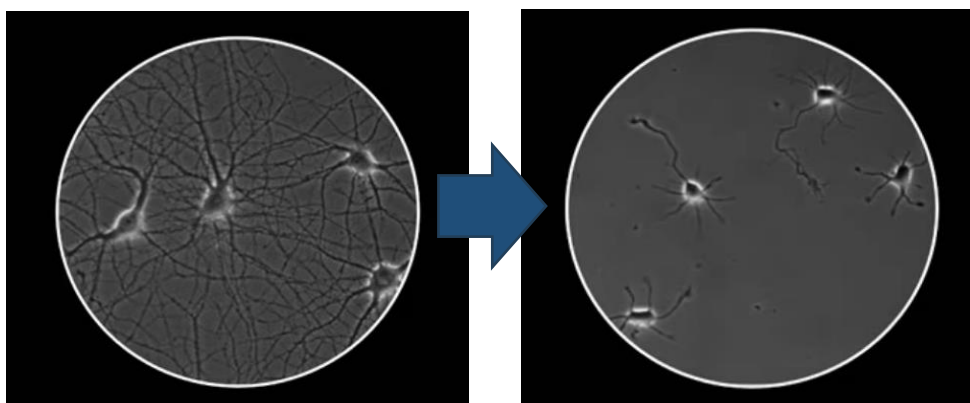
Stap 2 Bereid de cellen voor op kweek



- Zuig de **hippocampus** op met een **pipet** en breng deze over naar een **reageerbuis**.



- Voeg **trypsin** of soortgelijke enzymen toe. Trypsine **breekt het weefsel af** dat de cellen met elkaar verbindt om een '**cel suspensie**' te creëren. Dit wordt '**cel dissociatie**' genoemd.



- Hersencellen **voor en na** het gebruik van trypsin

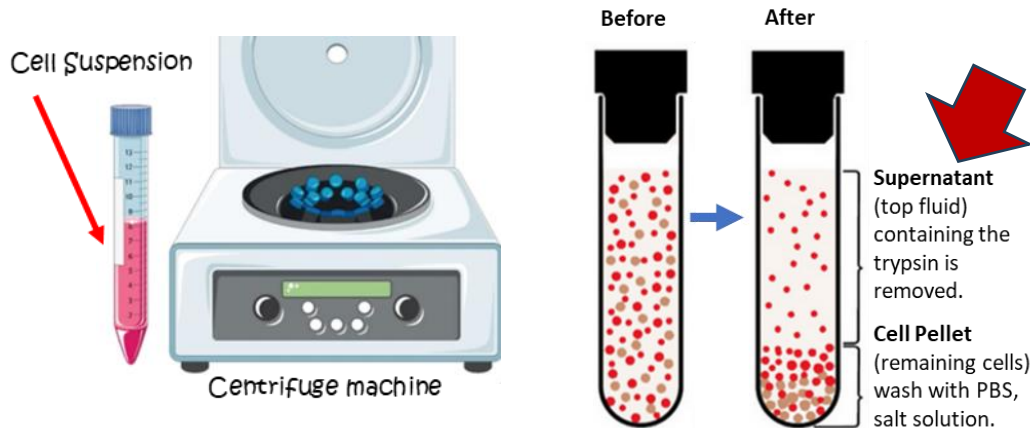
Op de foto hierboven zie je dat het **celweefsel** dat de cellen met elkaar verbindt, is **afgebroken** en dat de synapsen tussen de hersencellen zijn verwijderd. De cellen leven nog steeds, maar groeien niet meer als weefsel, maar als losse cellen in een '**cel suspensie**'.

- Als de cellen eenmaal '**gedissocieerd**' zijn moet de **trypsine verwijderd** worden omdat het giftig is en de groei van de cellen verstoort.

Dit gebeurt in 2 stappen:

(a) **Centrifugeer** de cel suspensie en verwijder de **supernatant** (bovenste vloeistoflaag) waar de trypsine in zit.

(b) **Was (of spoel)** het **celpellet**, de resterende cellen op de bodem van de reageerbuis, met **PBS** (zoutoplossing).

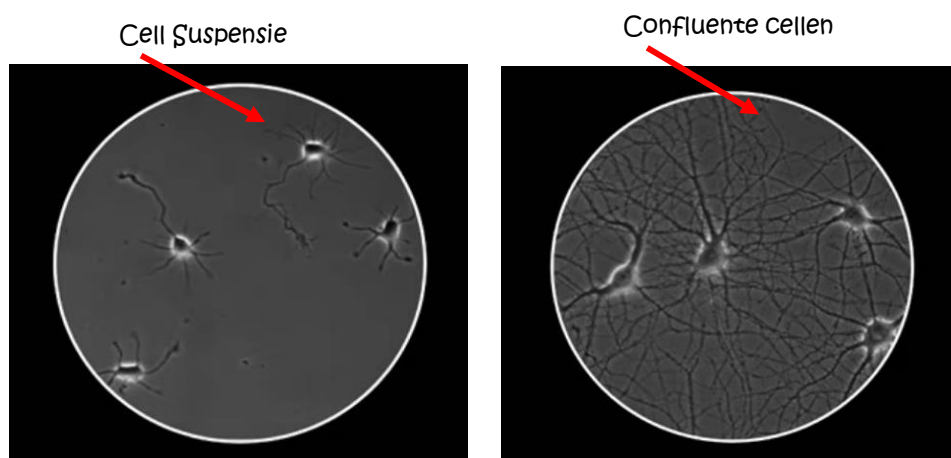


Stap 3. Laat de cellen groeien

- Meng de celpellet, de resterende cellen in de reageerbuis, met wat **vloeibaar voedsel** dat '**celkweekmedium**' wordt genoemd en plaats dit in een **Petri schaaltje** of andere bak om te laten groeien. (Dit 'voedsel' bestaat voornamelijk uit serum (**bloed**) van **dierlijke foetussen**, bijvoorbeeld kalveren.)

Na ongeveer **3 weken (21 dagen)** zullen de cellen opnieuw bindweefsel vormen. De cellen beginnen te groeien zoals ze dat in het lichaam zouden doen. (Omdat de ontlede cellen hersencellen zijn, zullen ze opnieuw synapsen vormen, zoals je hieronder kunt zien.)

In het begin zullen de cellen in de kweek uitgroeien tot een **monolaag**. Een monolaag is een **enkele laag cellen**.



Hersencellen voor en na 3 weken groei in een celcultuur

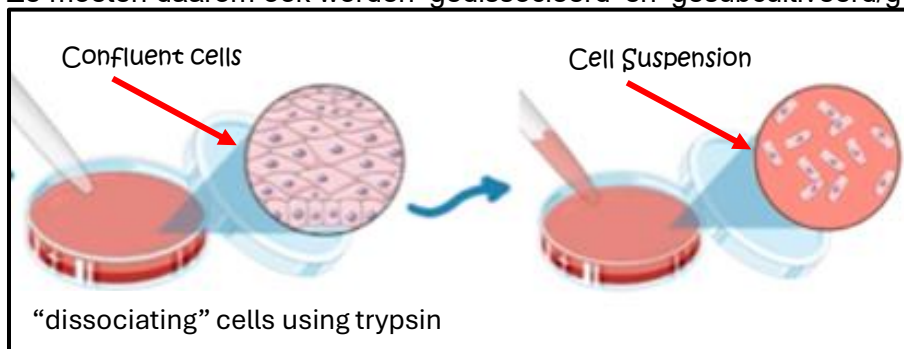
Na enige tijd zullen de cellen in een kweek echter niet meer als individuele cellen groeien, maar meer als weefsel, de ene bovenop de andere. Hierdoor vertraagt de groei van de celkweek of stopt deze volledig. Wetenschappers noemen dit **confluentie**. Ze zeggen dat de cellen **confluent** zijn geworden.

Stap 4. Subcultiveer / passeer de cellen

Na ongeveer **3 weken** worden de cellen opnieuw gedissocieerd met behulp van **trypsine** en vervolgens **gesubcultiveerd/gepasseerd**, verdeeld in **2 of meer 'subculturen'**.

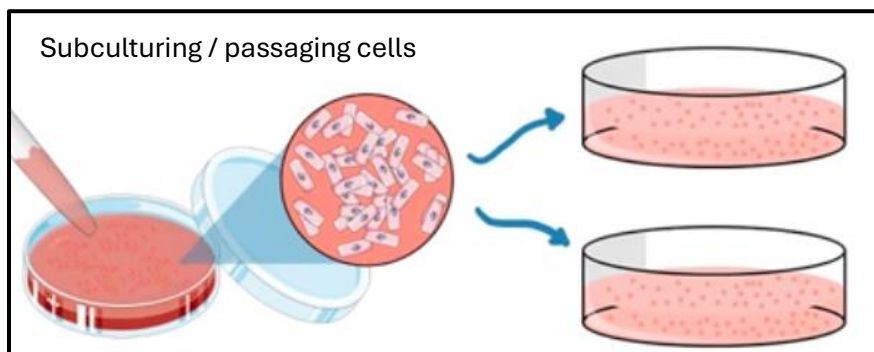
Na ongeveer 3 weken hebben ook de cellen in de kweek zich vermenigvuldigd en is de celgroei vertraagd of gestopt. Dit gebeurt omdat ook deze cellen **confluent** zijn geworden, ze groeien niet langer als unieke cellen, maar meer als celweefsel, hun natuurlijke manier van groeien.

Ze moeten daarom ook worden 'gedissocieerd' en 'gesubcultiveerd/gepasseerd'.



- Voeg **trypsine** toe om de cellen te 'dissociëren' en opnieuw een 'cel suspensie' te creëren.

Zoals reeds vermeld, breekt **trypsine** het weefsel dat de cellen met elkaar verbindt af, maar het is giftig **en moet dus worden verwijderd**. (Zie stap 2: De cellen voorbereiden voor kweek)



- Verdeel ook deze celsuspensie weer in twee of meer 'subculturen'.

Cellen moeten regelmatig worden gesubcultiveerd/gepassageerd om de celgroei in stand te houden. (Als dit niet gebeurt, gaan ze weer groeien als weefsel in plaats van gesuspenseerd in vloeistof (cel suspensie).

Het aantal keren dat een celstam of cellijn is gesubcultiveerd, wordt het **populatieverdubbelingsniveau (PDL)** genoemd. Een **PDL van 8** betekent bijvoorbeeld dat een celstam of cellijn **8 keer is gesubcultiveerd of gepassageerd**.

Deze uitleg wordt gegeven in de volgende 3 video's:

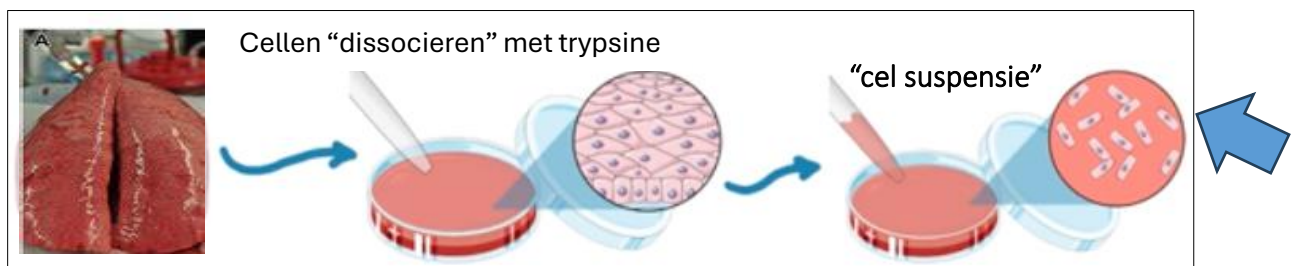
Video: Primary Cell culture and cell line/Cell culture basics,
<https://www.youtube.com/watch?v=9BvTFowr0rI&t=131s> (geraadpleegd 6 nov 2024)

Video: Sub-culturing cells/Cell culture basics,
<https://www.youtube.com/watch?v=Oo36pvP0TrI> (geraadpleegd 9 nov 2024)

Video: Animal cell culture media,
<https://www.youtube.com/watch?v=UV7T9JsxdXA> (geraadpleegd 9 dec 2024)

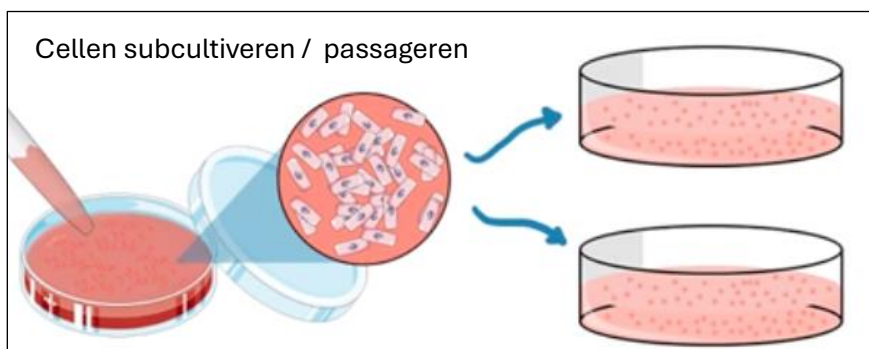
Laten we nu dit hele proces samenvatten door te beschrijven hoe je een **cellijn of celstam** maakt van het **longweefsel** van een **menselijk embryo**.

1. Haal een baby bij zijn moeder weg en snijd hem open. Snijd de **longen eruit**, want die zijn **nodig als 'explantweefsel'** voor je kweek.



2. Gebruik **trypsine** -> '**dissocieer**' de longcellen en maak een '**cel suspensie**'.

Centrifugeer de suspensie en verwijder het supernatant (bovenste vloeistof) dat de trypsine bevat. Verwijder de trypsine verder door de resterende cellen met **PBS** (zoutoplossing) te **spoelen**.



3. Laat de cellen groeien in een '**celkweekmedium**', vloeibare voeding voor cellen. (Dit bestaat voornamelijk uit serum (bloed) van dierlijke foetussen, bijvoorbeeld kalveren.)

4. Na ongeveer 10 dagen '**dissocieer**' je de cellen opnieuw met behulp van **trypsine** en **subcultiveer/passeer** je ze, wat betekent dat je ze **in twee** of meer '**subculturen**' verdeelt.

Dit is hoe je een **cellijn** / **celstam** maakt van een **menselijk embryo**.

Volgens deze procedure is ook de **WI-38 cellijn** gemaakt. Zoals we zagen is de WI-38 cellijn een belangrijk onderdeel van het **BMR-vaccin** dat onderdeel is van het Rijksvaccinatieprogramma.



Laten we in het volgende hoofdstuk kijken hoe **Leonard Hayflick**, de maker van de **WI-38 cellijn**, te werk ging bij het maken van **cellijnen** in de jaren '60. Hij werkte toen voor het Wistar Instituut. Het **Wistar Instituut** was in de jaren '60 een van de belangrijkste laboratoria voor het **ontwikkelen van vaccins**.

De processen en technieken die Hayflick gebruikte bij het ontwikkelen van de WI-38 cellijn werkwijze vormen de **basis van de celcultuurtechnieken** die ook tegenwoordig nog op grote schaal worden gebruikt voor de **ontwikkeling en productie van vaccins**.

1(b) Hoe Leonard Hayflick in de jaren '60 cellijnen maakte bij het Wistar Instituut

Experimental Cell Research 25, 585–621 (1961)

585

THE SERIAL CULTIVATION OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS¹

L. HAYFLICK and P. S. MOORHEAD

Wistar Institute of Anatomy and Biology, Philadelphia, Pa., U.S.A.

Received May 15, 1961

L. Hayflick et al., "The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains," *Experimental Cell Research*, Vol 25v(1961), p 585-621. <https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/The+serial+cultivation+of+human+diploid+cell+strains.pdf>

Stap 2. Prepareren van de cellen voor cultivering

Zoals je hieronder kunt lezen, waren er twee methoden om het primaire weefsel (bv. de weefsels en organen uit menselijke **embryo's /foetussen**, verkregen door abortus, te prepareren voor "**cel-cultivering**".

Ofwel werd **trypsin** gebruikt om het celweefsel af te breken en een 'cel suspensie' te maken, ofwel werd weefsel **gefragmenteerd**, in andere woorden, **in stukjes gehakt**. (Hayflick gaf de voorkeur aan het gebruik van trypsin omdat het meer cellen opleverde van de vergaarde weefsels en organen)



Blake-flessen

Hij geeft een voorbeeld van de **in stukjes gehakte longen van een drie maanden oude foetus** die met trypsin werden behandeld en over 4 Blake-flessen verdeeld (standaard flessen die in de microbiologie worden gebruikt voor cultivering van cellen).

Isolation of primary cells.—Two methods of cell cultivation from primary tissue were employed in this study with identical qualitative results. The use of trypsin yielded far more cells initially than cultures prepared from fragmented or minced tissue. Since high cell yields were not required from the starting tissue, most cultures were started from fragmented or minced tissue. Such preparations gave fewer cells initially than could have been obtained from tissue treated with the enzyme preparation. Minced preparations were obtained by cutting the tissue in a Petri dish containing GM with paired scalpels or a scissors until the size of each piece approximated 1–4 mm³. Fragmented preparations were obtained by tearing apart the tissue with two pairs of forceps in a Petri dish containing GM until the pieces could no longer conveniently be grasped and shredded. The entire contents of the dish were emptied into one or more Pyrex Blake bottles (surface area 100 cm²), depending on the size of the original starting tissue. The fragmented lungs, for example, from a three-month-old human fetus were usually placed in four Blake bottles. Treatment of tissue with trypsin was done, in general, according to the method of Fernandes [11].

p587

Stap 3. Laat de cellen groeien en vermenigvuldigen

Nadat de cellen waren behandeld met trypsine of fijngehakt/gefragmenteerd, werd er wat **groeimedium** (GM) toegevoegd en werden ze geïncubeerd. Wanneer Hayflick het heeft over “cellen planten”, bedoelt hij alleen maar dat hij wat GM heeft toegevoegd en daarmee de **groeifase van de kweek** heeft gestart.

Hij vermeldt dat als het verzamelde foetale weefsel ‘levensvatbaar’ was, sommige cellen na **3 dagen incubatie bij 36 °C** in de flessen konden worden aangetroffen.

Het is interessant om op te merken dat het volgens Hayflick niet belangrijk is om ‘te verwerken’, dat wil zeggen het foetus- of foetaal weefsel onmiddellijk na ontvangst voor te bereiden. Als de foetus of het foetale materiaal (fijngehakte lichaamsdelen) levensvatbaar zijn, kunnen ze minstens 5 dagen bij kamertemperatuur, of 5 °C, worden bewaard zonder dat ze hun levensvatbaarheid verliezen.

Initiation of cultures.—If the fetal tissue was viable when received, cells could be found in bottles planted by any one of the methods described after about three days of incubation at 36°C. When growth was first observed the cultures were refed. The spent medium and any fragments present were discarded. If additional bottles were required these fragments could be replanted in a new bottle. Fresh GM was added and as soon as the cells formed a confluent sheet the cultures were subcultivated. This normally occurred in about 10 days. Periodic feeding of the cultures was done when a sharp drop in the pH of the medium made it necessary.

In the beginning of this study attempts were made to minimize the period of time elapsing between the receipt of the fetus or fetal tissue and its cultivation in vitro. It was subsequently found that if either was viable upon receipt it could be kept for at least 5 days at room temperature, or 5°C, without apparent loss of viability. Minced tissue, kept in a minimal amount of GM has been found to be viable for periods of time up to 3 weeks, either at room temperature or 5°C.

p 588 (GM betekent Groei Medium, in vitro – buiten het lichaam, in vivo- binnen het lichaam)

Eagle's Medium is een celweekmedium dat is ontwikkeld door Harry Eagle en voor het eerst werd gepubliceerd in Science Magazine in 1959. Het is naar verluid gebaseerd op zes zouten, glucose, dertien essentiële aminozuren en acht vitamines.

Het gebruikte groeimedium bevatte **kalfs-serum**, het **bloed van koeienfoetussen** die worden gedood en waarvan het bloed wordt afgetapt om celculturen te kweken. Van het bloed van koeienfoetussen wordt gezegd dat het speciale groei-elementen bevat die nodig zijn om de cellen in een kunstmatige omgeving te laten vermenigvuldigen.

Het groeimedium bevat ook twee zeer giftige **antibiotica**, waaronder penicilline en streptomycine. Deze worden toegevoegd om de groei van bacteriën in de cultuur te stoppen.

MATERIALS AND METHODS

Media.—The growth medium (GM) used was Eagle's Medium in Earle's Balanced Salt Solution [8] supplemented with 10 per cent calf serum.¹ Twenty-five ml of 5.6 per cent NaHCO₃, 10⁵ units of penicillin and 10⁵ µg of streptomycin, were added per liter. The final pH of the medium was 7.3, and before use it was brought to 37°C. Phosphate buffered saline (PBS) was prepared as described by Dulbecco and Vogt [7]. Difco trypsin (1:250) was prepared as a 0.25 per cent solution in PBS and supplemented after filtration with the antibiotics described above.

p 587

Step 4. Subcultiveren /passageren van de cellen

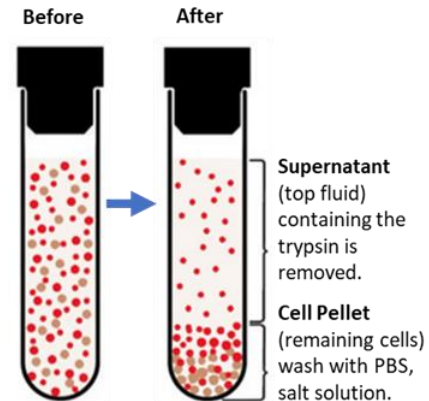
Zodra de celculturen volledig waren 'uitgespreid' (een monolaag van cellen hadden gevormd), werden ze om de drie tot vier dagen gesubcultiveerd.

Hayflick beschrijft hoe trypsine werd gebruikt om cellen 'los te maken', wat betekent dat cellen werden 'gescheiden' en een celsuspensie werd gecreëerd die vervolgens werd gecentrifugeerd om de trypsine te verwijderen.

De 'trypsineoplossing' werd 'gedecanteerd', wat betekent dat deze werd verwijderd en er wat groeimeidium (GM) werd toegevoegd en vervolgens afgezogen (met een pipet) om de trypsine verder te verwijderen.

Interessant is dat hij GM gebruikt in plaats van de gebruikelijke PBS (zoutoplossing) om de cellen te wassen.

Ten slotte werden de cellen verdeeld over twee Blake-flessen en het GM werd toegevoegd.



Dit werd een 2:1 splitsing genoemd.

Subcultivation of *confluent cultures*.—As soon as cell cultures were fully sheeted they were put on a strict schedule of subcultivations, which were done alternately every third and fourth day. The spent GM was discarded and trypsin solution was added to each bottle. After incubation at 37°C, or room temperature, for 15 min. the enzyme solution containing the dislodged cells was centrifuged for 10 min at 600 r.p.m. in an International Size 2 Model V Centrifuge. The trypsin solution was decanted after centrifugation and the cells were resuspended in a small amount of GM, aspirated with a 5 ml pipette, and evenly distributed to two Blake bottles. Sufficient fresh medium was added to each bottle to cover the surface adequately. This was called a 2:1 split. In the early part of this study split ratios of 3:1 were used with equal success. Incubation was carried out at 36°C.

p 588

Definities volgens Hayflick

Primaire cellen zijn cellen die afkomstig zijn van het oorspronkelijke weefsel en voor het eerst in vitro (kunstmatig buiten het lichaam) zijn gekweekt.

Een celstam is een populatie cellen afkomstig van dierlijk weefsel, die meer dan eens in vitro (kunstmatig buiten het lichaam) is gekweekt en niet de eigenschap heeft om oneindig vaak te worden doorgekweekt, terwijl het aantal chromosomen dat kenmerkend is voor het oorspronkelijke weefsel behouden blijft.

Een cellijn is een populatie cellen die afkomstig is van dierlijk weefsel en in vitro (kunstmatig buiten het lichaam) is gekweekt door middel van seriële subcultiveringen gedurende onbepaalde tijd, waarbij het aantal chromosomen dat kenmerkend is voor de bron is gewijzigd.

WEB of STORIES

REGISTER SIGN

STORYTELLERS | THEMES | BLOG | ABOUT | HELP

Search

A STORY LIVES FOREVER



How to isolate your own cells

Leonard Hayflick Scientist

Related Transcript Biography In

Title: How to isolate your own cells

Listeners: Christopher Sykes

Tags: human cells, trypsin, skin, bovine serum, growth medium

Duration: 2 minutes, 28 seconds

Date story recorded: July 2011

Date story went live: 08 August 2012

Interview met Leonard Hayflick in juli 2011 (deel 50) : How to isolate your own cells

(Interviewer Christopher Sykes)

<https://www.webofstories.com/play/leonard.hayflick/50> (geraadpleegd 7 jan 2025)

Hayflick legt in zijn eigen woorden uit hoe trypsine wordt gebruikt om de cellen in een celweek te scheiden. Hij beschrijft ook hoe ze **serum** gebruiken, dat wil zeggen **het bloed van kalveren en andere dieren**, om de cellen in de celculturen te 'voeden' en in leven te houden.

1. Verkrijg de benodigde cellen uit uw eigen weefsel. 2. Voorbereiding van cellen voor kweek,

Transcript:

Je kunt heel gemakkelijk cellen isoleren van jezelf of van een vrijwilliger, meestal zonder al te veel pijn. Ik heb het bijvoorbeeld bij mezelf gedaan en ik zal het illustreren. Je kunt bijvoorbeeld in een deel van je weefsel, zoals je pols, knippen totdat het een beetje gevoelloos is. Vervolgens trek je met een pincet een haar omhoog, zodat je een piramide van huid krijgt, en dan snijd je de top van die piramide af met een steriel scalpel, wat natuurlijk een beetje pijn doet, maar gemakkelijk te verdragen is, en je neemt die haar met de daaraan vastzittende huid en doet die in een bakje met een enzym dat trypsine heet. De trypsine lost de stoffen op die de cellen in een weefsel bij elkaar houden.

Het is net als bij een bakstenen muur: je lost de mortel in een bakstenen muur op en maakt zo de miljoenen cellen vrij, want er zitten miljoenen cellen in dat kleine stukje weefsel. Vervolgens neem je die cellen en doe je ze in een **groeimedium**.

Het medium bestaat uit bekende chemicaliën, zoals aminozuren, bepaalde zouten, natrium, kalium, calcium, fosfor, enz. En omdat we voor de meeste cellen, zeker voor normale cellen, niet weten wat hun groeibehoeften in chemische termen zijn, moeten we onze onwetendheid compenseren door serum van een dier aan het medium toe te voegen. **Meestal bestaat ongeveer 10% van het volume van het groeimedium uit serum.**

Het kan een beetje vernederend zijn om te beseffen dat je eigen cellen, of menselijke cellen, heel goed groeien in serum van een koe, een paard of verschillende andere diersoorten. Je hebt geen menselijk serum nodig om menselijke cellen te kweken, hoewel ze ook in menselijke cellen groeien, maar dat is natuurlijk veel moeilijker te verkrijgen en duurder. **Dus over het algemeen gebruiken mensen kalfsserum om hun onwetendheid te verdoezelen, en dat is tot op de dag van vandaag nog steeds zo.**

WEB of STORIES

[STORYTELLERS](#) | [THEMES](#) | [BLOG](#) | [ABOUT](#) | [HELP](#)

A STORY LIVES FOREVER

REGISTER

SIGN IN

Search

Q

Related

Transcript

Biography

Info

Title: Cell division

Listeners: [Christopher Sykes](#)

Tags: normal cells, growth medium, glass flask, incubator, cell division, cancer cells, trypsin, subcultivation

Duration: 3 minutes

Date story recorded: July 2011

Date story went live: 08 August 2012

Cell division

Leonard Hayflick Scientist

Play all

Interview met Leonard Hayflick in juli 2011 (deel 51) : celdeling

(Interviewer Christopher Sykes)

<https://www.webofstories.com/play/leonard.hayflick/51> (geraadpleegd 29 jan 2025)

https://www.youtube.com/watch?v=NC65_b1sGiY&list=PLVV0r6CmEsFyL_YYxHe6RzAARP6eJ_8wC&index=51 (geraadpleegd 29 jan 2025)

3. Laat de cellen groeien/vermenigvuldigen 4. Subcultiveren / passageren van de cellen

Transcript:

Dus de cellen zijn... nu heb je 1 miljoen cellen of meer, je doet ze bijvoorbeeld in een rechthoekig vat en voegt dan het medium toe dat ik zojuist heb beschreven. Het kweekvat wordt vervolgens afgesloten met meestal een rubberen stop, en tegenwoordig zijn er meer geavanceerde manieren om dit te doen, maar dit is in het algemeen hoe het gaat. En je legt deze kolf op zijn kant, zodat de lange zijde van de rechthoek plat op het oppervlak van de incubator ligt waarin je de kweek hebt geplaatst.

Nu komen de cellen in feite terecht op de bodem van de lange zijde van de kolf die je plat op het oppervlak van de incubator hebt gelegd. Binnen een paar uur zullen de cellen, vanwege hun gewicht, hoewel ze heel weinig wegen, op de bodem van de kolf terechtkomen, aan het glazen oppervlak blijven kleven en zich beginnen te verspreiden. Op dat moment hebben ze een bolvorm. Na een paar uur verspreiden ze zich en na een dag of twee beginnen ze zich te delen, zodat binnen ongeveer een week – dit zijn ruwe cijfers – de cellen zich zodanig hebben gedeeld dat ze de bodem van deze ene kolf bedekken en dan doen ze iets heel belangrijks. Ze stoppen met delen omdat de signalen die ze ontvangen wanneer ze naburige cellen raken, hen vertellen dat ze moeten stoppen met delen. Daarvoor was er natuurlijk veel bloot glas, zodat ze voldoende ruimte hadden om zich te delen. In tegenstelling tot kankercellen, die tot op zekere hoogte blijven groeien wanneer ze dat signaal ontvangen en in beperkte mate op elkaar gaan groeien, doen normale cellen dat niet, tenzij je zeer geavanceerde omstandigheden gebruikt die niet relevant zijn voor dit verhaal.

Als je nu meer cellen wilt – ze zijn gestopt met delen omdat ze de bodem van de kolf hebben bedekt – dan is het noodzakelijk, als je meer cellen wilt en dat is een belangrijk onderdeel van het verhaal, dat je de gebruikte media weggooit. De cellen blijven achter omdat ze aan de glazen bodem vastzitten. Vervolgens voeg je een enzym toe, trypsine genaamd, dat hetzelfde doet als in het oorspronkelijke stukje weefsel en dat de cellen van elkaar en van het glazen oppervlak losmaakt. Nu kun je ze bijvoorbeeld in twee gelijke delen verdelen, ze in twee rechthoekige flessen van gelijke grootte doen en dat proces helemaal opnieuw beginnen. In laboratoriumjargon wordt dat een splitsing of een subcultuur genoemd, en ik zal die termen later ook gebruiken.

1(c) Hoe Leonard Hayflick de WI-38 cellijn maakte in 1962

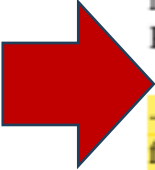
Cell division

In 1962, Leonard Hayflick created a cell strain from an aborted fetus.



The woman was four months pregnant, but she didn't want another child. In 1962, at a hospital in Sweden, she had a legal abortion.

The fetus — female, 20 centimetres long and wrapped in a sterile green cloth — was delivered to the Karolinska Institute in northwest Stockholm. There, the lungs were dissected, packed on ice and dispatched to the airport, where they were loaded onto a transatlantic flight. A few days later, Leonard Hayflick, an ambitious young microbiologist at the Wistar Institute for Anatomy and Biology in Philadelphia, Pennsylvania, unpacked that box.



Working with a pair of surgical scalpels, Hayflick minced the lungs — each about the size of an adult fingertip — then placed them in a flask with a mix of enzymes that fragmented them into individual cells. These he transferred into several flat-sided glass bottles, to which he added a nutrient broth. He laid the bottles on their sides in a 37 °C incubation room. The cells began to divide.

So began WI-38, a strain of cells that has arguably helped to save more lives than any other created by researchers. Many of the experi-

M. Wadman., “Medical research: Cell Division,” *Nature*, Vol 498 (27 juni 2013), p. 422-426.

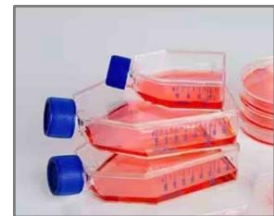
<https://www.nature.com/articles/498422a> (niet geraadpleegd, betaalde link)

https://www.researchgate.net/publication/242333147_Medical_research_Cell_division (geraadpleegd 12 jan 2025)

In **1962** creëerde **Leonard Hayflick** de **WI-38 cellijn** uit een **geaborteerde foetus**.

Hier beschrijft hij hoe hij dit deed.

Met behulp van **chirurgische scalpels** hakte Hayflick de longen **fijn** en plaatste ze vervolgens in een kolf met een **mengsel van enzymen** (waarschijnlijk trypsine) die ze in afzonderlijke cellen fragmenteerde (dissocieerde).

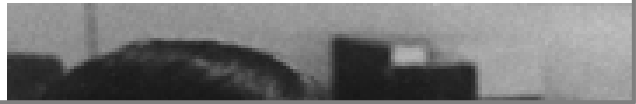


Deze bracht hij over naar verschillende platte glazen flessen, waaraan hij een **voedingsbrouwsel** toevoegde, oftewel een **celkweekmedium/groeimeidium**.

Hij legde de flessen op hun kant in een **incubatieruimte van 37 °C**. De cellen begonnen zich te delen. **Zo ontstond de WI-38-celijn.**

1(d) Hoe Stanley Plotkin de Rubella virus Wistar RA 27/3 celstam maakte in 1964

Hayflick also supplied WI-38 liberally to aspiring vaccine-makers. One was **Stanley Plotkin**, a Wistar scientist and a physician who had seen at first hand the effects of the huge rubella epidemic that swept the United Kingdom and the United States in the early 1960s. Rubella can be



M. Wadman., "Medical research: Cell Division," *Nature*, Vol 498 (27 juni 2013), p. 422-426.

<https://www.nature.com/articles/498422a> (niet geraadpleegd, betaalde link)

https://www.researchgate.net/publication/242333147_Medical_research_Cell_division (geraadpleegd 12 jan 2025)

In 1964 leverde Leonard Hayflick de **WI-38-celijn** aan **Stanley Plotkin**, die ook bij het Wistar Institute werkte.

Plotkin gebruikte deze om het **Rubella-virus Wistar RA 27/3-stam** en zijn **rubellavaccin** met het **vermeende rubellavirus** te maken.

Laten we eens kijken hoe de **Rubella-virus Wistar RA 27/3-stam** werd gemaakt.

Plotkin beschrijft hoe hij en anderen deze celstam maakten in een document getiteld:

"Studies of Immunization With Living Rubella Virus, Trials in Children With a Strain Cultured From an Aborted Fetus", S. Plotkin et al., American Journal of Diseases of Children, Vol 110 (1 Oct 1965), pp 381-382, 389.



Online gepubliceerd door:

- Semantic scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Studies-of-immunization-with-living-rubella-virus.-Plotkin-Cornfeld/0c65acb5c182860c0c80263e37fdf1c6e40d48b1> (geraadpleegd 30 sep 2025, alleen diagram is gratis te zien, rest is betaalde link)
Of
<https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildPlotkinRubellaVirus.pdf>
- <https://cogforlife.org/AmJDisChildPlotkinRubellaVirus.pdf>
(voor het eerst geraadpleegd 27 nov 2024)

Studies of Immunization With Living Rubella Virus

Trials in Children With a Strain Cultured From an Aborted Fetus

STANLEY A. PLOTKIN, MD; DAVID CORNFELD, MD; AND
THEODORE H. INGALLS, MD, MPH, PHILADELPHIA

The fetus was surgically aborted 17 days after the maternal illness and dissected immediately. Explants from several organs were cultured and successful cell growth was achieved from lung, skin, and kidney. All cell strains were found to be carrying rubella virus. As illustrated in Fig 1, fibroblastic cells from the kidney explant were subcultivated four times by trypsinization and 1:2 split, after which the supernatant fluid was harvested. This harvest was inoculated on stationary WI-38 diploid lung fibroblasts, to initiate infection in these cells. Three further passages were subsequently performed by serially inoculating supernatant tissue culture fluids on fresh WI-38 cultures. Two weeks after inoculation of the fourth set of WI-38 cell cultures, the supernatant fluid was harvested, pooled, and divided into aliquots.

Safety Tests: Before use in children, the following safety tests were performed: The material (Zie p 382)

1. Eerst legt hij uit hoe een baby werd geaborteerd en meteen ontleed.

2. Dan zegt hij dat explantaten van diverse organen succesvol werden gecultiveerd. Echter, **alleen de cellen van het nierexplantaat** werden gebruikt voor verdere experimenten.

Hij legt verder uit dat de "fibroblastische cellen van het nierexplantaat" 4 keer werden gesubcultiveerd met trypsine.

3. De **supernatant vloeistof** van deze niercultuur werd dan geïnoculeerd ofwel geïnjecteerd in **WI-38 cellen**.

(Hij beweert dat hij hiermee "**de infectie van de cellen**" in gang zet.

Met andere woorden, hij "**infecteert**" de **gezonde WI-38-cellen met het rubellavirus**.)

Materials and Methods

Derivation of Rubella Virus for Administration to Children.—Virological Techniques: The nutrient medium used for tissue culture was Eagle's Basal Medium with 10% inactivated calf serum added when cell growth was desired. Double strength of amino acids and vitamins was incorporated into the medium for culture of explants. The concentrations of antibiotics in each milliliter of medium were 100µg of penicillin, 40µg of streptomycin, 50µg of chlortetracycline or 50µg of neomycin, and 20µg of nystatin. Subcultivation of cells was performed with the aid

Dit is een belachelijke bewering, aangezien hij geen analyse heeft gemaakt van de inhoud van de **supernatant vloeistof**. Deze vloeistof had meer dan één type virus kunnen bevatten of zelfs bacteriën die resistent zijn tegen antibiotica.

Wat we wel weten en wat Plotkin wist, was dat de **supernatantvloeistof ten minste 4 soorten antibiotica** bevatte, aanwezig in het GM, en ook wat **trypsine**, aangezien dit werd gebruikt om de celculturen te **subcultiveren**. (Zie p. 381).

Dus het enige wat Plotkin deed, was WI-38-cellen injecteren met een giftig mengsel van antibiotica en trypsine.

(Zo maakte hij de Wistar RA 27/3-stam van het rubellavirus. Hij heeft het vermeende rubellavirus **nooit** uit de geaborteerde foetus '**geïsoleerd**' (verwijderd) om het te bestuderen.)

(Stap 3 werd nog 3x herhaald, 1x voor iedere keer dat de cultuur werd gesubcultiveerd.)

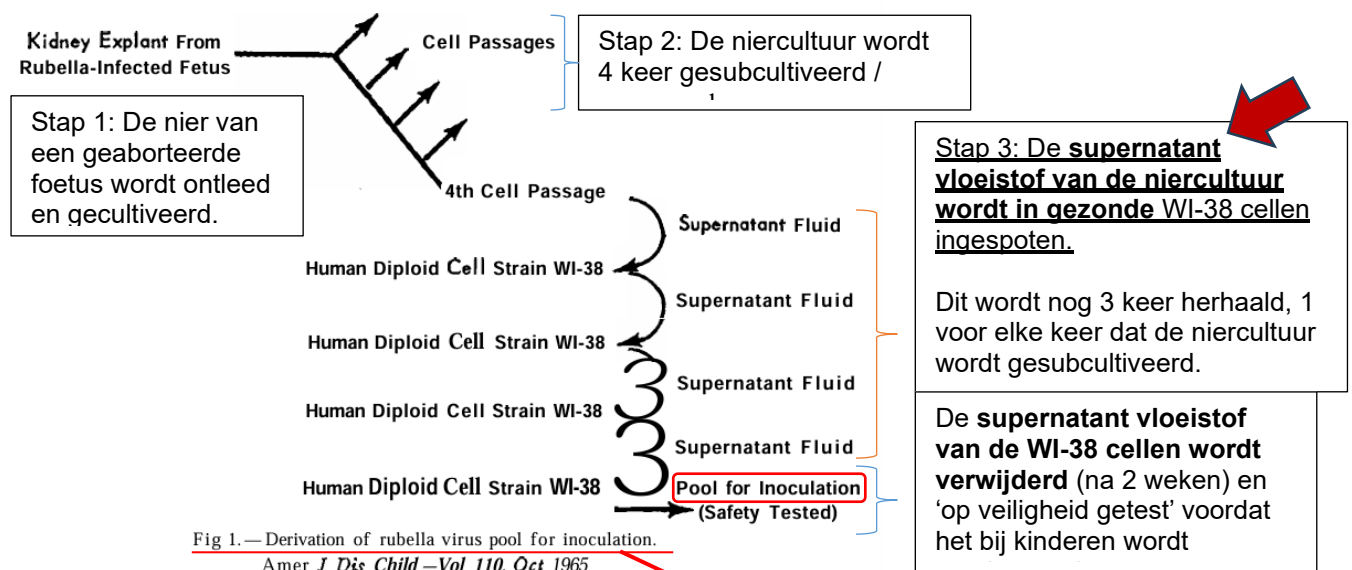
Ten slotte werd, **twee weken** na deze zogenaamde "**inoculatie van de WI-38-cellen**", de **supernatantvloeistof** uit de **WI-38 cellen 'geoogst'**, wat betekent dat deze werd verzameld en vervolgens 'op veiligheid getest' voordat deze **in kinderen werd geïnjecteerd** als een **zogenaamd "vaccin"**.

Dus in de woorden van Stanly Plotkin zelf is zijn **Rubella-virus Wistar RA 27/3-stam** niets meer dan een **WI-38-celkweek** die hij **injecteerde** met wat **supernatant vloeistoffen** vol antibiotica en trypsine uit de **nierkweek van een geaborteerde baby**.

De titel van zijn ‘wetenschappelijk artikel’ legt perfect uit wat hij maakte:

“Studies naar immunisatie met levend rubellavirus, proeven bij kinderen met een stam gekweekt uit een geaborteerde foetus”, *American Journal of Diseases of Children*, Vol 110 (okt 1965), p. 381-382, 389.

Het volgende diagram uit **pagina 382** van Plotkins artikel vat samen hoe hij zijn zogenaamde **Rubella-virus Wistar RA 27/3-stam** heeft gemaakt.



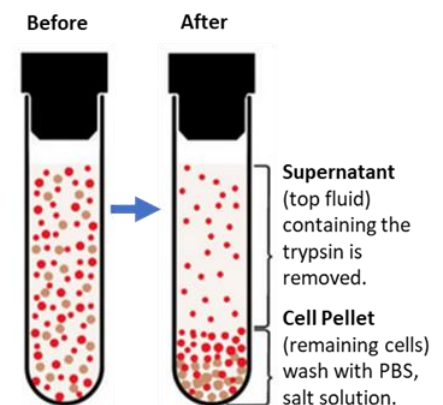
Plotkin noemde de **supernatant vloeistoffen** die hij verzamelde een **viruspool voor inoculatie**, in andere woorden “**vaccin**”, een **substantie die het ‘rubella virus’ bevatte**.

Zoals je zelf kunt lezen, bevatte het **nutrient medium’** of **GM (groei medium)** dat werd gebruikt om de cellen te cultiveren in Plotkin’s experiments ten minste **vier typen antibiotica**.

De **supernatantvloeistoffen** die uit de culturen werden genomen, zouden dus zowel deze toxines als sporen van trypsine hebben bevat, dat werd gebruikt om de cellen te subcultiveren.

Er kunnen verschillende **micro-organismen** in de supernatantvloeistoffen hebben gezeten.

Plotkin heeft deze echter nooit uit de supernatantvloeistoffen ‘geïsoleerd’ om ze te bestuderen. **Er staat in ieder geval nergens in zijn document een beschrijving hiervan.**



In 1969 publiceerde Plotkin een artikel waarin hij opnieuw de procedure beschreef die hij had gebruikt om de RA 27/3-rubellavirusstam te maken. Hij schrijft dat hij, na de **nierfibroblasten** van een geaborteerde foetus **vier keer** te hebben **gesubcultiveerd**, de **supernatant-vloeistof** uit de kweek "**rechtstreeks in een WI-38-kweek**" heeft **geïnoculeerd**, dat wil zeggen geïnjecteerd. Vervolgens stelt hij dat de cellen verder werden gesubcultiveerd in dezelfde celstam, namelijk de **WI-38-celkweek**.

Dit is nog meer bewijs dat Plotkin nooit het vermeende rubellavirus "geïsoleerd" heeft. Het enige dat hij deed was de cellen van een geaborteerde baby kweken en vervolgens de supernatantvloeistoffen uit deze celkweek in een andere celkweek injecteren.

Attenuation of RA 27/3 Rubella Virus in WI-38 Human Diploid Cells

Stanley A. Plotkin, MD; John D. Farquhar, MD;
and Michael Katz, MD, Philadelphia; and
Fritz Buser, MD, Bern, Switzerland

THE PROVENANCE of the RA 27/3 attenuated rubella strain has already been described in print.^{1,2} Detailed information was given at the London Conference just three months ago.³ Therefore we shall only outline the history of this strain, before proceeding to examine its in vitro characteristics and its behavior when inoculated in man.

In order to avoid the problem of passenger viruses, the RA 27/3 strain was isolated directly from naturally infected material in WI-38 human diploid fibroblast~.

Explant cultures were made of the dissected organs of a particular fetus aborted because of rubella, the 27th in our series of fetuses aborted during the 1964 epidemic. The third explant, which happened to be from kidney, was selected arbitrarily for further study. Fibroblast cells that grew out from this explant

could be subcultivated after several weeks. The presence of rubella virus in the supernatant fluids was confirmed. After four subcultivations of the infected kidney fibroblasts, the supernatant fluid was inoculated directly into a WI-38 culture. Once transferred to WI-38, the RA 27/3 rubella strain was passaged further in the same cell strain.

The RA 27/3 strain was tested again after four and eight passages in WI-38 incubated at 35 C. Subcutaneous inoculation of virus provoked much virus excretion, rash, and spread to contacts.

At this point, two sublines were developed, as illustrated in Table 1, the first by passage in WI-38 cells incubated at 35 C, and the second in the same cultures incubated at 33 C. After reaching the 13th WI-38 passage, the second subline was passaged in cultures incubated at 30 C.

Virus pools at four medium-passage levels were tested in man: the 11th and 14th passage levels of the first subline, and the 15th and 17th passage levels of the second. Although only two subjects were tested for each pool, the results were nevertheless striking (Table 2). The passages of the 35 C subline produced more virus excretion and more clinical reaction than the passages of the 30 C subline. In view of these results, the 35 C subline was

Plotkin zei dat hij de aanwezigheid van het virus in de supernatant-vloeistoffen bevestigde door deze "subcutaan", dat wil zeggen onder de huid, bij proefpersonen te injecteren.

Received for publication March 10, 1969.

From the Wistar Institute of Anatomy and Biology (Drs. Plotkin and Katz), and the Department of Pediatrics, University of Pennsylvania (Drs. Plotkin, Farquhar, and Katz), Philadelphia. Dr. Buser is in private practice in pediatrics, Bern, Switzerland.

Read before the International Conference of Rubella Immunization, Bethesda, Md, Feb 19, 1969. It was also read before the 23rd Symposium on Microbiological Standardization: Rubella Vaccines, London, Nov 19, 1968.

Reprint requests to the Wistar Institute, Philadelphia 19104 (Dr. Plotkin).

Amer J Dis Child—Vol 118, Aug 1969

S. Plotkin et al., "Attenuation of RA 27/3 Rubella Virus in WI-38 Human Diploid Cells," American Journal of Diseases of Children, Vol 118 (1969), pp 178-179. <https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildRA273inWI-38.pdf> (geraadpleegd 27 nov 2024)

Plotkin schrijft in zijn artikel dat hij **de aanwezigheid van het virus** in de **supernatantvloeistoffen** heeft bevestigd door deze “subcutaan”, dat wil zeggen onder de huid, bij proefpersonen te injecteren. Omdat sommigen **huiduitslag** en **uitscheiding** kregen, concludeerde hij dat dit te wijten was aan het vermeende virus. Hij beweerde ook dat het vermeende virus zich “verspreidde naar contacten”, hoewel hij geen uitleg geeft over hoe hij dit wetenschappelijk heeft geverifieerd.

Zoals reeds vermeld, zouden de **supernatantvloeistoffen** ten minste **vier soorten antibiotica** hebben bevat, waaronder penicilline. Van penicilline is bekend dat het bij veel patiënten huiduitslag veroorzaakt en dat dit een veel voorkomende bijwerking en allergische reactie op het antibioticum is.

➡ Allergy to a medication in the Penicillin (PCN) class is reported to occur in approximately 10% of patients internationally.^{1,2,3} The majority of patients report low-risk symptoms of allergy, such as **delayed rash**, at a very young age which is unlikely to recur with subsequent exposures.^{4,5,6} When a PCN allergy is reported in a child there are increased

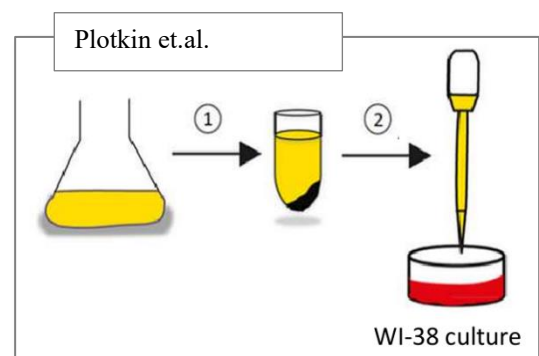
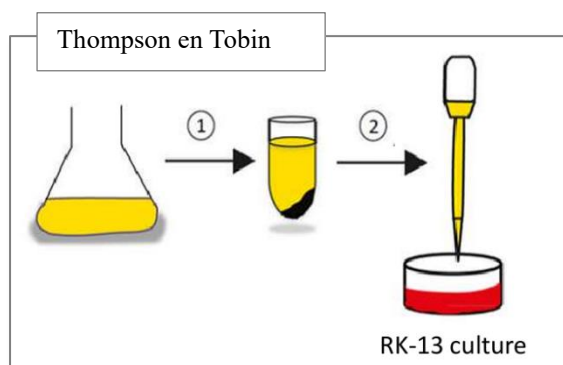
D. Vyles et al., *Children with Reported Penicillin Allergy: Public Health Impact and Safety of De-labeling*, *Ann Allergy Asthma Immunol.* 26 Mar 2020
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7255916/> (geraadpleegd 7 jan 2025)

Het hele verhaal is belachelijke pseudowetenschap.

Plotkin was echter niet de enige viroloog in de **jaren zestig** en **zeventig** die beweerde dat hij het rubellavirus had “geïsoleerd” uit **materiaal van geaborteerde foetussen**.

In 1970 publiceerden **Thompson en Tobin** een artikel waarin ze beweerden het rubellavirus te hebben geïsoleerd uit **abortusmateriaal**, met andere woorden **menselijke foetussen**.

Ze **hakten het weefsel van menselijke foetussen** fijn, voegden wat basisch celkweekmedium (basaal medium) toe en injecteerden de **supernatant vloeistoffen** in **RK13 konijnenniercellen**.



- 1 Het **fijngehakte weefsel van de geaborteerde foetussen** wordt **gecentrifugeerd**.
- 2 De **supernatant** wordt geïnjecteerd in een kweek van **RK-13-cellen**.

De procedure van Plotkin was iets anders in die zin dat hij de cellen van een geaborteerde foetus kweekte in plaats van ze gewoon te vermalen voordat hij de supernatant vloeistoffen in een kweek van WI-38-cellen injecteerde.

- 1 De **nierkweek van de geaborteerde foetus** wordt **gecentrifugeerd**.
- 2 De **supernatant** wordt in een kweek van **WI-38-cellen** geïnjecteerd.

Isolation of Rubella Virus from Abortion Material

K. M. THOMPSON,* F.I.M.L.T. ; J. O'H. TOBIN,† B.M., DIP.BACT., M.R.C.PATH.

British Medical Journal, 1970, 2, 264-266

K. M. Thompson et al., "Isolation of Rubella Virus from Abortion Material," *British Medical Journal*, Vol 2 (1970), pp. 264-266. <https://www.bmj.com/content/2/5704/264> (consulted 27 Nov 2024)

Materials and Methods

The RK13 line of rabbit kidney cells (Beale *et al.*, 1963) was used for virus isolation, and cultures were treated as previously described (Hutchinson and Thompson, 1965), except that the

Specimens were sent in bottles or plastic bags (which are *not* recommended unless being delivered by hand) by either road or post from women aborted from a few hours to a few days previously because of rubella infection. If a fetus was received in its amniotic sac this fluid was removed before selected organs, usually the lungs, liver, kidney, eye, and brain were dissected out. If the embryo had already been damaged by the operative procedure selected material was washed well in basal

Tissues were finely minced with scissors and suspended in about four times their volume in basal medium in 1-oz. (28-ml.) universal containers and shaken vigorously by hand before being spun in a refrigerated M.S.E. medium centrifuge at about 800 r.p.m. for five minutes. Three or four fivefold to tenfold dilutions of supernatant fluid from each sample or of amniotic fluid were then made and inoculated into RK13 cultures, usually using only one tube culture per dilution. The

Hier zeggen ze dat ze **het weefsel** van de geaborteerde foetussen met een schaar hebben fijngehakt en wat **basaal medium** (basiscelkweekmedium) hebben toegevoegd, waardoor een suspensie ontstond.

Dit mengsel werd vervolgens krachtig geschud en **gecentrifugeerd**.

virus isolation from fetal material. Rawls *et al.* found that growing out cell cultures from the embryos produced higher yields than that by the more usual method of grinding up material and inoculating supernatant fluids. Our methods of preparing cell suspensions are perhaps more gentle than the usual methods and explain the high isolation rate we obtained without growing out cell cultures from the embryo. We also used RK13 cells for isolation instead of vervet monkey kidney cells, a cell system apparently preferred by most American workers. None of our material was frozen at any time before processing and inoculation into cell cultures.

We lezen dat volgens Rawls et al. het **vermalen van materiaal** en het **inoculeren van supernatantvloeistoffen**, zoals hierboven beschreven, een "**meer gebruikelijke methode**" was om het rubellavirus te isoleren dan "het kweken van celculturen uit embryo's", zoals Plotkin beschreef.

In ieder geval heeft geen van deze wetenschappers ooit het vermeende rubellavirus "geïsoleerd" uit het menselijk weefsel dat ze hadden verzameld, niet in 1970, nooit.

1(e) Hoe Thomas Peebles en John Enders in 1954 de mazelenvirus Enders Edmonston celstam maakten

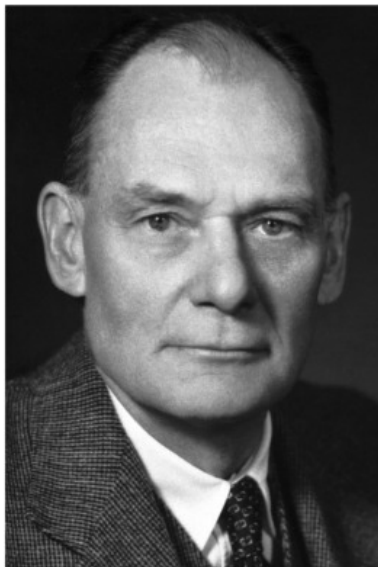
Laten we kijken hoe Thomas Peebles en John Enders een ‘**menselijke niercultuur**’ (**menselijke nier-celstam**) gebruikten om het mazelenvaccin te maken, dat onderdeel is van het **BMR (Bof, Mazelen Rodehond) M-M-RvaxPro vaccin**.

Zoals je hieronder kunt lezen verzamelde **Thomas Peebles**, die met John Enders samenwerkte, **monsters van slijm en bloed** van een 11 jaar oude jongen met mazelen die **David Edmonston** heette en ‘kweekte’ deze op een ‘**menselijke niercelcultuur**’.

Hij en Enders gebruikten vervolgens één van deze celculturen om de **Edmonston celstam** te maken.

5. The discovery of the measles virus

The viral nature of the disease was demonstrated in 1911 by John Anderson and Joseph Goldberger who successfully transmitted measles to rhesus monkeys from blood samples of measles patients, resulting in a discrete rash with a febrile peak [19]. The virus was then cultured in the 1940's on chicken embryos [20, 21]. In 1954, Thomas Chalmers Peebles (1921–2010), working in Boston with John Franklin Enders (1897–1985), future winner of the 1954 Nobel Prize in Medicine (Fig. 4), was sent to a nearby elementary school during a measles epidemic. He cultured nasopharyngeal and blood samples from an 11-year-old child named David Edmonston on a human kidney cell culture. After a few days, he observed the appearance of syncytia scattered in foci with multinucleated giant cells. Peebles injected the culture supernatant into monkeys, which developed a mild form of measles with a discrete rash [22, 23]. It was from this Edmonston strain that a live attenuated vaccine was developed



John Enders (1897-1985)



Maurice Hilleman (1919-2005)

P. Berche, “History of measles”, *Quarterly Medical Review – History of Modern Pandemics*, Volume 51, Issue 3, September 2022, (geraadpleegd 27 nov 2024)
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498222000422?via%3Dihub>

In 1954 schreef John Enders een wetenschappelijk artikel waarin hij beschrijft hoe hij 'keelspoelingen' en 'bloed' van patiënten met mazelen verzamelde. En hoe deze werden gekweekt (gecultiveerd) in menselijke en apencellen.

Van elke patiënt werd **10 ml bloed** afgenomen en er werd **heparine** aan toegevoegd om stolling te voorkomen. Vervolgens werd 0,5 ml tot 2 ml volbloed gebruikt als 'inoculum voor weefselculturen'. (Een 'inoculum' is een materiaal dat wordt gebruikt om een cultuur, persoon of dier te 'inoculeren' (injecteren).)

Het enige wat Enders deed, was **0,5 ml tot 2 ml volbloed**, met een beetje **heparine**, in 'weefselculturen' injecteren om ze te laten 'vermenigvuldigen' (kweken).

Het **vermeende virus** is **nooit geïsoleerd** (gescheiden van de rest van de bloedmonsters).

"Materials and methods. Collection of Specimens.

Throat washings, venous blood and feces were obtained from 7 patients as early as possible after a clinical diagnosis of measles was established. In 5 instances the time at which specimens were collected in relation to the onset of exanthem³ is given in the case histories described below or in Table I. When capable, patients were asked to gargle with 10-15 ml of sterile neutralized fat-free milk. Certain specimens from the throats of younger children were obtained by cotton swab previously moistened in milk. After swabbing the throat the swab was immersed in 2 ml of milk. Penicillin, 100 u/ml, and streptomycin, 50 mg/ml, were added to all throat specimens which were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour. Supernatant fluid and sediment resuspended in a small volume of milk were used as separate inocula in different experiments in amounts varying from 0.5 ml to 3.0 ml. **About 10 ml of blood immediately after withdrawal were placed in tubes containing 2 ml of 0.05% solution of heparin. As inocula for tissue cultures amounts varying from 0.5 ml to 2.0 ml of the whole blood were employed.** After addition of antibiotics as described above 10% fecal suspensions were prepared by grinding the material in bovine amniotic fluid medium. The suspensions were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour and the supernatant fluids used as inocula., in amounts varying from 0.1 ml to 3 ml.

All specimens were refrigerated in water and ice or maintained in the cold at about 5°C from the time of collection **until they were added to the cultures.** The maximum time that lapsed between collection of specimens and inoculation was 3 and a quart hours.

Tissue culture technics.

In the initial isolation attempts roller tube cultures (11,12) of human kidney, human embryonic lung, human embryonic intestine, human uterus and rhesus monkey testis were employed. Subsequent passages of the agents isolated were later attempted in human kidney, human embryonic skin and muscle, human foreskin, human uterus, rhesus monkey kidney and embryonic chick tissue." (Enders J. et al, 1954, page 3)

"Propagation in Tissue Cultures of Cytopathogenic Agents from Patients with Measles". John F. Enders et al, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1 June 1954
<https://www.semanticscholar.org/paper/Propagation-in-Tissue-Cultures-of-Cytopathogenic-Enders-Peebles/a8d3a62cbcd04eca654ec5888684c97adb376143> (geraadpleegd 4 dec 2024)

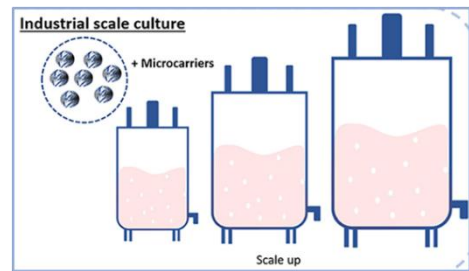
2 Hoe de mazelen- en rodehondvaccins worden geproduceerd

Laten we nu kijken hoe de **Edmonston-mazelenstam** op grote schaal wordt geproduceerd.

Zoals je kunt lezen in de **productinformatie** over het M-M-Rvaxpro-vaccin, gebeurt dit in “**kippenembryocellen**”. Het volgende document van het Europees Geneesmiddelenbureau geeft ons meer details over hoe dit gebeurt.

We lezen dat de **kippenembryo's** uit de eieren worden verwijderd, met trypsine worden **gescheiden**, worden **gezuiverd**, dat wil zeggen gewassen, en vervolgens worden **gecentrifugeerd** voordat het vermeende ‘mazelenvirus’ de cellen mag ‘infecteren’.

Een **roestvrijstalen tank** wordt gevuld met deze **kippenembryocelsuspensie** (CEC) en het **mazelenstamzaad**, dat wil zeggen de **Edmonston-stam**, wordt toegevoegd en het hele mengsel wordt op 37 °C (lichaamstemperatuur) geïncubeerd om te ‘groeien’.



“De cellagen worden meerdere keren **gespoeld** en opnieuw **gevoed**, en de **virusverspreiders** worden **geoogst**”.

Met andere woorden, de **cellen worden gekweekt** en **meerdere keren gevoed** (met kweekmedium) voordat de **supernatantvloeistoffen** worden geoogst, dat wil zeggen verzameld.

De **geoogste virusvloeistoffen** (HVF's) van mazelen verwijzen alleen naar de **supernatantvloeistoffen** uit de **celculturen** van **menselijke en kippenembryo's**.

Het is absoluut weerzinwekkend.

Active substance - measles

• Manufacture

Seed lot system

The Enders' Edmonston strain of measles virus was isolated in primary human kidney cell tissue culture from the blood of a child (Edmonston) in the early acute phase of measles. The **virus (10 ml)** was received by Merck from Dr. John Enders at the Children's Hospital of Harvard Medical School in 1960. Further passages were performed at Merck to develop the Moraten (more attenuated Enders) strain that served as a pre-master seed from which the Master Seed was derived. The preparation of the Master Seed and the Stock Seed is appropriately described in the dossier.

Chicken embryo cells (CEC) as cell substrate

Chick embryo cells, the cell substrate for measles and mumps virus propagation, are sourced from eggs from a specific-pathogen-free (SPF) chicken flock. **Embryos are removed from the eggs, dissociated with trypsin, clarified and centrifuged prior to virus infection.**

Manufacture of measles harvested virus fluids (HVF's)

A virus propagator, a stainless steel tank, is planted with CEC suspension. The cells are infected with an appropriate volume of thawed measles stock seed, added to the seeding medium, stirred and incubated. The cell sheets are rinsed and refed several times, and the virus propagators are harvested. HVF is sampled for virus potency and sterility.

Wat Merck ontving van Enders was **niet 10 ml puur virus** maar een celcultuur met het veronderstelde virus er in.

Website van het **European Medicines Agency EMA**, **M-M-R Vaxpro epar scientific discussion**, published 2006, page 2, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)

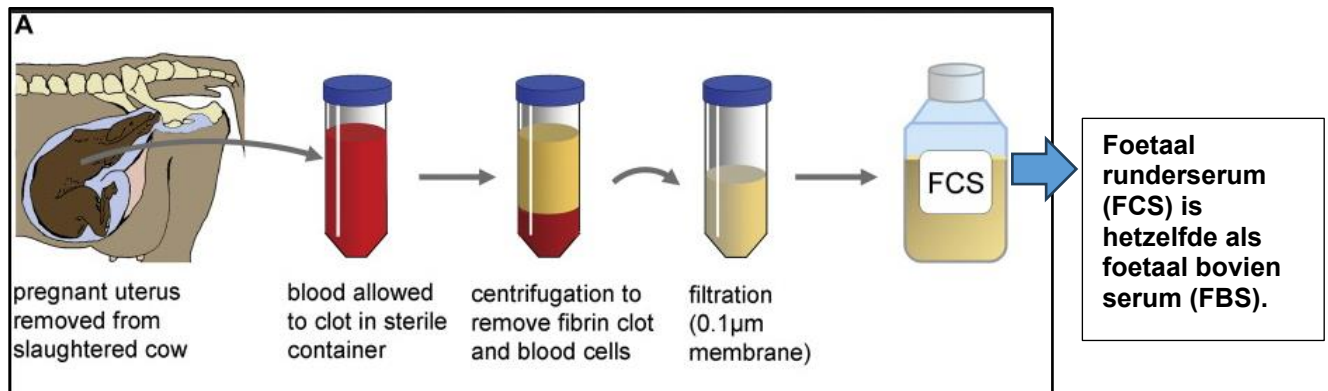
Het **Europees Geneesmiddelenagentschap** geeft verder toe dat er zogenaamde “**procesgerelateerde onzuiverheden**” zijn die verband houden met het gebruik van **celsubstraten** en **celculturen** in het productieproces van het zogenaamde mazelenvaccin.

De **celcultuurgerelateerde onzuiverheden** omvatten antibiotica (bijvoorbeeld neomycine) en serum, dat bloed is. Dit komt natuurlijk doordat het gebruikte ‘celkweekmedium’ een mengsel is van **antibiotica** en **foetaal runderserum (FBS)**, het **bloed van runderfoetussen**.

Jaarlijks wordt ongeveer 500.000 liter FBS geproduceerd voor gebruik in celculturen, waarvoor ongeveer een miljoen runderfoetussen moeten worden gedood.

<https://novapublishers.com/wp-content/uploads/2019/01/The-Impact-of-BVDV-Presence-on-Fetal-Bovine-Serum-used-in-the-Biotechnology-Industry.pdf> see page77 (geraadpleegd 17 jan 2025)

Bij de massaproductie van het zogenaamde mazelenvirus worden honderden liters foetaal koeienbloed gebruikt om de **cellen van geaborteerde baby's** en de **cellen van kippenembryo's** te kweken.



[https://www.isct-cytotherapy.org/article/S1465-3249\(13\)00777-9/fulltext](https://www.isct-cytotherapy.org/article/S1465-3249(13)00777-9/fulltext) (consulted 17 Jan 2025)

De zogenaamde **geoogste virusvloeistoffen (HVF's)**, dat wil zeggen de **supernatantvloeistoffen** uit de celculturen, bevatten een **giftige cocktail** van antibiotica en residuen van cellen van **menselijke foetussen, kippenfoetussen en runderfoetussen**.

Zoals reeds vermeld, vormen **menselijke embryo's** en **dierlijke embryo's** wereldwijd de kern van de vaccinproductie.

De wetenschappers die dit doen, zijn absoluut ziek.

Process-related impurities arising from the measles vaccine bulk manufacturing processes are classified as cell substrate- or cell culture-derived. Cell substrate-derived impurities may include proteins derived from the host organism, such as CECs used as substrate for measles vaccine bulk production. Cell culture-derived impurities may include antibiotics (e.g., neomycin), serum, or other media components. Also low levels of particle-associated reverse transcriptase activity are found; however, no signal of infectious retrovirus could be detected.

Since the measles process uses cell growth medium containing fetal bovine serum (FBS), measures have been taken to minimize the concentration of bovine serum proteins in the vaccine bulk. The concentration of bovine serum albumin (BSA) is used as a surrogate marker for other bovine serum proteins. Each measles final bulk is tested for BSA.

Website van het **European Medicines Agency EMA**, **M-M-R Vaxpro epar scientific discussion**, published 2006, page 3, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)

In hetzelfde document, gepubliceerd in 2006 door het **Europees Geneesmiddelenagentschap (EMA)**, lezen we hoe het **rubellavaccin** op grote schaal wordt geproduceerd met behulp van een proces dat vergelijkbaar is met dat van het mazelenvaccin.

Maar in plaats van een suspensie van kippenembryocellen te bereiden, worden WI-38 Cell Bank Ampullen (minicapsules die de **WI-38-cellen** bevatten) van de ATCC (American Type Culture Collection) gebruikt.

Net als bij het mazelenvaccin wordt een tank gevuld met deze WI-38-cellen en wat kweekmedium, waarna de zogenaamde "**rubella stock seed**" wordt toegevoegd.

Zoals reeds beschreven is dit niets meer dan een **WI-38-celkweek** die **Stanley Plotkin** in 1964 injecteerde met **supernatantvloeistoffen** uit de **nierkweek van een geaborteerde baby**.



Vervolgens 'voeden' ze de cellen met **celkweekmedium** en **incuberen** ze deze bij 37 °C, zodat ze kunnen groeien.

De celvellen worden gespoeld en opnieuw gevoed voordat de zogenaamde '**geogste virusvloeistoffen (HVF's)**' worden verzameld, met andere woorden, voordat ze de celsuspensie centrifugeren en het supernatant verwijderen.

Net als bij het mazelenvaccin zijn alle '**geogste virusvloeistoffen (HVF's)**' een giftige cocktail van antibiotica en de resten van de cellen die in de culturen worden gebruikt, in dit geval **menselijke foetuscellen en koeienfoetuscellen**. (Kippenfoetuscellen werden niet gebruikt.)

Het is gewoon weerzinwekkend.

WI-38 working cell banks (WCBs) are prepared using appropriate cells from the ATCC. WCB lots have been used in clinical trials; in the meantime, the stock for these two WCBs has been depleted and a new WCB lot was manufactured by the method described in the dossier and has passed all release testing.

Manufacture of rubella **harvested virus fluids (HVF's)**

An appropriate number of **WCB ampoules** are expanded to create a sufficient amount of cell substrate. Post-plant, the spent medium is removed and discarded. A sufficient quantity of rubella stock seed is added. **Following virus adsorption, the infected cells are refed and incubated.**

Post-infection, the spent medium is removed and discarded; the cell sheets are rinsed, refed and incubated.

The **first HVF are collected, pooled and mixed with a stabilizer.** The HVF is stored frozen and sampled for virus potency and sterility.

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 6**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

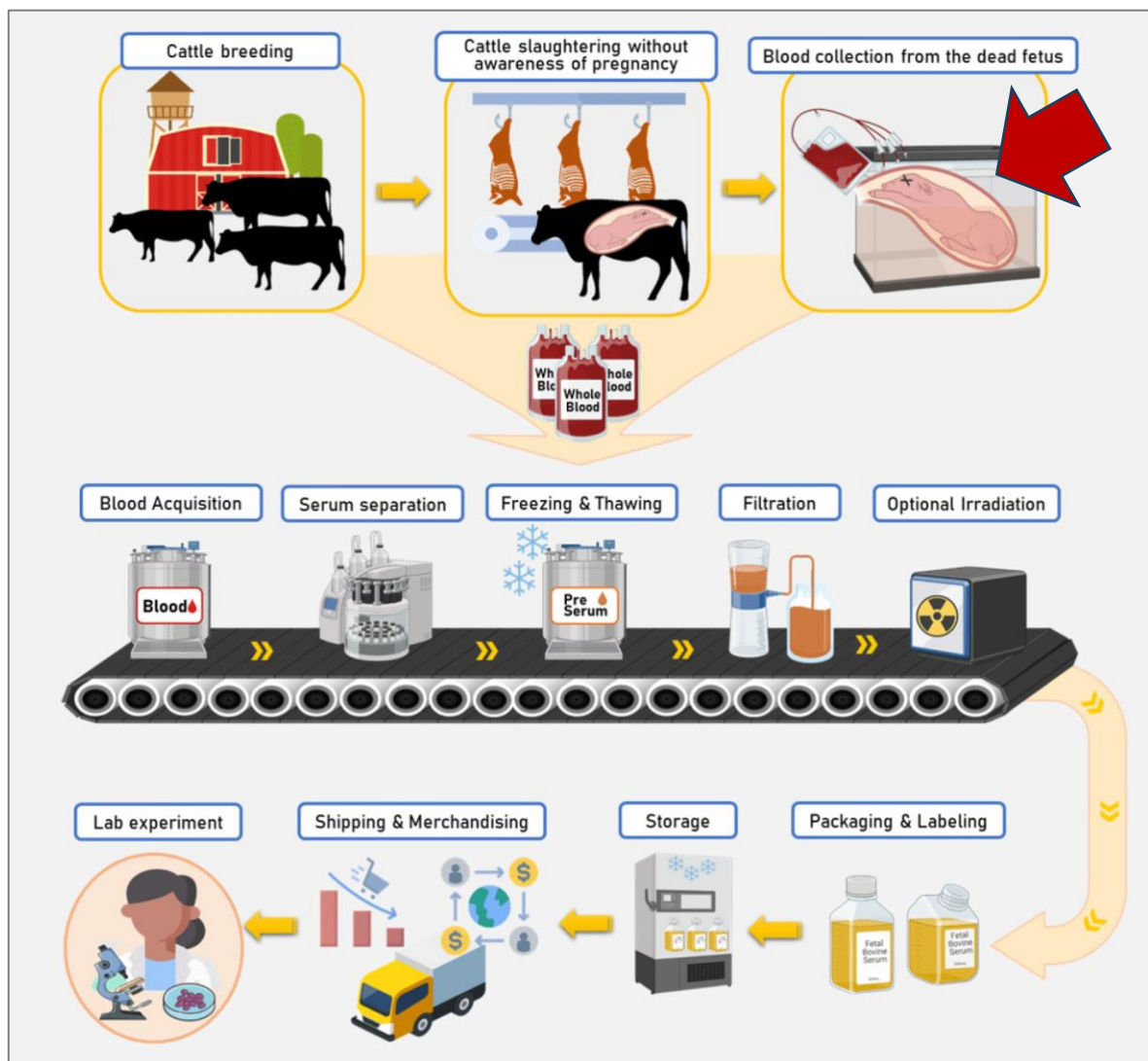
Het **EMA** geeft vervolgens nogmaals toe dat er zogenaamde “**procesgerelateerde onzuiverheden**” zijn die verband houden met het gebruik van **celsubstraten** en **celculturen** in het productieproces van het zogenaamde rubellavaccin.

De **celweekgerelateerde onzuiverheden** omvatten foetaal runderserum (FBS). Dit komt natuurlijk omdat het ‘celweekmedium’ dat wordt gebruikt om de WI-38-cellen te kweken, dit is gemaakt van het bloed van **runderfoetussen**. (Zie het productieproces hieronder.)

Interessant is dat ze niet vermelden dat de “**geogoste virusvloeistoffen (HVF's)**” ook antibiotica bevatten, aangezien deze ook in het celweekmedium worden gebruikt.

Process-related impurities arising from the rubella vaccine bulk manufacturing processes are classified as cell substrate- or cell culture-derived. Since the rubella process uses cell growth medium containing fetal bovine serum (FBS), rubella bulk lots were tested for BSA and the results for all of these lots were within the specification.

Website van het **European Medicines Agency EMA**, **M-M-R Vaxpro epar scientific discussion**, published 2006, page 7, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)



https://www.kosfaj.org/archive/view_article?pid=kosfa-42-5-775 (geraadpleegd 17 jan 2025)

3 Waarom hebben virologen alleen cellen gekweekt en nooit een micro-organisme genaamd 'virus' geïsoleerd?

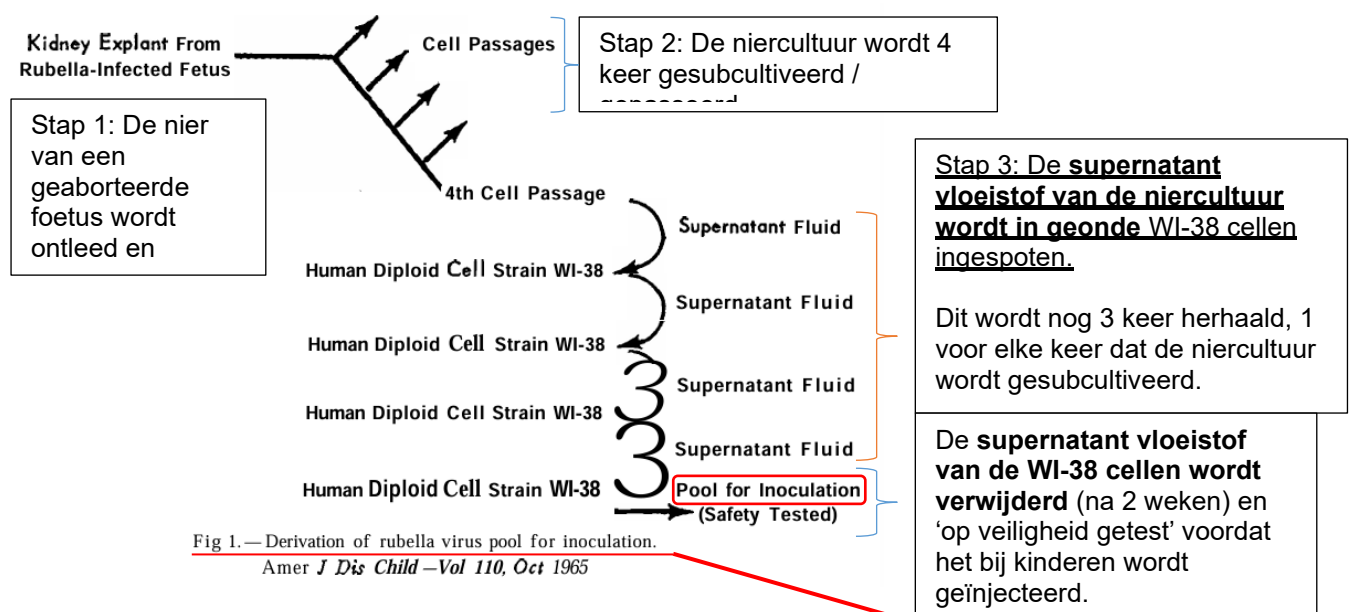
Zoals in dit document wordt uitgelegd, zijn de vermeende rubella- en mazelenvirussen nooit uit enig weefsel 'geïsoleerd'.

Stanley Plotkin beschrijft heel duidelijk hoe hij zijn zogenaamde 'rubella-virusstam', de **RA 27/3-stam**, heeft gemaakt.

Het enige wat hij deed, was wat **supernatant vloeistoffen** uit de **niercultuur van een geaborteerde foetus injecteren** in een **WI-38-cel lijn**, die hij vervolgens verder 'subcultiveerde'.

Het volgende diagram uit **pagina 382** van Plotkins artikel vat samen hoe hij zijn zogenaamde **Rubella-virus Wistar RA 27/3-stam** heeft gemaakt.

"Studies of Immunization With Living Rubella Virus, Trials in Children With a Strain Cultured From an Aborted Fetus", S. Plotkin et al., American Journal of Diseases of Children, Vol 110 (1 Oct 1965)
<https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildPlotkinRubellaVirus.pdf>
(geraadpleegd 27 nov 2024)



Plotkin noemde de **supernatant vloeistoffen** die hij verzamelde misleidend een **rubella-virussenpool voor inoculatie**, met andere woorden een **vaccin**.

Plotkin heeft het vermeende rubellavirus **nooit gevonden** in de niercellen van de baby die hij in zijn experimenten gebruikte.

Je kunt een micro-organisme niet **isoleren** en bestuderen door het in een **celkweek** te injecteren.

Thomas Peebles, die samenwerkte met **John Enders**, heeft het **mazelenvirus** evenmin geïsoleerd.

Enders beschrijft hoe hij volbloed gemengd met een antistollingsmiddel genaamd heparine op menselijke niercellen heeft geïnoculeerd en deze heeft gekweekt (gecultiveerd). Dit staat duidelijk in zijn eigen woorden beschreven in een document gepubliceerd in 1954.

“Materials and methods. Collection of Specimens.

Throat washings, venous blood and feces were obtained from 7 patients as early as possible after a clinical diagnosis of measles was established. In 5 instances the time at which specimens were collected in relation to the onset of exanthem³ is given in the case histories described below or in Table I. When capable, patients were asked to gargle with 10-15 ml of sterile neutralized fat-free milk. Certain specimens from the throats of younger children were obtained by cotton swab previously moistened in milk. After swabbing the throat the swab was immersed in 2 ml of milk. Penicillin, 100 u/ml, and streptomycin, 50 mg/ml, were added to all throat specimens which were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour. Supernatant fluid and sediment resuspended in a small volume of milk were used as separate inocula in different experiments in amounts varying from 0.5 ml to 3.0 ml. About 10 ml of blood immediately after withdrawal were placed in tubes containing 2 ml of 0.05% solution of heparin. **As inocula for tissue cultures** amounts varying from 0.5 ml to 2.0 ml of the whole blood were employed. After addition of antibiotics as described above 10% fecal suspensions were prepared by grinding the material in bovine amniotic fluid medium. The suspensions were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour and the supernatant fluids used as inocula., in amounts varying from 0.1 ml to 3 ml. **All specimens were refrigerated** in water and ice or maintained in the cold at about 5°C from the time of collection until they were added to the cultures. The maximum time that lapsed between collection of specimens and inoculation was 3 and a quart hours.

Tissue culture technics.

In the initial isolation attempts roller tube cultures (11,12) of human kidney, human embryonic lung, human embryonic intestine, human uterus and rhesus monkey testis were employed. Subsequent passages of the agents isolated were later attempted in human kidney, human embryonic skin and muscle, human foreskin, human uterus, rhesus monkey kidney and embryonic chick tissue.” (Enders J. et al, 1954, page 3)

“Propagation in Tissue Cultures of Cytopathogenic Agents from Patients with Measles”. John F. Enders et al, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 1 June 1954
<https://www.semanticscholar.org/paper/Propagation-in-Tissue-Cultures-of-Cytopathogenic-Enders-Peebles/a8d3a62cbcd04eca654ec5888684c97adb376143> (geraadpleegd 4 dec 2024)

Waarom deden ze dit? Het is big business, nee het is huge business.

De **WI-38-cellijn** werd niet alleen gebruikt om het rubellavaccin te maken, maar werd ook gebruikt door Koprowski om een **rabiësvaccin** te maken, door Wyeth (nu onderdeel van Pfizer) om een **oraal adenovirusvaccin** te maken, door Pfizer om een **poliovaccin** te maken en door Merck om ‘**vaccins**’ tegen **waterpokken** en **gordelroos** te maken.

The **rubella vaccine** was only one of many made using WI-38. In the 1960s, a WI-38-based measles vaccine was licensed in the former Soviet Union and Koprowski developed a rabies vaccine using the cells. In the early 1970s, the pharmaceutical company Wyeth (now part of Pfizer) launched an **oral adenovirus vaccine** developed using WI-38 and Pfizer, based in New York, used WI-38 to make a vaccine against **polio**. Today, the cells are also used by Merck to make vaccines against **chickenpox** and the painful nerve infection **shingles**.

M. Wadman., “Medical research: Cell Division,” *Nature*, Vol 498 (27 June 2013), pp. 422-426.
https://www.researchgate.net/publication/242333147_Medical_research_Cell_division (12 jan 2025)

Hilary Koprowski was directeur van het Wistar Instituut tussen 1957 and 1991 en de baas van **Hayflick** en **Plotkin**. Hij is het meest bekend om zijn **zogenaamde poliovaccin** dat oraal werd toegediend..

Net als zijn rivaal **Albert Sabin** verzwakte hij het **poliovirus** zogenaamd door het te kweken in niercellen van apen. Sabin heeft blijkbaar verschillende “stammen” gekweekt.

Net als **Plotkin** hebben **Koprowski** en **Sabin** **nooit een virus “geïsoleerd”**..

Sabins versie van het poliovaccin werd in de Verenigde Staten goedgekeurd **en door de WHO** goedgekeurd voor gebruik over de hele wereld.

Alleen al het poliovaccin levert de farmaceutische industrie jaarlijks miljarden op.

In the mid-1950s, cell culture became available, and Koprowski and Albert Sabin separately began to attenuate polioviruses by passage in monkey kidney cells. Both succeeded, and the Koprowski strains were tested extensively in the former Belgian Congo, his native Poland, and elsewhere (2). Nevertheless, because the Sabin strains were less neurovirulent in monkeys and were given successfully to millions of children in the former Soviet Union, they achieved licensure in the United States and adoption by the WHO for use throughout the world. During the battle between the oral polio vaccines, the atmosphere between Sabin and Koprowski became quite heated, with many colorful exchanges of insults, but afterwards they reestablished a friendship.

S. Plotkin, “In Memoriam: Hilary Koprowski, 1916–2013” *Journal of Virology*, Vol. 87 Number 15, Aug 2013 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3719820/> (geraadpleegd 19 jan 2025)

SALK POLIO VACCINE PROVES SUCCESS; MILLIONS WILL BE IMMUNIZED SOON; CITY SCHOOLS BEGIN SHOTS APRIL 25



TRIAL DATA GIVEN

**Efficacy of 80 to 90%
Shown—Salk Sees
Further Advance**

*Abstract of report, summary
of data on tests, Page 22.*

By WILLIAM L. LAURENCE
Special to The New York Times.

ANN ARBOR, Mich., April 12
—The world learned today that its hopes for finding an effective weapon against paralytic polio had been realized.

The New York Times, 16 Mar 2020, *Corona Vaccine Dreams*,
<https://www.nytimes.com/2020/03/16/well/family/coronavirus-vaccine.html> (29 jan 2025)

Maurice Hilleman gaf in totaal 47 jaar leiding aan de virus- en vaccinatieonderzoeksprogramma's bij farmaceutisch gigant **Merck**. Hij hielp zijn bedrijf ook miljoenen te verdienen met de verkoop van vaccins. **En tot op de dag van vandaag verdienen de grote farmaceutische bedrijven miljarden aan de zogenaamde vaccins die hij en zijn team hebben gemaakt.**

Hilleman en zijn team maakten meer dan 40 experimentele en goedgekeurde vaccins voor mensen en dieren.

De **twee meest opvallende vaccins** die hij maakte, waren de zogenaamde **mazelen-** en **bofvaccins**.

In 1957, at age 38, Hilleman was recruited by the pharmaceutical company Merck & Company at West Point, Pennsylvania, to lead its virus and vaccination research programs for the next 47 years, continuing to direct the Merck Institute for Vaccinology for another 20 years—after compulsory retirement from Merck Research Labs in 1984 at age 65—until his death at age 85. From the 1950s to the 1990s, Hilleman and his team created more than **40 experimental and licensed human and animal vaccines**, including those in use currently offering protection against measles, mumps, chickenpox, rubella, hepatitis A, hepatitis B, pneumococcal pneumonia, meningitis, pandemic influenza, and chlamydia.

T. Tulchinsky. "Maurice Hilleman: Creator of Vaccines That Changed the World". *Case Studies in Public Health*: 443–4702, Mar 2018 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7150172/> (geraadpleegd 19 Jan 2025)

In **1963** maakte **Maurice Hilleman** een zogenaamd vaccin tegen de bof. Maar net als Plotkin en Enders voor hem heeft Hilleman **nooit het vermeende bofvirus geïsoleerd**.

Toen zijn dochter zogenaamd ziek werd met de **bof**, nam hij een **uitstrijkje** van de binnenkant van haar mond en plaatste hij het uitstrijkje in een **brouwsel** (waarschijnlijk een celweekmedium). Vervolgens **subcultiveerde** hij dit mengsel meerdere keren in **kippenembryocellen**.

Dat klopt, hij **heeft nooit het bofvirus uit menselijk weefsel geïsoleerd**.

Maar zijn bedrijf **Merck** verdiende miljoenen met de verkoop van **de supernatantvloeistoffen** uit **celculturen** die **het uitstrijkje uit de mond van zijn dochter** bevatten.

On March 23, 1963, at 1:00 a.m. Jeryl Lynn, Maurice's five-year-old daughter, walked into her father's room and stood at the edge of his bed. "Daddy," she whispered, "my neck hurts." Maurice woke up and gently touched the side of his daughter's face. There, at the angle of her jaw, he felt a lump. Jeryl winced in pain. She had swollen parotid glands, a sure sign of mumps. Maurice then did something that only a scientist would do. He walked down the hall and told the housekeeper that he would be going back to the lab but would be back soon. (Maurice's wife, Thelma, had passed away years earlier.) Maurice picked up swabs and broth from the lab, drove back home, gently woke up his daughter, swabbed the inside of her mouth, placed the swab in broth, and drove back to the lab. Between 1963 and 1967, Maurice attenuated his daughter's strain of mumps virus by serially passaging it chick embryo cells. The final vaccine, termed the "Jeryl Lynn" strain, has dramatically reduced the incidence of mumps and consequent deafness in the United States and the world.

P. Offit, *A Biographical Memoir*, *National Academy of Sciences*, 2021: <https://www.nasonline.org/wp-content/uploads/2024/06/hilleman-maurice.pdf> (geraadpleegd 19 jan 2025)

In **1968** maakte **Hilleman** een zogenaamde “**verbeterde versie**” van het **mazelenvaccin** van Enders..

En in **1971** maakte hij het zogenaamde “**gecombineerde BMR-vaccin** (Bof, Mazelen, Rubella (rodehond))”.

Tot op de dag van vandaag wordt dit vaccin wereldwijd verkocht met de hulp van de **Wereldgezondheidsorganisatie** en is onderdeel van het Nederlandse “**Rijksvaccinatieprogramma**”.

vaccinate from the 9th month of life when maternal antibodies had disappeared [37]. In 1974, the WHO introduced measles vaccination into its expanded program of immunization. Maurice Hilleman (1919–2005) (Fig. 4), a pioneer in vaccine development working at Merck & Co. [38], developed an improved version of the measles vaccine in 1968, and then the combined vaccine with mumps and rubella (MMR) in 1971, with a single dose at 9–12 months and then a booster before 18 months.

P. Berche, “History of measles”, Quarterly Medical Review – History of Modern Pandemics, Volume 51, Issue 3, September 2022, (geraadpleegd 27 nov 2024)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498222000422?via%3Dihub>



Het **Europees MedicijnAgentschap** document over het MMR-vaccin vat samen hoe Plotkin, Enders en Hilleman de vermeende rubella-, mazelen- en bofvirussen zogenaamd “isoleerden”. Zoals echter in dit document wordt aangetoond, **heeft geen van deze mannen ooit enig micro-organisme uit menselijk weefsel geïsoleerd**.

Het Europees Geneesmiddelenbureau heeft onvermoeibaar gewerkt **om mensen te misleiden en ronduit te bedriegen** door hen te laten geloven in pseudowetenschap.

Active substance - rubella

- **Manufacture**

Seed lot system

The Wistar RA 27/3 strain of rubella virus was isolated in 1964 by Dr. Stanley Plotkin, Wistar Institute of Anatomy and Biology, Philadelphia, Pennsylvania, U.S., from a kidney explant obtained from a surgically aborted foetus. It was directly inoculated into WI-38 cells, and then attenuated.

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 5**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hier lezen we dat Plotkin het rubellavirus ‘isoleerde’ door het in WI-38-cellen te injecteren en het vervolgens te verzwakken, wat neerkomt op subcultiveren. Je kunt een micro-organisme niet isoleren door het in een cellijn te injecteren en te kweken.

Dit is geen ‘isolatie’ en kan ook geen ‘isolatie’ worden genoemd.

Active substance - measles

- **Manufacture**

Seed lot system

The Enders' Edmonston strain of measles virus was isolated in primary human kidney cell tissue culture from the blood of a child (Edmonston) in the early acute phase of measles. The virus (10 ml) was received by Merck from Dr. John Enders at the Children's Hospital of Harvard Medical School in 1960. Further passages were performed at Merck to develop the Moraten (more attenuated Enders) strain that served as a pre-master seed from which the Master Seed was derived. The preparation of the Master Seed and the Stock Seed is appropriately described in the dossier.

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 2**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hier wordt ons verteld dat het mazelenvirus werd geïsoleerd in primaire menselijke niercelweefselcultuur uit het bloed van een kind bij wie mazelen was vastgesteld. John Enders nam 10 ml bloed af bij een jongen genaamd David Edmonston, voegde daar een antistollingsmiddel genaamd heparine aan toe en kweekte dit mengsel in menselijke en apen niercellen. Dat is wat hij deed. Hij heeft het vermeende mazelenvirus nooit uit het bloed van Edmonston ‘geïsoleerd’.

De beschrijving van het Europees MedicijnAgentschap is **ronduit misleidend**.

Maurice Hilleman, destijds directeur van **farmaceutisch gigant Merck**, zou vervolgens een afgezwakte versie van Enders' celstam hebben gemaakt, genaamd **Moraten**, door deze verder te passeren/subcultiveren. Waarom het passeren/subcultiveren van een celcultuur een micro-organisme zoals een virus zou verzwakken, wordt nergens uitgelegd.

Active substance - mumps

- **Manufacture**

Seed lot system

The Jeryl Lynn strain of mumps virus was isolated from a throat washing specimen collected in 1963 from a clinical case of mumps (Jeryl Lynn) by Dr. M. R. Hilleman, Merck Research Laboratories, Merck & Co., Inc. Virus strain isolation was performed at the Merck West Point, Pennsylvania facility. The preparation of the master seed and the stock seed is described in detail in the dossier.

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 4**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hier lezen we dat Hilleman het bofvirus heeft geïsoleerd uit een 'keelspoelingmonster' van een klinisch geval van bof (Jeryl Lynn).

Hilleman nam een monduitstrijkje van zijn dochter Jeryl Lynn en geen 'keelspoelingmonster'. Vervolgens kweekte hij dit in kippenembryocellen om het vermeende virus in het monduitstrijkje te verzwakken.

Hier neemt het Europees Geneesmiddelenbureau niet eens de moeite om te vermelden dat Hilleman het zogenaamde bofvirus ongeveer vier jaar lang in kippenembryocellen heeft gekweekt.

Net als bij het rubella- en mazelenvirus beweren ze ten onrechte dat het bofvirus daadwerkelijk is geïsoleerd. Het enige wat **Maurice Hilleman** volgens de **Academie van Wetenschappen** ooit heeft gedaan, was een uitstrijkje nemen uit de mond van zijn dochter en dit uitstrijkje kweken in kippenembryocellen.

Die procedure houdt **geen isolatie** van een micro-organisme in.

Stanley Plotkin, John Enders en Maurice Hilleman hebben **nooit** het vermeende rubella-, mazelen- of bofvirus uit menselijk weefsel **geïsoleerd**, dat wil zeggen verwijderd.

Samen met Hilary Koprowski en Albert Sabin, die vóór hen nooit het vermeende poliovirus hadden geïsoleerd, begingen zij "de grootste medische fraude van de twintigste eeuw". Dat is een feit.

Door hun leugens te verspreiden kregen deze wetenschappers macht en invloed op het leven van mensen die ze anders nooit zouden hebben gehad. Ze verdienen ook miljarden voor de farmaceutische industrie.

Hun leugens stelden hen in staat om een vals beeld van zichzelf te creëren als 'makers van medicijnen' die 'levens redden', terwijl niets minder waar is.

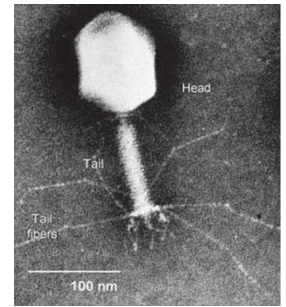
4 Als virologen echt zogenaamde virussen zouden willen isoleren, hoe kunnen ze dit doen?

Er is een groep micro-organismen die net zo klein zijn als vermeende virussen en die wél door microbiologen zijn geïsoleerd en bestudeerd.

Deze worden bacteriofagen genoemd en ze eten bacteriën.

Laten we eens kijken hoe bacteriofagen worden geïsoleerd.

(Hier is een schoolvoorbeeld.)



Second Session: Bacteriophage Isolation and Plating:

Prior to today's lab, 2 ml of 1× nutrient broth was inoculated with *E. coli* B for overnight growth at 37°C with shaking. Earlier today, 100 ml of 1× nutrient broth was inoculated with a small volume of the overnight. This was done to obtain a culture in log growth by class time. *Note:* The instructor may choose to inoculate today's culture with the day-old "overnight" stored in the refrigerator.

1. Transfer 10 ml of the sewage-bacteria-bacteriophage culture into a centrifuge tube, and centrifuge the sample at 2,000 RPM for 5 minutes. Most of the remaining cells will be pelleted. The supernatant contains bacteriophage.
2. Prepare a 10 ml storage tube for the collection of bacteriophage supernatant as it is filtered. Then pipette the supernatant into a 10 ml syringe barrel fitted with a 0.45 micron filter. Gently slide the plunger, allowing the flow-through to drip into

the storage tube. This step removes any remaining bacteria from the phage sample. The storage tube contains bacteriophage. It can be stored at 4°C and is stable for several months.

3. Prepare a series of microfuge tubes for making serial 10-fold dilutions of the bacteriophage suspension (performing the same dilution repeatedly in series is called serial dilution; see figure 37.4). Label six tubes 1–6. Into each tube, pipette 0.9 ml of sterile PBS.
4. **Perform serial dilutions:** Transfer 0.1 ml of phage suspension (that has been mixed well) into tube 1, and mix. Using the same pipette, transfer 0.1 ml of the sample from tube 1 into tube 2, and mix. Repeat this process, transferring 0.1 ml from tube 2 to tube 3, and so on, mixing each time, as shown in figure 37.4. Store the remaining phage suspension in the refrigerator.
5. Distribute 0.5 ml of log-phase *E. coli* into each of six microfuge tubes, labeled 1–6.

Bacteriophage isolation technique a document of North West University, published by studeersnel.nl
<https://www.studeersnel.nl/nl/document/north-west-university/industrial-microbiology-and-biotechnology/bacteriophage-isolation-technique-2022/52866265?sid=01734251982&shared=u>
(geraadpleegd 21 jan 2025)

- Stap 1: **Verzamel 40 ml onbehandeld rioolwater.** Voeg wat voedingsbouillon en *E. coli*-bacteriën toe en laat het mengsel een nacht bij 37 °C incuberen.

- Stap 2: **Centrifugeer 10 ml rioolwaterbacteriofaagcultuur bij 2000 RPM gedurende 5 minuten.** Het supernatant bevat de bacteriofaag.

- Stap 3: **Filter de supernatant.** Breng de supernatant met een pipet over in een 10 ml-spuut met een 0,45 micron filter. (In deze fase worden alle resterende bacteriën uit de buis verwijderd.) De opslagbuis bevat bacteriofagen. Deze kan bij 4 °C worden bewaard en is enkele maanden houdbaar.



Laten we nu eens kijken hoe een microbioloog dit in de praktijk zou doen.



Finding and Isolating Phages

Stap 1: Verzamel de poep van enkele ganzen en meng deze met wat buffer (PBS-zoutoplossing, gedestilleerd water en wat zout). Ongeveer 50% poep en 50% buffer (PBS), vervolgens goed schudden.



Finding and Isolating Phages

Stap 2: Centrifugeren



Finding and Isolating Phages

Stap 3: Filteren

Stap 2: Vervolgens **centrifugeert** u het mengsel en verwijdert u het supernatant.

Stap 3: Neem vervolgens de supernatant en **filter** het om alle bacteriën te verwijderen. (Gebruik een filter van 0,22 micron.)

(Soms moet je een tweede keer centrifugeren om het supernatant door het filter te krijgen.)



Finding and Isolating Phages

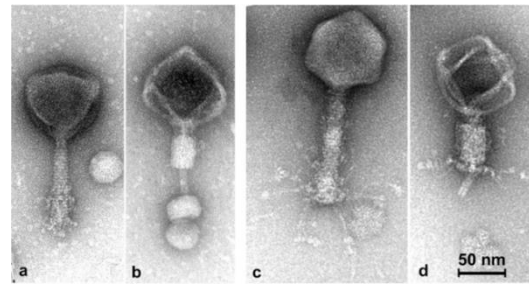
Gebruik een **glazen flesje** (kleine container) om de vloeistof met de bacteriofaag op te vangen. (Een **lysaat** – in dit geval is het product van het filteren van de supernatant.)

Finding and Isolating Phages by Dr Sabrina Green, 6 Jan 2021:

<https://www.youtube.com/watch?v=Kt0miFrXMaY> (geraadpleegd 12 dec 2024)

Dr. Sabrina Green gaat verder met het kweken van de bacteriofagen die ze heeft verzameld en isoleert ze vervolgens opnieuw. Hoewel microbiologen hiervoor ogenschijnlijk iets andere methoden gebruiken, is dat niet het geval.

Alle microbiologen gebruiken een combinatie van **centrifugeren en filtreren** om bacteriofagen en andere micro- organismen te isoleren.



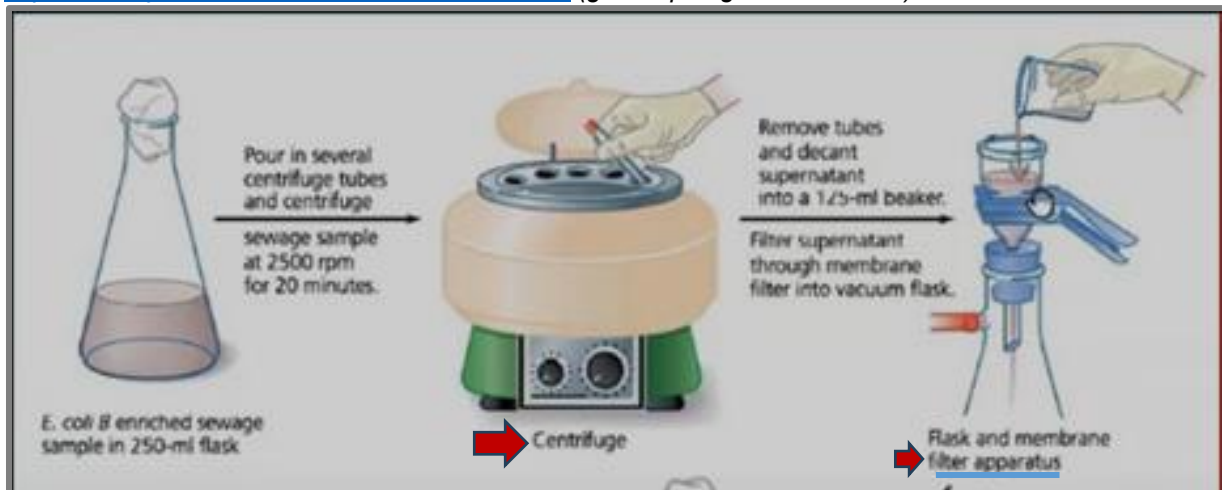
zie p. 42 voor een groter plaatje van een bacteriofage.

Soms hebben microbiologen het over **purificatie**. Dit verwijst meestal naar het isoleren van een micro-organisme nadat het kunstmatig in een laboratorium is gekweekt. Purificatie is dus in wezen hetzelfde als isolatie.

Bacteriofagen komen veel voor in de natuur. Je vindt ze in de uitwerpselen (poep) van dieren, in rioolwater, in de bodem en zelfs in de zee. Ze hebben een kop, een lichaam en poten en zijn ongeveer 100 nm (nanometer) groot.

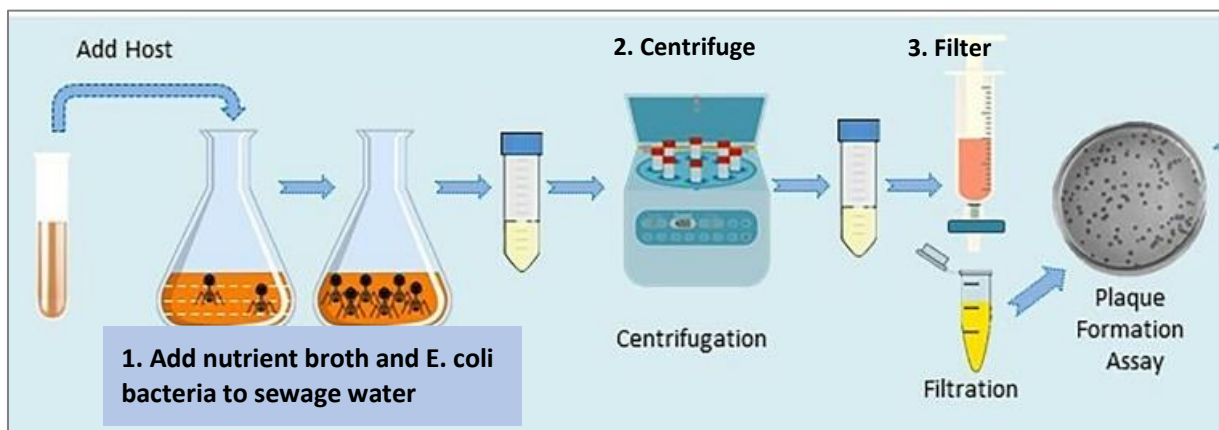
How To Purify A Phage by Dr Sabrina Green, 23 Feb 2021:

<https://www.youtube.com/watch?v=-t85C04Ueio> (geraadpleegd 12 dec 2024)



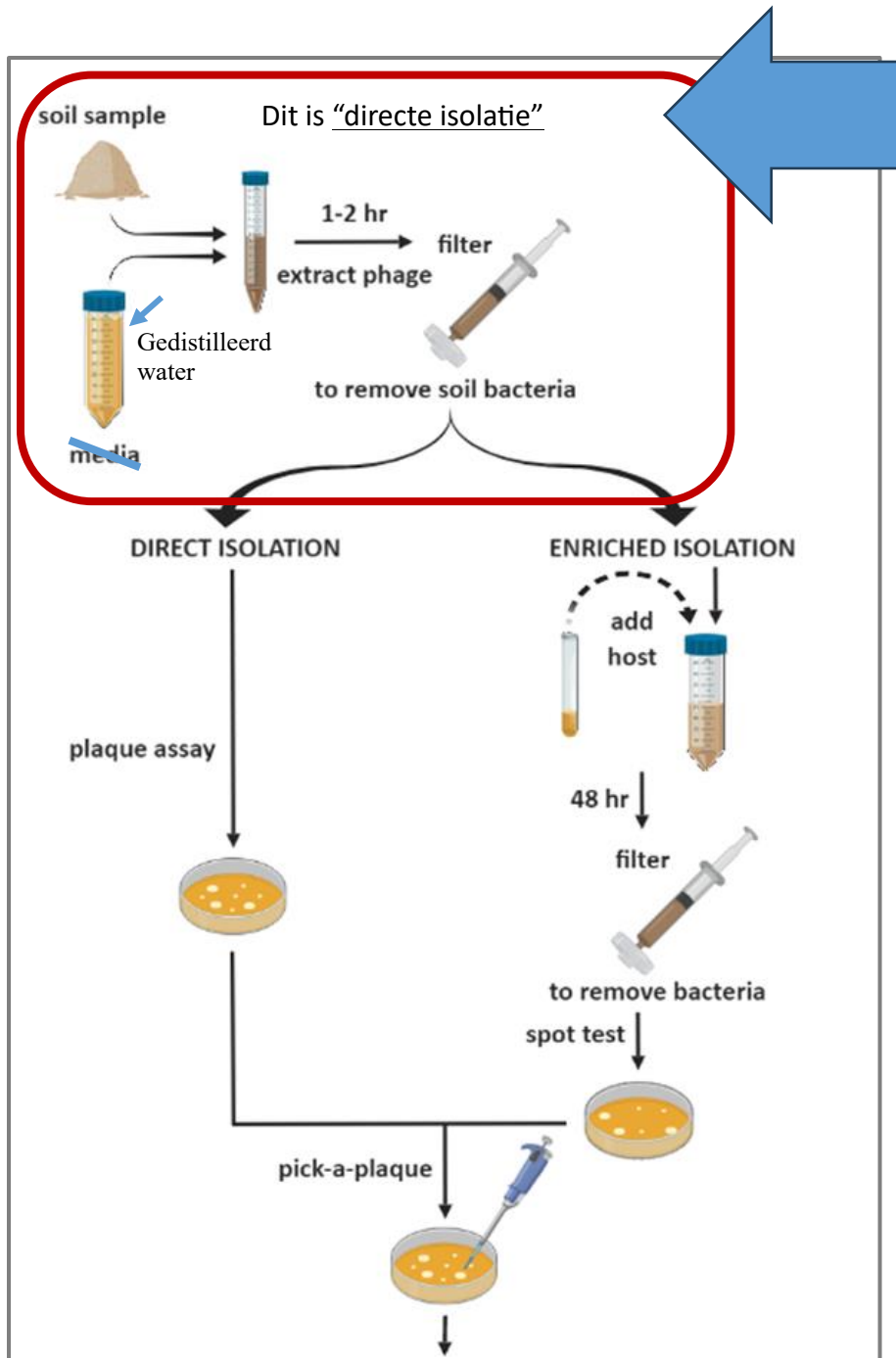
Isolating bacteriophages by centrifuge and filtration

<https://i.ytimg.com/vi/nvJGOjYVJQI/maxresdefault.jpg> (geraadpleegd 21 jan 2025)



Isolating bacteriophages by centrifuge and filtration

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.993990/full> (geraadpleegd 21 jan 2025)



Bovenstaande diagram laat zien hoe je een bacteriofaag uit een bodemonster kunt isoleren. Je zult zien dat het mogelijk is om de bacteriofaag rechtstreeks uit het monster te isoleren. Met andere woorden, het is mogelijk om een bacteriofaag te isoleren **zonder deze te kweken of te cultiveren**.

Het enige wat je hoeft te doen is wat gedistilleerd water aan uw bodemonster in een reageerbuis toevoegen en goed schudden. Laat het mengsel 1 tot 2 uur bezinken of centrifugeer het (5 minuten).

Verwijder ten slotte het **supernatant** (bovenste vloeistof) met een spuit **en filter deze**. (Duw het supernatant door een filter van 0,22 micron.)

Virus Isolation Course zie -> Direct Isolation.
<https://dustinedwards.info/virus-isolation/> (3 feb 2025)

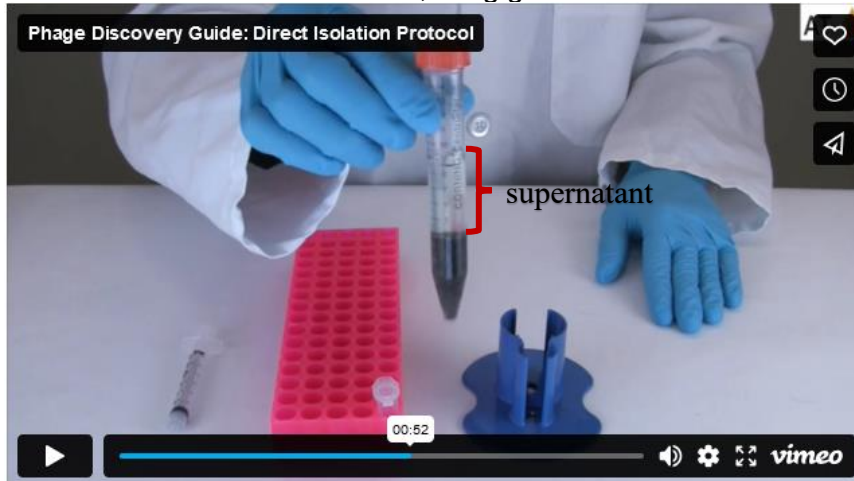
Virus Isolation Course by Dustin Edwards zie -> Direct Isolation.
<https://dustinedwards.info/virus-isolation/> (3 feb 2025)

Bacteriofagen zijn micro-organismen die rechtstreeks uit uitwerpselen (poep), rioolwater of grond kunnen worden geïsoleerd. Hier volgt hoe u dit kunt doen.

Procedure voor directe isolatie van Bacteriofaag



1. Verzamel een bodemonster, voeg gedistilleerd water toe en schud om te mengen..



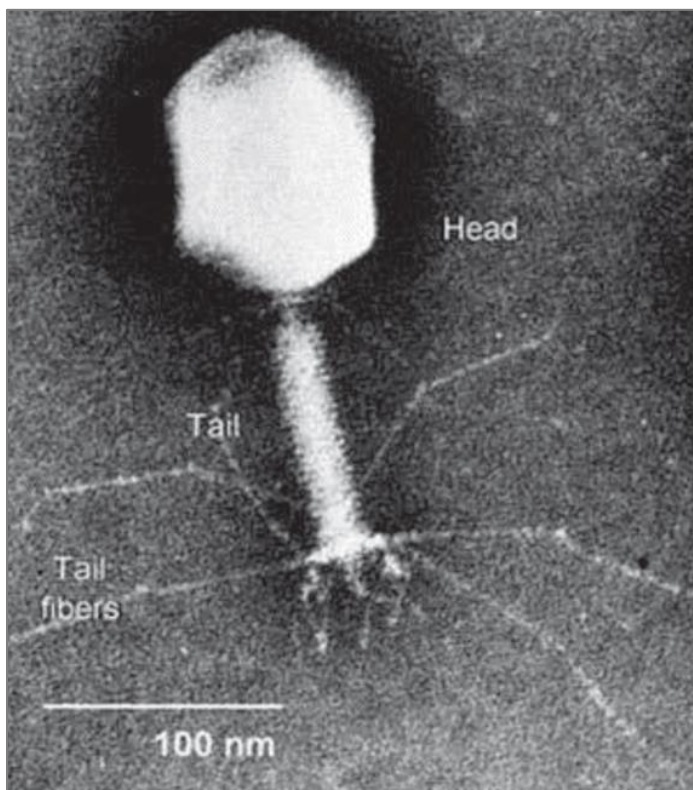
2. Laat de reageerbuis met rust tot alle grotere deeltje naar de bodem zijn gezakt of centrifugeer.



3. Verwijder/zuig een deel van het supernatant op met een spuit en **filter het supernatant**. Duw de vloeistof door het filter in een kleine reageerbuis. (Gebruik een filter van 0,22 micron.)



Zoals je hierboven kunt zien, zijn bacteriofagen veel kleiner dan bacteriën.



Bacteriofagen hebben een kop, lijf, en poten. Ze noemen het lijf een staart maar het is geen staart. En ze noemen de poten staartvezels maar dit zijn geen vezels maar poten.

(5) Conclusie: Wat zegt dit ons over de staat van de microbiologie vandaag?

Zoals Dr. Dustin Edwards en Dr. Sabrina Green aantonen, is het heel erg eenvoudig om een micro-organisme direct te isoleren.

Maar Plotkin, Enders en Hilleman hebben **nooit** de vermeende rubella-, mazelen- of bofvirussen uit menselijk weefsel '**geïsoleerd**'.

Het is simpelweg onmogelijk om een virus/micro-organisme te isoleren '**in een menselijke weefselcelkweek**' (een menselijke niercelkweek, een menselijke longcelkweek, een menselijke darmcelkweek) **of enige andere kweek**.

Dit is geen 'isolatie' en kan ook niet 'isolatie' worden genoemd.

Active substance - measles

• *Manufacture*

Seed lot system

The Enders' Edmonston strain of measles virus was isolated in primary human kidney cell tissue culture from the blood of a child (Edmonston) in the early acute phase of measles. The virus (10 ml) was received by Merck from Dr. John Enders at the Children's Hospital of Harvard Medical School in 1960. Further passages were performed at Merck to develop the Moraten (more attenuated Enders) strain that served as a pre-master seed from which the Master Seed was derived. The preparation of the Master Seed and the Stock Seed is appropriately described in the dossier.

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 2**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

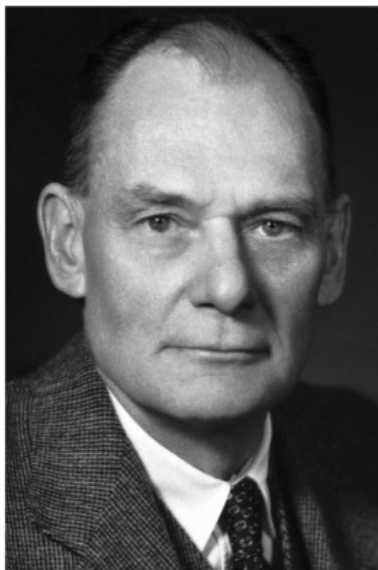
John Enders beschrijft zijn procedure heel duidelijk in zijn wetenschappelijke artikel uit 1954.

Hij nam 10 ml bloed af bij een zieke jongen, voegde een antistollingsmiddel toe, heparine genaamd, en kweekte dit bloedmonster in **menselijke niercellen** en verschillende andere soorten cellen van mensen en apen.

Hij heeft **nooit** het vermeende mazelenvirus uit het bloedmonster geïsoleerd (verwijderd).

5. The discovery of the measles virus

The viral nature of the disease was demonstrated in 1911 by John Anderson and Joseph Goldberger who successfully transmitted measles to rhesus monkeys from blood samples of measles patients, resulting in a discrete rash with a febrile peak [19]. The virus was then cultured in the 1940's on chicken embryos [20, 21]. In 1954, Thomas Chalmers Peebles (1921–2010), working in Boston with John Franklin Enders (1897–1985), future winner of the 1954 Nobel Prize in Medicine (Fig. 4), was sent to a nearby elementary school during a measles epidemic. He cultured nasopharyngeal and blood samples from an 11-year-old child named David Edmonston on a human kidney cell culture. After a few days, he observed the appearance of syncytia scattered in foci with multinucleated giant cells. Peebles injected the culture supernatant into monkeys, which developed a mild form of measles with a discrete rash [22, 23]. It was from this Edmonston strain that a live attenuated vaccine was developed



John Enders (1897-1985)



Maurice Hilleman (1919-2005)

P. Berche, "History of measles", *Quarterly Medical Review – History of Modern Pandemics*, Volume 51, Issue 3, September 2022, (consulted 27 Nov 2024)
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498222000422?via%3Dihub>

Niettemin probeert zelfs het prestigieuze medische tijdschrift **Quarterly Medical Review** ons te vertellen dat je een virus kunt 'isoleren' 'op een menselijke niercelcultuur'. Dit is volkomen belachelijk. Maar waarom doen ze dit?

Ze doen dit om twee zeer eenvoudige redenen. **Macht en geld.**

Albert Sabin bijvoorbeeld verzwakte het **zogenaamde poliovirus** door het te kweken in niercellen van een aap.

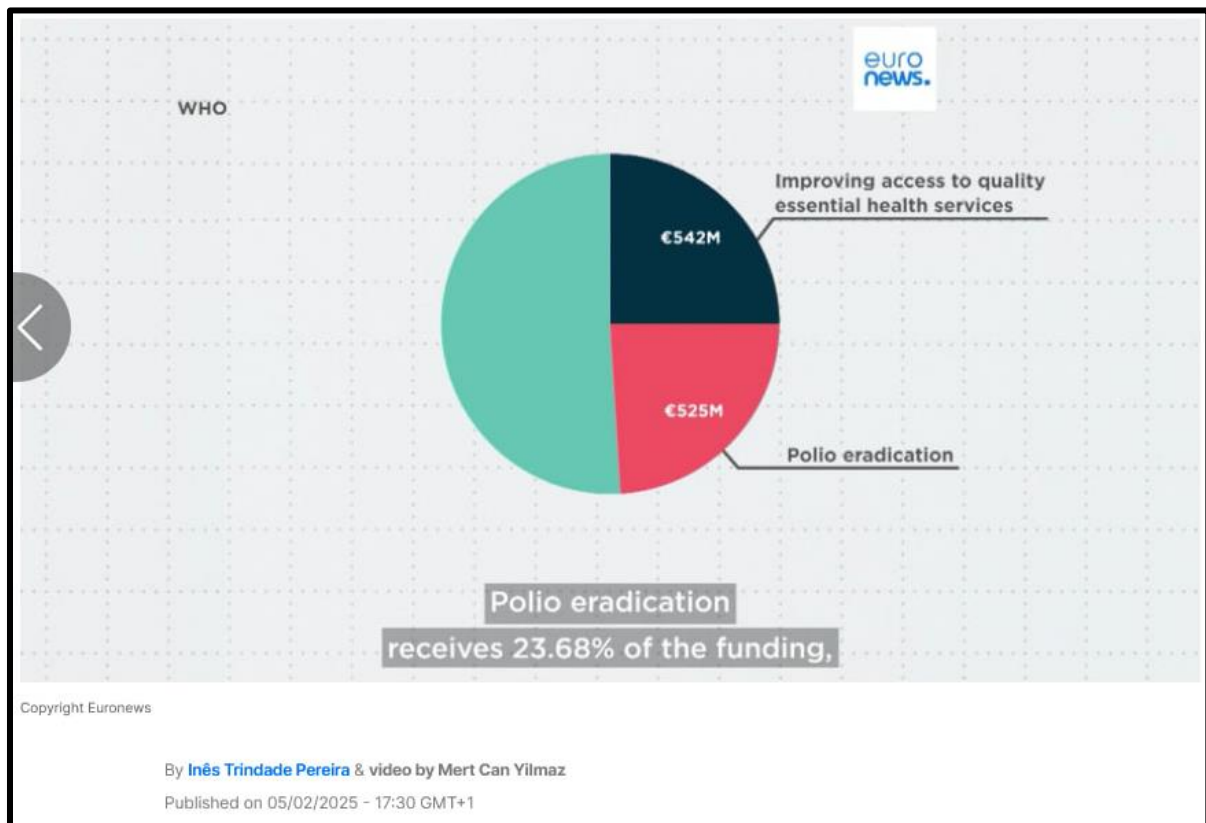
Nadat zijn versie van het **poliovaccin** in de Verenigde Staten was goedgekeurd, werd het door de WHO **goedgekeurd voor gebruik over de hele wereld**.

Albert Sabins "kweek" van "apenniercellen" maakte hem een zeer **rijk** en **machtig** man.

In the mid-1950s, cell culture became available, and Koprowski and Albert Sabin separately began to attenuate polioviruses by passage in monkey kidney cells. Both succeeded, and the Koprowski strains were tested extensively in the former Belgian Congo, his native Poland, and elsewhere (2). Nevertheless, because the Sabin strains were less neurovirulent in monkeys and were given successfully to millions of children in the former Soviet Union, they achieved licensure in the United States and adoption by the WHO for use throughout the world. During the battle between the oral polio vaccines, the atmosphere between Sabin and Koprowski became quite heated, with many colorful exchanges of insults, but afterwards they reestablished a friendship.

S. Plotkin, "In Memoriam: Hilary Koprowski, 1916–2013" *Journal of Virology*, Vol. 87 Number 15, Aug 2013 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3719820/> (consulted 19 Jan 2025)

Sinds de jaren vijftig is de verkoop van poliovaccins een van de grootste geldbronnen in de geschiedenis van de mensheid geworden voor de farmaceutische industrie.



Euronews, 5 feb 2025, Voordat Trump's de financiering stopte, wie financierde de WHO? <https://www.euronews.com/my-europe/2025/02/05/before-trumps-who-cutoff-who-was-funding-the-united-nations-health-organisation> (geraadpleegd 6 feb 2025)

In februari 2025 meldde Euronews dat ongeveer 24% van de financiering van de WHO wordt besteed aan poliovaccins en polio vaccinaties. Volgens Euronews gaat dus bijna **een kwart** van het **WHO-budget** (525 miljoen euro) naar **alleen al polio vaccinaties**.

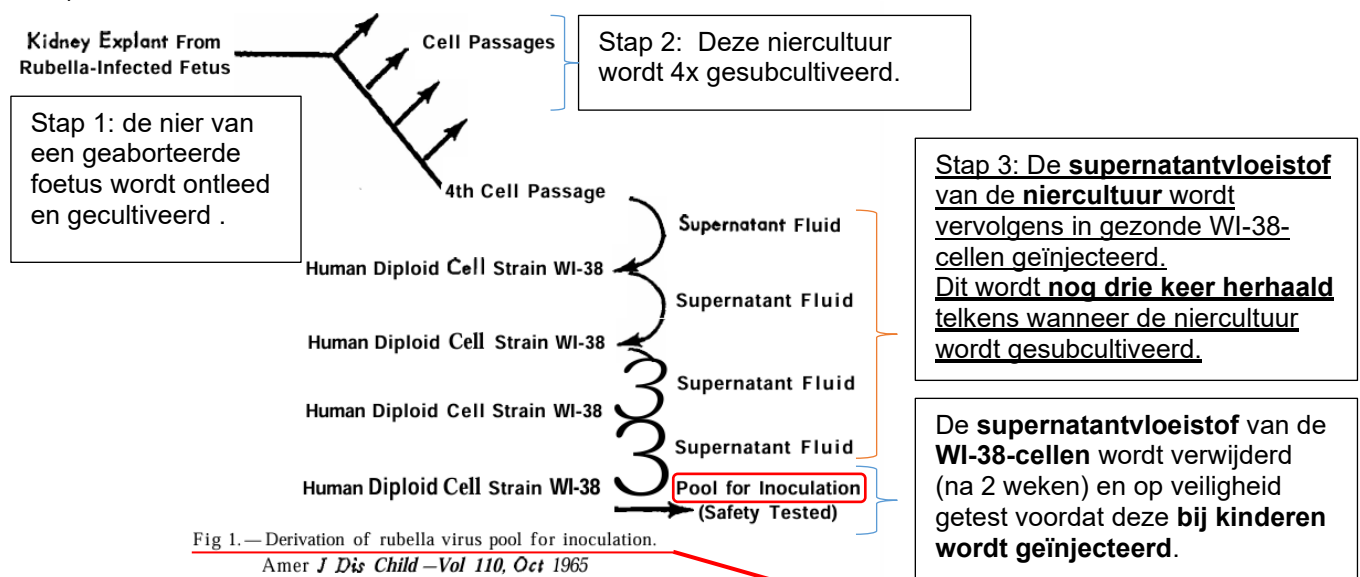
In 1964 trad Stanley Plotkin gewoon in de voetsporen van zijn baas Hilary Koprowski, die net als zijn rivaal Albert Sabin beroemd was om zijn polio vaccin.

Stanley Plotkin beschrijft heel duidelijk hoe hij zijn zogenaamde “rubella-virusstam” maakte door de “menselijke niercellen” van een geaborteerde foetus te kweken.

Alles wat hij deed was wat **supernatant vloeistoffen** uit de **nierkweek van een geaborteerde foetus injecteren** in een **WI-38-cel lijn**, en die vervolgens ‘subcultiveren’.

Het volgende diagram uit **pagina 382** van Plotkins paper vat samen hoe hij zijn zogenaamde **Rubella-virus Wistar RA 27/3 stam heeft gemaakt**.

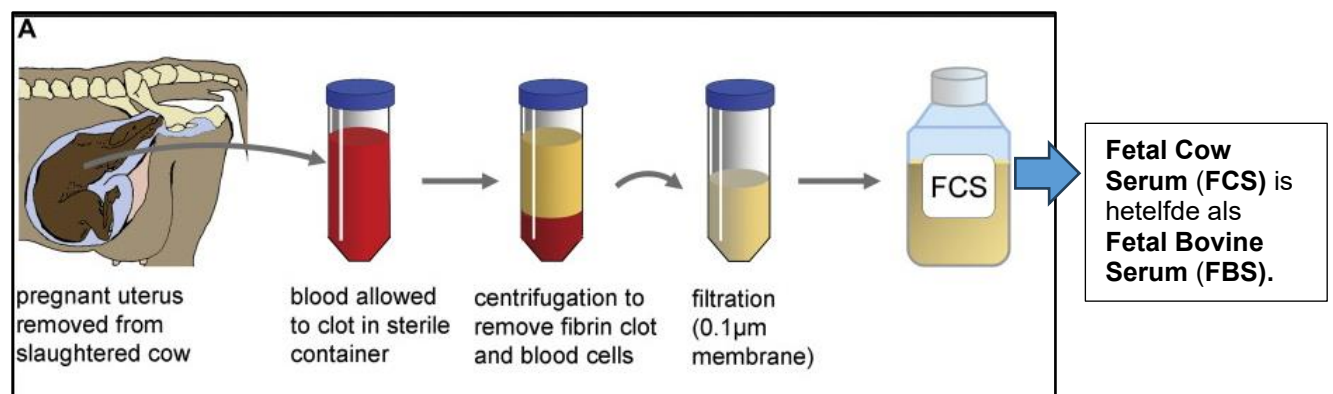
“Studies of Immunization With Living Rubella Virus, Trials in Children With a Strain Cultured From an Aborted Fetus”, S. Plotkin et al., *American Journal of Diseases of Children*, Vol 110 (1 Oct 1965) <https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildPlotkinRubellaVirus.pdf> (ger. 27 nov 2024)



Plotkin noemde de **supernatantvloeistoffen** die hij verzamelde misleidend een **rubella-viruspool voor inoculatie**, met andere woorden een **vaccin**.

Je kunt een micro-organisme niet **isoleren** en bestuderen door het op een **celkweek** te injecteren. Plotkin heeft het **vermeende rubellavirus** in de niercellen van de baby die hij in zijn experimenten gebruikte **nooit gevonden of bestudeerd**. **Niet in 1965, nooit.**

Bij de massaproductie van Plotkins zogenaamde rubellavaccin en Enders' mazelenvaccin worden honderden liters foetaal koeienbloed (het bloed van koeienfoetussen) gebruikt om de **cellen van geaborteerde baby's** en **kippenembryo's** te kweken.



[https://www.isct-cytotherapy.org/article/S1465-3249\(13\)00777-9/fulltext](https://www.isct-cytotherapy.org/article/S1465-3249(13)00777-9/fulltext) (geraadpleegd 17 jan 2025)

De zogenaamde **geogoste virusvloeistoffen (HVF's)**, dat wil zeggen de **supernatantvloeistoffen** uit de celculturen, bevatten een giftige cocktail van antibiotica en residuen van **cellen van menselijke en kippenfoetussen**.

Zoals reeds vermeld, vormen **menselijke embryo's** en **dierlijke embryo's** wereldwijd de basis voor de productie van mazelen- en rubellavaccins.

Process-related impurities arising from the rubella vaccine bulk manufacturing processes are classified as cell substrate- or cell culture-derived. **Since the rubella process uses cell growth medium containing fetal bovine serum (FBS), rubella bulk lots were tested for BSA** and the results for all of these lots were within the specification.

Website van het **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, published 2006, page 7**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)

Process-related impurities arising from the measles vaccine bulk manufacturing processes are classified as **cell substrate- or cell culture-derived**. Cell substrate-derived impurities may include proteins derived from the host organism, such as CECs used as substrate for measles vaccine bulk production. **Cell culture-derived impurities may include antibiotics (e.g., neomycin), serum, or other media components**. Also low levels of particle-associated reverse transcriptase activity are found; however, no signal of infectious retrovirus could be detected.

Since the measles process uses cell growth medium containing fetal bovine serum (FBS), measures have been taken to minimize the concentration of bovine serum proteins in the vaccine bulk. The concentration of bovine serum albumin (BSA) is used as a surrogate marker for other bovine serum proteins. Each measles final bulk is tested for BSA.

Website van het **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, published 2006, page 3**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)

 **Thermo Fisher Scientific**
<https://www.thermofisher.com> › us › en › home › references › gibco-cell-culture-basics › cell-cult...
Fetal Bovine Serum Collection and Manufacturing | Thermo Fisher ...
Approximately 500,000 L of **FBS** are produced annually, requiring the harvest of about **one million bovine fetuses** [1]. Examples of quality tests performed during **FBS** production Processing and quality testing are vital to ensuring that **FBS** is suitable for cell culture.

<https://www.thermofisher.com/nl/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-culture-environment/culture-media/fbs-basics/steps-taken-manufacture-fbs.html> (geraadpleegd 17 jan 2025)

Thermo Fisher Scientific schat dat er jaarlijks 1 miljoen runderfoetussen worden 'geogost' om 'wetenschappers' te voorzien van het bloed dat ze nodig hebben voor 'celkweek'.

Dus worden er jaarlijks **ongeveer een miljoen koeienfoetussen** gedood en wordt hun bloed afgenomen om de **farmaceutische industrie** te voorzien van het bloed dat ze nodig hebben om 'cellen te kweken' in hun **laboratoria** en **fabrieken**.

Tegenwoordig worden de meeste cellen die ze kweken, afkomstig uit weefsels en organen van geaborteerde menselijke baby's, waaronder de **nieren** en **longen** en zelfs de **ogen van geaborteerde foetussen**.

“Materials and methods. Collection of Specimens.

Throat washings, venous blood and feces were obtained from 7 patients as early as possible after a clinical diagnosis of measles was established. In 5 instances the time at which specimens were collected in relation to the onset of exanthem³ is given in the case histories described below or in Table I. When capable, patients were asked to gargle with 10-15 ml of sterile neutralized fat-free milk. Certain specimens from the throats of younger children were obtained by cotton swab previously moistened in milk. After swabbing the throat the swab was immersed in 2 ml of milk. Penicillin, 100 u/ml, and streptomycin, 50 mg/ml, were added to all throat specimens which were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour. Supernatant fluid and sediment resuspended in a small volume of milk were used as separate inocula in different experiments in amounts varying from 0.5 ml to 3.0 ml.

About 10 ml of blood immediately after withdrawal were placed in tubes containing 2 ml of 0.05% solution of heparin. **As inocula for tissue cultures** amounts varying from 0.5 ml to 2.0 ml of the whole blood were employed. After addition of antibiotics as described above 10% fecal suspensions were prepared by grinding the material in bovine amniotic fluid medium. The suspensions were then centrifuged at 5450 rpm for about one hour and the supernatant fluids used as inocula., in amounts varying from 0.1 ml to 3 ml.

All specimens were refrigerated in water and ice or maintained in the cold at about 5°C from the time of collection until they were added to the cultures. The maximum time that lapsed between collection of specimens and inoculation was 3 and a quart hours.

Tissue culture technics.

In the initial isolation attempts roller tube cultures (11,12) of human kidney, human embryonic lung, human embryonic intestine, human uterus and rhesus monkey testis were employed. Subsequent passages of the agents isolated were later attempted in human kidney, human embryonic skin and muscle, human foreskin, human uterus, rhesus monkey kidney and embryonic chick tissue.” (Enders J. et al, 1954, page 3)

“Propagation in Tissue Cultures of Cytopathogenic Agents from Patients with Measles”. John F. Enders et al, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1 June 1954
<https://www.semanticscholar.org/paper/Propagation-in-Tissue-Cultures-of-Cytopathogenic-Enders-Peebles/a8d3a62cbcd04eca654ec5888684c97adb376143> (geraadpleegd 4 dec 2024)

In 1954 kweekte John Enders het bloedmonster van een zieke jongen genaamd David Edmonston in maar liefst **vijf verschillende soorten cellen**, waaronder:

->de **nieren** en **longen**, evenals de **darmen** van **geaborteerde menselijke embryo's**.

Vervolgens passeerde/sub cultiveerde hij het bloedmonster in **menselijke nieren, menselijke embryonale huid en spieren, menselijke voorhuid, menselijke baarmoeder, rhesus aap nieren** en **embryonaal kippenweefsel**.

Vervolgens nam hij de supernatantvloeistoffen uit deze culturen en vertelde hij de wereld dat hij een **vaccin tegen mazelen** had gemaakt.

John Enders heeft nooit, **noch in 1954, noch op een ander moment**, het vermeende **mazelenvirus** uit **menselijk of dierlijk weefsel** geïsoleerd.

Het is een wetenschappelijk feit dat John Enders nooit ook maar een enkel wetenschappelijk artikel heeft gepubliceerd waarin hij daadwerkelijk beschrijft dat hij een micro-organisme heeft geïsoleerd.

In 1954 begon **Jonas Salk** met de massaproductie van het vermeende poliovirus met behulp van “apen-niercellen”. En in 1955 ging Natan Goldblum namens het Israëlische ministerie van Volksgezondheid naar de Verenigde Staten om van Salk te leren hoe hij zijn poliovaccin moest produceren.

Hij schreef hierover een rapport dat in **1957** door de **Wereldgezondheidsorganisatie** (WHO) werd gepubliceerd.

N. Goldblum et al., “**Production of formalinized poliomyelitis vaccine (Salk-type) on a semi-industrial scale**”, *Bulletin World Health Organisation*, Vol 17(1957), pp 1001–1023.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2537626/?page=14> (geraadpleegd 18 mei 2025)

This article describes a semi-industrial method for the production of formalinized poliomyelitis vaccine developed during 1956. The general technique followed that originally devised by Salk with modifications developed locally. The vaccine was tested for safety

p.1001

Methods of Production and Testing

Preparation of tissue cultures and virus suspensions

Monkey kidneys were used exclusively in the production of tissue cultures for the preparation of virus suspensions. The monkeys were *Macaca mulatta* imported from India, and weighed on the average 2-4 kg. On

The kidneys were weighed and decapsulated, and the pelvis was removed. Inside a 50-ml thick-wall centrifuge tube, they were cut into small 3- to 5-mm pieces, which were washed in phosphate-buffered saline (PBS) and placed in a trypsinization flask. The minced tissue in the flask was covered with a 0.25 % trypsin solution in PBS and incubated at 37°C for 30 minutes. The pH of the trypsin solution was 7.2.

p.1002

were resuspended in 30-40 ml of medium Mixture No. 199^{7, 12} containing 2% calf serum, 200 units/ml penicillin, 200 µg/ml dihydrostreptomycin and 50 units/ml Mycostatin (nystatin Squibb); the pH of the medium was brought to 7.0 by the addition of a NaHCO₃ solution. This medium will be referred to as medium 199-T. The cell clumps were dispersed in the

p.1004

Goldblum beschrijft hoe ze apennieren gebruikten om ‘weefselculturen’ te maken om zogenaamde ‘virussuspensies’ te bereiden. Ze deden dit door het apenweefsel fijn te hakken, het te wassen met PBS en trypsine toe te voegen. Vier apennieren leverden ongeveer 12 liter celsuspensie op (zie p. 1004).

Het groeimedium dat ze vervolgens gebruikten om de met trypsine behandelde apenniercellen te kweken, bevatte 2% kalfsserum en de antibiotica penicilline en dihydrostreptomycine, evenals het antischimmelmiddel Mycostatin (nystatine).



Infantile Paralysis Polio Development of Poliomyelitis Vaccine 50664, published 29 Dec 2016 by Periscope Film LLC archive. <https://www.youtube.com/watch?v=vghbJh7105g&t=289s> (geraadpleegd 18 mei 2025) (Een Film uit het midden van de jaren vijftig, gemaakt om het nieuw ontwikkelde poliovaccin te promoten.) .)

The seed consisted of 0.3-0.5 ml of a 1/25-1/50 dilution of stock virus kept frozen at -20°C . As representative of type 1 poliovirus, the Brunhilde strain was used. This strain was obtained through the courtesy of Dr H. von Magnus in the form of monkey-kidney tissue-culture fluid. In our laboratory

p. 1004

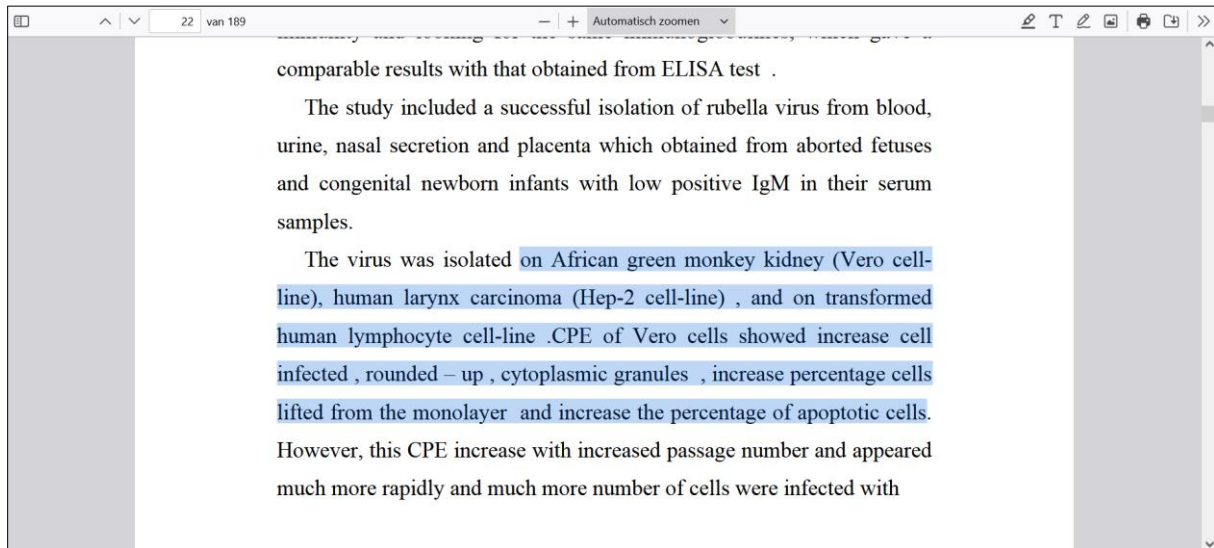
Vervolgens voegden ze formaline toe om het zogenaamde virus te 'doden'. Ze noemden dit '**inactiveren**'. Het eindresultaat was een giftige mix van apenniercellen, kalfsserum, de antibiotica penicilline en dihydrostreptomycine, het antischimmelmiddel Mycostatin (nystatine) en formaline (vloeibare formaldehyde). Uit deze soep verzamelden ze de supernatantvloeistoffen om het vaccin te produceren, dat ze eerst filterden voordat ze met dierproeven begonnen.

Ze doodden en verwijderden de nieren van ongeveer **1500 apen** om **1 miljoen** doses van Salk's zogenaamde **geïnactiveerde poliovaccin** te maken.

000 in 1954 to 0.8 cases per 100 000 in 1961[14]. Some disadvantages of the Salk vaccine in that time were the decrease of the titres of the circulating antibody within a few years of vaccination, the further circulation of wild PV and its implications in outbreaks, and the large number of monkeys (about 1500) needed to be sacrificed to produce every 1 million inactivated doses. The strains of virus used in the vaccine were Mahoney (type I), MEF-I (type

A. Baicus, "History of polio vaccination", World Journal of Virology, Vol 1(4) (2012), pp 108-114, published online: 12 Aug 2012, <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3782271/> (geraadpleegd 16 mei 2025)

Tot op de dag van vandaag beweren wetenschappers dat ze virussen kunnen 'isoleren' op 'cellijnen', waaronder 'apen-nier'-cellijnen, net zoals John Enders dat deed in 1954.



S. Jabbar Yasi, "Isolation of Rubella Virus from Aborted Fetuses and Congenitally Malformed Infants and Evaluation of Immunological Response among Abortive Pregnant Women", September 2023 https://www.researchgate.net/publication/373597868_Isolation_of_Rubella_Virus_from_Aborted_Fetuses_and_Congenitally_Malformed_Infants_and_Evaluation_of_Immunological_Response_among_Abortive_Pregnant_Women (geraadpleegd 17 mei 2025)

Saif Jabbar Yasi van de Universiteit van Kufa in Irak schrijft dat hij het zogenaamde **rubellavirus** heeft geïsoleerd uit het bloed, de urine en de neusafscheiding (snot) van geaborteerde foetussen en pasgeboren baby's op **Afrikaanse groene apenniercellen**.

De datum van zijn publicatie is september 2023.

Ook het **groeimedium** dat wordt gebruikt om cellen te kweken, is in 60 jaar niet veranderd. Het wordt bijna altijd **aangevuld** met **kalfsserum**, het **bloed van koeienfoetussen**. Waarom? Omdat het bloed van koeienfoetussen speciale voedingsstoffen bevat die nodig zijn om de cellen in een kunstmatige omgeving te laten vermenigvuldigen.

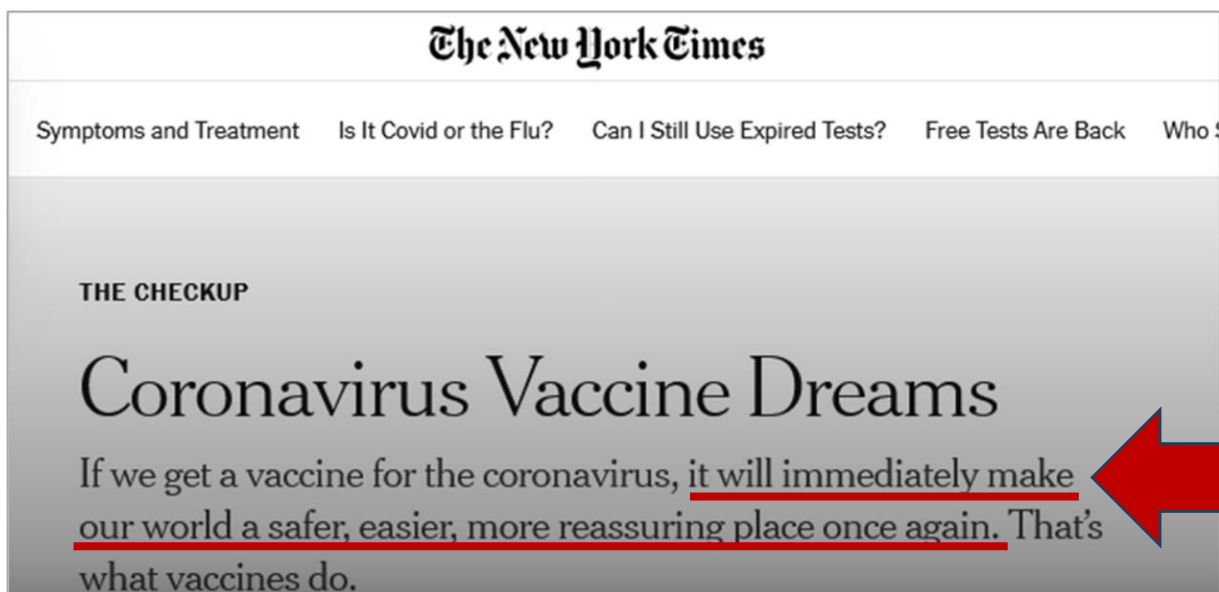
Het **groeimedium** bevat ook zeer giftige **antibiotica**, zoals penicilline en streptomycine. Soms wordt neomycine gebruikt.

Alle supernatantvloeistoffen, ook wel Harvested Virus Fluids (HVF's) genoemd, bevatten dus ook deze giftige stoffen.

MATERIALS AND METHODS

Media.—The growth medium (GM) used was Eagle's Medium in Earle's Balanced Salt Solution [8] supplemented with 10 per cent calf serum.¹ Twenty-five ml of 5.6 per cent NaHCO₃, 10⁵ units of penicillin and 10⁵ µg of streptomycin, were added per liter. The final pH of the medium was 7.3, and before use it was brought to 37°C. Phosphate buffered saline (PBS) was prepared as described by Dulbecco and Vogt [7]. Difco trypsin (1:250) was prepared as a 0.25 per cent solution in PBS and supplemented after filtration with the antibiotics described above.

L. Hayflick et al., "The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains," *Experimental Cell Research*, Vol 25v(1961), pp 585-621. <https://cogforlife.org/wp-content/uploads/Hayflick1961ExpCell.pdf>



Corona Vaccine Dreams, The New York Times, 16 Mar 2020,
<https://www.nytimes.com/2020/03/16/well/family/coronavirus-vaccine.html> (geraadpleegd 29 jan 2025)

De grote farmaceutische bedrijven vertellen ons dat vaccins “onze wereld veiliger maken”. In dit document wordt echter onomstotelijk aangetoond dat de vaccins tegen mazelen, bof en rodehond niets meer zijn dan een giftige cocktail van antibiotica, trypsine en de resten van cellen van menselijke en dierlijke embryo's die zijn gekweekt in foetaal runderserum, het bloed van koeienembryo's. (Vaccins bevatten ook zeer giftige stabilisatoren, hulpstoffen en conserveermiddelen.) Vaccins hebben de gezondheid van kinderen nooit bevorderd en zullen dat ook nooit doen. Dit is een onweerlegbaar wetenschappelijk feit. Hier valt niets meer over te zeggen.

COMMON COMPONENTS OF VACCINES

As well as the active components, vaccines contain a number of other substances. This graphic examines these and the reasons for their inclusion.

ACTIVE COMPONENTS

is used as the antigen. This antigen is modified from the original form so it no longer causes disease, but still elicits an immune response from the body. To modify the disease-causing agent, it can be treated with specific chemicals, so it cannot replicate. It can also be treated so it does not cause serious disease, or only parts of the disease-causing agent that do not cause serious symptoms can be used.

ADJUVANTS

$Al(OH)_3$
ALUMINIUM HYDROXIDE
 $AlPO_4$
ALUMINIUM PHOSPHATE

help to enhance the body's immune response to the vaccine. How they work isn't entirely understood, but it's thought they help keep antigens near the site of injection. This means they can be easily accessed by the immune system cells. There is no evidence of any serious adverse effects from adjuvants, though they can cause some minor reaction near the injection site.

ANTIBIOTICS

GENTAMICIN
NEOMYCIN

Antibiotics are used in the manufacturing process of the vaccine to prevent bacterial contamination. They are later removed, and only residual quantities remain in the vaccine after the production process.

STABILISERS

Sorbitol
 $MgSO_4$
MAGNESIUM SULFATE

are added to ensure the various components remain stable and effective. A variety of different stabilisers are used; either inorganic magnesium salts such as magnesium sulfate or magnesium chloride, or mixtures of lactose, sorbitol and gelatin. Monosodium glutamate and glycine are also used in some cases.

PRESERVATIVES

THIOMERSAL
PHENOL
PHENOXYETHANOL

Preservatives help prevent contamination of vaccines. They are used particularly in multi-dose vaccines. Thiomersal is a common preservative, though its use declined in the late 1990s when vaccines were falsely linked to child autism. This link was later shown to be an elaborate medical hoax, and there is no link between thiomersal and autism.

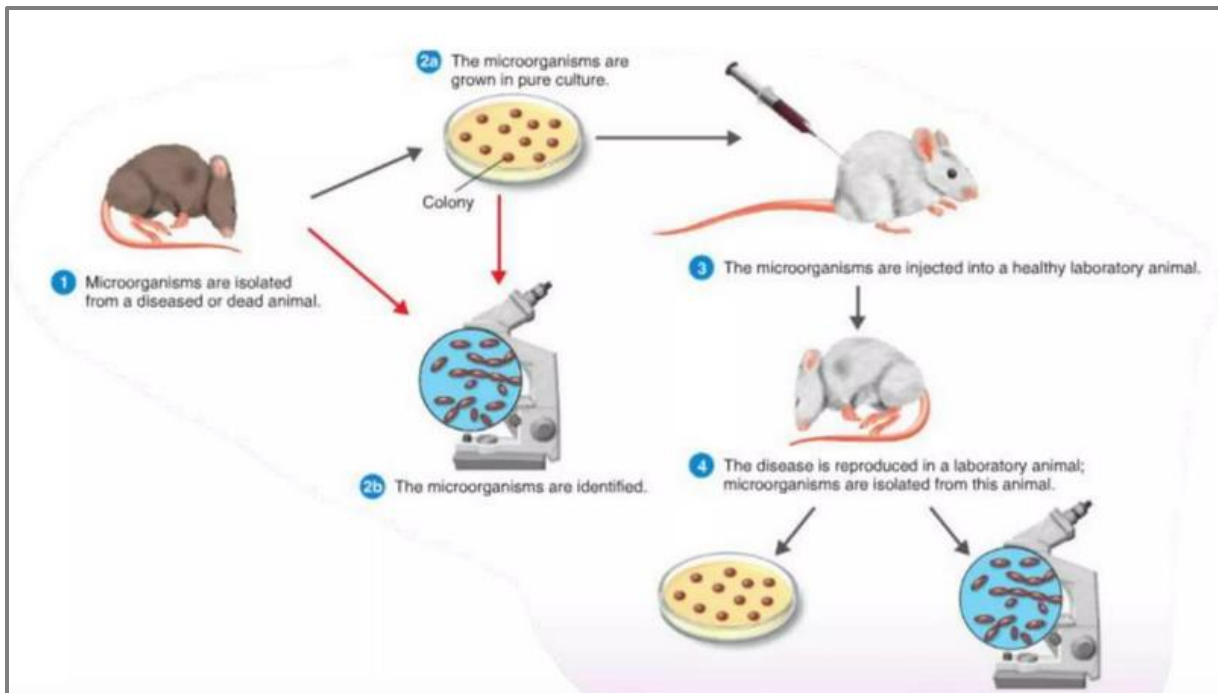
TRACE COMPONENTS

FORMALDEHYDE

These are left over from the vaccine production process. Though they are purposefully removed, residual amounts remain. Formaldehyde is one such agent, used to deactivate viruses and detoxify bacteria, but amount remaining is several hundred times lower than the smallest amount known to cause harm in humans.

© COMPOUND INTEREST 2015 - WWW.COMPOUNDCHEM.COM | Twitter: @compoundchem | Facebook: www.facebook.com/compoundchem
 This graphic is shared under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives licence.

A Summary of Common Vaccine Components, compoundchem.com
<https://www.compoundchem.com/2015/02/10/vaccines/> (geraadpleegd 29 jan 2025)



<https://www.slideshare.net/slideshow/infection-and-disease/33336417#13> (see slide 13)
(geraadpleegd 3 feb 2025)

De postulaten van Robert Koch

“Gedeeltelijk gebaseerd op de eerdere inzichten van Jakob Henle en in overleg met Friedrich Loeffler, stelde Robert Koch richtlijnen op om aan te tonen dat bepaalde ziekten bij de mens werden veroorzaakt door specifieke micro-organismen (tabel 1).

Toegepast op virale agentia (virussen) vereisen de “postulaten van Koch” voor het vaststellen van de oorzaak dat het virus wordt geïsoleerd uit een ziek organisme, dat het agens in een zuivere kweek wordt gekweekt en dat de ziekte zich ontwikkelt wanneer het virus opnieuw in een gezond organisme wordt geïntroduceerd (Koch, 1884; Rivers, 1937).

Kochs postulaten voor het identificeren van de veroorzaker van een infectieziekte.

1. Het micro-organisme moet in overvloed aanwezig zijn in alle organismen die aan de ziekte lijden, maar mag niet worden aangetroffen in gezonde organismen.
2. Het micro-organisme moet worden geïsoleerd uit een ziek organisme en worden gekweekt in een zuivere kweek (zuivere kweek betekent zonder trypsine, antibiotica of andere giftige chemicaliën).
3. Het micro-organisme (uit de zuivere kweek) moet ziekte veroorzaken wanneer het in een gezond organisme wordt geïnoculeerd.
4. Het micro-organisme moet opnieuw worden geïsoleerd uit de geïnoculeerde, zieke proefgastheer (dier) en worden geïdentificeerd als identiek aan de oorspronkelijke specifieke veroorzaker (het oorspronkelijke micro-organisme).

J. Prescott et al., “Amending Koch's postulates for viral disease: When “growth in pure culture” leads to a loss of virulence”, *Antiviral Research*, Vol 137, 5 Nov 2016, Pag 1-5, zie p2 tabel 1,
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354216302595> (geraadpleegd 3 feb 2025)

Dit is de procedure die Enders, Plotkin en Hilleman hadden moeten uitvoeren om te bepalen of de monsters van menselijk weefsel (bijv. bloed, longweefsel enz.) die zij hadden verzameld, micro-organismen bevatten die de oorzaak waren van de symptomen die zij bij zieke patiënten hadden waargenomen.

Zij hebben deze procedure nooit uitgevoerd, omdat dit onomstotelijk zou bewijzen dat virussen louter theorie zijn en geen entiteiten die in werkelijkheid bestaan.

We vragen je niet om ons te geloven, maar om zelf de documenten te lezen en te begrijpen wat er in staat.

Cellijnen als de WI-38 zijn niet alleen gebruikt in vaccins voor kinderen, maar ook in vaccins tegen covid-19, in ieder geval die van AstraZeneca en Johnson & Johnson. Lees de gedetailleerde studie van het gebruik van **menselijke embryonale cellijnen** in de ontwikkeling en productie van **covid-19 vaccins**: https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/Babycellen_in_covid-19_vaccins-8e080e7f.pdf (geraadpleegd 9 okt 2025)

Meer informatie over het gebruik van **foetuscellen in vaccins** vind je in de eerdere documenten op onze website: <https://diederikengelen.nl/vaccins-en-foetuscellen> (geraadpleegd 9 okt 2025)

The Germ Hypothesis Part 2: Koch's Crisis

Website over de postulaten van Robert Koch en het belang hiervan voor wetenschappelijk onderzoek naar de oorzaken van ziektes.

<https://viroliegy.com/2024/06/07/the-germ-hypothesis-part-2-kochs-crisis> (geraadpleegd 9 okt 2025)

Monkey Business: Polio, Measles And How It All Began

Documentaire over de zogenaamde ontdekking van de polio en mazelen virussen. Met onder andere Dr. Tom Cowan, MD, auteur van 'The contagion myth', Andrew Kaufman, MD, Claus Kohlein, MD, Torsten Engelbrech, co-auteurs van 'Virus mania' en Jim West, auteur van Virology vs. Toxicology <https://theviraldelusion.substack.com/p/the-viral-delusion-episode-three> (ger. 9 okt 2025)



The Viral Delusion Episode Three: Monkey Business: Polio, Measles And How It All Began

The magic formula for how to discover a "virus" is discovered and modern virology is born.



MICHAEL WALLACH
AUG 30, 2025



Mike Wallach: The Viral Delusion

Type your email...

Subscribe

Appendix 1: Definities van woorden die in de microbiologie en virologie gebruikt worden

1. Het verkrijgen van de benodigde cellen

isoleren: een ander woord voor ontleden of uitsnijden van cellen uit een levend dier of mens.

een explantaat: weefsel of orgaan uit een organisme. (bijv. vers bloed, niercellen, snot)

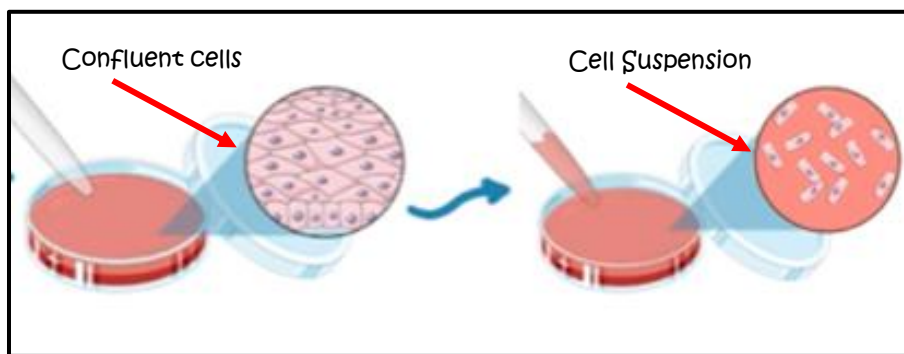
primaire cellen: cellen die rechtstreeks uit een levend organisme zijn verkregen.

2. Voorbereiding van cellen voor kweek

vermalen/fragmenteren: soms worden weefsels vermalen of gefragmenteerd tot kleine stukjes om een celsuspensie te creëren.

Trypsine is een enzym dat wordt gebruikt om het natuurlijke weefsel dat cellen met elkaar verbindt af te breken om een celsuspensie te creëren. Zodra het verbindende weefsel is afgebroken, moet trypsine worden verwijderd omdat het giftig is en de celgroei stopt of vertraagt. Trypsine wordt meestal verwijderd door de celsuspensie te centrifugeren, de **supernatantvloeistof** (bovenste vloeistof) te verwijderen en de resterende cellen te wassen (spoelen) met PBS (zoutoplossing).

cel dissociatie: het proces waarbij het natuurlijke weefsel dat cellen met elkaar verbindt, wordt afgebroken. Dit gebeurt meestal met behulp van trypsine. Soms gebeurt dit door de organen of de verzamelde weefsels te vermalen en PBS (zoutoplossing) toe te voegen.



Celsuspensie: een oplossing waarin de cellen groeien als afzonderlijke cellen die in de oplossing rondzweven, in plaats van als weefsel zoals ze dat van nature in het lichaam doen.

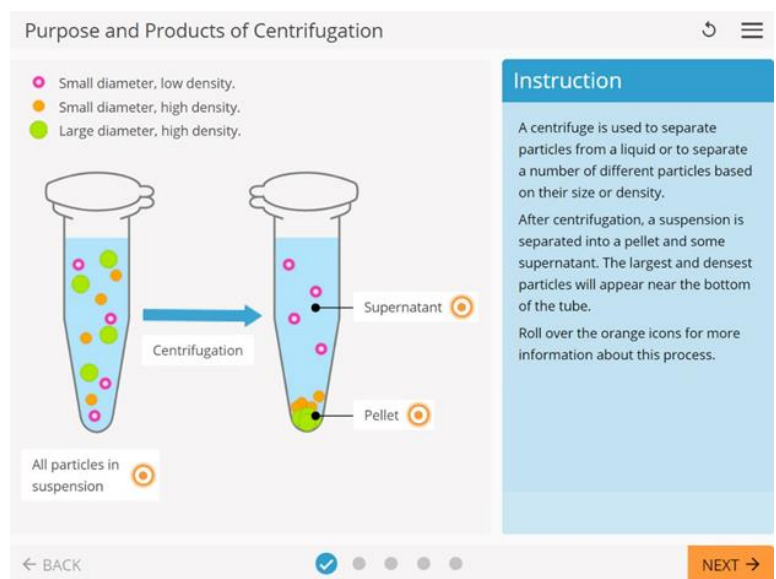
Confluente cellen: cellen die van nature boven op elkaar groeien in weefselvorm.

Cellen voor en na het gebruik van trypsine.

Supernatant: de bovenste vloeistof nadat de celsuspensie is gecentrifugeerd.

Celpellet: de cellen op de bodem van de reageerbuis nadat de celsuspensie is gecentrifugeerd. (Deze wordt gewassen (gespoeld) met PBS-zoutoplossing om de trypsine te verwijderen.)

Fosfaatbufferzoutoplossing (PBS) / buffer (zoutoplossing): wordt gebruikt om de celpellet te wassen (spoelen) nadat de cellen met trypsine zijn losgemaakt. Wordt soms ook gebruikt om de pH van de celkweek op 7 (neutraal) te houden.



Purpose and Products of Centrifugation: <https://www.learnsci.com/resources/purpose-and-products-of-centrifugation> (geraadpleegd 11 jan 2025)

3. Laat de cellen groeien /vermenigvuldigen

'celkweekmedium', ook bekend als groeimeidium (GM): vloeibare voeding voor cellen

De meeste microbiologen en virologen gebruiken zogenaamd **Eagle's Medium** als celkweekmedium om celculturen te kweken/te cultiveren.

Eagle's Medium is een celkweekmedium dat is ontwikkeld door Harry Eagle en voor het eerst werd gepubliceerd in Science Magazine in 1959. Het is naar verluid gebaseerd op zes zouten, glucose, dertien essentiële aminozuren en acht vitamines.

Het gebruikte **groeimeidium** wordt aangevuld met **kalfs-serum**, het **bloed van koeienfoetussen** die worden gedood en waarvan het bloed wordt afgetapt om celculturen te kweken. Het bloed van koeienfoetussen bevat speciale voedingsstoffen die nodig zijn om de cellen in een kunstmatige omgeving te laten vermenigvuldigen.

Kalfs-serum wordt ook **Fetal Cow Serum (FCS)** / **Fetal Bovine Serum FBS** genoemd.



Thermo Fisher Scientific
<https://www.thermofisher.com> › us › en › home › references › gibco-cell-culture-basics › cell-cult...

Fetal Bovine Serum Collection and Manufacturing | Thermo Fisher ...

Approximately 500,000 L of **FBS** are produced annually, requiring the harvest of about **one million bovine fetuses** [1]. Examples of quality tests performed during **FBS** production Processing and quality testing are vital to ensuring that **FBS** is suitable for cell culture.

<https://www.thermofisher.com/nl/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-culture-environment/culture-media/fbs-basics/steps-taken-manufacture-fbs.html> (geraadpleegd 17 jan 2025)

Het **groeimeidium** bevat ook zeer giftige **antibiotica**, zoals penicilline en streptomycine. Deze worden toegevoegd om te voorkomen dat bacteriën in de kweek gaan groeien.

MATERIALS AND METHODS

Media.—The growth medium (GM) used was Eagle's Medium in Earle's Balanced Salt Solution [8] supplemented with 10 per cent calf serum.¹ Twenty-five ml of 5.6 per cent NaHCO₃, 10⁵ units of penicillin and 10⁵ µg of streptomycin, were added per liter. The final pH of the medium was 7.3, and before use it was brought to 37°C. Phosphate buffered saline (PBS) was prepared as described by Dulbecco and Vogt [7]. Difco trypsin (1:250) was prepared as a 0.25 per cent solution in PBS and supplemented after filtration with the antibiotics described above.

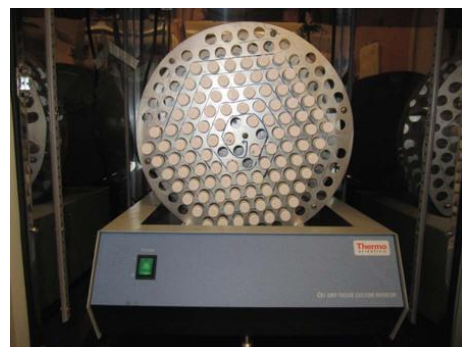
L. Hayflick et al., "The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains," *Experimental Cell Research*, Vol 25v(1961), pp 585-621. <https://cogforlife.org/wp-content/uploads/Hayflick1961ExpCell.pdf>

Rolcilinder tube kweektechniek gebruikt door John Enders)

Rolcilinder die wordt gebruikt om celkweekbuisjes tijdens incubatie vast te houden. Door langzame rotatie worden de cellen continu in het medium ondergedompeld.

Overzicht van methoden en strategieën in Virologie Hoofdstuk 65

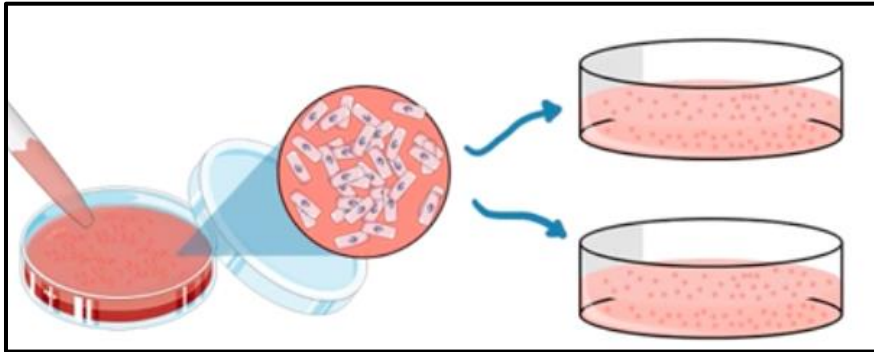
<https://basicmedicalkey.com/overview-of-the-methods-and-strategies-in-virology/> (30 jan 2025)



4. Het subcultiveren/passageren van de cellen

subcultiveren/passeren: het opdelen van een celsuspensie in twee of meer 'subculturen'.

Subcultivering wordt meestal uitgevoerd nadat cellen in een celkweek 'confluent' zijn geworden en niet langer groeien. Meestal wordt trypsine gebruikt om het natuurlijke weefsel dat de cellen met elkaar verbindt te verbreken, zodat ze kunnen worden verdeeld in **twee of meer 'subculturen'**.



Cytopathogene agentia: een ander woord voor virus

Vermenigvuldigen: een ander woord voor kweken of groeien.

Basale media versus complete media

Wat is het verschil?

Basale media en complete media zijn allebei soorten kweekmedia die in laboratoria worden gebruikt voor de groei en het onderhoud van cellen. Basale media, ook wel minimale media genoemd, leveren de essentiële voedingsstoffen die nodig zijn voor het overleven en de groei van cellen, zoals zouten, aminozuren en vitamines. Ze missen echter bepaalde componenten, zoals groeifactoren en serum, die wel in complete media aanwezig zijn.

Complete media bevatten daarentegen alle noodzakelijke voedingsstoffen, groeifactoren en serum om een optimale celgroei en -proliferatie te ondersteunen. Terwijl basale media vaak worden gebruikt voor specifieke onderzoeksdoeleinden waarbij de afwezigheid van bepaalde componenten gewenst is, worden complete media vaker gebruikt voor routinematige celkweek en zijn ze ideaal voor het ondersteunen van een breed scala aan celtypen.

<https://thisvsthat.io/basal-media-vs-complete-media> (consulted 11 Jan 2025)

Groeifactoren = groeihormonen en voedingsstoffen

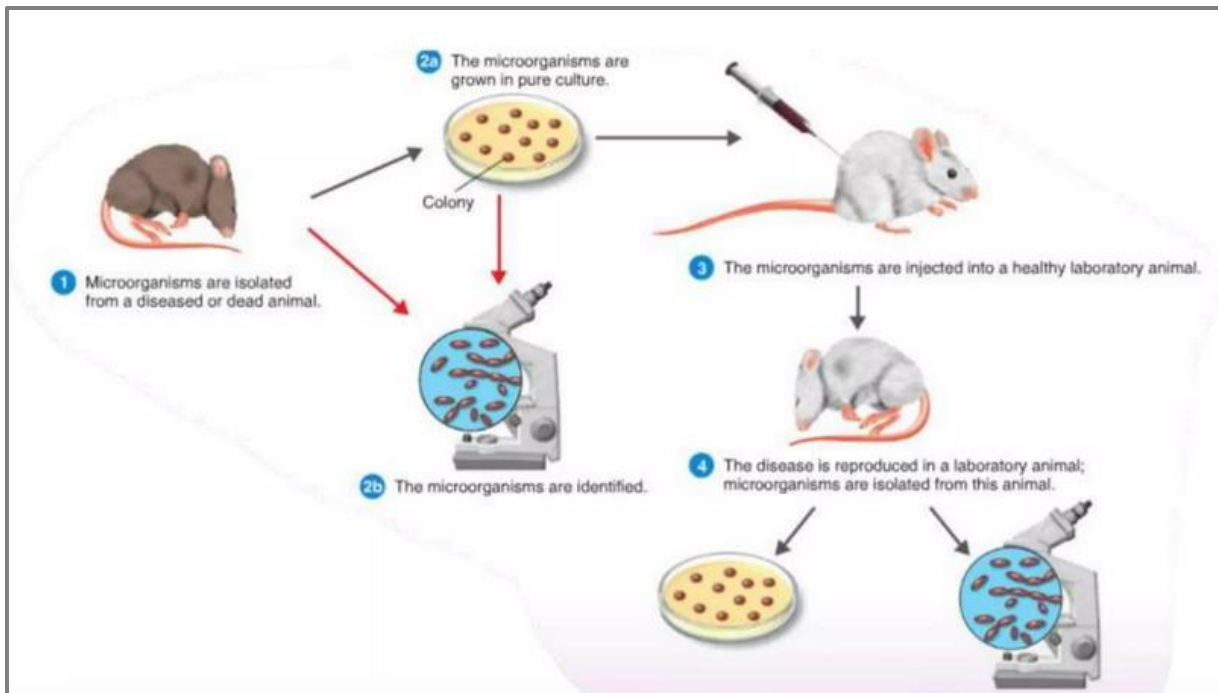
Formaline: formaldehyde en water dat wordt gebruikt om vermeende virussen zogenaamd te 'inactiveren'. Het wordt in mortuaria gebruikt om lijken te conserveren.

 Pediaa.Com
<https://pediaa.com/difference-between-formalin-and-formaldehyde>

Difference Between Formalin and Formaldehyde - Pediaa.Com

Basically, **formaldehyde** is a colorless, water-soluble, flammable gas at room temperature with a sharp, irritating smell. However, **formalin** is a liquid, which is prepared by mixing **formaldehyde** gas and water. This is the main difference between **formalin** and **formaldehyde**.

<https://pediaa.com/difference-between-formalin-and-formaldehyde/> (geraadpleegd 18 mei 2025)



<https://www.slideshare.net/slideshow/infection-and-disease/33336417#13> (zie slide 13) (3 feb 2025)

De postulaten van Robert Koch

“Gedeeltelijk gebaseerd op de eerdere inzichten van Jakob Henle en in overleg met Friedrich Loeffler, stelde Robert Koch richtlijnen op om aan te tonen dat bepaalde ziekten bij de mens werden veroorzaakt door specifieke micro-organismen (tabel 1).

Toegepast op virale agentia (virussen) vereisen de “postulaten van Koch” voor het vaststellen van de oorzaak dat het **virus wordt geïsoleerd** uit een ziek organisme, dat het agens **in een zuivere kweek** wordt gekweekt en dat de **ziekte zich ontwikkelt** wanneer het **virus opnieuw in een gezond organisme** wordt geïntroduceerd (Koch, 1884; Rivers, 1937).

Tabel 1: Kochs postulaten voor het identificeren van de veroorzaker van een infectieziekte.

1. Het micro-organisme moet in overvloed aanwezig zijn in alle organismen die aan de ziekte lijden, maar mag niet worden aangetroffen in gezonde organismen.
2. Het micro-organisme moet worden geïsoleerd uit een ziek organisme en worden gekweekt in een zuivere kweek (**zuivere kweek betekent zonder trypsine, antibiotica of andere giftige chemicaliën**).
3. Het micro-organisme (uit de zuivere kweek) moet ziekte veroorzaken wanneer het in een gezond organisme wordt geïnoculeerd.
4. Het micro-organisme moet opnieuw worden geïsoleerd uit de geïnoculeerde, zieke proefgastheer (dier) en geïdentificeerd worden als identiek aan de oorspronkelijke specifieke veroorzaker (micro-organisme).

J. Prescott et al., “Amending Koch's postulates for viral disease: When “growth in pure culture” leads to a loss of virulence”, *Antiviral Research*, Vol 137, 5 Nov 2016, Pages1-5, see p2 Table 1, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354216302595> (geraadpleegd 3 feb 2025)

Geen enkele viroloog heeft ooit de procedure uitgevoerd die in 1884 door Robert Koch werd geformuleerd, zelfs Robert Koch zelf niet. Waarom niet?

Het zou bewijzen dat virussen pure theorie zijn en helemaal niet bestaan in levende organismen.

Als je experimenten correct uitvoert, liegen ze niet.

Appendix 2: Referenties en links

Voor meer informatie over het gebruik van foetuscellen in foetal cells in vaccins, zie onze website:
<https://diederikengelen.nl/vaccins-en-foetuscellen> (Nederlands)
<https://diederikengelen.nl/vaccines-and-fetal-cells> (English)

Over de **WI-38 cellijn** uit de longen van een babymeisje, geaborteerd na 16 weken zwangerschap.
https://www.cellosaurus.org/CVCL_0579

Een gedetailleerde studie van het gebruik van cellen van **geaborteerde baby's (menselijke embryonale cellijnen)** in de ontwikkeling en productie van **COVID-19 vaccins**:

https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/Babycellen_in_covid-19_vaccins-8e080e7f.pdf

Kopieën van al deze documenten zijn gedownload en op papier afgedrukt, en ook in digitaal formaat opgeslagen. Ze zijn eigendom van de mensheid als bewijs van de grootste massamoord die ooit in de geschiedenis van de mensheid is gepleegd.

Ze vormen bewijs dat overal ter wereld in een rechtbank kan worden gebruikt tegen elke regering of onderneming die beweert dat virussen ooit zijn geïsoleerd en dat vaccins enig effect hebben op het voorkomen van ziekten.

Referenties

Wat is een 'celcultuur' en hoe maak je een 'cellijn', ook wel 'celstam' genoemd?

- Video: Primary Cell culture and cell line/Cell culture basics,
<https://www.youtube.com/watch?v=9BvTFowr0rI&t=131s> (geraadpleegd 6 nov 2024)
- Video: Sub-culturing cells/Cell culture basics, <https://www.youtube.com/watch?v=Oo36pvP0TrI>
(geraadpleegd 9 nov 2024)
- Video: Animal cell culture media,
<https://www.youtube.com/watch?v=UV7T9JsxdXA> (geraadpleegd 9 dec 2024)

L. Hayflick et al., "The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains," Experimental Cell Research, Vol 25v(1961), pp 585-621. <https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/The+serial+cultivation+of+human+diploid+cell+strains.pdf>
of
<https://cogforlife.org/wp-content/uploads/Hayflick1961ExpCell.pdf>

Interview met Leonard Hayflick in Juli 2011 (deel 50): Hoe isoleer je je eigen cellen?
(Interviewer Christopher Sykes)
<https://www.webofstories.com/play/leonard.hayflick/50> (geraadpleegd 7 Jan 2025)

Interview met Leonard Hayflick in Juli 2011 (deel 51): Celdeling
(Interviewer Christopher Sykes)
<https://www.webofstories.com/play/leonard.hayflick/50> (consulted 29 jan 2025)
https://www.youtube.com/watch?v=NC65_b1sGiY&list=PLVV0r6CmEsFyL_YYxHe6RzAARP6eJ_8wC&index=51 (geraadpleegd 29 jan 2025)

Leonard Hayflick beschrijft hoe hij de WI-38 cellijn (ook wel celstam genoemd) maakte in 1962

M. Wadman., "Medical research: Cell Division", Nature, Vol 498 (27 June 2013), pp. 422-426.
<https://www.nature.com/articles/498422a> (niet geraadpleegd, betaalde link)
https://www.researchgate.net/publication/242333147_Medical_research_Cell_division (geraadpleegd 12 jan 2025)

Hoe het vermeende 'rubella-virus' in 1965 door Stanley Plotkin zou zijn 'geïsoleerd'

S. Plotkin et al., "**Studies of immunization with living rubella virus. Trials in children with a strain cultured from an aborted fetus.**", American Journal of Diseases of Children, Volume (1965) 110, pp 381-389.

Semanticscholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Studies-of-immunization-with-living-rubella-virus.-Plotkin-Cornfeld/0c65acb5c182860c0c80263e37fdf1c6e40d48b1> (geraadpleegd 30 sep 2025, alleen diagram is gratis te zien, rest is betaalde link)
of
<https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildPlotkinRubellaVirus.pdf>

S. Plotkin et al., "**Attenuation of RA 27/3 Rubella Virus in WI-38 Human Diploid Cells,**" American Journal of Diseases of Children, Vol 118 (1969), pp 178-179.

<https://irp.cdn-website.com/e4e1af55/files/uploaded/AmJDisChildRA273inWI-38.pdf>

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 5**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hoe het vermeende 'rubella-virus' vandaag, in 2025, op grote schaal wordt geproduceerd

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 6**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hoe andere wetenschappers het vermeende 'rubella-virus' zouden hebben 'geïsoleerd' uit de lijken van menselijke foetussen

K. M. Thompson et al., "**Isolation of Rubella Virus from Abortion Material,**" British Medical Journal, Vol 2 (1970), pp. 264-266.

<https://www.bmj.com/content/2/5704/264> (geraadpleegd 30 sep 2025)

S. Jabbar Yasi, "Isolation of Rubella Virus from Aborted Fetuses and Congenitally Malformed Infants and Evaluation of Immunological Response among Abortive Pregnant Women", September 2023
https://www.researchgate.net/publication/373597868_Isolation_of_Rubella_Virus_from_Aborted_Fetuses_and_Congenitally_Malformed_Infants_and_Evaluation_of_Immunological_Response_among_Abortive_Pregnant_Women (geraadpleegd 17 mei 2025)

Hoe het vermeende 'mazelenvirus' in 1954 door John Enders zou zijn 'geïsoleerd'

"**Propagation in Tissue Cultures of Cytopathogenic Agents from Patients with Measles**". John F. Enders et al, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 1 June 1954

<https://www.semanticscholar.org/paper/Propagation-in-Tissue-Cultures-of-Cytopathogenic-Enders-Peebles/a8d3a62cbcd04eca654ec5888684c97adb376143> (geraadpleegd 4 dec 2024)

P. Berche, "**History of measles**", Quarterly Medical Review – History of Modern Pandemics, Volume 51, Issue 3, September 2022,

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498222000422?via%3Dihub> (geraadpleegd 27 nov 2024)

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 2**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, published 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hoe het vermeende 'mazelenvirus' vandaag, in 2025, op grote schaal wordt geproduceerd

Website **European Medicines Agency EMA, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, published 2006, page 2**, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hoe het vermeende 'bofvirus' in 1963 door Maurice Hilleman zou zijn 'geïsoleerd'

P. Offit, A Biographical Memoir, *National Academy of Sciences*, 2021: <https://www.nasonline.org/wp-content/uploads/2024/06/hilleman-maurice.pdf> (geraadpleegd 19 jan 2025)

Website **European Medicines Agency EMA**, M-M-R Vaxpro epar scientific discussion, page 4, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/m-m-rvaxpro-epar-scientific-discussion_en.pdf, gepubliceerd in 2006, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Productinformatie over het MMR-vaccin (mazelen, bof, rubella) M-M-RvaxPro vindt u op pagina 2, met details over hoe de mazelen- en bofvaccins worden geproduceerd met kippenembryo's en het rubellavaccin met WI-38-cellen (foetale longcellen gekweekt door Leonard Hayflick in 1962).

Website **European Medicines Agency**. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/m-m-rvaxpro-product-information-approved-chmp-13-december-2012-pending-endorsement-european-commission_en.pdf, (geraadpleegd 27 nov 2024)

Hoe Hilary Koprowski en Albert Sabin het vermeende 'poliovirus' zouden hebben verzwakt door het in de jaren vijftig in niercellen van apen te kweken.

S. Plotkin, "In Memoriam: Hilary Koprowski, 1916–2013" *Journal of Virology*, Vol. 87 Number 15, Aug 2013 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3719820/> (geraadpleegd 19 jan 2025)

Hoe Jonas Salk halverwege de jaren '50 zijn poliovaccin op grote schaal produceerde met behulp van apennieren.

N. Goldblum et al., "Production of formalinized poliomyelitis vaccine (Salk-type) on a semi-industrial scale", *Bulletin World Health Organisation*, Vol 17(1957), pp 1001–1023. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2537626/?page=14> (geraadpleegd 18 mei 2025)

Infantile Paralysis Polio Development of Poliomyelitis Vaccine 50664, published 29 Dec 2016 by Periscope Film LLC archive. <https://www.youtube.com/watch?v=vghbJh7105g&t=289s> (geraadpleegd 18 mei 2025) (Een film uit het midden van de jaren vijftig van de National Foundation for Infantile Paralysis, opgericht door de Amerikaanse president Franklin D. Roosevelt in 1938, om het nieuw ontwikkelde poliovaccin van Salk te promoten.)

Hoe virologen vermeende virussen zouden kunnen isoleren als ze dat zouden willen

Bacteriophage isolation technique a document of North West University, published by studeersnel.nl <https://www.studeersnel.nl/nl/document/north-west-university/industrial-microbiology-and-biotechnology/bacteriophage-isolation-technique-2022/52866265?sid=01734251982&shared=u> (geraadpleegd 21 jan 2025)

Finding and Isolating Phages by Dr Sabrina Green Ph D., 6 Jan 2021: <https://www.youtube.com/watch?v=Kt0miFrXMaY> (geraadpleegd 12 dec 2024)

How To Purify A Phage by Dr Sabrina Green Ph D, 23 Feb 2021: <https://www.youtube.com/watch?v=-t85C04Ueio> (geraadpleegd 12 dec 2024)

Virus Isolation Course by Dr Dustin Edwards Ph D. zie: -> Direct Isolation. <https://dustinedwards.info/virus-isolation/> (geraadpleegd 3 feb 2025)

Wat zijn de postulaten van Koch – het protocol om de veroorzaker van een infectieziekte te identificeren? (**Aan dit protocol is nooit voldaan** omdat het zou bewijzen dat virussen niet echt bestaan, waardoor een einde zou komen aan een miljardenindustrie.)

J. Prescott et al., "Amending Koch's postulates for viral disease: When "growth in pure culture" leads to a loss of virulence", *Antiviral Research*, Vol 137, 5 Nov 2016, P. 1-5, zie p2 Tabel 1, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354216302595> (geraadpleegd 3 feb 2025)