

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-194

ПЕРСИСТЕНЦИЯ ШТАММОВ ХАНТАВИРУСА ПУУМАЛА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК VERO

PUUMALA HANTAVIRUS STRAINS PERSISTENCE IN VERO CELL CULTURE

А. Н. Ветрова, С. С. Курашова, М. С. Егорова, Т. К. Дзагурова

Федеральный научный центр исследований и разработки
иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН, Москва

A. N. Vetrova, S. S. Kurashova, M. S. Egorova, T. K. Dzagurova

Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products RAS, Moscow

✉ ann.vetr.99@mail.ru

Аннотация

Хантавирусы вызывают хроническую инфекцию у резервуарного хозяина, не влияющую на его жизнедеятельность. Представляет интерес изучение персистенции хантавирусов в культурах клеток. Проведено сравнение хронической инфекции культуры Vero штаммами хантавируса Пуумала, отличающимися по числу пассажей. Наблюдалась цикличность накопления РНК вируса в культуральной жидкости (КЖ) и клетках с более высоким уровнем РНК для штамма, прошедшего меньше пассажей.

Abstract

Hantaviruses cause a chronic infection of the natural host. It is of interest to study the hantavirus persistence in cell culture. We compared chronic infection of Vero cell culture with Puumala virus strains isolated from HFRS patients and differing in the number of passages in Vero cells. We observed a cyclical accumulation of viral RNA for both strains. The strain that had passed through fewer passages had a higher level of RNA accumulation.

Введение

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), вызываемая ортохантавирусом Пуумала, занимает ведущее место среди природно-очаговых инфекций на территории РФ. На сегодняшний день остаются мало изученными многие аспекты взаимодействия ортохантавирусов с клетками как их естественных хозяев (*Rodentia*), так и человека.

Известно, что хантавирус Пуумала, адаптированный к клеточной культуре Vero, не является цитолитическим, что позволяет осуществлять длительное пассирование зараженной культуры. Целью исследования было определение продолжительности персистенции хантавируса Пуумала, представленного двумя изолятами от больных ГЛПС, прошедшими более 90 пассажей (Пуумала-ТКД) и 2 пассажа (Пуумала-Ж) в культуре Vero.

Материалы и методы

Культивирование штаммов вируса Пуумала проводили в культуре клеток Vero. Множественность заражения для обоих штаммов исходно была одинаковой. Зараженную культуру клеток, пассировали раз в неделю без добавления чистых клеток. На 7-е сутки из флаконов отбирались пробы КЖ и клеточной взвеси, в которых определяли количество вирусной РНК при помощи метода ОТ-ПЦР-РВ, и определяли наличие вирусного антигена в клетках методом флуоресцирующих антител (МФА).

Результаты

Культура клеток в зараженных и контрольных флаконах была пассирована более 20 раз. Наблюдалась волнообразная динамика количества вирусной РНК как в КЖ, так и в клетках. После первых двух пассажей, в которых количество РНК в клетках нарастало (для Пуумала-ТКД — до 7,5 lg, для Пуумала-Ж — до 8,9 lg), на протяжении следующих нескольких пассажей количество РНК снижалось, достигая в минимуме 5,0 lg для Пуумала-ТКД и 7,6 lg для Пуумала-Ж. Далее количество РНК возрастало, достигнув на 9 пассаже 6,9 lg для Пуумала-ТКД и 10,1 lg для Пуумала-Ж. В последующих пассажах пиковые значения количества РНК сменялись минимальными каждые 1–2 пассажа, разница между максимальными и минимальными показателями составляла до 4 lg. В пробах КЖ наблюдались колебания количества вирусной РНК, соответствующие подъемам и спадам РНК в клетках, но количество РНК в КЖ стабильно было ниже на 2,1–3,3 lg, что соответствует данным, полученным нами ранее.

Количество вирусной РНК в пробах Пуумала-Ж было стабильно выше на 1,1–2,4 lg, чем в пробах Пуумала-ТКД тех же пассажей. Объяснение этого феномена может быть связано с различными причинами, включая биологические свойства штаммов, разницу в исходном количестве их пассажей в культуре, возможное накопление пустых вирусных частиц в результате длительного пассирования.

Периоды максимального и минимального накопления РНК для штаммов Пуумала-ТКД и Пуумала-Ж совпадали: максимальные показатели наблюдались на 9, 14, 16, 18, 21 пассажах, а минимальные — на 5, 11, 15, 17 и 19 пассажах.

Количество вирусного антигена в зараженных клетках колебалось от 30 до 100 %. Корреляции этих колебаний с изменением количества вирусной РНК в клетках не выявлено.

Заключение

Многократное пассирование зараженной хантавирусом Пуумала культуры Vero без добавления незараженных клеток продемонстрировало персистенцию вируса в клетках на протяжении 20 пассажей и цикличность его репродукции. Несмотря на то что культура Vero является иммунодефицитной по интерфероновому ответу, выявленные колебания количества вирусной РНК в клетках могут свидетельствовать о периодической активации других механизмов подавления вирусной репликации. Динамика количества РНК в пробах КЖ и клеток оказалась схожей для обоих штаммов хантавируса Пуумала. Для штамма, исходно прошедшего меньшее количество пассажей, характерен был более высокий уровень накопления вирусной РНК.