

# POROVNÁNÍ CHOVÁNÍ CHŘIPKOVÉHO VIRU H7N7 PŘED STRATOSFÉRICKÝM TESTEM A PO TESTU VE STRATOSFÉŘE

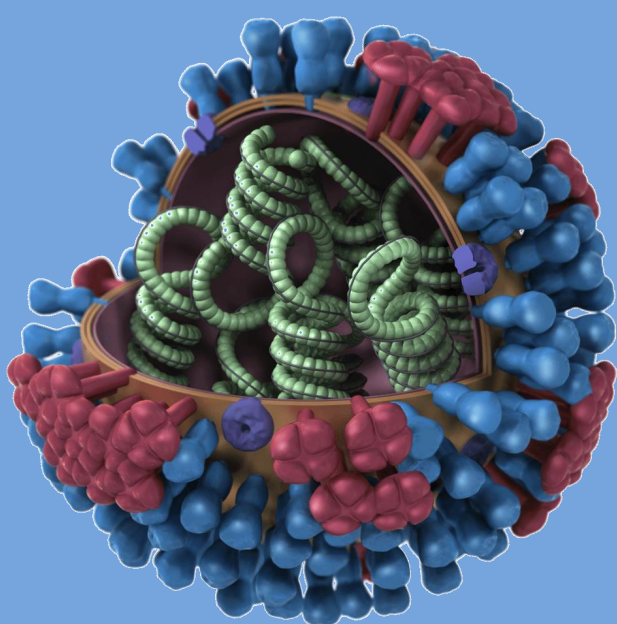
Petr MICHÁLEK<sup>1,2</sup>, Jan ZÍTKA<sup>1,2</sup>, Zbyněk HEGER<sup>1,2</sup>, Olga KRYŠTOFOVÁ<sup>1,2</sup>, Jan MIKULÁŠEK<sup>1,2</sup> a René KIZEK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut, VUT v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

## Úvod

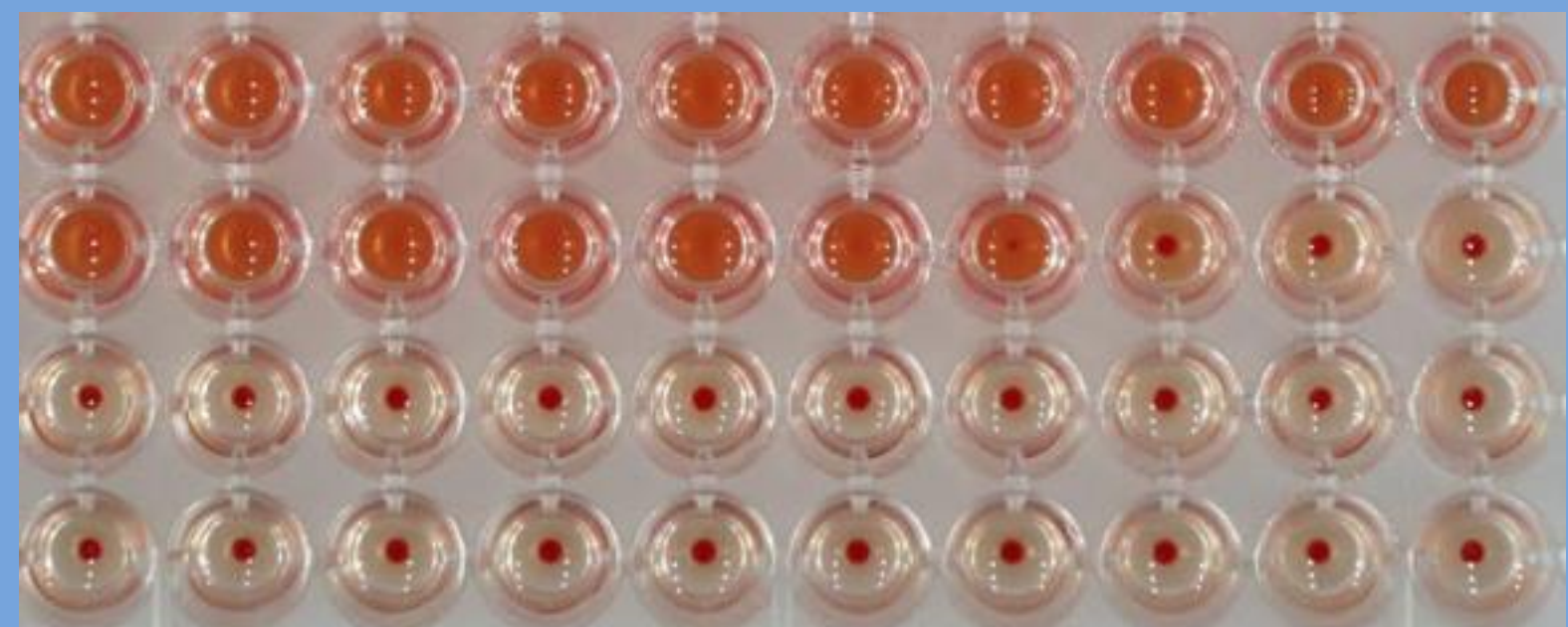
Pomnožení virových částic v kuřecích embryích je považováno za zlatý standard ve virologii (Obr.2). Embryo obsahuje řadu kompartmentů, které takovou aplikaci umožňují. Pro chřipkové viry (Obr.1) je nejčastěji využíváno alantoické tekutiny, která vyplňuje značnou část vejce a inokulace viru do této struktury je tedy snadná a poskytuje dostatečný výtěžek nových virových částic. K ověření úspěšného a dostatečného pomnožení viru se následně využívá tzv. hemaglutinačního testu (Obr.3), kdy jsou s vyizolovanou alantoickou tekutinou smíchány červené krvinky. Virus chřipky na svém povrchu obsahuje glykoproteiny, které jsou schopny červené krvinky srážet a zesítovat. Test je prováděn v mikrotitrační destičce, kde pokud dojde k reakci mezi krvinkami a virem, dno destičky se pokryje souvislou vrstvou. Za nepřítomnosti virových částic k zesílení nedojde a krvinky vytvoří na dně jamek drobnou tečku.



Obr.1 Průřez částicí chřipkového viru



Obr.2 Inokulace viru do kuřecího embrya



Obr.3 Ověření přítomnosti viru chřipky za použití hemaglutinačního testu

## Materiály a metody

100  $\mu$ l vzorku chřipkového viru H7N7 bylo rozděleno do kyvet a lyofilizováno. Kyvety byly poté zataveny. Následně byly vzorky rozděleny do čtyř skupin, kdy v první skupině se nacházely vzorky, u kterých nedošlo k žádné interakci s UV zářením. Vzorky 2. skupiny byly podrobeny záření pomocí transluminátoru při vlnové délce 254 nm po dobu 60 minut. Třetí skupina byla umístěna dovnitř stratosférické sondy a čtvrtá na povrchu samotné sondy. Vzorky jednotlivých skupin byly zpracovány obdobným způsobem, kdy po otevření kyvet bylo k lyofilizátům přidáno 500  $\mu$ l PBS. Rozsuspendované částice virů byly inokulovány do alantoické tekutiny devítidenních kuřecích embryí a inkubovány po 48 hodin při teplotě 35°C. Poté byla z embryí odpipetována alantoická tekutina a přítomnost virových částic byla detekována hemaglutinačním testem.

## Výsledky

Tabulka 1 ukazuje vliv UV záření na životaschopnost chřipkového viru H7N7. Vzorek 1, který nebyl vystaven vlivu záření, vykazoval pozitivitu v hemaglutinačním testu u všech pěti inokulovaných embryí. U druhého vzorku došlo ke snížení viability a pouze u tří embryí byly zjištěny detekovatelné hodnoty. 3. a 4. vzorek ukazoval na nepřítomnost virových částic po kultivaci v alantoické tekutině kuřecích embryí ve 4 z 5 vzorků.

Vzorek	1	2	3	4
Efekt	+++++	+++--	+----	+----

Tab.1 Vliv ultrafialového světla na přežití chřipkového viru H7N7

## Závěr

Efektivita inaktivace virových částic roste spolu s časem a intenzitou UV záření. Změny ve struktuře nukleové kyseliny viru, které jsou způsobeny ultrafialovým zářením, vedou k jejím defektům a znemožňují pomnožení virů v hostitelských buňkách. Obdobně změny na proteinové úrovni vedou ke snížené schopnosti replikace.

Poděkování: SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436