

О. В. Морозова<sup>1,2</sup>, А. Е. Гришечкин<sup>2</sup>, В. Н. Бахвалова<sup>3</sup>, Е. И. Исаева<sup>2</sup>, Р. Я. Подчерняева<sup>2</sup>

## Динамика репродукции вируса клещевого энцефалита в культурах клеток

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск; <sup>2</sup>ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва; <sup>3</sup>Учреждение Российской академии наук Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН, Новосибирск

Используемые в настоящее время вакцины против клещевого энцефалита основаны на инактивации вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) дальневосточного или западноевропейского генетических типов из первичных культур фибробластов куриных эмбрионов. Поскольку ВОЗ рекомендует разрабатывать вакцины с использованием в качестве субстрата не куриных эмбрионов, а перевиваемых культур клеток, проведено сравнение инфекции перевиваемых монослойных культур клеток СПЭВ, Vero E6 и вакцинной линии Vero (B) штаммами ВКЭ сибирского и дальневосточного генетических типов, доминирующих в эндемичных районах России. После заражения клеток ВКЭ дальневосточного (штаммы Софьин и 205) или сибирского (штаммы Айна, 2530, 2689 и 2703) генетических типов титры жизнеспособного ВКЭ достигали 2,8 Ig ЦПД<sub>50</sub> для клеток Vero (B), 5,5 Ig ЦПД<sub>50</sub> для Vero E6 и до 9 Ig ЦПД<sub>50</sub> для клеток СПЭВ. Количественные оценки антигена E ВКЭ в иммуноферментном анализе и геном-эквивалентов посредством обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени позволили определить до 10<sup>8</sup> вирионов в 1 мл культуральной жидкости, что соответствовало микроскопическим наблюдениям ЦПД для клеток СПЭВ и существенно превышало значения для клеток Vero E6 и особенно для клеток Vero (B). На основании данных титрования штаммов ВКЭ, ИФА и ОТ-ПЦР в реальном времени отечественная вакцинная клеточная линия Vero (B), охарактеризованная в соответствии с требованиями ВОЗ, и клетки Vero E6 можно применять для разработки вакцин против клещевого энцефалита.

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита, клетки почки эмбриона свиньи (СПЭВ), клетки почки зеленой мартышки Vero E6 и вакцинной линии Vero (B), реакция гемагглютинации, иммуноферментный анализ на антиген E, ОТ-ПЦР в реальном времени

### Changes in the reproduction of tick-borne encephalitis virus in cell cultures

O. V. Morozova<sup>1,2</sup>, A. E. Grischekin<sup>2</sup>, V. N. Bakhvalova<sup>3</sup>, E. I. Isayeva<sup>2</sup>, R. Ya. Podchernyaeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk; <sup>2</sup>D. I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of Russia, Moscow; <sup>3</sup>Institute of Animal Systematics and Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

The currently used tick-borne encephalitis virus vaccines are based on the inactivation of tick-borne encephalitis virus (TBEV) of Far Eastern or West European genetic types from the primary cultures of chick embryo fibroblasts. Since the WHO recommends that vaccines should be designed using continuous cell cultures rather than chick embryos as a substrate, this investigation has compared the infection of continuous monolayer SPEV, Vero E6, and vaccine line Vero (B) cell cultures with TBEV strains of the Siberian and Far Eastern genetic types dominating in the endemic regions of Russia. After cell infection with Far Eastern (Sofyin and 205 strains) or Siberian (Aina, 2530, 2689, and 2703 strains) TBEV genetic types, the viable TBEV titers reached 2.8 lg CPD<sub>50</sub> for Vero (B) cells, 5.5 lg CPD<sub>50</sub> for Vero E6 cells, and up to 9 lg CPD<sub>50</sub> for SPEV cells. The quantitative scores of TBEV E antigen in enzyme immunoassay (EIA) and genome equivalents by reverse-transcription polymerase chain reaction (PCR), followed by real-time PCR, permitted one to estimate as high as 10<sup>8</sup> virions in 1 ml of culture fluid, which corresponded to those of the microscopic observations of CPD for SPEV cells and substantially exceeded the values for Vero E6 cells, and for Vero (B) cells in particular. The data of TBEV strain titration, EIA, and real-time reverse-transcription PCR suggest that the Russian vaccine Vero (B) cell line defined as meeting the WHO requirements, as well as Vero E6 cells may be used to design tick-borne encephalitis vaccine.

**Key words:** tick-borne encephalitis, pig embryo kidney (SPEV) cell, green monkey kidney (Vero E6) cells, and vaccine Vero (B) cell line, hemagglutination reaction, enzyme immunoassay for E antigen, real-time reverse-transcription polymerase chain reaction

Традиционные технологии получения инактивированных вакцин на основе развивающихся куриных эмбрионов в настоящее время не могут обеспечить потребности здравоохранения. Начиная с 1995 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует разрабатывать вакцины с использованием в качестве субстрата не куриных эмбрионов, а перевиваемых культур клеток, аттестованных в соответствии

с международными требованиями к клеточным субстратам [9, 10]. Эти культуры клеток обладают рядом преимуществ – способностью к культивированию в системах с развитой поверхностью (в роллерах и биореакторах), в бессывороточных средах или средах с пониженным содержанием сыворотки; стабильностью свойств на протяжении длительного времени для работы с вакцинными штаммами; возможно-

*Контактная информация:*

Морозова Ольга Владимировна, д-р биол. наук, вед. научн. сотр. лаб. иммунологии; e-mail:thestarling@yandex.ru

стью получения вирусной биомассы вакцинных штаммов с неизменными антигенными свойствами [7–10]. Однако перевиваемые культуры клеточек могут накапливать посторонние агенты в процессе серийного пассирования культуры из питательных сред, сывороток, трипсина и т. п. В целом работа с использованием любых культур клеток сопряжена с риском их контаминации вирусами или микоплазмами.

Для специфической профилактики флавивирусных инфекций в настоящее время в мире используют преимущественно инактивированные вакцины за исключением живых аттенуированных вакцин против вирусов желтой лихорадки и японского энцефалита. Для иммунизации населения против клещевого энцефалита на эндемичных территориях применяют 6 типов вакцин, инактивированных формалином: 2 варианта отечественных для взрослых и детей с 3 лет и 4 варианта зарубежных – 2 вакцины для взрослых и 2 вакцины для детей с 1 года жизни. Все 6 вакцин производят по сходной технологии, включающей инактивацию формалином вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) из первичных культур фибробластов куриных эмбрионов, при различиях штаммов вируса. При производстве инактивированных вакцин российские производители (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН, Московская область, и НПО “Микроген”, Томск) традиционно используют штаммы ВКЭ дальневосточного генетического типа (штаммы Софьин и 205 соответственно), а зарубежные фирмы “Baxter” (Австрия) и “Novartis” (Германия) – западноевропейские штаммы (Найдорф и К23 соответственно), несмотря на доминирование сибирского генетического типа ВКЭ в большинстве эндемичных областей России и ближнего зарубежья. До настоящего времени уровни иммунизации инактивированными вакцинами против клещевого энцефалита в большинстве регионов России не превышают нескольких процентов от общей численности населения (в среднем 5–7%). Вакцинация не всегда предотвращает заболевание, однако для иммунизированных лиц характерны более легкие лихорадочные формы клещевого энцефалита [5].

Цель данной работы состояла в сравнительном анализе инфекции перевиваемых монослойных культур клеток СПЭВ, Vero E6 и вакцинной линии Vero (B) штаммами ВКЭ сибирского и дальневосточного генетических типов.

### Материалы и методы

*Вирус.* Штаммы ВКЭ дальневосточного типа (Софьин, номер доступа в GenBank X07755, штамм 205 (DQ989336)) и сибирского типа (Айна, номер доступа в GenBank AF091006) получены из Государственной коллекции вирусов ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Иванова Минздравсоцразвития России, Москва. Штаммы ВКЭ 2530 (GenBank GU060547), 2689 и 2703 сибирского генетического типа были выделены от имаго клещей *Ixodes persulcatus* Schulze, собранных с растительности на территории Новосибирской области в 2009–2011 гг.

*Культуры клеток.* Для культивирования ВКЭ использовали культуры клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ, а также клеток из ткани почки африканской зеленой марьши *Vero E6* и *Vero (B)* из Коллекции культур тканей ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Иванова Минздравсоцразвития России, Москва. Рабочий и посевной банки культуры клеток *Vero (B)* были аттестованы в ГИСК им. Л. А. Тарасевича [3].

### Методы определения ВКЭ

*Цитопатическое действие (ЦПД).* Перевиваемые клетки *Vero (B)* и *Vero E6* выращивали в среде Игла MEM с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 160 мкг/мл гентамицина при 37°C в течение 2 сут до образования полного монослоя. Заражение ВКЭ проводили в минимальном объеме среды Игла MEM без сыворотки в течение 1 ч при 37°C с покачиванием. Затем монослой клеток отмывали и добавляли среду Игла MEM с 1% ЭТС. ЦПД наблюдали в течение 20 дней. Клетки почки эмбриона свиньи СПЭВ выращивали в среде 199 с 10% ЭТС до полного монослоя, заражение ВКЭ про-

водили аналогично вышеописанному. Выявленные по ЦПД штаммы ВКЭ идентифицировали в реакции гемагглютинации, используя 0,4% суспензию нативных или формализированных эритроцитов гуся, при помощи иммуноферментного анализа и обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени.

*Реакция гемагглютинации (РГА).* РГА проводили в соответствии с указаниями в работе [6], используя 0,4% суспензию нативных или формализированных эритроцитов гуся.

*Иммуноферментный анализ (ИФА).* ИФА образцов культуральных жидкостей клеток СПЭВ и Vero, инфицированных ВКЭ, проводили с применением тест-системы “ВектоВКЭ-антиген” (ЗАО “Вектор-Бест”, Новосибирск). Калибровочный график зависимости оптической плотности продуктов ИФА от количества антигена ВКЭ построен с помощью тест-системы “ВектоВКЭ-антиген” Д-1154 серии № 84 (выпуск 2008 г.) с применением очищенного гликопротеина E ВКЭ, выделенного Е. К. Прессманом (Новосибирский институт биорганической химии СО РАН), и рекомбинантного белка E, любезно предоставленного П. А. Белавиным (ФГУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор” Роспотребнадзора, пос. Кольцово Новосибирской области).

*Обратная транскрипция (ОТ) с последующей ПЦР в реальном времени.* Нуклеиновые кислоты из 100 мкл культуральных жидкостей перевиваемых клеток, инфицированных ВКЭ, выделяли с использованием набора “Проба-НК” производства “ДНК-технология” (Москва). ОТ проводили с использованием набора “Реверта-L” (“Интерлабсервис”, Москва). Для количественных оценок применяли ПЦР с праймерами и флуоресцентными зондами, соответствующими гену NS1 ВКЭ [2].

*Патогенность для мышей.* Для выявления патогенности ВКЭ прибегали к внутримозговому и подкожному заражению двухнедельных мышей ICR образцами культуральных жидкостей через 5–7 дней после инфицирования соответствующих клеток. Контрольной группе мышей аналогичным способом вводили культуральную жидкость интактных клеток. Наблюдали животных до 14 сут после инокуляции исследуемого материала. ВКЭ идентифицировали в гомогенатах головного мозга зараженных мышей в РТГА [6], ИФА и ОТ-ПЦР [2].

### Результаты и обсуждение

#### *Адаптация ВКЭ к клеткам СПЭВ, Vero (B) и Vero E6*

Культуры клеток СПЭВ, Vero (B) и Vero E6 инфицировали 6 различными штаммами ВКЭ, выделенными от больных клещевым энцефалитом (штаммы Софьин и Айна) или от клещей (штаммы 205, 2530, 2689 и 2703), и изучали особенности репродукции вируса на протяжении 3 последовательных пассажей. Выбор штаммов был обусловлен доминированием сибирского и дальневосточного типов ВКЭ в большинстве природных очагов России и ближнего зарубежья. Штаммы дальневосточного генетического типа включали штамм Софьин ВКЭ, выделенный из мозга умершего больного на Дальнем Востоке в 1937 г., и штамм 205, выделенный от клещей *I. persulcatus* в Хабаровском крае в 1973 г. Штаммы сибирского генетического типа включали штамм Айна, выделенный от больного в Иркутской области в 1963 г., и штаммы 2530, 2689, 2703, выделенные от *I. persulcatus* в Новосибирской области в 2009–2010 гг. Три штамма (Софьин, Айна и 205) после многочисленных пассажей в культуре клеток СПЭВ и мозге лабораторных мышей хорошо изучены и, возможно, являются филогенетическими предшественниками современного биоразнообразия вирусных изолятов. Три свежесделанных штамма исследованы на уровне исходного заражения мышей-сосунков и отражают современный этап эволюции ВКЭ. Все 6 штаммов никогда ранее не были адаптированы к клеткам Vero. Для 3 исследуемых клеточных линий на 1-м пассаже ЦПД наблюдали через 7–14 дней после заражения клеток Vero (B) и Vero E6

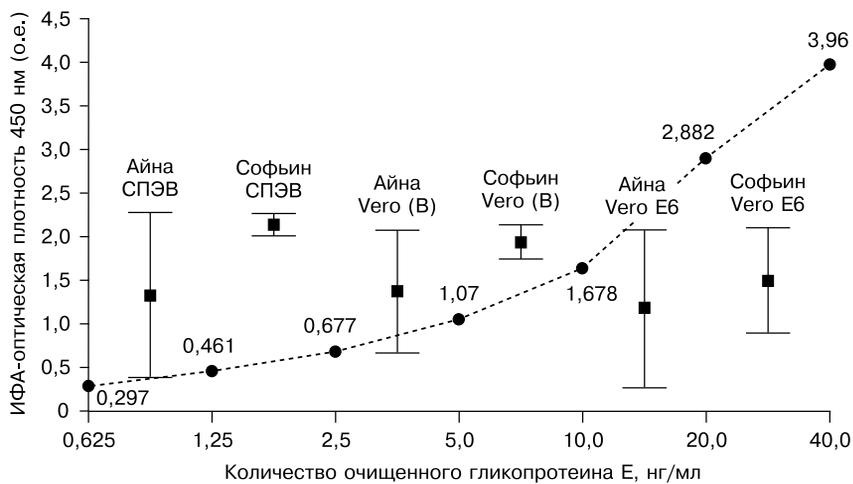


Рис. 1. Диапазон количеств антигена E ВКЭ при репродукции в клетках СПЭВ, Vero B и Vero E6.

По оси ординат – оптическая плотность по результатам ИФА на антиген ВКЭ с использованием набора производства "Вектор-Бест" (Новосибирск) при 450 нм (о. е.); по оси абсцисс – количество гликопротеина E.

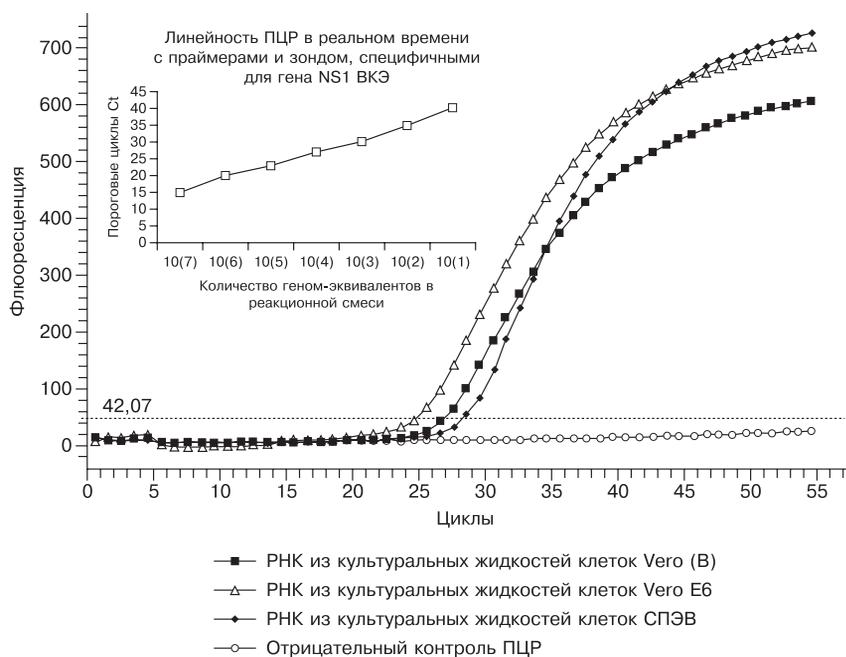


Рис. 2. Накопление геномной РНК ВКЭ через 5 дней после заражения клеток СПЭВ, Vero (B) и Vero E6.

или через 3–5 дней – для клеток СПЭВ. При последующих пассажах ВКЭ ЦПД обнаруживали на несколько дней раньше. Необходимо отметить отсутствие ЦПД после заражения клеток Vero различными штаммами ВКЭ при наличии ЦПД для сублиний Vero (B) и Vero E6.

Динамику репродукции жизнеспособного ВКЭ оценивали по ЦПД при титровании ВКЭ в клетках Vero (B), Vero E6 и СПЭВ в 96-луночных планшетах. В течение первых 2 дней после заражения клеток разными штаммами ВКЭ в течение 3 последовательных пассажей ЦПД не наблюдали. На 3-й день после заражения титры ВКЭ варьировали в диапазоне от 0 до  $1,75 \lg$  ЦПД<sub>50</sub> с ростом на 9–16-й день постинфекции до  $2,8 \lg$  ЦПД<sub>50</sub> для клеток Vero (B), до  $5,5 \lg$  ЦПД<sub>50</sub> для Vero E6 и до  $9 \lg$  ЦПД<sub>50</sub> для клеток СПЭВ по мере увеличения количества пассажей.

РГА показала существенные различия в накоплении геммагглютининов ВКЭ в культуральных жидкостях инфицированных клеток СПЭВ, Vero (B) и Vero E6. В клетках СПЭВ и Vero E6 титры РГА варьировали от 1:2–1:4 (на 3-й день после

заражения) до 1:16–1:32 (на 9-й день) и далее до 1:160 (на 14-й день), в то время как для культуральных жидкостей инфицированных клеток Vero (B) результаты РГА оказались либо отрицательными для свежеевыделенных штаммов ВКЭ сибирского типа, либо были отмечены титры 1:2–1:4 для штаммов Айна и Софьин при 2-м и 3-м пассаже в этих клетках даже через 7–14 дней после заражения. Кроме того, патогенность сибирских штаммов ВКЭ для лабораторных мышей ICR после одного пассажа на клетках Vero (B) оказалась пониженной по сравнению с таковой аналогичного вируса после одного пассажа на клетках Vero E6: инкубационные периоды у зараженных мышей были на 2–3 дня длиннее и летальность на 25% меньше (данные не представлены).

#### Количественные оценки антигена E ВКЭ в иммуноферментном анализе

Динамику накопления антигена E ВКЭ в культуре клеток изучали в ИФА, сопоставляя с калибровочным графиком зависимости оптической плотности от количества антигена E с известной концентрацией. На 1-м пассаже абсолютные значения оптической плотности при 450 нм в диапазоне от 0,269 до 6,002 о. е. свидетельствовали о количествах антигена ВКЭ от 1 до более 20 нг/мл в соответствии с калибровочным графиком на линейном участке (рис. 1). Абсолютные и нормированные относительно отрицательного контроля значения оптической плотности и титры в ИФА от 1:128 до 1:256 для 6 исследованных штаммов ВКЭ свидетельствовали о приблизительно совпадающих количествах вирусного антигена. Принимая во внимание молекулярную массу гликопротеина E ВКЭ около 60 кДа и количество копий димера E в каждом вирионе, равное 90, можно приблизительно оценить количества молекул антигена (до  $10^{10}$ ) или вирионов (до  $10^8$ ) в 1 мл культуральной жидкости.

#### Количественные оценки вирусной нагрузки в ОТ-ПЦР в реальном времени

Анализ РНК, выделенных из культуральных жидкостей инфицированных клеток СПЭВ, Vero (B) и Vero E6, проводили в разное время от момента заражения. Анализ линейности и чувствительности ПЦР в реальном времени с праймерами и зондом, соответствующими гену NS1 ВКЭ, выполняли с использованием в качестве матрицы серии разведений рекомбинантной плазмиды pBR322-TBEVS\*, содержащей клонированную полноразмерную ДНК-копию генома ВКЭ (штамм Софьин). Диапазон линейности составлял от  $10^7$  до  $10^1$  молекул; предел чувствительности – менее 10 геном-эквивалентов.

На 1-м пассаже накопление геномной РНК ВКЭ достигало максимальных значений, соответствующих минимальным циклам флюоресценции от 20 до 25, через 5 дней после заражения клеток Vero (B) и Vero E6 (рис. 2) для всех 6 исследованных штаммов ВКЭ. Наблюдаемые в ОТ-ПЦР пороговые циклы от 20 до 35 приблизительно соответствовали количеству от  $10^1$  до  $10^6$  геном-эквивалентов в реакционной смеси. С учетом аликвоты РНК для обратной транскрипции и кДНК для ПЦР в реальном времени, а также неполной эффективности выделения РНК и ревертирования можно оценить количества копий геномов (от  $10^3$  до  $10^8$ ) в 1 мл культуральных жидкостей инфицированных клеток и соответственно равное количество вирионов, что совпадало с данными ИФА (см. рис. 1) и микро-

скопическими наблюдениями ЦПД для клеток СПЭВ, для которых титры жизнеспособных сибирских и дальневосточных штаммов ВКЭ достигали 9 lg ЦПД<sub>50</sub>. Однако для клеток Vero E6 титры жизнеспособного ВКЭ были не более 5 lg ЦПД<sub>50</sub> через 16 дней после заражения, а для клеток Vero (B) не превышали 3 lg ЦПД<sub>50</sub> при приблизительно одинаковых количествах РНК и антигена Е в культуральных жидкостях инфицированных клеток всех 3 типов.

На основании данных титрования штаммов ВКЭ, ИФА и ОТ-ПЦР в реальном времени отечественная вакцинная клеточная линия Vero (B), охарактеризованная в соответствии с требованиями ВОЗ, и клетки Vero E6 можно применять для разработки вакцин против клещевого энцефалита.

Работа проводилась частично при поддержке междисциплинарного интеграционного гранта № 83 СО РАН.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бахвалова В. Н., Пар В. А., Ткачев С. Е. и др. Генетический анализ штаммов вируса клещевого энцефалита Западной Сибири // *Вопр. вирусол.* – 2002. – Т. 45, № 5. – С. 11–13.
2. Морозова О. В., Бахвалова В. Н., Панов В. В. Сравнение методов детекции вируса клещевого энцефалита // *Фундаментальные нау-*

ки – медицине. – 2008. – С. 171–177.

3. Подчерняева Р. Я., Хижнякова Т. М., Михайлова Г. Р. и др. Линия клеток Vero (B) для приготовления медико-биологических препаратов // *Вопр. вирусол.* – 1996. – № 4. – С. 183–185.
4. Щипакин В. Н., Семашко И. В., Караванов А. С. и др. Оценка чувствительности иммуноферментного метода в определении инфекционного и неинфекционного антигена вируса клещевого энцефалита // *Вопр. вирусол.* – 1989. – Т. 34, № 5. – С. 634–637.
5. Щучинова Л. Д. Эпидемиологический надзор и контроль инфекций, передающихся клещами, в Республике Алтай: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Омск, 2009.
6. Clarke D. H., Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1958. – Vol. 7. – P. 561–573.
7. Kaverin N. V., Webster R. G. Impairment of multicycle influenza virus growth in Vero (WHO) cells by loss of trypsin activity // *J. Virol.* – 1995. – Vol. 69. – P. 2700–2703.
8. Medema J. K., Meijer J., Kersten A. J. et al. Safety assessment of Madin Darby canine kidney cells as vaccine substrate // *Bull. Wld Hlth Org.* – 2006. – Vol. 123. – P. 243–250.
9. Sheets R. L. et al. Vaccine cell substrates // *Expert Rev. Vaccines.* – 2004. – Vol. 3. – P. 633–638.
10. WHO. Cell culture as a substrate for the production of influenza vaccine: memorandum from a WHO meeting // *Bull. Wld Hlth Org.* – 1995. – Vol. 73. – P. 431–435.

Поступила 03.03.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 578.835.17.083.2

В. Б. Сейбиль<sup>1</sup>, Л. П. Малышкина<sup>1</sup>, Л. А. Грачева<sup>1</sup>, В. Г. Козлов<sup>2</sup>

## Использование культуральных вариантов вирусов Коксаки А в вирусологической практике

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии медицинских наук Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН,

<sup>2</sup>ФГУП Предприятие по производству бактериальных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН, Москва

Вирусы Коксаки А относятся к тем энтеровирусам, выделение которых из инфекционного материала и дальнейшее культивирование в большинстве случаев возможно только путем заражения лабораторных животных. Авторам удалось адаптировать к культуре клеток RD штаммы 17 из 23 серотипов этих вирусов.

Штаммы 8 серотипов были дополнительно адаптированы к культуре клеток Vero.

Культуральные варианты вирусов Коксаки А были использованы для получения иммунных сывороток. В настоящее время Предприятием по производству бактериальных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН на основе культуральных вариантов вирусов Коксаки А 5 серотипов налажено производство диагностических сывороток.

Культуральные варианты 14 серотипов вируса Коксаки А были использованы для постановки реакции нейтрализации вирусов. Обследование более 600 детей из Москвы и Московской области показало широкую циркуляцию отдельных серотипов вируса Коксаки А в популяции. Одновременно было показано резкое сокращение циркуляции вируса Коксаки А-7 за минувшие 50 лет.

Ключевые слова: вирусы Коксаки А, адаптация к культуре клеток RD, серологические исследования, иммунизация животных

### Use of the cultural variants of Coxsackie A viruses in virological practice

V. B. Seibil<sup>1</sup>, L. P. Malyskina<sup>1</sup>, L. A. Gracheva<sup>1</sup>, V. G. Kozlov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M. P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Virus Encephalitides, Russian Academy of Medical Sciences; <sup>2</sup>Bacterial and Viral Agent Enterprise, M. P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Virus Encephalitides, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Coxsackie A viruses belong to the enteroviruses, the isolation of which from infectious materials and further cultivation are possible only when laboratory animals are infected. The authors could adapt the strains of 17 of 23 serotypes of these viruses to RD cell culture.

The strains of 8 serotypes were additionally adapted to Vero cell culture.

The cultural variants of Coxsackie A viruses were used to prepare immune sera. The Bacterial and Viral Agents Enterprise, M. P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Virus Encephalitides, Russian Academy of Medical Sciences, has set up the production of bacterial and viral drugs based on the cultural variants of 5 Coxsackie A virus serotypes.

The cultural variants of 14 Coxsackie A virus serotypes were used to carry out a virus neutralization test. Examination of more than 600 children from Moscow and the Moscow Region showed the wide circulation of individual Coxsackie A virus serotypes. It also demonstrated a drastic reduction in Coxsackie A-7 virus circulation in the past 50 years.

Key words: Coxsackie A viruses, adaptation to RD cell culture, serological studies, animal immunization