

ETABLIERUNG EINES ZELLKULTUR-SYSTEMS FÜR DAS HEPATITIS E-VIRUS

R. Johne¹, E. Trojnar¹, J. Reetz¹, P. Nickel², R.G. Ulrich³, P. Machnowska¹,
J. Sachsenröder¹, J. Hofmann²

Die gemeldeten Zahlen humaner Hepatitis E-Erkrankungen in Deutschland nahmen in den letzten Jahren kontinuierlich zu. Eine direkte und indirekte Übertragung des Hepatitis E-Virus (HEV) von Reservoirtieren (Hausschwein, Wildschwein und Wildwiederkäuer) auf den Menschen wird angenommen. Studien zur Virus-Stabilität und zum Replikationszyklus des HEV werden durch das Fehlen von robusten und effizienten Zellkultursystemen für dieses Virus erschwert.

In der hier vorgestellten Studie wurde versucht, HEV aus Serum- und Leberproben von infizierten Menschen und Wildschweinen in Zellkulturen anzuzüchten. In den meisten Fällen gelang dies nicht, jedoch konnte ein HEV-Stamm aus einer Serum-Probe eines chronisch infizierten Transplantationspatienten isoliert werden. Eine Virusreplikation konnte beginnend ab Tag 35 nach Inokulation der humanen Lungenkarzinom-Zelllinie A549 mittels real-time RT-PCR nachgewiesen werden. Ein zytopathogener Effekt wurde nicht beobachtet. Die Sequenzierung des Virusgenoms zeigte, dass es sich um einen Genotyp 3-Stamm handelte, der eine spezielle Insertion im ORF1 enthielt. Ähnliche Insertionen wurden in zwei Zellkultur-adaptierten HEV-Isolaten einer amerikanischen Arbeitsgruppe beschrieben.

Die Zellen wurden anschließend weiter passagiert und daraus eine persistent HEV-infizierte Zelllinie generiert. Virusspezifische Proteine konnten in der Zelllinie mittels immunohistochemischer Färbung nachgewiesen werden. In den Zellkultur-Überstand werden Viruspartikel abgegeben, die sich mittels Elektronenmikroskopie darstellen lassen. Nach Umsetzen der Zelllinie steigt die Menge der abgegebenen Viren kontinuierlich an, bis sich nach ca. 5 Tagen ein Plateau bei etwa 10^6 Genomkopien/ml einstellt.

Das in den Kultur-Überstand abgegebene Virus wurde zur Infektion frischer A549-Zellkulturen verwendet. Dadurch konnte dessen Infektiosität nachgewiesen werden. Jedoch sind die zur Infektion benötigten Virusmengen hoch und das Viruswachstum ist langsam. Darüber hinaus ist die Reproduzierbarkeit der Infektion noch schlecht. Derzeit werden verschiedene Kultur-Bedingungen getestet, um die Effizienz der HEV-Infektion in der Zellkultur zu verbessern.

Zusammenfassend konnte ein spezieller HEV-Stamm erfolgreich in Zellkultur angezüchtet werden. Die daraus etablierte persistent infizierte Zelllinie soll zukünftig für die Testung antiviraler Substanzen, für Untersuchungen des HEV-Kapsids sowie des Replikationszyklus eingesetzt werden. Nach Optimierung des Infektionssystems

könnte dieses für Virus-Stabilitäts-Untersuchungen und Neutralisationstests eingesetzt werden.

Korrespondenzadresse

PD Dr. Reimar Johne
Bundesinstitut für Risikobewertung
Diedersdorfer Weg 1
12277 Berlin



Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.
German Veterinary Medical Society

Herzlich willkommen

zur 33. Arbeits- und Fortbildungstagung der DVG-Fachgruppe AVID Veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik

Vorstand: B. Hoffmann, M. Hoferer, P. Kutzer, C. Werckenthin,
A. Moss

Wir wünschen Ihnen viel Erfolg
und einen angenehmen Tagungsverlauf!

Im Namen des Vorstands

Dr. Bernd Hoffmann

Dr. Marc Hoferer

Bad Staffelstein / Kloster Banz, 17. bis 19. September 2014

Verlag der
DVG Service GmbH
Friedrichstr. 17, 35392 Gießen
Tel.: 0641-24466 · Fax: 0641-25375
E-Mail: info@dvg.de · Homepage: www.dvg.de