Original Article

Assessment of the sensitivity of five different cell lines to the triple poliovirus serotypes

Salimi-Jeda A, Mohammadi A*, Alirezaie B, Foroughi A, Esna-Ashari F, Jelokhani M, Ghorbani R

Department of Human Viral Vaccines Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, I. R. Iran.

Received December 12, 2013; Accepted September 27, 2014

Abstract:

Background: The extensive use of poliovaccines has eliminated the wild-type poliovirus in most parts of the world. These conditions were caused due to the utilization of oral polio vaccine (OPV) and inactive polio vaccine (IPV). Since most of the quality control tests for these vaccines are performed on cell beds sensitive to poliovirus, the identification of the most sensitive cell line to poliovirus is a necessity.
Materials and Methods: Five monolayer cell lines (Vero, HeLa, Hep-2, MRC-5 and L20-B) were prepared in cell culture flasks (25 cm^2). Then serial dilutions of three types of poliovirus with specified titers were added to each cell beds. The inoculated cells were then incubated at 33°C for 14 days and were monitored daily for the presence of cytopathic effects for polioviruses.
Results: The results showed that the sensitivity of L20B cell line to polioviruses was more than the other cells. The result also indicated that the sensitivity of cells to poliovirus was declined in Hep-2, HeLa, MRC-5 and Vero cell lines, respectively.
Conclusion: It can be concluded that the L20B, Hep-2 and HeLa cell lines, due to their higher sensitivity to triple poliovirus serotypes are considered for vaccine quality control tests.

Keywords: Poliovirus, Sensitivity, L20-B, HEp-2C, HeLa, MRC-5, Vero

* **Corresponding Author.**
Email: a.mohammadi@rvsri.ac.ir
Tel: 0098 912 661 0626
Fax: 0098 263 455 2194

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2014; Vol. 18, No 5, Pages 455-61

Please cite this article as: Salimi-Jeda A, Mohammadi A, Alirezaie B, Foroughi A, Esna-Ashari F, Jelokhani M, et al. Assessment of the sensitivity of five different cell lines to the triple poliovirus serotypes. ***Feyz*** 2014; 18(5): 455-61.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]

ارزیابی حساسیت پنج رده‌ی سلولی نسبت به سروتیپ‌های سه گانه ویروس فلج اطفال (سویه‌ی واکسن خوراکی)

علی سلیمی جدا[۱]، اشرف محمدی[۲*]، بهنام علیرضایی[۱]، ابوالحسن فروغی[۳]، فاطمه اثنی عشری[۱]، محمد جلوخانی[۱]، ریحانه قربانی[۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: استفاده گسترده از واکسن‌های فلج اطفال سبب حذف ویروس وحشی فلج اطفال از بیشتر مناطق جهان گردیده است. این امر متعاقب استفاده از دو نوع واکسن خوراکی تخفیف حدت یافته و تزریقی غیر فعال شده می‌باشد. از آنجایی‌که بیشتر تست‌های کنترلی این واکسن‌ها بر روی بسترهای سلولی حساس به ویروس فلج اطفال صورت می‌پذیرد، یافتن حساس‌ترین رده‌ی سلولی نسبت به ویروس فلج اطفال ضروری به‌نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها: پنج رده سلولی L20B، HEp-2C، MRC-5، HeLa و Vero به‌صورت تک لایه در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربعی تهیه گردید. سپس رقت‌های متوالی از ویروس با تیتر مشخص به هر یک از بسترهای سلولی تلقیح شد. سلول‌های تلقیح شده در ۳۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۱۴ روز انکوبه شده و از لحاظ ظهور اثرات سایتوپاتیک فلج اطفال بررسی شدند.

نتایج: نتایج نشان دهنده حساسیت بالاتر رده سلولی L20B نسبت به سایر رده‌های سلولی مورد مطالعه می‌باشد. هم‌چنین، مقایسه نتایج نشان می‌دهد که پس از رده سلولی L20B حساسیت سلول‌ها نسبت به ویروس فلج اطفال به‌ترتیب در رده‌های سلولی HEp-2C، HeLa، MRC-5، و Vero کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: رده‌های سلولی L20B، HEp-2C و HeLa به‌دلیل حساسیت بالا به سه سروتیپ ویروس فلج اطفال می‌توانند به‌عنوان بستر سلولی مناسب در تست‌های کنترلی واکسن مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: ویروس پولیو، حساسیت، L20B، HEp-2C، MRC-5، HeLa، Vero

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۳، صفحات ۴۶۱-۴۵۵

مقدمه

بیماری فلج اطفال یکی از قدیمی‌ترین بیماری‌های شناخته شده‌ی بشر است. اگرچه میزان مرگ و میر این بیماری ناچیز است، اما به‌علت ایجاد عوارض دائمی (فلجی) در بخشی از بیماران (۰/۱ تا ۱ درصد موارد)، در طول تاریخ پزشکی مورد توجه بسیار قرار گرفته است؛ به‌نحوی‌که مطالعه این ویروس منجر به اکتشافات متعددی در زمینه زیست شناسی و ویروس شناسی شده است. عامل این بیماری یک ویروس کوچک بیست وجهی بدون پوشش است که در جنس *انتروویروس* و خانواده‌ی *پیکورنا-ویریده* قرار دارد [۲،۱].

این ویروس بر اساس واکنش با آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده اختصاصی به سه سروتیپ مختلف تقسیم می‌شود. اعضاء خانواده-ی پیکورناویریده دارای RNA تک رشته‌ای با قطبیت مثبت هستند. این ملکول می‌تواند به‌عنوان RNA پیامبر عمل کرده و با اتصال به ریبوزم سلول میزبان یک پلی پروتئین نسبتا بزرگ را سنتز کند. این پلی پروتئین سپس از طریق پروتئازهای خود به پروتئین‌های ساختاری و عملکردی شکسته می‌شود [۳]. از سال ۱۹۸۸ میلادی که سازمان بهداشت جهانی تصمیم به ریشه کنی این ویروس گرفته است، استفاده گسترده از واکسن‌های خوراکی تخفیف حدت یافته (OPV) و تزریقی غیر فعال شده (IPV) توانسته است این بیماری را از بیشتر مناطق جهان حذف نماید [۴]. این بیماری امروزه تنها در سه کشور (افغانستان، پاکستان، نیجریه) به‌صورت اندمیک باقی مانده است [۱]. به‌نظر می‌رسد با توجه به محدود شدن منشاء طغیان‌های اخیر به دو کشور پاکستان و نیجریه، سازمان جهانی بهداشت به هدف خود نزدیک‌تر گشته است [۵]. تعداد معدودی از موسسات واکسن سازی از جمله موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی اقدام به تولید و عرضه‌ی واکسن خوراکی تخفیف حدت یافته فلج اطفال می‌نمایند. این موسسه قریب به ۴۰ سال است که به‌عنوان تولید کننده‌ی واکسن فلج اطفال فعالیت می‌کند. بیشتر تولید کنندگان از بستر سلول

[۱] کارشناس ارشد ویروس شناسی، بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

[۲] استادیار، بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

[۳] کارشناس آزمایشگاه، بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

* **نشانی نویسنده مسئول:**

بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

تلفن: ۰۹۱۲ ۶۶۱۰۶۲۶ **دورنویس:** ۰ ۲۶۳۴۵۵۲۱۹۴

پست الکترونیک: a.mohammadi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۳/۷/۵

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]

Vero یا سلول اولیه‌ی کلیه‌ی میمون به‌منظور کشت ویروس فلج اطفال و تهیه بالک ویروسی استفاده می‌کنند، در حالی‌که برخی از جمله موسسه رازی، از سلول دیپلوئید MRC-5 به‌عنوان بستر سلولی استفاده می‌کنند. استفاده از سلول‌های دیپلوئید انسانی شناخته شده مانند MRC-5 و WI38 دارای مزایای متعددی از جمله کاهش احتمالی آلودگی به ویروس‌های ناخواسته‌ی پریماتی می‌باشند. پس از کشت و برداشت ویروس در بستر سلولی مناسب، بالک ویروسی به‌وسیله فیلتر کردن تهیه شده و تحت تست‌های کنترلی مختلف قرار می‌گیرد [۶]. طبق الزامات تعیین شده توسط سازمان‌های جهانی مسئول (FDA و WHO) در بسیاری از روش‌های مرجع برای کنترل کیفی فرآورده‌های بیولوژیک به‌ویژه واکسن‌های ویروسی کشت سلول به‌کار برده می‌شود [۷]. بیشتر تست‌های کنترلی این واکسن‌ها از جمله عیار سنجی، عدم آلودگی به عوامل ناخواسته و تست بی‌ضرری واکسن غیر فعال شده بر روی بسترهای سلولی حساس به ویروس فلج اطفال صورت می‌پذیرد [۶]. برای انجام تست‌های کنترل کیفی واکسن فلج اطفال، الزاما باید از بسترهای سلولی واجد گیرنده ویروس فلج اطفال (CD155) استفاده شود؛ خواه این گیرنده به‌صورت طبیعی در سطح سلول‌های پریماتی بارز گردد، خواه از طریق انتقال ژن به سلول غیر پریماتی منتقل شده باشد [۸]. در این صورت، این بسترهای سلولی توانایی تکثیر این ویروس را خواهند داشت. لذا، یافتن حساس‌ترین رده‌ی سلولی نسبت به سه سروتیپ ویروس فلج اطفال می‌تواند در تشخیص دقیق قطعات ویروسی به‌صورت کیفی و یا کمی در تست‌های کنترلی تاثیر به‌سزایی داشته باشد. هدف اصلی این مطالعه یافتن حساس‌ترین رده سلولی در میان سلول‌های در دسترس و شرایط آزمایشگاهی موجود برای انجام تست‌های کنترلی بر پایه‌ی کشت سلولی است.

مواد و روش‌ها

ویروس

سازمان جهانی بهداشت تامین کننده بذر کاری سه سروتیپ ویروس فلج اطفال (سویه سابین) برای اکثریت تولید-کنندگان از جمله موسسه رازی می‌باشد. به‌طور خلاصه، ابتدا بذر سه سروتیپ ویروس به‌طور جداگانه بر روی رده سلولی MRC-5 پاساژ داده شد و پس از حذف بقایای سلولی از طریق فیلتراسیون (با استفاده از فیلترهای ۰/۴۵ و ۰/۲ میکرومتری)، ویروس برداشتی در دمای ۴۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد [۹]. سپس، عیار هر یک از سروتیپ‌های ویروسی به‌وسیله روش میکروتیتراسیون تعیین گردید. در روش عیار سنجی میکرو، ابتدا رقت‌های ممتد ویروسی به فاصله یک لگاریتم تهیه شد و هر یک از رقت‌ها به سوسپانسیون سلولی تهیه شده در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای تلقیح گردید. ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون سلولی حاوی 10^5 سلول در هر میلی لیتر و ۱۰۰ میکرو لیتر محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم (FBS) استفاده شد. سپس، به‌مدت ۱ هفته انکوبه گردیدند. در نهایت پس از مشاهده اثرات سیتوپاتیک، با استفاده از رابطه کاربر تیتر ویروس محاسبه شد [۱۰]. به این ترتیب تیتر ویروس برای تیپ ۱ و ۲ $10^{7/3}$ CCID50/ml و برای تیپ ۳ تیتر $10^{7/4}$ CCID50/ml به‌دست آمد.

کشت سلول

از پنج رده سلولی در دسترس شامل رده سلولی نوترکیب موش L20B (ATCC: CCL-96)، رده سلول سرطانی حنجره‌ی انسان HEp-2C (ATCC: CCL-23)، رده سلولی دیپلوئید فیبروبلاست ریه انسان MRC-5 (ATCC: CCL-171)، رده سلول‌های سرطانی دهانه‌ی رحم انسان Hela (ATCC: CCL-2) و رده سلولی اپی‌تلیال کلیه میمون سبز آفریقایی Vero (ATCC: CCL-81)، جهت انجام کشت سلولی و تعیین حساسیت سلول‌ها در ردیابی ویروس پولیو استفاده گردید. در این روش هر یک از رده‌های سلولی با استفاده از محیط DMEM حاوی سرم جنین گاو (FBS) ۱۰ درصد در فلاسک-های cm^2 ۲۵ کشت داده شدند. سپس، از هر رده‌ی سلولی ۴۲ فلاسک با تراکم سلولی بالای ۹۰ درصد (10^7 سلول در هر میلی لیترمحیط) به‌منظور استفاده در مطالعه انتخاب گردید. از این تعداد، ۱۰ فلاسک برای رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-10} از هر سروتیپ ویروسی استفاده گردید. هم‌چنین، ۲ فلاسک به‌عنوان کنترل مثبت و ۲ فلاسک به‌عنوان کنترل منفی برای هر سروتیپ در نظر گرفته شد.

تلقیح ویروس

در این مرحله از هر یک از تیپ‌های ویروس فلج اطفال (سویه سابین) رقت‌های ممتد تهیه گردید (از رقت 10^{-1} تا 10^{-10}). محیط رویی فلاسک‌های کشت سلول حذف شده و از هر رقت ویروسی ۰/۵ میلی لیتر به هر یک از فلاسک های کشت سلول اضافه گردید. پس از نیم ساعت -پایان فرصت جذب ویروس-، به مقدار ۱۰ میلی لیتر محیط کشت بدون سرم به هر یک از فلاسک-های کشت افزوده شد. کنترل مثبت شامل ۰/۵ میلی لیتر از هر یک از تیپ‌های ویروسی و کنترل منفی تنها حاوی محیط کشت بود. در نهایت فلاسک‌ها در دمای ۳۳ درجه سانتی گراد به‌مدت ۷ روز انکوبه گردیدند. فلاسک‌ها در طول دوره کشت به‌طور منظم و به-صورت روزانه از نظر ایجاد اثرات سیتوپاتیک (CPE) اختصاصی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]

ویروس فلج اطفال شامل، متراکم شدن هسته، گرد شدن سلول‌های آلوده، جدا شدگی و لیز سلولی بررسی شدند. هم‌چنین، هر کدام از فلاسک‌های سلولی مربوط به هر یک از رده‌های سلولی بعد از یک هفته و پس از تعویض محیط رویی، به‌مدت ۷ روز دیگر نیز از نظر ایجاد اثرات سیتوپاتیک پایش گردیدند [۶]. زمان ایجاد CPE برای هر یک از فلاسک‌ها ثبت گردید.

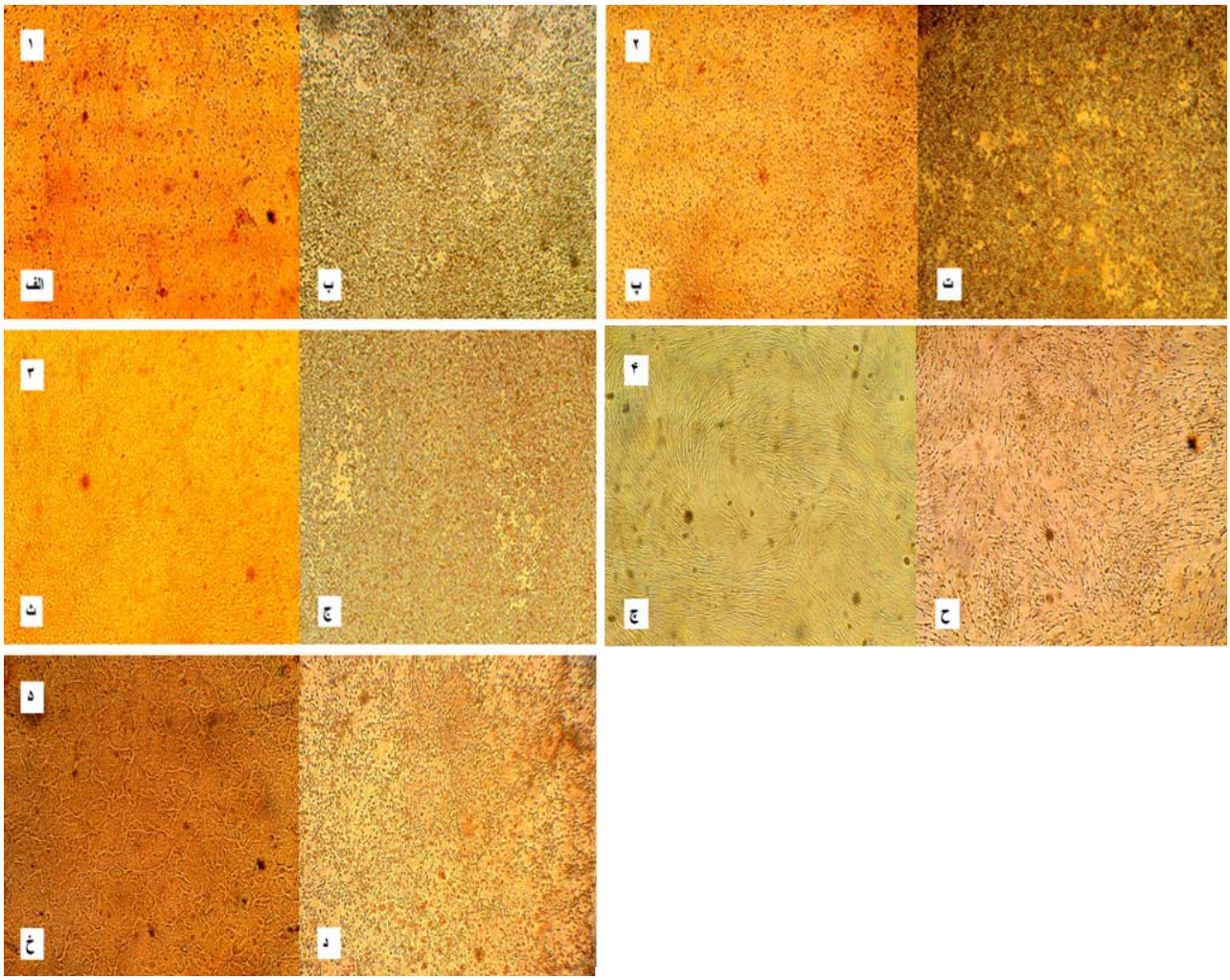
نتایج

پایش منظم و روزانه هر یک از بسترهای سلولی از نظر مشاهده‌ی اثرات سیتوپاتیک (CPE) به‌وسیله میکروسکوپ معکوس انجام گرفت. زمان دقیق ایجاد CPE در هر یک از بستر-های سلولی فوق و هم‌چنین تصاویر مربوطه ثبت گردید (جدول شماره ۱ و تصویر شماره ۱). همان‌طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است نتایج نشان دهنده حساسیت بالای رده سلولی L20B در مقایسه سایر رده‌های سلولی است؛ به‌طوری‌که رده سلولی L20B در شرایط آزمایشگاهی موجود توانست رقت پائین‌تری از ویروس را در زمانی کوتاه‌تر شناسایی کند. هم‌چنین، با مقایسه نتایج مندرج در جدول شماره ۱ مشخص می‌شود که پس از رده سلولی L20B، حساسیت رده‌های سلولی نسبت به ویروس فلج اطفال به‌ترتیب در رده‌های سلولی HEp-2C، HeLa، MRC-5 و Vero کاهش می‌یابد. با وجود تیتر اولیه یکسان از هر سه سروتیپ ویروس فلج اطفال، حساسیت سلول‌های L20B نسبت به تیپ ۱ ویروس پولیو، یک لگاریتم بالاتر از سلول‌های HEp-2C و HeLa و ۲ لگاریتم بالاتر از سایر سلول‌ها بود. از نظر زمان ایجاد اثرات سیتوپاتیک نیز رده سلولی L20B به‌ترتیب ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت زودتر از رده‌های سلولی HEp-2C، MRC-5 و Hela هر سه تیپ ویروس پولیو را (در رقت $۱۰^{-۷}$) تشخیص داد. اگرچه حساسیت سلول‌های HEp-2C و Hela نسبت به سه سروتیپ فلج اطفال تقریبا برابر و بیشتر از دو رده‌ی سلولی Vero و MRC-5 بود، اما برای تیپ ۱ و تیپ ۲ ویروس پولیو، اثرات سیتوپاتیک در سلول HEp-2C به‌ترتیب ۴۸ و ۷۲ ساعت زودتر از سلول Hela مشاهده گردید. هم‌چنین، نتایج نشان‌گر حساسیت بالای سلول‌های Hela نسبت به تیپ ۱ ویروس پولیو در مقایسه با سلول‌های MRC-5 بود. اما در مورد حساسیت به تیپ ۲ و تیپ ۳ ویروس پولیو تفاوت مشاهده شده بین این دو رده سلولی تنها در زمان ایجاد اثرات سیتوپاتیک بود؛ چنان‌که سلول‌های MRC-5 به تیپ ۲ و سلول‌های Hela به تیپ ۳ ویروس پولیو حساسیت بیشتری نشان دادند. در بین بسترهای سلولی مورد مطالعه رده سلولی Vero، هم از نظر زمان ایجاد CPE و هم از نظر توانایی ردیابی ویروس پولیو، کمترین حساسیت را نسبت به سه سروتیپ ویروس فلج اطفال نشان می-دهد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- مقایسه حساسیت پنج رده سلولی مورد مطالعه نسبت به سه سروتیپ ویروس فلج اطفال (سویه سابین)

رده سلولی	سروتیپ ویروس پولیو	آخرین رقت ویروسی قابل تشخیص	زمان مشاهده CPE (روز)
سلول L20B	PV1	$۱۰^{-۸}$	۸
	PV2	$۱۰^{-۷}$	۴
	PV3	$۱۰^{-۷}$	۴
سلول Hep- 2C	PV1	$۱۰^{-۷}$	۶
	PV2	$۱۰^{-۷}$	۶
	PV3	$۱۰^{-۶}$	۳
سلول Hela	PV1	$۱۰^{-۷}$	۸
	PV2	$۱۰^{-۷}$	۹
	PV3	$۱۰^{-۶}$	۳
سلولMRC-5	PV1	$۱۰^{-۶}$	۴
	PV2	$۱۰^{-۷}$	۷
	PV3	$۱۰^{-۶}$	۴
سلول Vero	PV1	$۱۰^{-۶}$	۸
	PV2	$۱۰^{-۶}$	۷
	PV3	$۱۰^{-۶}$	۱۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]



تصویر شماره ۱- تصاویر پنج رده سلولی مورد مطالعه قبل و بعد از کشت ویروس فلج اطفال

۱: رده سلولی Hela؛ ۲: رده سلولی Hep-2c؛ ۳: رده سلولی L20B؛ ۴: رده سلولی MRC-5؛ و ۵: رده سلولی Vero. در هر یک از تصاویر فوق تصویر سمت چپ (الف، پ، ث، چ، و خ) مربوط به بسترهای سلولی بدون تلقیح بذر ویروسی (کنترل منفی)، و تصویرهای سمت راست (ب، ت، ج، ح، و د) مربوط به بسترهای سلولی پس از تلقیح ویروس فلج اطفال و ایجاد اثرات سیتوپاتیک (کنترل مثبت) است.

بحث

استفاده از بستر سلولی حساس جهت تولید و کنترل واکسن های ویروسی از جمله واکسن فلج اطفال، روشی معمول و استاندارد می‌باشد [۷]. از این‌رو، یافتن حساس‌ترین سلول‌ها می‌تواند کمک زیادی در تولید و کنترل فرآورده داشته باشد. تاکنون مطالعات متعددی در این زمینه صورت گرفته است. اگرچه تفاوت‌هایی در نتایج مطالعات متفاوت مشاهده شده است، اما بیشتر آنها به حساسیت بالای دو رده‌ی سلولی L20B و RD اشاره دارند. در پروتکل‌های تشخیصی سازمان بهداشت جهانی به‌ترتیب استفاده از سه رده‌ی سلولی L20B، RD و HEp-2C جهت شناسایی و جداسازی ویروس فلج اطفال توصیه شده است [۱۲،۱۱،۶]. در یک مطالعه روی حساسیت سه رده سلولی مختلف، سلول L20B حساس‌ترین سلول برای تشخیص ویروس پولیو از نمونه‌های بیماران معرفی شده است و پس از آن سلول‌های HEp-2c و RD به‌ترتیب حساس‌ترین سلول‌ها تعیین شده‌اند. هم‌چنین، بیان شده است که سلول‌های HEp-2c و RD علاوه بر ویروس‌های پولیو، توانایی تکثیر انتروویروس‌های غیر پولیویی را هم دارند، ولی سلول‌های L20B حساسیت بیشتری به پولیوویروس داشته و آن‌را به‌صورت انتخابی تشخیص می‌دهند [۱۳]. هرچند در مطالعات دیگری مشخص شده است که کوکساکی ویروس A نیز توانایی تکثیر در رده‌ی سلولی L20B را دارد [۱۵،۱۴]. در مطالعه‌ی دیگری که روی مقایسه‌ی توانایی سلول‌های Hep-2C، RD و L20B نسبت به ردیابی انترو ویروس‌ها از نمونه‌های بیماران انجام شده است، ترتیب حساسیت سلول‌ها به ویروس پولیو (سویه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]

سابین) برای سلول HEp-2C، ۸۳ درصد، برای RD، ۸۷ درصد و برای L20B، ۹۱/۶ درصد گزارش شده است. هم‌چنین، بیان شده است که سلول‌های RD علاوه بر پولیو ویروس، توانایی ردیابی انترو ویروس‌های غیرپولیوی و اکو ویروس را داشته و سلول‌های HEp-2C نیز توانایی ردیابی کوکساکی B و آدنو ویروس را دارند [۱۱]. اگرچه نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعات گذشته نسبتا مطابقت دارد [۱۳-۱۱،۱۶،۱۷]، اما با نتایج برخی از مطالعات تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد؛ به‌طوری‌که در یک مطالعه حساسیت رده سلولی HeLa نسبت به ردیابی ویروس پولیو، در مقایسه با رده سلولی HEp-2C، بیشتر نشان داده شده است [۱۸]. حال آنکه در مطالعه حاضر توانایی رده‌های سلولی HEp-2C و Hela نسبت به ردیابی سه سروتیپ فلج اطفال تقریبا برابر بوده و حتی از نظر زمان مشاهده اثرات سیتوپاتیک برای تیپ ۱ و تیپ ۲ ویروس پولیو، رده سلولی HEp-2C توانسته است به‌ترتیب ۴۸ و ۷۲ ساعت زودتر از رده سلولی Hela اثرات سیتوپاتیک ایجاد نماید (جدول شماره ۱). هم‌چنین، باید در نظر داشت که تعداد سلول-های مورد بررسی در این مطالعه به‌مراتب بیشتر از مطالعات گذشته بوده است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر مؤید این مطلب است که رده‌های سلولی L20B، HEp-2C و HeLa به‌دلیل حساسیت بالا به سه سروتیپ ویروس فلج اطفال می‌توانند به‌عنوان بستر سلولی مناسب در تست‌های کنترلی واکسن مورد استفاده قرار گیرند؛ هر چند به-نظر می‌رسد با توجه به این نکته که حساسیت سلولی نسبت به ویروس فلج اطفال می‌تواند در شرایط مختلف (مانند pH محیط کشت، تعداد سلول و غیره) تغییر کند، مد نظر قرار دادن شرایط بهینه در استفاده از این سلول‌ها و بررسی حساسیت سلولی پس از تغییر هر یک از فاکتورهای مؤثر الزامی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از تمامی پرسنل بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی موسسه واکسن و سرم سازی رازی، به‌ویژه بخش تهیه کشت سلول و بخش تولید واکسن فلج اطفال کمال تشکر و قدارانی را داریم. هم‌چنین، از تمامی پرسنل بخش ویروس شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌ویژه خانم دکتر شاه‌محمودی و خانم دکتر طباطبایی که در تهیه بستر سلولی L20B همکاری نموده‌اند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم. این مطالعه بخشی از پایان‌نامه دانشجویی بوده و با حمایت بخش واکسن‌های ویروسی پزشکی موسسه تحقیقات واکسن سازی و سرم سازی رازی به انجام رسیده است.

References:

[1] Minor PD. The polio-eradication programme and issues of the end game. ***J Gen Virol*** 2012; 93(3): 457-74.

[2] Racaniello VR. Picornaviridae: The viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE, editors. Filds virology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p. 795–838.

[3] Igarashi H, Yoshino Y, Miyazawa M, Horie H, Ohka S, Nomoto A. 2A protease is not a prerequisite for poliovirus replication. ***J Virol*** 2010; 84(12): 5947-57.

[4] Duintjer Tebbens RJ, Pallansch MA, Cochi SL, Wassilak SG, Linkins J, Sutter RW, et al. Economic analysis of the global polio eradication initiative. ***Vaccine*** 2010; 29(2): 334-3.

[5] Estívariz CF, Pallansch MA, Anand A, Wassilak SG, Sutter RW, Wenger JD, et al. Poliovirus vaccination options for achieving eradication and securing the endgame. ***Curr Opin Virol*** 2013; 3(3): 309–15.

[6] World Health Organization. WHO Expert Committee on Biological Standardization. recommendation for the production and control of poliomyelitis vaccine (oral). ***World Health Organ Tech Rep Ser*** 2002; 904: 1-107.

[7] Vivier JC, Clay CG, Grabow WO. Detection and Molecular Typing of Enteroviruses in Water Sources. ***Water Sci Technol*** 2001; 43(12): 209-12.

[8] Mendelsohn C, Johnson B, Lionetti KA, Nobis P, Wimmer E, Racaniello VR. Transformation of a human poliovirus receptor gene into mouse cells. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 1986; 83(20): 7845-9.

[9] Alirezaie B, Taqavian M, Aghaiypour K, Esna-Ashari F, Shafyi A. Phenotypic and genomic analysis of serotype 3 Sabin poliovirus vaccine produced in MRC-5 cell substrate. ***J Med Virol*** 2011; 83(5): 897-903.

[10] Mahy, B.W.J.K., Hillar O. Virology methods manual. London: Academic Press, UK. 1996. p. 26-46.

[11] Ozkaya E, Korukluoğlu G, Yalçinkaya T, Türkeri A, Atak T, Kubar A. Sensitivities of various cell cultures for the isolation of enteroviruses. ***Mikrobiyol Bul*** 2002; 36(3-4): 301-8.

[12] Shokati Eshkiki Z, Eshraghian M, Mehrabi Z,

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]

Mokhtari Azad T, Pakzad SR, Pirali H, et al. Comparison of RD, L20B and Hep2 cell lines sensitivity to the standard poliovirus and Oral Polio Vaccine virus. ***Modares J Med Sci (Pathobiology)*** 2010; 13(3): 31-39. [in Persian]

[13] Wood DJ, Hull B. L20B cells simplify culture of polioviruses from clinical samples. Journal of medical virology. ***J Med Virol*** 1999; 58(2): 188-192.

[14] Sarmiento Pérez L, Más Lago P, Palomera Puentes R, Morier Díaz L, Fonseca Quintana M, Resik Aguirre S. Evidence for nonpoliovirus enterovirus multiplication in L20B cells. ***Rev Cubana Med Trop*** 2007; 59(2): 98-101.

[15] Nadkarni SS, Deshpande JM. Recombinant murine L20B cell line supports multiplication of group A coxsackieviruses. ***J Med Virol*** 2003; 70(1): 81-85.

[16] Yoshii K, Yoneyama T, Shimizu H, Yoshida H, Hagiwara A. Sensitivity of cells to poliovirus. ***Jpn J Infect Dis*** 1999; 52(4): 169.

[17] Kado G. Relative sensitivity of three cell substrates to the Sabin poliovirus strains. ***Dev Biol Stand*** 1976; 13-15; 37: 261-4.

[18] Soleimani S, Kiasari BA. Evaluation and comparison of Hela, Hep2C and Vero cell lines sensitivity to polio vaccinal virus using micro and macro vaccine potency tests. ***Arch Razi Ins*** 2012; 67(2): 125-31.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-10-12]