

E. Zusammenfassung

BVD-Virusisolate, die aus klinisch BVD-verdächtigen Rindern kulturell isoliert werden konnten, stellten das Ausgangsmaterial für die durchgeführten Untersuchungen dar.

Zytopathische Veränderungen in FKN-Röhrchenkulturen sollten mit dem Plaque-Test an unfixierten FKN-Zellkulturen (Nativplaques) überprüft werden. Darüberhinaus waren die Nativplaques systematisch mit der Morphologie von Immunoplaques zu vergleichen, um zu ermitteln, ob letztere eine Unterscheidung von zytopathogenen und nichtzytopathogenen Biotypen des BVDV zulassen.

Bei 30 von 100 BVD-verdächtigen, hospitalisierten Rindern verschiedenen Alters verlief der kulturelle Virusnachweis positiv. Davon erwiesen sich vier der 30 Rinder als serologisch positiv und 26 als serologisch negativ im Gegensatz zu 70 virologisch-negativen Rindern, von denen 44 neutralisierende Antikörper gegen BVDV aufwiesen.

Im Verlauf von zehn Viruspassagen in FKN-Röhrchenkulturen lösten 33 BVDV-Isolate von insgesamt 16 Tieren zytopathische Veränderungen des Zellrasens aus, und zwar bis spätestens zur 3. Passage in FKN-Zellkulturen.

Außerdem standen noch 37 Virusisolate zur Verfügung, die von SCHEPERS (1990) aufgrund ihres Verhaltens in der Zellkultur ebenfalls als zytopathogen eingestuft worden waren.

Alle BVDV-Isolate, sowohl die nzp- als auch die zpBVDV-Isolate, wurden auf native Plaquebildung und damit auf ihre Zytopathogenität hin untersucht.

Im Immunoplaque-Test konnten makro- und mikroskopisch zwei Kategorien von Plaques unterschieden werden. Diese unterschiedliche Plaquemorphologie ließ eindeutig die Unterteilung in zytopathogene und nichtzytopathogene Immunoplaques (zpIP/nzpIP) zu.

Ein Drittel der Virusisolate, die in der Zellkultur als zyto-

pathogen angesprochen worden waren, induzierten weder nach Vitalfärbung mit Neutralrot Nativplaques noch im IPT zpImmunoplaques. Die restlichen zpBVDV-Isolate, deren Zytopathogenität im Nativplaque-Test bestätigt wurde, bildeten im Immunoplaque-Test sowohl nzpIP als auch zpIP in Mischpopulationen unterschiedlicher Mengenverhältnisse.

Es wurde gefolgert, daß der Immunoplaque-Test eine Methode zur optischen Differenzierung der beiden Biotypen des BVDV in der gleichen Kultur darstellt. Eine quantitative Auswertung durch Enumerierung der IP-Kategorien erscheint möglich. Nicht möglich jedoch ist die direkte Isolierung zur Anzucht von Virusklonen. Der modifizierte Immunoplaque-Test bietet jedoch erstmalig die Möglichkeit der qualitativen und quantitativen Überprüfung von BVDV-Isolaten bzw. -Stämmen auf Mischpopulationen von zpBVDV-und nzpBVDV-PBE.

Gerrit Sanders

Titel: Characterization of cytopathogenic and noncytopathogenic biotypes amongst strains/isolates of BVD-virus in an immunoplaque assay.

Summary

Bovine virus diarrhoea virus (BVDV) isolated from cattle with clinical symptoms of BVD provided the starting material for the present investigation. Cytopathic alterations becoming evident in roller cultures of fetal calf kidney (FCK) cell culture were to be evaluated by a plaque assay employing unfixed FCK cultures (native plaques). In addition native plaques were compared systematically to immunoplaques in order to determine whether immunoplaquing of BVDV allows differentiation of cytopathic (cp) and noncytopathic (ncp) biotypes.

Out of one hundred hospitalized cattle clinically suspect for BVD thirty were found to be BVDV-positive by cultural isolation. Of these thirty cattle four turned out to be serologically positive while the remaining 26 were seronegative. In contrast, out of seventy cattle being virologically negative, 44 exhibited neutralizing activity to BVDV.

During ten passages in FCK roller cultures, 33 BVDV isolates obtained from sixteen animals induced obvious cytopathic changes which became evident not later than the third passage.

In addition 37 further BVDV isolates previously regarded as cp-biotype according to SCHEPERS (1990) were included in the study.

All BVDV isolates, cp as well as ncp, were tested by staining with neutral red for their ability to induce native plaques.

In an immunoplaque assay two categories of plaque morphologies could be distinguished which clearly allowed the discrimination of cp and ncp immunoplaques. One third of the isolates formerly typed cp biotype in FCK roller cultures neither induced native plaques nor cp immunoplaques when retested. The cytopathogenicity of the

remaining cp isolates was reconfirmed by their ability to induce native plaques. When checked in the immunoplaque assay these isolates induced cp and ncp immunoplaques mixed at different proportions.

In conclusion, the modified immunoplaque assay as described in this thesis allowed optically to differentiate between cytopathogenic and noncytopathogenic biotypes of BVDV within the same cell culture. A quantitative evaluation by enumeration of both categories of immunoplaques seems to be possible. The immunoplaque assay, however, did not allow the direct isolation of BVDV for selection and propagation of viral clones. Nevertheless, the modified immunoplaque assay for the first time offers the possibility of qualitative and quantitative testing of BVDV-isolates or strains for the presence of mixed populations of cpBVDV and ncpBVDV.