

6 Zusammenfassung

Zum Nachweis Adenovirus-spezifischer Antikörper in Meerschweinchenseren wurden die Komplementbindungsreaktion mit genusspezifischem Hexon-Antigen und die indirekte Immunfluoreszenzreaktion (IFA) mit MAV-FL-infizierten L929-Zellkulturpräparaten geprüft. Mit beiden Methoden ließen sich Adenovirus-spezifische Antikörper in Seren von klinisch gesunden als auch an einer Adenoviruspneumonie erkrankten Meerschweinchen nachweisen. Die jeweiligen Antikörpertiter korrelierten signifikant miteinander, wobei die der Immunfluoreszenzreaktion in der Regel deutlich höher ausfielen.

Bei Tieren, die das pathologisch-anatomische Bild einer Adenoviruspneumonie entwickelt hatten, lag der Anteil seropositiver Reagenten mit 82% signifikant höher als im untersuchten Gesamtbestand (49%).

IFA-positive Meerschweinchenseren wurden im Neutralisationstest gegenüber dem murinen Adenovirus (MAV-FL) eingesetzt. MAV-FL ließ sich weder durch Seren von klinisch gesunden noch von an einer Adenoviruspneumonie erkrankten Meerschweinchen neutralisieren.

Die Entwicklung eines immunhistologischen Nachweises von Adenovirus-Antigen in Lungenkryostatschnitten pneumonischer Meerschweinchen gelang mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenzreaktion. Anti-MAV-FL-Immuns Serum der Maus wie auch anti-Hexon-Hyperimmuns Serum des Kaninchens eigneten sich hierzu gleichermaßen. Adenovirus-Antigen ließ sich deutlich in vielen Zellen, die insbesondere im Bereich der Bronchien und Bronchiolen lokalisiert waren, demonstrieren. Daneben waren auch im Gewebeverband integrierte, einzeln liegende, spezifisch fluoreszierende Zellen darstellbar.

Zur Virusisolation aus Lungenmaterial an einer Adenovirus-Pneumonie erkrankter Meerschweinchen wurden drei Zellkultursysteme eingesetzt (prim. Mäusenierenzellen, prim. Meerschweinchennierenzellen, HeLa-Zellen). Virus ließ sich hierbei nur aus 2 von insgesamt 15 untersuchten Lungenhomogenaten, und zwar ausschließlich in der prim. Mäusenierenzellkultur, isolieren.

Die Vermehrungsmerkmale der beiden Isolate in der Zellkultur (Virusreplikation in primären Mäusenierenzellen und L929-Zellen) und ihre Eigenschaften im

indirekten Immunfluoreszenztest waren identisch mit denen des murinen Adenovirus (MAV-FL).

In den ergänzenden Infektionsversuchen führte die intranasale Applikation der Isolate bei Mäusen zur Ausbildung spezifischer Antikörper, die in vitro MAV-FL neutralisierten.

Die intranasale Applikation des Isolates induzierte bei einem von drei neugeborenen Meerschweinchen eine Atemwegserkrankung. Die beiden nicht erkrankten Tiere entwickelten Adenovirus-spezifische Antikörper. Die Reisolierung des Isolats aus der pathologisch-anatomisch veränderten Lunge des erkrankten Tieres gelang jedoch nicht.

Eine zwischen den Isolaten und dem MAV-FL vergleichende DNA-Restriktionsanalyse wurde mit elf Endonukleasen durchgeführt. Für die beiden Isolate ließen sich gleiche Anordnungen und Anzahl der DNA-Fragmente hinsichtlich aller Enzyme nachweisen. Mit wenigen Restriktionsendonukleasen waren geringfügige Abweichungen im Genomtyp der beiden Isolate gegenüber dem Genom des MAV-FL darstellbar, wie sie häufig bei unterschiedlichen Wildtypisolaten des selben Serotyps beobachtet werden.

Somit scheint das Meerschweinchen potentiell latenter Infektionsträger für das murine Adenovirus (MAV-FL) zu sein.

Dennoch ist daneben die Existenz eines derzeit nicht kultivierbaren Meerschweinchen-spezifischen Adenovirus sehr wahrscheinlich, wobei vermutlich dieses "Guinea-pig-Adenovirus" für die Adenoviruspneumonie des Meerschweinchens von größerer Bedeutung ist.

Hierfür sprechen folgende Befunde:

1. Bei Mäusen konnte durch die Inokulation von Referenzmaterial (gesichert Adenoviren enthaltenes Lungenmaterial eines erkrankten Meerschweinchens) weder eine Serokonversion noch eine Erkrankung hervorgerufen werden. Hingegen induzierte die intranasale Applikation desselben Inokulums bei 2 von 3 Meerschweinchen eine Adenoviruspneumonie. Weder aus dem Referenzmaterial noch aus den pneumonischen Lungen dieser Meerschweinchen gelang eine Virusisolation in der Zellkultur.

2. **Adenovirus-positive Seren von spontan an einer Adenoviruspneumonie erkrankten als auch klinisch unauffälligen Meerschweinchen der Bestände wiesen keine neutralisierende Aktivität gegenüber dem murinen Adenovirus (MAV- FL) auf. Hingegen vermochten Hyperimmunsere von Meerschweinchen, die nach intranasaler Infektion mit MAV-FL gewonnen wurden, dieses in vitro zu neutralisieren.**
3. **Während die Titerhöhe des genusspezifischen anti-Hexon-Immunsere des Kaninchens unabhängig vom verwendeten Antigen (MAV-FL-infizierte Zellkulturpräparate oder Lungenschnitte Adenovirus-pneumonischer Meerschweinchen) war, ließ sich für MAV-FL-Immunsere der Maus eine deutliche Titerdifferenz zwischen homologem (MAV-FL) und heterologem Antigen (Lungenschnitte Adenovirus-pneumonischer Meerschweinchen) nachweisen.**

Elke Huisinga:

Etiological studies of adenovirus pneumonia of guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*)

7 Summary

Antibodies specific for adenovirus were demonstrated in the sera of guinea pigs. Two tests were used: the complement fixation test with genus specific hexon-antigen and the indirect immunofluorescence assay (IFA) in L929 cell culture preparations infected with murine adenovirus (MAV-FL). Antibodies specific for adenovirus could be demonstrated in guinea pigs with both methods. The measured antibody titers correlated significantly with each other. However those obtained with IFA were generally higher.

82% of animals presenting gross pathology signs of an adenovirus associated pneumonia had positive serum titers. This is significantly more than 49% found to be positive in the general population.

Sera from IFA-positive guinea pigs were tested with murine adenovirus (MAV-FL) using the neutralization test. MAV-FL was neutralized neither by sera from clinically healthy animals nor from those affected with adenovirus pneumonia.

Using the IFA it was possible to demonstrate immunohistologically adenovirus antigen in pulmonary frozen sections of guinea pigs with pneumonia. Anti-MAV-FL serum of the mouse and anti-hexon hyperimmune serum of the rabbit were equally suitable. Adenoviral antigen was easily demonstrated in many cells, whereby the bronchi and bronchiolis were preferred locations. Some single cells integrated in the connective tissue showed specific fluorescence as well.

Three cell lines were employed to isolate virus from the pulmonary tissue of animals spontaneously affected with adenovirus pneumonia: primary mouse kidney cells, primary guinea pig kidney cells and HeLa cells. The virus could be isolated from only 2 of 15 lung homogenates. In these cases, isolation succeeded only with the mouse kidney cell culture.

Replication characteristics in cell culture (virus replication in primary mouse

kidney cells and L929-cells) and behavior in the immunofluorescence test of the two isolates were identical to those of MAV-FL.

The intranasal application of virus isolates in mice led to the development of specific antibody, which in turn neutralized MAV-FL in vitro.

In one of three neonatal guinea pigs the intranasal application of the virus isolate induced disease of the airways. The other two animals developed adenovirus specific antibodies.

Re-isolation of the isolate from affected areas of the diseased lung was however not successful.

Comparative DNA-restriction analysis with eleven endonucleases was performed for the isolates and the MAV-FL. Same placement and number of the DNA fragments for all enzymes was demonstrated on the two isolates. Small deviations of the genome type of the two isolates as compared with the genome of the MAV-FL could be shown with a few restriction endonucleases. Such minor differences have frequently been observed between various wild type isolates of the same serotype.

The guinea pig therefore appears to be a potential latent carrier of the MAV-FL. However the existence of an adenovirus specific for guinea pigs -not cultivable at this time- appears probable. This "guinea pig adenovirus" is postulated to be of greater significance for the adenovirus associated pneumonia of the guinea pig. The following observations support this thesis:

1. The inoculation of reference material (pulmonary tissue of a diseased guinea pig proven to contain adenovirus) into mice led to neither seroconversion nor disease. In contrast, the intranasal application of the same inoculum induced an adenoviral pneumonia in two of three guinea pigs. Virus isolation in cell culture did not succeed from either the reference material or the diseased lungs.
2. Adenovirus positive sera from either spontaneous cases of adenovirus pneumonia or clinically normal animals showed no neutralizing activity for MAV-FL. However in vitro neutralizing ability was seen with hyperim-

mune serum obtained from guinea pigs after intranasal infection with MAV-FL.

- 3. The titer level of the genus specific anti-hexon immune serum of the rabbit did not vary with the source of the antigen (MAV-FL infected cell culture preparation vs lung sections of guinea pigs with adenovirus pneumonia). In contrast, a significant difference in the titer level of the MAV-FL immune serum could be found between the homologous (MAV-FL) and the heterologous (lung sections of guinea pigs with adenovirus pneumonia) antigen.**