

Karsten Klusmeyer

Thema: Inter- und intratypische Differenzierung von Morbilliviren (Hundestaube, Seehundstaube, Masern) mittels Neutralisationskinetik unter Verwendung polyklonaler Seren.

E. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die serologische Differenzierung antigen eng verwandter Morbilliviren unter Einbeziehung von PDV-Isolaten, die während des "Seehundsterbens 1988" gewonnen wurden. Dabei sollte geklärt werden, ob sich mittels einer Neutralisationskinetik neben intertypischen Unterschieden auch intratypische Varianten auf polyklonaler Ebene detektieren lassen. Zu diesem Zweck wurde ein Immunoplaquetest zum Nachweis von nAk gegen Morbilliviren etabliert. Eine indirekte Immunperoxidase-Technik unter Verwendung eines monoklonalen Antikörpers (PDTC 4-2) mit genusspezifischem Reaktionsspektrum ermöglichte die Visualisierung viralen Antigens.

Der Immunoplaquetest benötigte eine Bebrütungsdauer von drei Tagen und eignete sich - unabhängig vom Auftreten eines zytopathogenen Effektes im nativen Zellrasen - zur Untersuchung von etablierten Morbillivirusstämmen bzw. von Feldisolaten. Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse zeigen, daß der Immunoplaquetest eine sicher reproduzierbare und sensitive Methode zur Infektiositätsmessung darstellt.

Für die kinetischen Neutralisationsstudien fanden drei Morbillivirustypen (CDV, PDV und MV), die sich aus neun Virusstämmen und -isolaten (CDV "ROCKBORN", CDV "ONDERSTEPOORT", CDV-5804/88, CDV-1493/88, PDV-2558/88, PDV-1970/88, PDV-2135/88, PDV-2953/88 und MV-"MORE") zusammensetzten, Verwendung. Mit zwei porcinen Hyperimmunseren (PDV α 254/8 und CDV α 253/8) und einem PDV-neutralisierenden mAk (PDTC 6-2) wurden Neutralisationsraten ermittelt, anhand derer eine deutliche intertypische Differenzierung der drei Virustypen möglich war.

Intratypische Differenzierungen konnten sowohl innerhalb der CDV-Stämme

bzw. -Isolate als auch bei den PDV-Isolaten anhand der Neutralisationsraten vorgenommen werden. Unter den PDV-Isolaten schienen sich Varianten mit Synzytienbildung (PDV-2558/88 und -1970/88) von solchen mit Rundzellbildung (PDV-2135/88 und -2953/88) auch in ihrem Neutralisationsverhalten zu unterscheiden.

Erhebliche antigene Unterschiede bestanden zwischen einem Staupeisolat musteliden Ursprungs (CDV-1493/88) und den übrigen caninen Staupestämmen bzw. -isolaten. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß zwischen dem musteliden Staupeisolat und den PDV-Isolaten eine engere immunologische Beziehung besteht, als es zwischen PDV und CDV der Fall ist.

Karsten Klusmeyer

Title: Inter- and intratypic differentiation of morbilliviruses (canine distemper, phocine distemper, measles) by using neutralization kinetics studies and polyclonal sera.

F. Summary

The aim of the investigation was the serological differentiation of immunologically closely related morbilliviruses, including PDV isolates derived from different harbour seals during the mass mortality of seals in 1988. The interest was to detect intertypic and intratypic variants employing polyclonal sera. An indirect immunoperoxidase-technique using a monoclonal antibody (PDTC 4-2) with morbillivirus-genus-specific reactivity allowed the tracing of viral antigen. On this basis, an immunoplaque assay was established for the detection of morbillivirus neutralizing antibodies.

The immunoplaque assay required an incubation period of three days only. Regardless of cytopathic effects in the native monolayer, the assay was suitable for the investigation of established morbillivirus strains and field isolates.

Three morbillivirus types (CDV, PDV and MV) represented by nine virus strains and isolates (CDV-"ROCKBORN", CDV-"ONDERSTEPOORT", CDV-5804/88, CDV-1493/88, PDV-2558/88, PDV-1970/88, PDV-2135/88, PDV-2953/88 and MV-"MOORE") were investigated by kinetic neutralization. Thereby, neutralization rates were assayed against two porcine hyperimmunsera (PDV α 254/8 and CDV α 253/89) and a PDV-neutralizing monoclonal antibody (PDTC 6-2) which permitted a clear intertypic differentiation of the three virus types. The neutralization rates also rendered the intratypic differentiation between CDV strains and PDV isolates. Syncytia forming variants (PDV-2558/88 and -1970/88) and round cell forming variants (PDV-2135/88 and -2953/88) proved to be distinguishable among the PDV isolates tested by their kinetic neutralization behaviour.

Considerable antigenic differences also existed between a distemper isolate of mustelid origin (CDV-1493/88) and the canine distemper strains and

isolates. Accordingly mustelid distemper isolates and PDV isolates are closer related than PDV and CDV.