

7. ZUSAMMENFASSUNG

Ausgangsmaterial zu dieser Arbeit waren fünf BVD-Virusisolate aus Serum, Leukozyten oder Organen von Rindern mit Erscheinungen der Mucosal Disease. Aus diesen Isolaten, die nach den Ergebnissen des Immunoplaque-Tests (IPT) sowohl nichtzytopathogene als auch zytopathogene BVDV-Biotypen enthielten, konnten beide Biotypen getrennt isoliert werden.

Die Trennung erfolgte durch Plaque-Klonierung im Nativplaque-Test bei zytopathogenem BVDV einerseits und Isolierung von nichtzytopathogenem Virus aus den Räumen zwischen deutlich voneinander getrennt liegenden (zytopathogenen) Nativplaques andererseits.

Die Klon-Paare wurden ebenfalls im Immunoplaques-Test auf Reinheit jedes einzelnen Klons untersucht. Die Beurteilung der Reinheit konnte sich nur auf Volumina einer Virussuspension beziehen und wurde als Quotient der Virusverdünnung ausgedrückt, die im IPT die Plaques als einzelständig erkennen ließ.

Die Morphologie der durch die im IPT nachweisbaren Plaques unterschied sich nicht von der Plaque-Morphologie des jeweiligen Ursprungsisolates.

Die als "matching pairs" bezeichneten fünf Klon-Paare, ebenso wie ihre Ursprungsisolate, wurden weiterhin durch Epitop-Analyse mit 21 gegen BVDV gerichteten monoklonalen Antikörpern charakterisiert.

Die Reaktionsspektren der Klone beider Biotypen aus den Ursprungsisolaten waren bei drei Klon-Paaren sehr ähnlich, bei zwei weiteren Klon-Paaren sogar identisch. Unterschiede zwischen nichtzytopathogenen und zytopathogenen Biotyp-Klonen eines Isolates zeigten sich bei jeweils anderen monoklonalen Antikörpern. Keiner der mAk war in der Lage, nzp- und zp-Biotypen eines Klon-Paares zu unterscheiden. Der Epitop-Analyse zufolge trat während der Klonierung bei einem Isolat ein Epitopverlust auf.

SUMMARY

Sylvia Reinecke

Titel: Investigations on isolation, purification and epitope characterization of cytopathogenic and non-cytopathogenic biotype clones from isolates of BVD virus

The BVD virus used in this investigation originated from sera, leucocytes or organs of bovines affected with mucosal disease. From five isolates, which have been shown by an immunoplaque assay to contain both biotypes, cytopathogenic and non-cytopathogenic BVDV clones were isolated.

The isolation was performed by plaque isolation from native plaques for the cytopathogenic BVDV and by isolation of non-cytopathogenic BVDV from the spaces between the (cytopathogenic) native plaques which were clearly separated.

The clone pairs were examined in the immunoplaque assay and their purity was documented. The measurement of purity referred to the volume of virus suspension and was expressed as the quotient of virus dilution which showed separated immunoplaques.

The morphology of the clone plaques did not differ from the plaque morphology of their isolates.

Furthermore, these clone pairs designated as "matching pairs" were characterized using a panel of 21 monoclonal antibodies (mAb) against BVDV, just as their origin isolates.

The reaction patterns of the clones from both biotypes of each isolate were highly similar (three clone pairs) or even identical (two clone pairs). Differences between the cytopathogenic (cp) and the non-cytopathogenic (ncp) clones of each pair concerned other monoclonal antibodies, respectively. There was no mAb to differentiate between cp and ncp biotypes of one clone pair in general. The epitope analysis indicated a loss of epitope in one isolate during the cloning procedure.