

V. Zusammenfassung

Verschiedene Verfahren zum *in situ* Nachweis von RNS des Virus der klassischen Schweinepest (CSFV) sowie viraler und zellulärer Antigene wurden etabliert. Die erarbeiteten Methoden erlaubten die Untersuchung der *in vitro* Infizierbarkeit porciner Blutzellen sowie der Virusausbreitung in Schweinen im Verlauf einer akuten CSFV Infektion.

Periphere Blutleukozyten des Schweins ließen sich *in vitro* mit dem CSFV infizieren. Betroffen waren vor allem Makrophagen und Lymphoblasten. Durch Stimulation der Leukozytenkulturen mit T-Zellmitogenen ließ sich der Anteil infizierter Zellen erheblich steigern. Für Untersuchungen zur Pathogenese der klassischen Schweinepest wurde ein Versuchstiermodell unter Verwendung des mäßig virulenten CSFV Isolats *Alfort Tübingen* erstellt und näher charakterisiert. Klinische Beobachtungen sowie Untersuchungen von Blutproben dienten der Kontrolle des Infektionsverlaufs am lebenden Tier. Auffallend war eine früh nach der Infektion auftretende ausgeprägte Leukopenie bei den Versuchstieren. Durchflußzytometrische Analysen zeigten, daß besonders die B-Lymphozyten betroffen waren. Im peripheren Blut traten erstmals sieben Tage p.i. eine größere Zahl infizierter Leukozyten in Erscheinung, wobei es sich überwiegend um Monozyten/Makrophagen handelte. Zu späteren Zeitpunkten im Infektionsverlauf ließen sich zahlreiche infizierte Zellen in den verschiedenen Leukozyten-subpopulationen nachweisen.

Bei der Untersuchung von Geweben wurden zu frühen Zeitpunkten nach der Infektion virales Genom und virale Proteine vor allem in der Tonsille, in den *Peyerschen* Platten und in den drainierenden Lymphknoten gefunden. In den Lymphfollikeln dieser Organe waren verschiedene Zelltypen betroffen, u.a. morphologisch als *folliculär dendritisch* identifizierte Zellen sowie Makrophagen und Lymphoblasten. Im Spätstadium der Erkrankung ließen sich virales Genom und virale Proteine in zahlreichen Zelltypen, besonders in verschiedenen Endothel- und Epithelzellen u.a. in Niere, Speicheldrüsen und Blutgefäßen, nachweisen. Außerdem waren Gliazellen des Zentralnervensystems betroffen. In den lymphatischen Organen traten ausgeprägte Kluster viraler RNS über den Resten zerstörter Lymphfollikel auf, während die viralen Antigene diffus verteilt waren.

Um die Wirtsreaktion im Verlauf der Erkrankung studieren zu können, wurde die Verteilung verschiedener Leukozyten-subpopulationen in den lymphatischen Geweben untersucht. Dabei zeigten sich frühzeitige Veränderungen vor allem im T-Zellkompartiment. Im Spätstadium der Erkrankung imponierte hingegen eine fast vollständige Depletion der B-Lymphozyten. Akti-

vierte zytolytische T-Zellen bildeten den vorherrschenden lymphozytären Zelltyp.

In einer Reihe von Schutzversuchen wurde die Induktion einer protektiven Immunität durch verschiedene CSFV Strukturproteine mit Hilfe rekombinanter Vaccinia Viren untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Glykoproteine E0 und E2 in der Lage sind, Ak zu induzieren und Schweine gegen eine Challengeinfektion mit virulentem CSFV zu schützen.

Matthias König

Classical swine fever virus: Studies on pathogenesis and induction of protective immune response

VI. Summary

Different techniques for *in situ* detection of classical swine fever virus (CSFV) RNA as well as viral and cellular antigens were established. These methods enabled examinations on the *in vitro* infection of peripheral blood leukocytes with CSFV followed by extensive studies on virus spread and host response during a lethal CSFV infection in swine.

In vitro infection of peripheral blood leukocytes resulted in the production and shedding of infectious virus from cells mainly of the monocyte/macrophage and lymphoblast phenotype. A dramatic increase in the number of infected cells was observed after stimulation of lymphocyte cultures with T-cell mitogens.

In order to study the pathogenesis of CSFV infection in the natural host, an animal model using the moderate virulent strain *Alfort Tübingen* was set up and characterized. Clinical observations and blood samples taken at regular intervals were used to monitor the course of disease. A dramatic decrease in the number of circulating peripheral blood leukocytes was an early feature. Flow cytometric analyses demonstrated the predominant involvement of B lymphocytes.

Seven days p.i. an increasing number of infected blood cells was found expressing mainly macrophage antigens. At later stages of disease, leukocytes from all subpopulations showed signs of virus infection.

Early after infection of swine viral RNA and viral antigens were primarily observed in tonsils, *peyers* patches and draining lymph nodes. Different cell types in the follicular areas of these organs were involved e.g. cells morphologically identified as *follicular dendritic* cells, macrophages and lymphoblasts.

At terminal stage of disease viral genome and viral protein were found in a large number of different cell types especially in epithelial and endothelial cells e.g. of kidney, salivary glands and blood vessels. Glia cells of the central nervous system were also involved. In lymphatic tissues extensive clustering of viral RNA occurred over remnants of B follicles. At the same time viral antigens showed a diffuse signal.

In order to study host responses towards CSFV infection the distribution of leukocyte subpopulations in lymphatic tissues was analyzed. Early changes in the T lymphocyte compartments became apparent. In contrast an almost complete depletion of B lymphocytes was observed at late stages of disease. Activated cytolytic T lymphocytes constituted the predominant lymphatic cell type.

Experiments using recombinant vaccinia viruses substantiated the capability of different CSFV structural proteins to induce protective immunity in swine. The glycoproteins E0 and E2 were able to provoke antibody titers and protect pigs against a lethal CSFV challenge.