

F. Zusammenfassung

Einige biologische und antigene Eigenschaften verschiedener phocider Herpesviren (PhHV) wurden mit denen felider (FHV) und canider (CHV) Herpesviren verglichen.

Felide und canide Herpesviren replizierten jeweils nur in Zelllinien, die von ihren natürlichen Wirtsspezies stammten. Dagegen waren für die Replikation phocider Herpesviren nicht nur Seehundnierenzellen, sondern zusätzlich auch eine feline Zelllinie (CRFK) permissiv.

Unterschiede in Bezug auf Wachstumskinetiken konnten für die phociden Herpesvirusisolate 2557/Han88 und 7848/Han90 in Einschnitt-Wachstumskurven (MOI = 1) in CRFK-Zellkulturen ermittelt werden. Infektiöses, zellassoziertes Virus konnte bei dem Isolat PhHV 2557/Han88 bereits nach 11 Stunden p. i., beim PhHV-Isolat 7848/Han90 jedoch erst nach 21 Stunden p. i. nachgewiesen werden. Die maximale Infektiosität des zellgebundenen und extrazellulären Virus konnte 48 Stunden p. i. (PhHV 2557/Han88) bzw. 96 Stunden p. i. (PhHV 7848/Han90) ermittelt werden. Während im Zuge der Replikation des PhHV-Isolates 2557/Han88 hauptsächlich sogenannte Rundzellen induziert wurden, war demgegenüber der vom PhHV 7848/Han90 hervorgerufene zytopathische Effekt durch die Ausbildung vielkerniger Riesenzellen (Synzytien) charakterisiert.

Mit Hilfe polyklonaler Antikörper (Rekonvaleszentenserum verschiedener Pinnipeda) wurden im komplementverstärkten Mikroneutralisationstest immunogene Eigenschaften phocider, felider und canider Herpesviren im Zuge natürlicher Infektionen untersucht. Die Mehrzahl der Seren, die neutralisierende Antikörper gegen PhHV 2557/Han88 aufwiesen, war nicht in der Lage, auch die Infektiosität des PhHV-Isolates 7848/Han90 zu inhibieren. Mit einer Ausnahme neutralisierten alle von europäischen Seehunden (*Phoca vitulina*) stammenden Seren die Infektiosität felider und

canider Herpesviren. Sowohl ein ovines gegen FHV produziertes Hyperimmunserum als auch ein canines CHV-spezifisches Immunserum wiesen lediglich gegenüber dem PhHV-Isolat 2557/Han88 kreuzneutralisierende Eigenschaften auf. Seren von Weddell-Robben (*Leptonychotes weddellii*) wiesen neutralisierende Eigenschaften ausschließlich gegenüber dem PhHV-Isolat 2557/Han88, nicht jedoch gegen PhHV 7848/Han90 auf.

Weiterführende Untersuchungen zur Antigenverwandtschaft phocider, felider und canider Herpesviren wurden mit Hilfe einer neu etablierten Staffel monoklonaler Antikörper (mAk) vorgenommen. Die monoklonalen Antikörper dienten der Identifizierung konservierter bzw. typspezifischer B-Zell-epitope auf den Proteinen der jeweiligen Herpesviruspezies: Von 18 gegen PhHV 2557/Han88 produzierte monoklonale Antikörper reagierten lediglich 5 mit Antigenen des PhHV-Isolates 7848/Han90 (Tabelle 10). Die Mehrzahl der PhHV 2557-mAk dagegen wies eine Affinität gegenüber Antigenen felider und canider Herpesviren auf. Lediglich die Hälfte der gegen PhHV 7848/Han90 produzierten monoklonalen Antikörper entwickelte eine Affinität zu PhHV 2557/Han88-Antigenen. Eine Unterscheidung dieser beiden phociden Herpesvirusisolate war ebenfalls mit den gegen FHV FVR-605 und CHV 5105/Han89 etablierten monoklonalen Antikörpern möglich. Eine enge antigene Verwandtschaft der von Seehunden stammenden Herpesviren (PhHV) mit feliden und caniden Herpesviren wurde bestätigt. Mit Hilfe von Rekonvaleszentenseren und monoklonalen Antikörpern konnte erstmals die Existenz von zwei Typen phocider Herpesviren gezeigt werden, für die die Bezeichnungen PhHV-1 (Typisolat PhHV 2557/Han88) und PhHV-2 (repräsentiert nur durch das Isolat PhHV 7848/Han90) vorgeschlagen werden. PhHV-1 scheint aufgrund seiner immunologischen und biologischen Eigenschaften enger mit CHV und FHV als mit PhHV-2 verwandt zu sein.

Summary

Michaela Lebich

Comparative immunological characterization of type-specific and conserved B-cell epitopes expressed by phocid, felid and canid herpesviruses.

Some biological and antigenic properties of herpesviruses originating from European harbour seals (*Phoca vitulina*, phocid herpesviruses, PhHV) were compared to felid (FHV) and canid (CHV) herpesviruses.

The replication of FHV and CHV was restricted to cell lines which had been established from the natural hosts of each of the viral species. In contrast, apart from seal kidney cell cultures also a feline cell line (CRFK) was shown to be permissive for the replication of PhHV.

Differences with regard to growth kinetics in CRFK cells were noticed for the PhHV-isolates 2557/Han88 and 7848/Han90. Infectious cell-associated virus progeny of PhHV 2557/Han88 was detectable already 11 hours p. i. (7848/Han90: 21 hours p. i.). The peak infectivity titres of about $10^{5.5}$ TCID₅₀ ml⁻¹ were detected 48 (PhHV 2557/Han88) and 96 (PhHV 7848/Han90) hours after inoculation. While PhHV 2557/Han88 mainly induced round-cell cytopathic effects (cpe) in permissive cultures, the cpe of PhHV 7848/Han90 was shown to consist preferentially of multinucleated giant cells (syncytia).

By using polyclonal antibodies (reconvalescent sera of different pinniped species) in a complement-enhanced microneutralisation assay the immunogenic properties of phocid, felid and canid herpesvirus in the course of natural infections were studied. The majority of sera exhibiting titres of neutralizing antibodies against PhHV 2557/Han88 did not inhibit the infectivity of PhHV 7848/Han90. Apart

from one exception, however, all sera derived from harbour seals strongly neutralized CHV and FHV. Both an ovine hyperimmune serum raised against FHV and a canine immune serum produced against CHV cross neutralized PhHV 2557/Han88 exclusively.

Follow-up studies aiming at the immunological relationship of PhHV, FHV and CHV included the establishment of a new panel of murine monoclonal antibodies (mAb). MAbs were used to identify type-specific and conserved B-cell epitopes expressed by the different viral isolates and species, respectively. Out of 18 mAbs generated against PhHV 2557/Han88 only five reacted with antigens of PhHV 7848/Han90. The majority of these mAbs, however, exhibited significant affinity to FHV and CHV. Only about half of the mAbs raised against PhHV 7848/Han90 cross-reacted with PhHV 2557/Han88 to some extent. A differentiation of these PhHV-isolates was also feasible when mAbs produced against CHV 5105/Han89 and FHV FVR 605 were employed.

In conclusion, previous data indicating a close immunological relationship of herpesviruses isolated from harbour seals to FHV and CHV were confirmed and extended. Using both polyclonal and monoclonal antibodies the existence of two types of phocid herpesviruses could be demonstrated for the first time. The denotations PhHV-1 (type-isolate 2557/Han88) and PhHV-2 (represented by 7848/Han90) are tentatively suggested to distinguish between members of the two types. Out of eight PhHV-isolates derived from different European harbour seals between 1984 and 1990 seven were characterized as PhHV-1. According to their biological and immunological properties PhHV-1-isolates appear to be more closely related to CHV and FHV than to PhHV-2.