

6. Zusammenfassung

1. Für Anzucht, Vermehrung und Nachweis des Virus der klassischen Schweinepest (KSPV) erwies sich die stabile Zelllinie STE (swine testis epitheloid) als besonders geeignet. Vorteilhaft waren die gleichbleibende Qualität der Zellen, die Verwendung von Pferdeserum als Mediumzusatz, die Gewinnung hoher Zellzahlen zum Einsatz im Zellsuspensionsplaquetest, das Erreichen hoher Virustiter und die Sensitivität für zytopathogene KSPV-Stämme.

2. Der routinemäßige Nachweis des KSPV in STE-Zellen erfolgte in einem indirekten Immunperoxidase-Test unter Verwendung eines Gemisches der drei monoklonalen Antikörper (mAk) a18, c46-20-8 und 24/10-6-4, die mit sämtlichen verfügbaren KSPV-Stämmen, jedoch nicht mit Stämmen des Virus der Bovinen Virusdiarrhoe (BVDV) oder des Virus der Border Disease (BDV) reagierten. Diese mAk können deshalb als KSPV-spezifisch bezeichnet werden. Insgesamt wurden von 1992 bis 1994 aus Einsendungen 322 KSPV-Isolate gewonnen.

3. KSPV-Laborstämme und Isolate aus Einsendungen wurden mit Hilfe einer Kollektion von 24 mAk gegen die viralen Glykoproteine E0 und E2 typisiert. Die Typisierung ergab 22 Reaktionsmuster, die sich im Verlauf von Passagen der Virusstämme in STE-Zellkulturen und im Schwein nicht veränderten. Fünf gegen Epitope des Glykoproteins E2 gerichtete mAk reagierten in 9 verschiedenen Reaktionsmustern mit 19 Stämmen des BVDV und BDV. Diese mAk können als Pestivirus-spezifisch bezeichnet werden. MAk gegen E0 reagierten nicht mit BVDV und BDV.

4. In Deutschland konnten in den Jahren 1992 bis 1994 die KSPV-„Antigentypen“ Flandern'90, Lothringen'92 und Schweinfurt'93 isoliert

werden, von denen die ersten beiden auch in Wildschweinen vorkamen. Innerhalb einer Region blieb der Antigentyp in diesem Zeitraum stabil. Feldisolate des KSPV aus dem benachbarten Ausland wiesen folgende Reaktionsmuster auf: Flandern´90, Österreich´90, Lelystad´92, Lothringen´92, Schweiz´93, Tschechien´93 und Henken´67.

5. Auf der Grundlage der Reaktionsbreite der mAk konnten variable und konservierte Epitope des KSPV definiert werden. Nach diesem Verfahren konnten neue mAk klassifiziert werden.

6. Es gelang, mit Hilfe einer Auswahl von mAk neutralisationsresistente (NR-) Mutanten der KSPV-Stämme Tübingen und Flandern´90 zu selektieren. Der Selektionserfolg war abhängig von den Epitopen des E2 Glykoproteins. Nur NR-Mutanten gegen variable Epitope zeigten keine Reversion zum Wildtyp.

7. Drei zytopathogene Feldstämme der Antigentypen Flandern´90, Lothringen´92 und Österreich´90 wurden aus Organmaterial von infizierten Schweinen isoliert. Die zytopathogenen Stämme bildeten im Zellsuspensionsplaquetest keine sichtbaren Plaques. Virusklone dieser Stämme, die mittels Blotting und indirekter Färbung aus Plaques im Zellsuspensionsplaquetest gewonnen wurden, waren nicht zytopathogen. Das gleiche Verhalten zeigte der Laborstamm ATCC VR-531. Es wurde geschlossen, daß die Zytopathogenität durch eine besondere Komponente des KSPV hervorgerufen wird.

8. Die Übertragung des zytopathogenen Prinzips auf nicht zytopathogene KSPV-Stämme durch Koinfektion mit dem Stamm ATCC VR-531 war möglich. Die Virusernten behielten ihr Reaktionsmuster mit den mAk bei.

Alexandra Kosmidou

Differentiation and Characterization of Isolates and Mutants of Classical Swine Fever Virus by Monoclonal Antibodies.

6. Summary

1. The stable cell line STE (swine testis epitheloid) was found to be a useful tool for isolation, growth and detection of classical swine fever virus (CSFV). Beyond its constant quality, the use of horse serum as a medium supplement, growth to high cell density for employment in a cell suspension plaque assay, high virus titres and susceptibility to cytopathogenic CSFV strains were further advantages.

2. An indirect immunoperoxidase assay involving a mixture of the three monoclonal antibodies (mAbs) a18, c46-20-8, and 24/10-6-4 was applied in routine testing for CSFV in STE cells. This mAb mixture was found to react with all CSFV strains available but not with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and border disease virus (BDV). These mAbs are therefore considered as CSFV specific. From 1992 till 1994 a total of 322 virus isolates was obtained from field samples.

3. CSF-laboratory strains and field isolates were typed using a panel of 24 mAbs directed against viral glycoproteins E0 and E2 revealing 22 reaction patterns which remained unchanged when virus strains were passaged in STE cell cultures or in pigs. Five mAbs to glycoprotein E2 recognized 19 strains of BVDV and BDV producing 9 different reaction patterns. These mAbs can be considered to be pestivirus specific. MAbs to glycoprotein E0 did not react with either BVDV or BDV.

Summary

4. CSFV of antigenic types Flandern´90, Lothringen´92 and Schweinfurt´93 were isolated in Germany during 1992 to 1994, the first two also occurring in wild boar. Within a region, the antigenic type of CSFV remained stable during this period. Field isolates from abroad displayed the reaction patterns of Flandern´90, Österreich´90, Lelystad´92, Lothringen´92, Schweiz´93, Tchechien´93 and Henken´67.
5. Variable and conserved epitopes could be defined based on reactivity of mAbs to CSFV. Only mAbs recognizing conserved epitopes of glycoprotein E2 of CSFV were found to react with BVDV or BDV strains. This allowed the classification of further mAbs.
6. Using a panel of mAbs neutralization (NR) mutants of virus strains Tübingen and Flandern´90 could be selected. Successful selection was dependent on the type of epitope on glycoprotein E2. Only NR mutants to variable epitopes were stable without reversion.
7. Three cytopathogenic field strains belonging to antigenic types Flandern´90, Lothringen´92 and Österreich´90 were isolated from organ material. These cytopathogenic strains did not form visible plaques in the cell suspension plaque assay. Virus clones obtained from plaques visualized indirectly by immunostaining were not cytopathogenic. The same result was achieved with the laboratory strain ATCC VR-531. It was concluded that cytopathogenicity was caused by a special component of CSFV.
8. It was possible to transmit the cytopathogenicity to non-cytopathogenic CSF strains by co-infection with strain ATCC VR-531. Virus strains retained their reaction pattern with mAbs.