

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Marek'sche Krankheit (MK) des Huhnes wird durch das onkogene Marek's Disease Virus (MDV) vom Serotyp 1, ein lymphotropes aviäres Herpesvirus, hervorgerufen. Als Vakzinen gegen die MK stehen attenuierte Stämme vom Serotyp 1 des MDV, sowie antigenverwandte, aber nicht onkogene Herpesvirusisolate von Puten (PHV) und Hühnern (MDV, Serotyp 2) zur Verfügung.

MDV und PHV könne aufgrund der latenten Infektion von T-Lymphozyten lebenslänglich persistieren. Die Persistenz von PHV, ebenso wie von nicht onkogenen und onkogenen MDV-Stämmen ist wissenschaftlich zweifelsfrei gesichert. Dabei wurde auch festgestellt, daß die Verabreichung von PHV mit der Replikation sowohl von onkogenem MDV als auch von nicht onkogenem MDV interferiert. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die Klärung der Frage, ob nach polyvalenter Vakzination eine derartige Interferenz auch für CVI 988, einem attenuierten Vakzinevirus vom Serotyp 1 MDV, zu beobachten ist.

Vakzineviren führen im Gegensatz zum onkogenen MDV nicht zu einer Beeinträchtigung der Blastogenese von T-Zellen nach Mitogenstimulation. Allerdings wird die Zellproliferation üblicherweise anhand der Inkorporation einer radioaktiv markierten DNS-Base bei der Neusynthese von DNS gemessen. Mit dem Tetrazoliumsalz MTT, welches von den Zellen enzymatisch umgesetzt wird, kann dagegen eine Aktivierung von Zellen bereits erfaßt werden, bevor die Neusynthese von DNS eingeleitet wird. Daher wurde in dieser Arbeit geprüft, ob ein Einfluß der Vakzination auf das Proliferationsgeschehen nach Mitogenstimulation festzustellen ist. Parallel wurden an Milzleukozyten die Auswirkungen der Vakzination auf durch T-Zellen aktivierbare Makrophagenfunktionen anhand des von Milzleukozyten produzierten Nitrits *in vitro* untersucht.

In zwei Versuchphasen wurden SPF-Küken am ersten Lebenstag entweder monovalent mit CVI 988, bivalent mit CVI 988 und FC126 oder trivalent mit CVI 988, FC126 und SB-1 geimpft. In der ersten Versuchphase erfolgten über einen Zeitraum von 100 Tagen die Untersuchungen unter Verwendung peripherer Blutleukozyten. In der zweiten Versuchphase wurden über 35 Tage die Untersuchungen an Milzleukozyten durchgeführt.

Die Ergebnisse der virologischen Untersuchungen lassen darauf schließen, daß die *in vivo*-Replikation von CVI 988 durch FC126 vermindert wurde. Die Verabreichung von SB-1 schien dabei keinen verstärkenden Effekt zu haben. Das Proliferationsgeschehen von PBL und Milzleukozyten nach Stimulation mit Concanavalin A bzw. Phytohämagglutinin im LTT [MTT] blieb bei mono-, bi- und trivalent vakzinieren Tieren unbeeinflusst. Hinweise auf eine Veränderung der T-Zell-vermittelten Nitritinduktion in Milzleukozyten nach Mitogenstimulation ergaben sich ebenfalls nicht. Allerdings hatte die Vakzination möglicherweise einen modulierenden Effekt auf die Makrophagen der Milz. Innerhalb von 17 Tagen *post vaccinationem* wurden wechselnde statistisch signifikante Unterschiede in der Nitritproduktion unstimulierter Milzleukozytenkulturen festgestellt.

Die mono-, bi- und trivalente Vakzination führte zu einer vorübergehenden Vergrößerung der Milz. Die Milzvergrößerung bestand in trivalent geimpften Tieren am längsten und in monovalent geimpften Tieren am kürzesten. Daher wird angenommen, daß das Ausmaß der Milzvergrößerung mit der Anzahl verabreichter Vakzinen korreliert.

Ungeachtet der bereits bekannten Replikationshemmung von SB-1 durch FC126 und der hier beschriebenen Ergebnisse der virologischen Untersuchungen sind CVI 988, FC126 und SB-1 nachgewiesenermaßen, insbesondere bei polyvalenter Verabreichung, effektive Vakzinen zum Schutz vor der MK.

## 7. SUMMARY

Elke Bertram (1999):

**Virological and immunological investigations after application of mono-, bi- and trivalent live vaccines against Marek's disease in chickens.**

Marek's disease in chickens is caused by the oncogenic Marek's Disease Virus (MDV) serotype 1, a lymphotropic avian herpesvirus. Attenuated strains of serotype 1 MDV and antigenetically related, but non oncogenic herpesvirus isolates of turkeys (HVT) and chickens (MDV serotype 2) are available as vaccines.

Infection with MDV and HVT can persist lifelong because of the latent type of infection of T lymphocytes. Persistence of HVT, non oncogenic and oncogenic MDV is well documented in several studies. It was demonstrated that HVT interferes with the replication of oncogenic as well as non oncogenic MDV. This raised the question whether polyvalent vaccination interferes with CVI 988, an attenuated serotype 1 MDV-strain.

In contrast to oncogenic MDV, vaccine viruses do not reduce blastogenesis of T cells following mitogenic stimulation. However, cell proliferation is usually measured by the incorporation of radioactively labelled DNA nucleotides during DNA synthesis. Employing the tetrazolium salt MTT, which is transformed enzymatically, cell activation can be measured before the cellular DNA synthesis is initiated. Therefore, it was also examined if an influence of the vaccination on cell blastogenesis can be determined. In addition, the effect of vaccination on macrophage functions that can be activated by T cells was examined *in vitro* by measuring the macrophage product nitrite.

In two trials, SPF chicks were vaccinated at day old either with a monovalent vaccine (CVI 988), with a bivalent vaccine containing CVI 988 and FC126 (HVT) or with a trivalent vaccine consisting of CVI 988, FC126 and SB-1 (serotype 2 MDV). In the first trial, the investigations were performed during a period of 100 days using peripheral blood leukocytes (PBL). In the second trial, investigations were performed during 35 days using spleen leukocytes.

The results of the virological investigations suggest that the *in vivo* replication of CVI 988 was partially inhibited by FC126. SB-1 did not seem to enhance this inhibitory effect. The blastogenesis of PBL and spleen leukocytes following stimulation with Concanavalin A and Phytohemagglutinin, respectively, was not influenced by mono-, bi- and trivalent vaccination. Furthermore, there was no evidence for a change in T cell mediated nitrite induction in mitogen stimulated spleen leukocyte cultures *in vitro*. However, vaccination might have a modulating effect on spleen macrophages. During 17 days *post vaccinationem*, varying statistically significant differences in nitrite production by unstimulated spleen leukocyte cultures were observed.

Mono-, bi- and trivalent vaccination led to a transient spleen enlargement. Spleen enlargement was evident longest following trivalent vaccination and shortest following monovalent vaccination. This observation suggests that the extent of spleen enlargement correlates with the number of vaccines applied.

Despite the known inhibitory effect of FC126 on replication of SB-1 and the results of the virological investigations in this study, CVI 988, FC126 and SB-1 are proved effective vaccines against MD, especially when they are applied as polyvalent vaccines.