

## Rekombinante defekte Partikel des Virus der Klassischen Schweinepest: ein Modell zur Entwicklung neuer Pestvirus Impfstoffe, Teil 2

Caroline F. Frey, Martin A. Hofmann, Nicolas Ruggli, Artur Summerfield, Jon Duri Tratschin  
Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe, CH-3147 Mittelhäusern

### Schlüsselwörter

Pestivirus, Virus der Klassischen Schweinepest, defekte Viruspartikel, transdermale Impfung

### Problemstellung und Zielsetzung

Wegen der weltweit zahlreichen Ausbrüche von klassischer Schweinepest (KSP) ist die Bekämpfung dieser Seuche auch für die Schweiz von grosser Bedeutung. Dabei stellt sich die Frage nach einer Änderung der Bekämpfungsstrategie, die auf einem Impfverbot und der Keulung von infizierten Herden und Kontakttieren beruht. Zur Wiedereinführung einer Impfung sind allerdings neuartige Impfstoffe erforderlich, die avirulent, wirksam und kostengünstig sind. Auch sollte es sich um einen Markerimpfstoff handeln, der die Differenzierung von infizierten und immunisierten Tieren zulässt. Das Ziel dieses Projektes bestand darin, einen derartigen Impfstoff auf der Basis von defekten Partikeln des KSP Virus (KSPV) herzustellen. Defekte Partikel enthalten eine subgenomische virale RNA, die alle Funktionen kodiert, die für die Replikation der RNA notwendig sind, während Teile der genetischen Information für die viralen Strukturproteine fehlen. Solche Partikel können Zellen infizieren, darin ihre RNA replizieren und die entsprechenden viralen Proteine exprimieren. Im Tier induzieren sie deshalb eine Immunreaktion, können aber wegen der nicht kompletten genetischen Information für die viralen Strukturproteine weder vertikal noch horizontal übertragen werden. Im Teil 1 dieses Projektes wurden defekte KSPV Partikel mit Deletionen im Gen für das Strukturprotein E2 verwendet. Im Teil 2 des Projektes ging es darum, defekte KSPV Partikel herzustellen in deren Genom das E<sup>ms</sup> Gen fehlt. Bei diesen Partikeln wird demnach E2 exprimiert, das als stärkstes Immunogen bekannte Protein des KSPV.

### Material und Methoden

Rekombinante defekte Impfviren mit Deletion des E<sup>ms</sup> Gens wurden ausgehend von einem molekularen Klon des KSPV Stammes Alfort/187 konstruiert und in Zellen, die das virale Protein E<sup>ms</sup> exprimieren, hergestellt. Die Schutzwirkung des Impfstoffes für Schweine nach oraler, intradermaler oder transdermaler Immunisierung mit einer Impfpistole wurde mittels Challenge mit einer letalen Dosis eines hochvirulenten KSPV geprüft.

### Ergebnisse und Bedeutung

Nach dem Challenge erkrankten die oral immunisierten Tiere an KSP, während intra- bzw. transdermal immunisierte Tiere keine klinischen Symptome zeigten. In diesen Tieren konnten bereits nach einmaliger Immunisierung sowohl neutralisierende Antikörper als auch die Aktivierung von spezifischen T-Zellen nachgewiesen werden. Diese Vakzine erfüllt die Anforderung an einen Markerimpfstoff, da in immunisierten Tieren Antikörper gegen das virale Protein E<sup>ms</sup> fehlen. Die erfolgreiche Anwendung der Impfpistole zur Applikation von rekombinanten Pestivirus Partikeln zeigt, dass eine solche Vakzine für Massenimmunisierungen tauglich ist.

### Publikationen, Poster und Präsentationen

- Frey, C.F. (2006) Classical swine fever virus replicon particles lacking the Erns gene: a potential marker vaccine for intradermal application. Dissertation, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Bern.
- Frey, C. F.; Bauhofer, O.; Ruggli, N.; Summerfield, A.; Hofmann, M.A.; Tratschin, J.D. (2006) Classical swine fever virus  $\Delta E^{ms}$  replicon particles: a protective marker vaccine for intra- and transdermal application. *In* Proceedings of the 7th Int. Congress of the Eur. Soc. for Veterinary Virology, Lissabon, Portugal, 24.–27. Sept.
- Frey, C. F.; Bauhofer, O.; Ruggli, N.; Summerfield, A.; Hofmann, M.A.; Tratschin, J.D. (2006) Classical swine fever virus replicon particles lacking the E<sup>ms</sup> gene: a potential marker vaccine for intradermal application. *Veterinary Research* 37: 655-670.

**Projekt** 1.04.02.

**Projektdauer** Januar 2004 - Mai 2006