

### 6. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Charakterisierung der Virulenz von 3 KSPV-Feldisolaten, die in den 1990er Jahren vom Schwarzwild in den Bundesländern Mecklenburg-Vorpommern bzw. Brandenburg isoliert wurden. Neben der *in vivo*-Charakterisierung der Isolate vom Genotyp 2.3 Rostock (2 Isolate aus Mecklenburg-Vorpommern) sowie 2.3 Güstrow (1 Isolat aus Brandenburg) sollten dabei auch *in vitro*-Methoden auf ihre Eignung zur Identifizierung des Virulenzgrades hin überprüft werden.

Die tierexperimentellen Studien zur Pathogenitätseinstufung der KSPV-Isolate erfolgten jeweils an Haus- und Wildschweinen, um dem Einfluss von Wirtsfaktoren auf das Krankheitsbild Rechnung zu tragen und eventuelle Unterschiede im Krankheitsverlauf bei den beiden Schweinearten herauszuarbeiten. An Hand von klinischen Erscheinungen, Temperaturkurven, der Dauer der Virusausscheidung sowie der Erkrankung insgesamt und der Produktion von Anti-KSPV-Ak wurden Verlaufsform und Schweregrad der KSPV-Infektion bewertet und der daraus resultierende Virulenzgrad des Infektionsvirus für jedes einzelne Tier sowie zusammenfassend für die jeweilige Schweineart festgelegt.

Bei allen infizierten Hausschweinen, unabhängig vom eingesetzten Feldvirusisolat, verlief die Erkrankung subakut mit letalem Ausgang. Nach initialem Körpertemperaturanstieg entwickelte sich in der 2. bis 3. Woche *p.i.* das klassische klinische Bild der KSP, und bis spätestens nach Ablauf der 4. Infektionswoche verendeten die Tiere bzw. wurden moribund getötet. Virämie und Virusausscheidung dauerten bis zum Eintritt des Todes an, neutralisierende Ak gegen KSPV wurden nicht detektiert. Die 3 untersuchten Feldisolate erwiesen sich bei allen Hausschweinen als hochvirulent. Im Gegensatz dazu traten bei den Wildschweinen teilweise stark variierende Krankheitsverläufe auf. Während die mit einem der Isolate vom Genotyp 2.3 Rostock infizierten Tiere ebenfalls subakut erkrankten und starben, trat bei der Infektion mit dem zweiten Isolat gleichen Typs ein chronisches Geschehen auf, das alle infizierten Tiere bis zum Ende des Experiments am 61. *d p.i.* überlebten. Eines der 3 Tiere zeigte dabei Virämie und Virusausscheidung über den gesamten Versuchszeitraum. Im Gegensatz zu den beiden anderen Wildschweinen im Versuch produzierte dieses Tier zu keinem Zeitpunkt neutralisierende Ak gegen KSPV. Bei der Infektion von Wildschweinen mit dem KSPV vom Genotyp 2.3 Güstrow differierte die Ausprägung der Krankheit zwischen den einzelnen Tieren noch weitaus stärker. Während 3 der Tiere subakut erkrankten und verendeten, verlief die KSP bei den beiden übrigen

transient. Die zu charakterisierenden Isolate wurden auf Grund der unterschiedlichen Verläufe als insgesamt moderatvirulent für Wildschweine eingestuft. Mögliche Gründe für die beobachteten Virulenzunterschiede zwischen den Wildschweinen bzw. zwischen Haus- und Wildschweinen sowie die Bedeutung chronischer Verlaufsformen bei Wildschweinen für das Seuchengeschehen im Feld werden diskutiert. Die Ergebnisse verdeutlichen die Abhängigkeit des Erscheinungsbildes der KSP von den Eigenschaften des Wirtes.

In die Verfahren zur *in vitro*-Charakterisierung wurden zu Vergleichszwecken zusätzlich mehrere ältere Laborstämme vom Genotyp 1.1 mit unterschiedlichen Virulenzgraden einbezogen sowie ein weiteres *in vivo* schwachvirulentes Feldisolat des Genotypes 2.3 vom Schwarzwild.

Bei der Durchführung von Ein-Schritt-Wachstumskinetiken ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Indices, die aus den mittleren Virustitern in ZK und ZKÜ der zu den verschiedenen Genotypen 1.1 bzw. 2.3 gehörenden KSPV berechnet wurden. Eine Verbindung der Indices zur Virulenz der Viren lag hingegen nicht vor. Die Höhe der Verhältnisse zwischen zellgebundenem und zellfreiem Virus zu den einzelnen Probenahmezeitpunkten sowie die Wachstumsrate des zellgebundenen Virustiters pro Stunde im Kinetikverlauf spiegelten ebenfalls eine Beziehung zwischen der Vermehrung *in vitro* und der genotypischen Zuordnung der Stämme und Isolate wider.

Die Analyse der Expression des Glykoproteins E2 im Verlauf der Wachstumskinetiken ergab zum einen bei den Laborstämmen des Genotypes 1.1 die Detektion des Proteins zu einem deutlich früheren Zeitpunkt *p.i.* als bei den Feldisolaten vom Genotyp 2.3. Zum anderen erreichten die Werte der zu den unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten gemessenen Lumineszenzintensitäten bei den Laborstämmen ein Vielfaches der bei den Feldisolaten bestimmten Werte. Auch die Expression des Glykoproteins E2 erwies sich somit als abhängig vom Genotyp der betreffenden Viren, jedoch nicht vom *in vivo* gezeigten Virulenzgrad.

Bei der Bestimmung von Plaquegrößen nach Überschichtung infizierter Zellkulturen mit Hyperimmunserum wurden keine Unterschiede zwischen den untersuchten KSPV festgestellt. Die ermittelten Plaquedurchmesser bewegten sich mit einer relativ hohen Schwankungsbreite innerhalb desselben Bereiches. Die vergleichende Infektion von Zellen mit und ohne Zusatz von Hyperimmunserum mit einem hoch- und einem schwachvirulenten KSPV ließ nur beim hochvirulenten Virus deutliche Unterschiede im Infektionsmuster erkennen. Da für dieses Teilexperiment Viren verschiedener Genotypen verwendet wurden, steht eine abschließende

Klärung der Frage, ob es sich um einen genetisch bedingten oder virulenzabhängigen Effekt handelt, noch aus.

Die in der Arbeit angewandten *in vitro*-Techniken ermöglichten entweder keine Einteilung der untersuchten Viren oder ließen Übereinstimmungen zwischen den jeweils genetisch enger verwandten KSPV, jedoch nicht zwischen Viren mit vergleichbarem Virulenzgrad erkennen. Zur Charakterisierung der Virulenz erwies sich somit das Tierexperiment von den hier untersuchten Methoden als die am besten geeignete.