

„Charakterisierung eines neuen Genotyps des caninen Parvovirus und seine weltweite Ausbreitung“

von Prof. Dr. med. vet. Uwe **Truyen**

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München

In dem auf zwei Jahre angelegten Forschungsprojekt sollte die junge Entwicklung des caninen Parvovirus untersucht werden. Dies war insofern von besonderem Interesse, als im Rahmen eines früheren von GKF geförderten Projektes die Entstehung einer neuen Mutation entdeckt wurde, die sich rasch in den Hundepopulationen durchsetzte.

In diesem Projekt sollte nun untersucht werden, wie weit diese Mutation verbreitet ist, und vor allem, ob sie Bedeutung für die Hundepopulation hat, in dem Sinne, daß die Mutation wichtige biologische oder antigene Eigenschaften des Virus beeinflußt hat, die eine Anpassung der üblichen Diagnostikverfahren oder verfügbaren Impfstoffen notwendig machen.

Das canine Parvovirus (CPV) wurde erstmals 1979 isoliert und ist heute der wichtigste Krankheitserreger des Hundes. Es wurde in einer verheerenden, von einer hohen Mortalität gekennzeichneten Pandemie innerhalb weniger Monate weltweit verbreitet. CPV entstand durch kleine Veränderungen aus einem Parvovirus eines Fleischfressers, möglicherweise aus dem lange bekannten felines Panleukopenievirus (FPV), dem Erreger der Katzenseuche der Katze. Jüngere Untersuchungen deuten zudem auf eine Rolle von Wildtieren (Rotfuchs) bei der Entstehung des CPV hin.

Nach seinem ersten Auftreten 1978 adaptierte das Virus an den neuen Wirt Hund und es traten neue Virustypen auf, die das ursprüngliche Virus aus den Populationen verdrängten. Diese als neue „antigene Typen“ (CPV-2a und CPV-2b) bezeichneten Mutanten unterscheiden sich von dem ursprünglichen Virus ebenfalls nur durch kleine Änderungen.

Ein Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der natürlichen Entwicklung des caninen Parvovirus (CPV) seit seiner Entstehung Ende der 1970er Jahre, mittlerweile ein Zeitraum von über 20 Jahren. Alle CPV-Stämme scheinen von einem einzigen Vorläufervirus abzustammen. Der antigene Typ CPV-2a trat 1979 erstmals auf und verdrängte den ursprünglichen Typ vollständig. Er entstand ebenfalls nur einmal und wurde dann weltweit verbreitet. 1984 trat der antigene Typ CPV-2b auf, der gegenüber dem 2a-Virus nur eine Aminosäureänderung aufweist. Diese Mutation ist in verschiedenen Hundepopulationen parallel und unabhängig voneinander aufgetreten. CPV-2a und CPV-2b-Viren kommen in einem unterschiedlichen zahlenmäßigen Verhältnis nebeneinander in den Hundepopulationen vor. Ende der 1980er Jahre trat eine weitere Mutation auf, die sich ebenfalls schnell in den Populationen durchsetzte. Diese Viren weisen eine Änderung der Aminosäure 297 auf, die sowohl in CPV-2a- als auch CPV-2b-Viren gefunden wird. Dies zeigt, daß auch diese Mutation parallel in verschiedenen Viruspopulationen entstanden sein muß.

Ergebnisse

Verbreitung der 297-Mutation: Die jüngste der weltweit verbreiteten Mutationen des caninen Parvovirus betrifft die Aminosäure 297 des Kapsidproteins. Diese Mutation wurde in Deutschland erstmals 1993 beobachtet, in den USA trat sie ab 1990 auf, setzte sich aber innerhalb eines Jahres in den Hundepopulationen durch, so daß heute etwa 70% aller CPV-Isolate in Deutschland diese Mutation tragen. Sie wird heute auf allen Kontinenten nachgewiesen. Interessant ist aber, daß sie bisher in Süd-Afrika nicht gesehen worden ist.

Durch eine genaue Analyse von 38 Parvoviren aus verschiedenen geographischen Regionen von 5 Kontinenten konnte mit verschiedenen molekularbiologischen Methoden gezeigt werden, daß diese Mutation parallel und unabhängig voneinander in verschiedenen CPV-Populationen und in Viren der unterschiedlichen antigenen

Typen (sowohl einige CPV-2a- und CPV-2b-Isolate tragen die Mutation) aufgetreten ist. Dies zeigt, dass mit der Mutation ein großer evolutionärer Vorteil für das Virus verbunden sein muß.

Biologische Eigenschaften: Ein möglicher Vorteil eines Virustyps kann in einer gesteigerten Virulenz liegen, oder in der Eigenschaft, daß es in größerer Menge ausgeschieden wird. Für beide Eigenschaften gibt es im Fall der 297-Mutation keine Hinweise, obwohl eine experimentelle Bearbeitung dieser Fragen aus offensichtlichen Gründen sehr schwierig und von zweifelhaftem Wert ist, und daher nicht durchgeführt wurde. Dennoch gibt es Hinweise, die auf eine biologische Rolle dieser Mutation hindeuten. In einer Fuchszelllinie konnte in Untersuchungen mit gentechnisch hergestellten Viren durch Änderung dieser Aminosäure ein Virus erhalten, daß diese Zellen infizieren konnte. Das Ausgangsvirus konnte dies nicht. Dieser Versuch sagt zwar nichts über die Funktion dieser Aminosäure aus, er zeigt aber, daß ihr Austausch durchaus eine biologische Konsequenz hat und sie daher für das Virus wesentlich ist.

Antigenetische Eigenschaften: Um eine antigene Selektion als treibende Kraft für diese Mutation zu untersuchen, haben wir Virusisolate, die diese Mutation aufweisen, mit einer Reihe bekannter monoklonaler Antikörper untersucht, konnten aber keine Unterschiede zu entsprechenden Isolaten ohne diese Mutation finden. Auch gezielt gentechnologisch hergestellte Viren, die nur diese eine Änderung enthielten, verhielten sich antigenetisch identisch zu den unveränderten Ausgangsviren.

Weiterhin haben wir monoklonale Antikörper gegen ein Virus mit dieser Mutation hergestellt. Insgesamt konnten vier monoklonale Antikörper gewonnen und untersucht werden, aber keiner zeigte eine Reaktivität, die spezifisch für die Änderung der Aminosäure 297 war.

Die zunächst geplanten Untersuchungen an Hunden, die eine Parvovirusinfektion überstanden haben, konnte nicht durchgeführt werden, da keine solchen Hunde zur Verfügung standen. Entsprechende Un-

tersuchungen mit Seren von Katzen, die mit einem FPV-Impfstoff geimpft worden waren, erbrachte jedoch keinen Hinweis auf eine antigenetische Differenz, da vergleichbare Titer bei entsprechenden Isolaten mit und ohne der Mutation gefunden wurde.

Zusammenfassend können wir sagen, daß das Auftreten dieser neuen Mutation in den Hundepopulationen offensichtlich keine Konsequenzen für die Diagnostik und die Impfung unserer Hunde hat. Diese Mutation bedeutet nicht die Entstehung eines neuen Killervirus. Dennoch ist es wissenschaftlich interessant zu verfolgen, welche Vorteile diese Mutation für das Virus bedeutet. Dies erlaubt uns, die notwendigen Faktoren des Zusammenspiels Virus und Wirt weiter zu verstehen. Vielleicht sind wir eines Tages in der Lage, dieses Wissen zu nutzen, um dieses Zusammenspiel zu Gunsten des Wirtes Hund zu beeinflussen.

Danksagung:

Abschließend möchte ich der GKF auch im Namen meiner Mitarbeiter herzlich für die Förderung dieses Forschungsprojektes während der letzten zwei Jahre danken. Es ermöglichte uns die Untersuchung der jungen Evolution des caninen Parvovirus, die ohne diese Forschungsgelder nicht hätte durchgeführt werden können.

Prof. Dr. med. vet. Uwe **Truyen**

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München

Veterinärstr. 13

80539 München