

Neue Trends bei der Entwicklung von Vakzinen für Rinder

O. C. Straub, Prof. Dr. med. vet.
Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere
Tübingen, Deutschland

Einleitung

Bekanntlich ist es bis zum heutigen Tag nicht möglich, Viruskrankheiten unter ökonomischen Bedingungen beim Rind medikamentell zu behandeln. Es gibt nur zwei Möglichkeiten, auf bestimmte Viruskrankheiten Einfluß zu nehmen, und zwar:

1. durch prophylaktische Schutzimpfungen
2. durch Notimpfungen bei oder unmittelbar vor zu erwartenden Krankheitsausbrüchen.

Diese Erkenntnisse sind nicht neu, deshalb wird einleitend ein kurzer Überblick über die Geschichte der aktiven und passiven Immunisierung gegeben.

Die erste Erfahrung lehrte, daß Mensch und Tier, insbesondere Kinder, kein zweites Mal an einer bestimmten Krankheit erkrankten; bei Hunden war dies offensichtlich Staupe. Die Folge davon war, daß Kranke von Rekonvaleszenten gepflegt wurden. Die ersten gezielten aktiven Impfungen wurden in China und in der Türkei gegen die Pocken durchgeführt, und zwar schnupften die Chinesen zerriebene Krusten von Pocken und die Türken impften Kinder mit Material von "milden" Pocken. Dieses letztere Verfahren wurde zwar als gefährlich erkannt, jedoch besser erachtet als eine natürliche Erkrankung. Es handelte sich dabei sozusagen um den ersten abgeschwächten Lebendimpfstoff. Die Methode wurde nach England transferiert, bis 1840 praktiziert und als "Variolation" bezeichnet.

Beim Rind wurden in Westafrika Impfungen gegen den Erreger der Lungenseuche (*Mycoplasma mycoides*) in der Weise durchgeführt, daß Lungenmaterial von verendeten Rindern in Hautschnitte auf den Nasenrücken gelegt wurde, also auch eine aktive Impfung, die jedoch im Falle der Rinderpest in England weniger erfolgreich um 1754 bei Rinderpest versucht wurde. In den Niederlanden dagegen wurde die gleiche Methode um 1770 bei Kälbern erfolgreich durchgeführt, und zwar bei jenen, die von erkrankten Muttertieren stammten. Es war also eine "passive" Impfung vorausgegangen. Das klassische Experiment der Pockenimpfung wurde bekanntlich 1796 durch die Impfung eines Jungen durch Jenner und den Nachweis der Schutzwirkung durchgeführt, doch das Landvolk hatte schon früher Kenntnis vom Schutz vor einer Pockenerkrankung durch Kuhpocken. Es wurden aber keine gezielten Vakzinierungen durchgeführt. Der Landwirt Jesty "impfte" beispielsweise bereits 1774 Frau und Kinder mit "Kuhpocken". Zwei Jahre nach Jenners Erfolg wurde versucht, Hunde mit der Kuhpockenvakzine gegen Staupe zu impfen. Daß diesen Versuchen kein Erfolg beschieden war, ist heutzutage verständlich. Sie hätten allerdings auch anders ausgehen können, wenn an die heutigen Erfolge der Paramunisierung durch Parapocken gedacht wird. Es war sozusagen der erste Paramunisierungsversuch, bedauerlicherweise mit einem Erreger, bei dem dieses Verfahren offensichtlich nicht zum Erfolg geführt hat. Der nächste interessante Versuch wurde 1841 durch den Tierarzt Blaine, der zuerst als Arzt gewirkt hatte, durchgeführt. Er erreichte genau das Gegenteil der erwünschten Schutzwirkung, nämlich die erste "Virulenzsteigerung" durch Passagen im "idealen" Wirt in der Weise, daß er Material von leicht an Staupe erkrankten Hunden zur Impfung verwendete und feststellen mußte, daß diese Hunde danach schwerer erkrankten.

Wegweisende Arbeiten führte dann Pasteur 1879 durch: Er infizierte Hühner mit einer *Pasteurella-multocida*-Kultur, die versehentlich während seines Urlaubs auf der Fensterbank liegengelieben war

und stellte fest, daß die Tiere daraufhin nicht erkrankten und auch nicht, nachdem sie anschließend mit einer als "vollvirulent" bekannten Kultur infiziert worden waren. Pasteur wiederholte das Experiment und wies damit die "Attenuierung" nach. Er prägte auch den Begriff Vakzination. In den folgenden Jahren wurden in rascher Folge weitere bahnbrechende Erkenntnisse gewonnen:

1. Verringerung der Virulenz des Milzbranderreger durch Züchtung bei erhöhten Temperaturen
2. Abschwächung bzw. Steigerung der Virulenz von Rotlaufbakterien: durch Passage der Bakterien im Kaninchen nimmt die Virulenz für Kaninchen zu, für Schweine jedoch ab
3. Erfolgreiche Vakzinierung des Jungen Joseph Meister (1885), der von einem tollwütigen Hund gebissen worden war, mit einem Impfstoff, der aus dem Rückenmark eines mit Tollwutvirus infizierten und verendeten Kaninchens nach Trocknung in Anwesenheit von Kaliumhydroxid gewonnen worden war
4. Verwendung von hitzeinaktivierten Geflügelcholera-Bakterien als Impfstoff durch Salmon und Smith 1886
5. Nachweis der Schutzwirkung gegen Diphtherie-Bakterien durch Impfung mit Toxin durch Roux und Yersin 1888
6. Bildung einer schützenden Substanz (= Antikörper) in Tieren nach Applikation von Tetanustoxin (Toxoid), die nach Infektion bei Tieren zu einem Schutz vor Infektion führte durch Behring und Kitasato 1890
7. Produktion von Tetanusantiserum im Pferd durch Roux zur Anwendung bei Menschen

Gegenwärtige Situation

Nach Etablierung der Gewebekulturtechniken wurden für die wichtigsten viralen Rinderkrankheiten Impfstoffe auf der Basis von virushaltigen Gewebekulturüberständen entwickelt. Es hatte sich gezeigt, daß es durch Passagen auf Zellkulturen von homologen oder heterologen Wirten zu einer Attenuierung = Abschwächung bezüglich der Pathogenität bei Erhalt der Immunogenität kommt. In Tabelle 1 sind die gebräuchlichen Lebendimpfstoffarten zusammengefaßt.

Tabelle 1: Zusammenstellung der verschiedenen Arten von viralen Lebendimpfstoffen

1	apathogene Mutanten ¹⁾
2	temperatursensitive Mutanten ²⁾
3	unter Beimischung von Antikörpern gewonnene Mutanten
4	heterologe Agenzien ³⁾
5	markierte Impfstoffe ⁴⁾
6	attenuierte Virusstämme
	- durch Zellkulturpassagen in heterologen Wirtszellen
	- durch Zellkulturpassagen in homologen Wirtszellen
	- durch Passagen in heterologen Wirten

1) i. d. R. isoliert aus gesunden Tieren, ohne pathogene Eigenschaften 2) gewonnen durch Vermehrung bei meist niedrigeren Brutschranktemperaturen³⁾ i. d. R. zur gleichen Virusfamilie gehörend 4) i. d. R. gewonnen durch Veränderung der Oberflächenproteine (Deletionen), so daß bei Antikörperuntersuchungen zwischen Impf- und Feldvirusinfektion unterschieden werden kann.

Da es jedoch nicht bei allen Virusarten gelingt, unschädliche und doch wirksame Lebendimpfstoffe zu gewinnen, wurden zahlreiche inaktivierte Vakzinen und in jüngster Zeit auch Subunitimpfstoffe entwickelt. Zur Inaktivierung bzw. Spaltung werden im Regelfall nur Virusüberstände von niedrigen Gewebekulturpassagen oder Materialien von erkrankten Tieren genommen. Dazu werden verschiedene Verfahren verwendet. Sie sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Inaktivierungsmethoden¹⁾

1	Thermische Inaktivierung (Erhitzung)
2	chemische Inaktivierung (z. B. durch Zusatz von Formalin oder Spaltung durch Tween)
3	physikalische Inaktivierung, dann Trennung in Phospholipide, virale Glykoproteine und Kapside
4	Kombinationsverfahren

¹⁾ Ausgangsmaterial Feld- oder Impfvirusstämme

Es kann nun nicht in der Weise verallgemeinert werden, daß entweder nur Lebend- oder nur inaktivierte bzw. Subunitimpfstoffe anzuwenden sind. Vielmehr muß für jede Krankheit ein Impfstoff- bzw. Bekämpfungsprogramm festgelegt werden, wobei Prävalenzen und Schutzmechanismen in die Überlegungen einbezogen werden müssen.

So ist im allgemeinen davon auszugehen, daß bei regionalen oder nationalen Bekämpfungsprogrammen und hoher Prävalenz einem wirksamen und unschädlichen Lebendimpfstoff der Vorzug einzuräumen ist, um zunächst das Feldvirus durch ein Impfvirus zu ersetzen und in einem zweiten Schritt das Impfvirus mit Hilfe von inaktivierten Impfstoffen zu verdrängen. Sind die Prävalenzen niedrig oder steht überhaupt kein Lebendimpfstoff - wie z. B. bei Maul- und Klauenseuche - zur Disposition, dann kommen nur inaktivierte Impfstoffe in Betracht.

In diesem Zusammenhang sei auch noch auf die Möglichkeit der Kombination von Vakzinen hingewiesen, wobei Lebendimpfstoffe mit viralen und/oder bakteriellen Antigenen gemischt werden können. In Tabelle 3 sind die Möglichkeiten zusammengefaßt.

Tabelle 3: Kombinationsvakzinen

1	Mono-, bi-, tri-, polyvalent
2	mehrere virale Komponenten
3	mehrere bakterielle Komponenten
4	Mischung von bakteriellen und viralen Komponenten

Beispiele

In den Ländern, in denen nicht gegen Maul- und Klauenseuche geimpft wird, spielen BHV1- und BVDV-Infektionen die bedeutendste Rolle. Entsprechend zahlreich sind die verfügbaren Vakzinen, die in Tabelle 4 zusammengefaßt sind.

Tabelle 4: Impfstoffe und Impfstoffkombinationen, in denen BVDV und/oder BHV1 bzw. ihre Antigene enthalten sind

Impfstoffart	Im Impfstoff enthaltene Viruskomponenten	
	inaktiviert	lebend ¹⁾
monovalent	BHV1 BHDV	BHV1 ⁴⁾ BVDV
bivalent	BHV1+PI3 BHV1 + BVDV	
multivalent	BHV1+BVDV+PI3 BHV1+PI3+Adeno3 BHV1+BVDV+PI3+BRSV BHV1+BVDV+REO+PI3+ Adeno 3 BHV1+REO1+3+ Adeno1-3+PI3	BHV1+BVDV+BRSV ²⁾ BHV1+PI3+Adeno3 BHV1+BVDV ³⁾ +PI3+BRSV

- 1) eingeschlossen sind die TS-Mutantenimpfstoffe
- 2) Bovines Respiratorisches Synzytialvirus
- 3) Die BVDV-Komponente ist inaktiviert
- 4) Die Anwendung ist parenteral und lokal möglich. Bei lokaler Anwendung kommt es auch zu einer starken Interferon- sowie zu einer IgA-Immunglobulinbildung

Hierzu einige Anmerkungen:

Aufgrund der immunsuppressiven Eigenschaften des BVDV ist bei der Anwendung der BVDV-Lebendimpfstoffe Vorsicht geboten. Es ist nämlich auch möglich, daß bei persistent mit BVDV-infizierten Rindern nach der Impfung Mucosal Disease ausbricht.

Andererseits konnte bei den Untersuchungen über die BHV1-Latenz festgestellt werden, daß es nach einer dreimaligen Applikation von attenuiertem Impfstoff nur bei Erhöhung der normalen Dosis von Immunsuppressiva zu einer Virusausscheidung durch latent infizierte Tiere kommt und derartige Tiere auch gegen eine Infektion mit dem Aujeszkyvirus geschützt sind..

In diesem Zusammenhang ist ferner auf die Ergebnisse kürzlicher Untersuchungen hinzuweisen, wonach es beim Rind nach intranasaler Infektion nur zur Latenz im Kopfbereich und nach intragenitaler Infektion nur im Genitalbereich kommt. In beiden Organsystemen kann nur dann Latenz nachgewiesen werden, wenn die Infektion experimentell durch eine intravenöse Injektion erfolgt war.

Markierte Impfstoffe gegen die beiden Erreger werden z. Zt. in verschiedenen Laboratorien entwickelt und erprobt.

Neue bzw. zukünftige Vakzinen

Da sowohl den Lebend- als auch den inaktivierten Impfstoffen gewisse Mängel angelastet werden - u. a. Übertragung von Impfvirus auf Kontaktiere, Möglichkeit der Virulenzsteigerung durch Passagen im idealen Wirt oder Rekombination mit anderen Erregern, Auslösung von Aborten,

mangelnde Immunogenität, lokale Unverträglichkeit - werden auch andere Wege beschrieben, und zwar Entwicklung von

- Impfstoffen auf der Basis der Biosynthese durch Insertion von Genen in vermehrungsfähige Mikroorganismen (z. B. E. coli oder Hefen) oder durch Bildung von Rekombinanten (gegenwärtig meist auf der Basis von Vacciniavirus, später möglicherweise auf der Basis von Geflügel- oder Parapocken)
- synthetischen Impfstoffen (Peptiden)
- Anti-Idiotyp-Impfstoffen.

Einen Überblick zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5: Impfstoffe im Versuch bzw. in Entwicklung

<p>Auf biosynthetischer Grundlage</p> <ul style="list-style-type: none"> - auf Insertionsbasis gegen MKS, E.-coli-Infektion der Ferkel - auf Rekombinationsbasis gegen Tollwut, BVD, TGE, VDV, Katzenleukämie, Newcastle Disease 	<ul style="list-style-type: none"> - auf synthetischer Basis (Peptide) gegen MKS, BHV1-Infektionen, Rotavirusinfektionen, Moderhinke, Piroplasmose, Moraxella-bovis-Infektionen, Katzenleukämie - auf der Basis von Anti-Idiotyp-Antikörpern gegen Tollwut, Tumorerkrankungen, Autoimmunkrankheiten
--	---

Als mögliche Vorteile von Rekombinationsvakzinen werden genannt:

- genetische Stabilität
- lange Schutzdauer
- Durchführung von Masseneimpfungen
- gute Tenazität
- Möglichkeit der Polyvalenz

Allerdings haben eigene Versuche mit Rekombinationsvakzinen auf der Basis des Vacciniavirus und BHV1-Glykoproteinen gI und gIV nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt. Die Rinder haben nach der Vakzination zwar spezifische Antikörper gegen BHV1 gebildet, erwiesen sich jedoch bei der Testinfektion als wenig geschützt. Außerdem wurde bereits nachgewiesen, daß nach Wiederholungsimpfungen eine Boosterung der Antikörper gegen die Komponenten ausbleibt.

Die Peptidimpfstoffe, so sie denn tatsächlich einen Schutz vermitteln können, böten natürlich wesentliche Vorteile gegenüber allen anderen Impfstoffarten, nämlich

- eine absolute Stabilität
- eine nahezu unbegrenzte Lagerfähigkeit
- die Herstellung in unbegrenzten Mengen
- keinerlei Infektionsgefahr
- keinerlei Kontamination
- einen Ausschluß von Fremdprotein

Es hat sich außerdem gezeigt, daß je reiner ein Impfstoff ist, desto schwächer ist seine Immunogenität, so daß die Bedeutung der Adjuvanzen bei den neuen bzw. zukünftigen Impfstoffen eine ganz wesentliche ist. Gegenwärtig werden deshalb eine Vielzahl neuer Adjuvanzen auf ihre Wirkung geprüft. Zugelassen sind gegenwärtig u. a. Aluminiumhydroxid in Verbindung mit Saponinen, Aluminiumphosphat und Mineralöl, in Zukunft möglicherweise Liposomen.

Zusammenfassung

Nach einem kurzen Überblick über die geschichtliche Entwicklung der Impfstoffe werden die gegenwärtig verfügbaren Vakzinearten - Lebendimpfstoffe, Spaltvakzinen, inaktivierte Impfstoffe - vorgestellt und an den Beispielen der BHV1- und BVDV-Vakzinen erläutert. Vor- und Nachteile werden erörtert, die in Erprobung und Entwicklung stehenden Impfstoffe gegen verschiedene Krankheiten erwähnt und auf die zunehmende Bedeutung der Adjuvanzen hingewiesen.

Summary

New Direction in Vaccinology in Cattle

The development in the formulation of vaccines for cattle are reviewed and the vaccines currently in use, live attenuated, subunit and inactivated, are briefly described. For BHV1 and BVD vaccines, the combinations and their application under various conditions are described together with a discussion of their advantages and disadvantages. Vaccines still in the trial and development stage are also presented. The advantages of these vaccines in terms of their potentially greater safety are highlighted and the increasing importance of adjuvants for them is discussed.

Nuevas orientaciones en el uso de vacunas para el ganado vacuno

Tras realizar una breve revisión de los últimos avances experimentados en el terreno de la prevención vacunal, se hace una referencia a las vacunas actualmente en uso (vacunas vivas atenuadas, subunidades vacunales, vacunas inactivadas).

Se realiza la descripción de las vacunas actualmente disponibles frente a BHV1 y BVD y sus usos combinados y aplicaciones en diversas condiciones, discutiéndose sus ventajas y desventajas. Asimismo, se realiza una presentación de las vacunas que actualmente se encuentran en fase de investigación y desarrollo, señalándose las ventajas de su uso en el caso de haberse demostrado eficaces. Finalmente se hace una referencia a la importancia creciente del papel de los adyuvantes en estas nuevas vacunas.