

ANTIKÖRPERREAKTION UND IMMUNITÄT BEI RINDERN, VAKZINIERT GEGEN MAUL- UND KLAUENSEUCHE

Von

H. C. Borgen (1), *A. Dal Prato* (2) und *Z. Dinter* (3)

Gegen Maul- und Klauenseuche (MKS) hat man neulich die Anwendung von Vakzinen vorgeschlagen, deren Virus in Gewebekulturen der Kälber- oder Ferkelnieren gezüchtet wird (s.b. *Ubertini et al.*, 1960). Die Effektivität solcher Vakzinen wurde an Rindern mittels Challenge-Infektion geprüft und als zufriedenstellend befunden (*Dinter und Wesslén*, 1958; *Armbruster et al.*, 1959; *Sergeev*, 1960).

Es wurde bereits vorher untersucht, ob bei vakzinierten Rindern die Challenge-Infektion durch Bestimmung der Antikörperreaktion zu ersetzen wäre. Eine Uebersicht von Bestimmungsmethoden und Ergebnissen bis 1959 stammt von *Mackowiak et al.* (1959) und Versuche neueren Datums von *Hecke et al.* (1960) sowie *Martin und Chapman* (1961). Die Prüfungen betrafen dabei Vakzinen, die mit dem Virus vom Rind oder aus der Frenkel-Kultur hergestellt waren bzw. aus lebendem, abgeschwächtem Virus bestanden.

In bezug auf Vakzinen, die mit dem Virus aus Kälbernierenkulturen hergestellt wurden, fehlte es bisher an Angaben über die Beziehungen der Antikörperreaktion zur Immunität. Neulich hat aber das Institut auf Lindholm die Effektivität einer solchen Vakzine an Rindern geprüft; der Hersteller der Vakzine war das Institut in Brescia.

-
1. Veterinärmedizinisches Staatsinstitut für Virusforschung, Lindholm per Kalvehave, Dänemark.
 2. Istituto Zooprofilattico, Brescia, Italien.
 3. Virologisches Institut der Universität, Uppsala, und Veterinärmedizinisches Staatsinstitut, Stockholm, Schweden.

Diese Prüfung gab uns Gelegenheit, die Antikörperreaktion bei einer relativ grossen Anzahl vakzinierter Rinder zu verfolgen und sie mit den Ergebnissen der Challenge-Infektion zu vergleichen. Die Bestimmung der Antikörperreaktion wurde im Neutralisationsversuch an Kälbernierenkulturen durchgeführt.

MATERIAL UND METHODEN

Vakzine und Vakzination

Ueber die Herstellung der Vakzine und deren Kontrolle auf Unschädlichkeit wird anderswo detailliert berichtet; ebenso über die Herkunft der Rinder und deren Aufstallung. Hier sei erwähnt, dass man die Vakzine rigorös darauf geprüft hatte, ob sie pathogenes Virus enthält; man konnte in ihr kein solches Virus nachweisen. Bei einmaliger Vakzination erhielten die Rinder das Virusantigen subkutan in einer Menge, die je Rind ungefähr 80 Millionen Gewebekultur-ID₅₀ von aktivem Virus entsprach. Bei Revakzinationen war die Vakzinedosis die gleiche.

Challenge-Infektion

Auch über die Challenge-Infektion wird anderswo detailliert berichtet. Hier sei erwähnt, dass diese Infektion entweder so durchgeführt wurde, dass vakzinierter und Kontrollrinder dem Kontakt mit experimentell infizierten Rindern ausgesetzt wurden oder dass das Challenge-Virus in die Zunge der Rinder injiziert oder in diese bzw. den Nasenspiegel eingerieben wurde. Die Beobachtungsdauer betrug 2 Wochen. Sämtliche antikörperfreie Kontrollrinder erkrankten innerhalb der ersten Woche an generalisierter MKS und sind deshalb in den Tabellen nicht eingetragen.

Virus

In sämtlichen Versuchen wurde der Stamm „A₇/588/Belgio“ vom Institut in Brescia angewendet. Für Neutralisationsversuche wurde er an Kälbernierenkulturen titriert. In jedem Versuch wendete man frisches Virus der 2. Kulturpassage an. Die Berechnung der Anzahl ID₅₀ erfolgte nach *Kärber* (1931).

Serum

Von den Rindern wurde zu verschiedenen Zeiten nach der Vakzination und Revakzination sowie 14 Tage nach der Challenge-Infektion Serum gewonnen. Die Sera wurden 30 Min. bei 56°C inaktiviert und bis zur Prüfung bei -20°C aufbewahrt.

Neutralisationsversuch

Die Sera wurden in Verdünnungen von Zweierpotenzen gegen konstante Virusdosis 60 Min. bei 37°C geprüft wie vorher beschrieben (*Dinter und Wesslén, 1958*). Für jeden Versuch sollte die Virusdosis 100 ID₅₀ je 0.1 ml betragen. Sie wurde daher durch mitlaufende erneute Titrierung des Virus kontrolliert. Diese Kontrolle zeigte, dass in 13 von insgesamt 15 Gruppen von Neutralisationsversuchen die Virusdosis 100—200 ID₅₀ betragen hatte und nur in 2 Gruppen 30 bzw. 60 ID₅₀. Die Schwankungen der Serumtiter wurden durch mitlaufende Titration eines „Referenz-Serums“ kontrolliert. Die Serumtiter wurden mit der Anzahl ND₅₀ je 0.1 ml angegeben (ND₅₀ = neg. ²log der höchsten Serumverdünnung, durch die in 50 % der Kulturen der cytopathogene Effekt des Virus verhindert wurde); die Berechnung erfolgte ebenfalls nach *Kärber (1931)*. In insgesamt 31 Titrationen des Referenz-Serums betrug der mittlere Wert der Titer 4.9 ND₅₀ mit einer Standard-Deviation von ±0.59.

ERGEBNISSE

Es wurden insgesamt 36 Rinder vakziniert. Entsprechend dem Versuchsplan für die Prüfung der Vakzine mittels der Challenge-Infektion, beziehen sich die Ergebnisse der serologischen Untersuchung auf Gruppen von Rindern, die zu verschiedenen Zeiten nach der Vakzination (p. v.) oder Revakzination der Challenge ausgesetzt wurden.

Antikörperreaktion nach einmaliger Vakzination

In der einen Gruppe von 12 Rindern erfolgte die Challenge-Infektion 3 Monate p.v. (Tab. 1) und in einer anderen Gruppe mit 11 Rindern 5½ Monate p.v. (Tab. 2). Bei keinem von diesen Tieren wurden vor der Vakzination Antikörper nachgewiesen.

Eine dritte Gruppe (Tab. 3) umfasste 4 Rinder, die bereits vor der Vakzination verschiedene Titer von Antikörpern gegen das Challenge-Virus aufwiesen. Diese 4 Tiere wurden erst nach 2 Revakzinationen der Challenge-Infektion ausgesetzt (s. später).

Die Antikörperreaktion eines jeden Tieres der drei Gruppen zeigen die Tab. 1—3. Die Kurven in der Fig. 1 ergaben sich aufgrund von Mittelwerten der Titer in den Tabellen; jede Tiergruppe ist durch eine Kurve vertreten.

Tabelle 1.
Antikörperreaktion nach Vakzination und Challenge-Infektion sowie
Ergebnisse der Challenge-Infektion 3 Monate nach der Vakzination.

| Rind Nr. | Antikörpertiter | | | | | | | | | Ergebnisse der Chal- lenge- Infektion | |
|-------------|-----------------|--------------------------------------|-----|------|-----|------|-----|-----|--|--|---|
| | vor Vakz. | Wochen (W) und Monate (M) nach Vakz. | | | | | | | 14 Tage nach Chall- Infektion | L | G |
| | | 1W | 2W | 3W | 4W | 6W | 8W | 3M | | | |
| 1 | < 0.5 | 2.5 | 6.8 | 5.5 | 5.5 | 6.8 | 6.2 | 5.5 | 14.5 | + | — |
| 2 | < 0.5 | 6.5 | 7.5 | 6.8 | 6.8 | 6.2 | 6.2 | 5.5 | 11.5 | — | — |
| 3 | < 0.5 | 3.8 | 9.5 | 10.5 | 9.2 | 7.8 | 7.2 | 6.5 | 10.5 | — | — |
| 4 | < 0.5 | 1.2 | 6.5 | 6.5 | 6.2 | 5.8 | 4.8 | 4.2 | 10.8 | — | — |
| 5 | < 0.5 | 2.8 | 6.8 | 5.5 | 5.5 | 5.5 | 5.8 | 6.8 | 13.5 | — | — |
| 6 | < 0.5 | 4.5 | 7.2 | 6.8 | 6.2 | 4.8 | 5.2 | 5.2 | 13.8 | + | — |
| 7 | < 0.5 | 3.5 | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 6.8 | 6.5 | 4.5 | 13.2 | — | — |
| 8 | < 0.5 | 5.2 | 6.5 | 5.2 | 5.8 | n.t. | 4.2 | 3.5 | 9.8 | — | — |
| 9 | < 0.5 | 4.5 | 5.8 | 8.2 | 6.2 | 6.2 | 5.8 | 4.8 | 12.2 | — | — |
| 10 | < 0.5 | 1.2 | 4.2 | 5.2 | 5.2 | 5.2 | 6.8 | 5.2 | 12.2 | — | — |
| 11 | < 0.5 | 4.2 | 6.2 | 6.5 | 6.8 | 7.5 | 7.2 | 7.2 | 10.8 | — | — |
| 12 | < 0.5 | 0.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 5.2 | 4.8 | 3.5 | 12.8 | — | — |

Challenge-Infektion mittels Kontakt und Einreibung des Virus in den Nasenspiegel.
L, lokalisierte Affekte in der Mundhöhle.
G, generalisierte MKS.
n.t., nicht titriert.

Tabelle 2.
Antikörperreaktion nach Vakzination und Challenge-Infektion sowie
Ergebnisse der Challenge-Infektion 5½ Monate nach der Vakzination.

| Rind Nr. | Antikörpertiter | | | | | | | | | | Ergebnisse der Chal- lenge- Infektion | | |
|-------------|-----------------|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|---|---|
| | vor Vakz. | Wochen (W) und Monate (M) nach Vakz. | | | | | | | | 14 Tage nach Chall- Infektion | L | G | |
| | | 1W | 2W | 3W | 4W | 6W | 8W | 3M | 4M | 5½M | | | |
| 25 | < 0.5 | 3.5 | 5.8 | 6.5 | 6.2 | 5.8 | 5.2 | 3.5 | 3.2 | 4.5 | 14.8 | + | + |
| 26 | < 0.5 | 6.5 | 8.2 | 6.2 | 5.8 | 5.5 | 4.5 | 4.8 | 4.5 | 3.5 | 14.5 | + | + |
| 27 | < 0.5 | 1.2 | 7.8 | 7.5 | 7.8 | 7.5 | 6.8 | 5.5 | 4.5 | 3.5 | 14.2 | + | + |
| 28 | < 0.5 | 5.2 | 7.2 | 6.8 | 6.2 | 5.5 | 4.5 | 3.5 | 4.2 | 3.2 | 15.2 | + | + |
| 29 | < 0.5 | 4.2 | 5.5 | 5.2 | 5.5 | 4.8 | 3.8 | 3.5 | 3.5 | 2.8 | 15.8 | + | + |
| 30 | < 0.5 | 2.5 | 7.2 | 5.5 | 5.8 | 6.2 | 6.2 | 5.8 | 6.2 | 4.8 | 15.5 | + | + |
| 31 | < 0.5 | 3.8 | 7.8 | 5.8 | 5.8 | 5.8 | 4.8 | 5.5 | 6.5 | 5.8 | 14.5 | + | + |
| 32 | < 0.5 | 4.8 | 5.5 | 7.2 | 7.2 | 6.5 | 5.5 | 4.8 | 5.8 | 5.2 | 15.8 | + | + |
| 33 | < 0.5 | 4.5 | 6.5 | 7.2 | 6.5 | 7.8 | 6.8 | 7.2 | 6.8 | 8.8 | 16.5 | + | — |
| 35 | < 0.5 | 6.8 | 8.8 | 9.2 | 7.5 | 6.2 | 5.8 | 5.2 | 5.5 | 6.5 | 15.5 | + | + |
| 36 | < 0.5 | 5.8 | 5.5 | 6.8 | 7.2 | 6.8 | 6.2 | 5.2 | 4.5 | 4.8 | 15.8 | — | + |

Challenge-Infektion mittels Kontakt.
L, lokalisierte Affekte in der Mundhöhle.
G, generalisierte MKS.

Tabelle 3.
Antikörperreaktion als Booster-Effekt der einmaligen Vakzination.

| Rind Nr. | Antikörpertiter | | | | | | | | | |
|-------------|-----------------|--------------------------------------|------|------|------|------|------|-----|-----|-------------------|
| | vor Vakz. | Wochen (W) und Monate (M) nach Vakz. | | | | | | | | |
| | | 1W | 2W | 3W | 4W | 6W | 8W | 3M | 4M | 5 $\frac{1}{2}$ M |
| 13 | 3.2 | 11.2 | 12.5 | 10.8 | 10.8 | 10.8 | 9.5 | 7.2 | 6.8 | 8.2 |
| 16 | 3.2 | 12.5 | 12.8 | 10.8 | 11.2 | 9.8 | 8.8 | 6.5 | 5.8 | 6.5 |
| 17 | 5.5 | 11.5 | 11.8 | 10.8 | 10.8 | 9.8 | 9.5 | 7.5 | 6.2 | 6.5 |
| 20 | 1.8 | 13.2 | 14.2 | 12.2 | 12.2 | 11.5 | 10.5 | 7.8 | 6.5 | 7.2 |

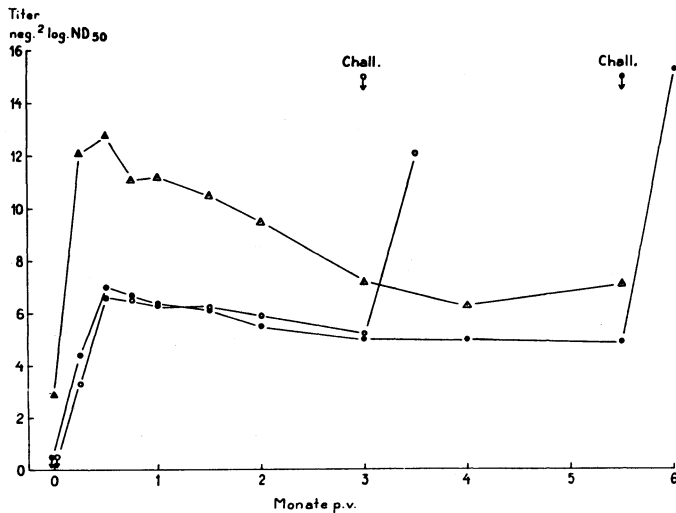


Fig. 1. Antikörperreaktion nach einmaliger Vakzination und Challenge-Infektion.

- ——— ○ s. Tab. 1.
● ——— ● s. Tab. 2.
△ ——— △ s. Tab. 3.

Die Tab. 1 und 2 zeigen, dass die Antikörperreaktion nach 1 Woche individuell verschieden war, um sich nach 2 Wochen zu verstärken und dabei gleichmässiger zu gestalten. Es gab Ausnahmen. So z.B. zeigte das Tier Nr. 3 sehr hohe und das Tier Nr. 12 sehr niedrige Titer. Bereits nach der 2. Woche setzte ein geringgradiger Titerabfall ein; er betraf zuerst nur vereinzelte, dann aber sukzessive immer mehr Tiere. Der Titerabfall ergibt sich auch aus der graphischen Darstellung (s. die beiden unteren Kurven in der Fig. 1).

Tabelle 4.
Antikörperreaktion nach Revakzination und Challenge-Infektion sowie
Ergebnisse der Challenge-Infektion.

| Gruppe | Rind Nr. | Monate nach Vakz. und Antikörpertiter | | | | | | | | | Challenge-Infektion | | | |
|--------|-------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------|------|------|------------------|---------------------|-----------------|---|---|
| | | 6 $\frac{1}{2}$ | 7 $\frac{1}{2}$ | 8 $\frac{1}{2}$ | 9 $\frac{1}{2}$ | 10 | 10 $\frac{1}{2}$ | 11 | 12 | 12 $\frac{1}{2}$ | Modus | Ergebnis L G | | |
| I | 14 | 4.8 | 10.5 | 9.5 | 8.2 | | 6.5 | 13.5 | | | | I | + | + |
| | 15 | 5.5 | 11.2 | 10.5 | 10.5 | | 9.2 | 14.5 | | | | E | — | — |
| | 18 | 4.2 | 10.2 | 9.5 | 8.5 | | 8.5 | 12.5 | | | | I | + | — |
| | 19 | 2.5 | 9.5 | 7.5 | 6.8 | | 4.8 | 12.8 | | | | E | + | — |
| II | 22 | 4.5 | 10.8 | 9.8 | 8.8 | | 8.5 | | 8.2 | 10.2 | | K | — | — |
| | 23 | 5.5 | 11.2 | 10.2 | 6.8 | | 7.5 | | 6.9 | 10.5 | | K | — | — |
| | 24 | 6.8 | 11.5 | 11.8 | 11.5 | | 11.2 | | 10.8 | 11.2 | | K | — | — |
| | 34 | 2.8 | 11.5 | 10.2 | 9.2 | | 8.8 | | 9.2 | 9.2 | | K | — | — |
| III | 13 | 7.2 | 9.2 | 8.5 | 7.5 | 10.2 | 9.5 | | | | | E | — | — |
| | 16 | 6.2 | 9.8 | 8.5 | 7.2 | 11.5 | 11.5 | | | | | I | + | — |
| | 17 | 6.8 | 11.5 | 10.5 | 10.2 | 10.2 | 9.8 | | | | | E | — | — |
| | 20 | 6.8 | 8.8 | 9.2 | 8.8 | 10.2 | 11.2 | | | | | I | + | — |

Gruppe I, Revakzination 6 $\frac{1}{2}$ Monate nach Vakz.; Challenge-Infektion 4 Monate nach Revakz.

Gruppe II, Revakzination 6 $\frac{1}{2}$ Monate nach Vakz.; Challenge-Infektion 5 $\frac{1}{2}$ Monate nach Revakz.

Gruppe III, Revakzinationen 6 $\frac{1}{2}$ und 9 $\frac{1}{2}$ Monate nach Vakz.; Challenge-Infektion 14 Tage nach 2. Revakz.

L, lokalisierte Affekte in der Mundhöhle.

G, generalisierte MKS.

I, Injektion und E, Einreibung des Virus in die Zungenschleimhaut.

K, Kontakt.

In der Gruppe von 4 Tieren (Tab. 3), die vor der Vakzination Antikörper aufwiesen, wirkte die Vakzination als Booster, da bei ihnen schon 1 Woche p.v. sehr hohe Titer vorlagen. Ein Titerabfall setzte auch hier bereits nach der 2. Woche ein (s. die oberste Kurve in der Fig. 1).

Ein Tier (Nr. 21), das in keiner Tabelle oder Figur eingetragen ist, reagierte auf die Vakzination ebenfalls mit hohen Titern, und zwar mit 8.8 nach einer und 13.5 nach zwei Wochen. Das prävakzinale und dabei unverdünnte Serum dieses Tieres verhinderte in 3 von 5 beimpften Röhrchen den cytopathogenen Effekt des Challenge-Virus. Es wurde jedoch nicht entschieden, ob diese Hemmung auf Spuren von Antikörpern oder auf Spuren eines unspezifischen Inhibitors beruht.

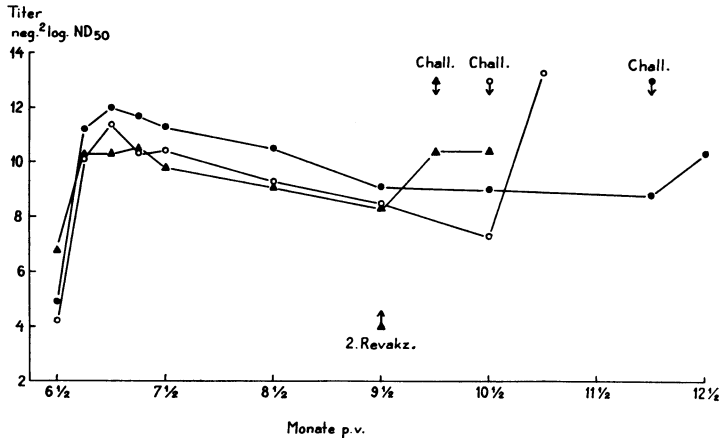


Fig. 2. Antikörperreaktion nach Revakzination und Challenge-Infektion.

○ ————— ○ s. Tab. 4/I.
 ● ————— ● s. Tab. 4/II.
 △ ————— △ s. Tab. 4/III.

Antikörperreaktion nach Revakzination

Drei Gruppen mit 4 Rindern je Gruppe wurden revakziniert. In 2 von diesen 3 Gruppen (Tab. 4/I und II) befanden sich Tiere, die auf die Vakzination ähnlich reagierten wie die Tiere, die in den Tab. 1 und 2 verzeichnet sind. Die Revakzination erfolgte 6 1/2 Monate p.v.

Eine weitere Gruppe (Tab. 4/III) bestand aus Tieren, die vor der Vakzination Antikörper aufwiesen und deren Antikörperreaktion nach einmaliger Vakzination in der Tab. 3 und Fig. 1 (oberste Kurve) eingetragen ist. Diese Tiere wurden zweimal revakziniert: 6 1/2 und 9 1/2 Monate p.v.

Die Revakzination rief typische Booster-Effekte hervor. Bei der graphischen Darstellung der Antikörperreaktion nach Revakzination (Fig. 2) bestehen zwischen den Gruppen Unterschiede im Titer vor. Dies beruht wahrscheinlich darauf, dass die Mittelwerte nur aufgrund von 4 Tieren berechnet werden konnten. Die 3 Kurven zeigen aber ähnliche Tendenz. Von der 2. oder 3. Woche nach der Revakzination setzte ein Titerabfall ein. Die niedrigsten Titer lagen jedoch hier mindestens 2 log-Einheiten höher als die niedrigsten Titer nach einmaliger Vakzination.

Antikörperreaktion und Immunität

Die Challenge-Infektion wurde zu verschiedenen Zeiten nach der Vakzination oder Revakzination vorgenommen.

Die eine Gruppe mit 12 Tieren (Tab. 1) wurde 3 Monate p.v. der Challenge ausgesetzt, in dem man sie mit 2 Virusspendern in Kontakt brachte; 3 nicht-vakzinierte Kontrolltiere wurden hinzugesetzt. Da bis zum 4. Beobachtungstag nur 1 Kontrolle erkrankte, wurde an diesem Tag den vakzinierten Tieren und den anderen 2 Kontrollen das Virus in den Nasenspiegel eingerieben. Daraufhin erkrankten die Kontrollen prompt an generalisierter MKS, während von den vakzinierten Tieren keins generalisiert erkrankte. Nur 2 Tiere zeigten aphthöse Veränderungen auf der Zunge und 1 von diesen 2 Tieren auch auf dem Nasenspiegel.

In der Gruppe von 11 Tieren (Tab. 2) erfolgte die Challenge-Infektion $5\frac{1}{2}$ Monate p.v., und zwar allein mittels Kontakt. Von den 11 vakzinierten Tieren erkrankten 10 generalisiert, während 1 Tier (Nr. 33) nur eine kleine Aphthe auf dem Zahnfleisch aufwies.

Wenn man nun die beiden Tiergruppen in bezug auf Antikörpertiter und Immunität vergleicht, stellt man fest, dass am Tage der Challenge in jeder Gruppe 7 Tiere ungefähr gleiche Titer besaßen, dass aber die eine Gruppe weitgehend immun, die andere — mit Ausnahme des Tieres Nr. 33 — nicht immun war. Das Tier Nr. 33 reagierte auf die Infektion mit aphthösen Veränderungen am Zahnfleisch, wies aber keine Zeichen einer Generalisierung auf. Die Immunität beruhte hier wahrscheinlich auf dem hohen Titer, den das Tier am Tage der Challenge hatte. Vorher waren die Titer niedriger. Den Grund für derartige Titer-schwankungen können wir nicht angeben.

Die Antikörpertiter nach der Challenge-Infektion waren bei der immunen Gruppe niedriger als bei der nicht-immunen. Dies beruht wahrscheinlich darauf, dass die Tiere der nicht-immunen Gruppe eine manifeste Infektion durchgemacht hatten.

In der ersten Gruppe von 4 Tieren, die einmal revakziniert wurden (Tab. 4/I), wurde 4 Monate nach der Revakzination das Challenge-Virus bei 2 Tieren in die Zunge eingerieben und bei 2 in diese injiziert. Von den ersterwähnten 2 Tieren zeigte eins keine Veränderungen und das andere geringgradige aphthöse Veränderungen am Zahnfleisch. Von den letzterwähnten 2 Tieren erkrankte eins generalisiert und das andere zeigte starke aphthöse Veränderungen in der Zungenschleimhaut.

Die Antikörperreaktion war bei diesen Tieren kräftig (Fig. 2), entsprach aber ungefähr dem Titeranstieg nach der Challenge-Infektion der immunen Gruppe in der Fig. 1.

In der zweiten Gruppe von 4 Tieren (Tab. 4/II) erfolgte die Challenge 5½ Monate nach der Revakzination durch Kontakt; kein Tier erkrankte. Die Antikörperreaktion war bei diesen Tieren wesentlich schwächer als bei Tieren der vorher erwähnten Gruppen.

In der letzten Gruppe von 4 Tieren (Tab. 4/III), die zweimal revakziniert wurden, wurde 14 Tage nach der 2. Revakzination das Challenge-Virus bei 2 Tieren in die Zunge eingerieben und bei 2 in diese injiziert. Die ersterwähnten 2 Tiere zeigten keine Veränderungen, während bei letzterwähnten 2 Tieren begrenzte aphthöse Veränderungen in der Zungenschleimhaut auftraten. Eine Antikörperreaktion auf die Challenge-Infektion blieb bei 3 von den 4 Tieren völlig aus.

BESPRECHUNG

Die Antikörperreaktion (AR) der Rinder auf die Vakzine der vorliegenden Versuche wurde gemessen an Titern von neutralisierenden Antikörpern, die die Tiere zu verschiedenen Zeiten nach der Vakzination aufwiesen. Die Vakzine war vom Waldmann-Typ, bestand aber aus Virus, das man in Kälbernierenkulturen gezüchtet hatte. Insgesamt wurden 36 Rinder vakziniert.

In früheren Versuchen prüften *Dinter* und *Wesslén* (1958) die AR von Rindern auf Vakzinen, die ebenfalls mit dem Virus aus Nierenkulturen hergestellt waren. Die AR war verschieden je nach dem Virus-Stamm, der als Vakzine verabreicht wurde. Der Neutralisationsversuch, mit dem die AR gemessen wurde, zeigte aber klar, dass verschiedene Stämme von gleichem Typ eine unterschiedliche antigene Breite hatten und dass es daher wichtig ist, in der Vakzine einen antigen breiten Stamm zu haben. Weiter ist man damals nicht gekommen. Die vorliegende Untersuchung sollte daher zeigen, ob zwischen der AR und Immunität Beziehungen bestehen.

Eine Antwort darauf lieferten die Ergebnisse der Challenge-Infektion, der die Tiere 3 und 5½ Monate nach einmaliger Vakzination ausgesetzt wurden. In diesen beiden Gruppen war die AR ungefähr gleich stark (s. die beiden unteren Kurven in der Fig. 1). Drei und 5½ Monate p.v. zeigten in jeder Gruppe 7 Tiere ungefähr gleiche Titer von neutralisierenden Antikörpern, die allerdings

bereits niedrig waren. Als immun erwiesen sich nur die Tiere der Gruppe, die 3 Monate p.v. der Challenge ausgesetzt wurde. Dies besagt, dass in der Zeit zwischen 3 und 5½ Monaten p.v. der Einfluss eines uns unbekanntem Faktors nachliess, von dem die Immunität in erster Hand abhängig zu sein scheint.

Die AR auf die vorliegende Vakzine zeigte den Höhepunkt bereits 2 Wochen p.v. Die überwiegende Mehrzahl der Tiere wies zu diesem Zeitpunkt die höchsten Titer auf. Bei einigen Tieren (z. B. Nr. 10 und 12 in der Tab. 1) lagen jedoch die Titer beinahe durchweg niedrig. Aber auch diese Tiere erwiesen sich bei der Challenge 3 Monate p.v. immun. Nach 5½ Monaten erwies sich nur 1 Tier (Nr. 33 in der Tab. 2) immun. Dieses Tier hatte aber am Tage der Challenge einen höheren Antikörpertiter als die übrigen Tiere.

Mehrere Autoren, so z. B. *Mackowiak et al.* (1959), *Hecke et al.* (1960) und *Martin und Chapman* (1961) gaben Titer von neutralisierenden Antikörpern an, bei denen man nach einmaliger Vakzination Immunität erwarten kann. Die vorliegenden Versuche gaben keine Gelegenheit, einen solchen Titer festzustellen.

Unter den 36 vakzinierten Rindern befanden sich 5 Tiere, die 1 Woche p.v. sehr hohe Titer aufwiesen. Bei 4 Tieren konnte man diese auf einen Booster-Effekt der Vakzine zurückführen, da man bei ihnen bereits vor der Vakzination Antikörper gegen das Challenge-Virus fand. Bei einem weiteren Tier, das ähnlich reagierte, wurde nicht entschieden, ob das prävakzinale Serum Spuren von Antikörpern oder Spuren eines unspezifischen Inhibitors enthielt. Es ist möglich, dass dieses Tier eine frühere Erfahrung mit dem Virus von gleichem Typ durchgemacht hatte, jedoch aufhörte, messbare Antikörpermengen zu produzieren. Die starke AR könnte aber ebenso auf einem Rest von aktivem Virus beruhen haben, das gerade dieses Tier mit der Vakzine erhielt.

Revakzinationen zeigten Booster-Effekte von bekannter Art. Nach ein- und besonders zweimaliger Revakzination hätte man eine hochgradige Immunität erwartet. Es zeigte sich aber, dass der Nachweis der Immunität vom Modus der Challenge-Infektion abhängig war. Bei der Challenge mittels Kontakt 5½ Monate nach der Revakzination blieb eine klinisch manifeste Infektion aus. Dagegen führten Einreibungen und besonders Injektionen des Virus in die Zunge 4 Monate nach Revakzination zu lokalisierten aphthösen Veränderungen und bei einem Tier sogar zur gene-

ralisierten MKS. Diese Ergebnisse weisen wieder einmal darauf hin, dass Revakzinationen notwendig sind, wenn man mit Vakzinen aus inaktiviertem Virus eine länger dauernde Immunität erzielen will.

Die Reaktion auf die Challenge-Infektion, gleichgültig wie diese auch durchgeführt wurde, äusserte sich auch bei revakzierten Tieren durch einen Anstieg von Antikörpertitern, der nur bei denjenigen Tieren ausblieb, die bereits vor der Infektion sehr hohe Titer aufwiesen. Bei diesen Tieren führte die Injektion des Virus in die Zunge zu lokalisierten aphthösen Veränderungen. Eine Infektion war also zustande gekommen, ihr stimulierende Effekt auf die Antikörperbildung war jedoch nicht mehr messbar.

Die besprochenen Ergebnisse zeigen, dass man die AR vakzinierter Rinder nicht als eine sichere Basis für die Bewertung von MKS-Vakzinen anwenden kann, da wie bereits *Hecke et al.* (1960) feststellten, niedrige Titer von neutralisierenden Antikörpern das Vorliegen einer guten Immunität nicht ausschliessen. Man kann auch sonst *Heckes* Stellungnahme zu gleicher Frage wörtlich zitieren; wir schliessen uns ihr an.

LITERATUR

- Armbruster, O., Beck, W., Garbe, H. G., Pilz, W. u. O. E. Schweckendiek*: Mh. Tierhk. 1959, 11, 254.
Dinter, Z. u. T. Wesslén: Zbl. Bakt. I.O. 1958, 171, 157.
Hecke, F., Uhlmann, W. u. R. Lorenz: Mh. Tierhk. 1960, 12, 1.
Kärber, G. (1931). Zit. nach *Rhodes and van Rooyen*: Textbook of Virology, 3rd Edition, The Williams & Wilkens Co., Balt., S. 65, 1958.
Mackowiak, C., Lang, R., Fontaine, J., Camand R. u. H. G. Petermann: 5e Congr. Standard. Biolog., Jerusalem, 1959. Sonderdruck.
Martin, W. B. u. W. G. Chapman: Res. Vet. Sci. 1961, 2, 53.
Sergeev, V. A.: Vopr. Virusol. (Moskau). 1960, 4, 479.
Ubertini, B., Nardelli, L., Santero, G. u. G. Panina: J. Biochem. Microbiol. Technol. Engin. 1960, 2, 327.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Vakzine vom Waldmann-Typ wurde vom Institut in Brescia mit dem Virus aus Kälbernierenkulturen hergestellt und vom Institut auf Lindholm an Rindern geprüft. Zu verschiedenen Zeiten nach der Vakzination wurde die Antikörperreaktion dieser Tiere an Titern von neutralisierenden Antikörpern gemessen und mit dem Stand der Immunität gegen eine Challenge-Infektion verglichen.

Die Immunität war 3 Monate p.v. noch vorhanden und 5½ Monate p.v. bereits erloschen. Dabei zeigte die Mehrzahl der Tiere der nicht-immunen Gruppe ungefähr gleiche Antikörpertiter wie die Mehrzahl der Tiere der immunen Gruppe.

Tiere mit hohen Antikörpertitern haben sich aber immer als immun erwiesen. Eine Immunität ist somit nur dann mit Sicherheit zu erwarten, wenn hohe Antikörpertiter vorliegen. Dagegen geben niedrige Titer keine Auskunft darüber, ob ein Tier bei der Challenge-Infektion erkranken oder nicht erkranken wird.

SUMMARY

Antibody response and immunity in cattle vaccinated against foot-and-mouth disease.

The vaccination experiments reported here demonstrated once again the well-known fact that the immunity induced by a single dose of a Waldmann-type vaccine is of short duration.

The virus in the vaccine was a Belgian A strain harvested from bovine-kidney tissue cultures. One dose of the vaccine contained $10^{8.9}$ TCD₅₀ virus inactivated by formalin. The immediate antibody response after administration of this dose was strong and reached the highest level 2 to 3 weeks after vaccination.

Animals vaccinated once were divided into 2 groups and exposed to a challenge infection 3 and 5½ months, respectively, after vaccination. At the time of challenge the majority of the animals in the two groups showed approximately the same titers of neutralizing antibodies but only the "3-months-group" proved to be resistant to challenge.

A resistance to challenge was always present when the antibody level was high, reaching serum dilutions of 1:256 against 100 TCD₅₀ virus as in the case of revaccinated animals. At lower titers, however, it was impossible to decide whether an animal would resist challenge or not when exposed to an infection under similar conditions.

SAMMANFATTNING

Antikroppsreaktion och immunitet hos kor efter vaccination mot mul- och klövsjuka.

Ett vaccin har framställts av institutet i Brescia ad modum Waldmann men med ett virus skördat från kalvnjurekulturer. Vaccinets effektivitet prövades av institutet på Lindholm på kor. Titrar av neutraliserande antikroppar i kornas serum bestämdes vid olika tidsintervaller efter vaccinationen och jämfördes sedan med resultaten af en „challenge-infektion“.

Efter en engångsvaccination indelades djuren i 2 grupper av vilka den ena har utsatts för „challenge“ 3 och den andre 5½ månader efter vaccinationen. Majoriteten av djuren i den ena gruppen visade ungefär samma antikroppstitrar som majoriteten av djuren i den andra men endast „3-månadsgruppen“ visade sig vara immun.

Vid låga antikroppstitrar kunde man ej avgöra om djuren är immuna eller icke-immuna. Korna som hade höga antikroppstitrar visade sig däremot alltid vara immuna.

(Received October 7. 1961).