

Etablierung eines Serum-Überlebens-Assays mit *Rodentibacter (R.) pneumotropicus* & *R. heyltii* und Nachweis einer (Kreuz-) Immunität im Serum rekonvaleszenter Mäuse

Lisa Xylander, Jonas Brems, Sophie Kähl, Prof. Dr. Christoph Baums

Einleitung:

Rodentibacter (R.) pneumotropicus und *R. heyltii* (ehemals *Pasteurella pneumotropica* [1]) sind Bakterien aus der Familie der *Pasteurellaceae* und wichtige Erreger bei (Labor-)Mäusen. Die Symptome sind vornehmlich Atemwegserkrankungen, jedoch sind auch subklinische Verläufe möglich, welche unbemerkt Laborergebnisse in Tierversuchen verfälschen können. Erkrankungen treten besonders bei immunsupprimierten und -defizienten Mäusen auf [2]. In einem früheren Versuch konnte nach der Infektion eine Serokonversion mittels ELISA nachgewiesen werden.

Zielsetzung :

Ziel der Arbeit ist die Etablierung des Modells für *R. pneumotropicus* und *R. heyltii* im Serum des erregertypischen Wirtes Maus anhand von C57BL/6- und BALB/c-Wildtypmäusen. Des Weiteren soll eine Immunitäts- beziehungsweise Kreuzimmunitätsausbildung nach vorheriger Infektion mit den genannten Erregern nachgewiesen werden.



Etablierung im Serum

Die Seren der sieben Wochen alten, weiblichen Mäuse wurden je Stamm (C57BL/6 (n=41) und BALB/c (n=28)) gepoolt.

In BHI (*R. pneumotropicus*: 200ml, *R. heyltii*: 180ml + 20ml Pferdeserum) angezüchtet und auf zwei Inokulationsdosen je Bakterienstamm verdünnt.

R. pneumotropicus:
2,18x10⁷ KBE/ml; 1,16x10⁷ KBE/ml
R. heyltii :
1,30x10⁷ KBE/ml; 3,70x10⁶ KBE/ml

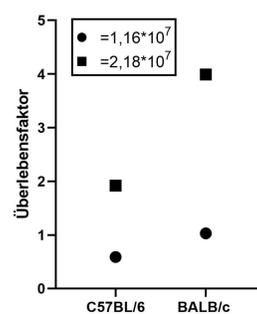


Inkubation bei 37°C, 60 rpm.

In einer Verdünnungsreihe ausplattiert und Bestimmung der koloniebildenden Einheiten [KBE]

Ergebnis der Etablierung

Rodentibacter pneumotropicus



Rodentibacter heyltii

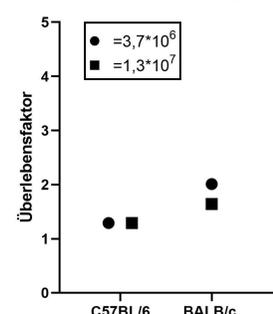


Abb. 1: *R. pneumotropicus* wächst im Serum nur bei der höheren Inokulationsdosis 2,18x10⁷ KBE/ml. Für die Inokulation mit *R. pneumotropicus* ließ sich im Mäuseserum bei einer Infektionsdosis von 2,18x10⁷ eine Proliferation nachweisen. Bei einer Infektionsdosis von 1,16x10⁷ überleben (BALB/c) die Bakterien, beziehungsweise werden abgetötet (C57BL/6). Bakterien des *R. heyltii*-Stammes überlebten im Serum von C57BL/6 und BALB/c Mäusen. In den Seren des Mäusestamms BALB/C zeigt sich allgemein ein besseres Überleben der Bakterien als in denen des C57BL/6 Stamms.

Überlebensassay mit Rekonvaleszenzseren

	C57BL/6 (<i>R. pneumotropicus</i> infiziert <i>R. heyltii</i> infiziert)		BALB/C (<i>R. pneumotropicus</i> infiziert <i>R. heyltii</i> infiziert)	
	Infektions-	Kontroll-	Infektions-	Kontrolltier
<i>R. pneumotropicus</i> 1,7x10 ⁷ KBE/ml	n=14 (4 10)	n=11 (4 7)	n=17 (9 8)	n=8 (4 4)
<i>R. heyltii</i> 8,55x10 ⁶ KBE/ml	n=14 (4 10)	n=12 (4 8)	n=15 (7 8)	n=7 (3 4)

50µl Einzelserum

In BHI angezüchtet und auf Inokulationsdosis verdünnt (siehe Tabelle)

10µl



Inkubation bei 37°C, 60 rpm.

In einer Verdünnungsreihe ausplattiert und Bestimmung der koloniebildenden Einheiten [KBE]

Ergebnis

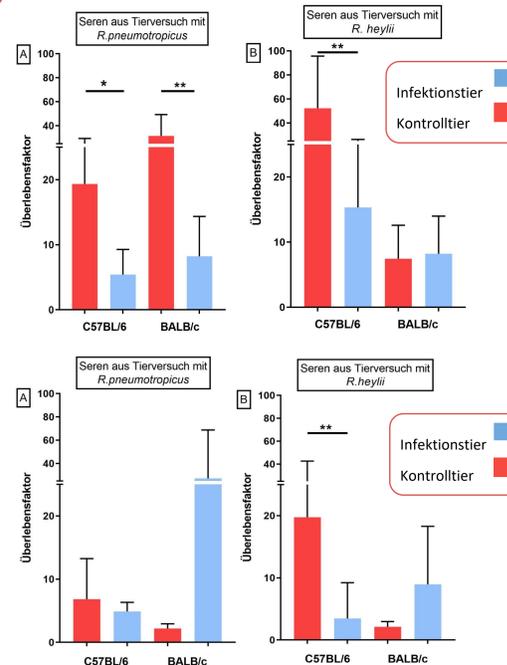


Abb. 3: Ausbildung eines homologen und teilweise heterologen Schutzes gegen *R. pneumotropicus* nach vorangegangener experimenteller Infektion mit *Rodentibacter sp.*

A: *R. pneumotropicus* wächst in Rekonvaleszenzserum signifikant schlechter als im Serum der Kontrolltiere (p[C57BL/6]=0,0143; p[BALB/c]=0,0056).

B: Eine Kreuzimmunität in den Rekonvaleszenzseren eines *Rodentibacter heyltii*-Infektionsversuches konnte nur bei den C57BL/6 Mäusen nachgewiesen werden (p [C57BL/6]=0,0055).

Abb. 4: Ausbildung eines homologen Schutzes gegen *R. heyltii* bei C57BL/6 Mäusen nach vorangegangener experimenteller Infektion mit *R. heyltii*

A: Eine Kreuzimmunität in Rekonvaleszenzseren von mit *R. pneumotropicus* infizierten Tieren wurde nicht nachgewiesen.
B: Nur bei den Rekonvaleszenzseren der C57BL/6 Mäuse konnte eine signifikante Verringerung des Wachstums (p [C57BL/6]=0,0015) durch Ausbildung einer Immunität festgestellt werden.

Zusammenfassung

- Ein Serum-Überlebens-Assay konnte in den Mäusestämmen C57BL/6 sowie BALB/c erfolgreich etabliert werden.
- Die experimentelle Infektion von C57BL/6 Mäusen mit *R. heyltii* führt im Serum-Überlebens-Assay zur Ausbildung einer homologen und heterologen Schutzwirkung gegen *R. heyltii* bzw. *R. pneumotropicus*. Für BALB/c Mäuse konnte diese Schutzwirkung nicht nachgewiesen werden.
- *R. pneumotropicus* ruft in beiden Mauslinien ausschließlich eine homologe Schutzwirkung hervor.

Diskussion

- Eine prophylaktische Immunisierung mit nur einem *Rodentibacter*-Isolat löst *in vivo* vermutlich keine übergreifende Immunität aus
- Es sind weitere Untersuchungen in einem Serum-Überlebens-Assay notwendig um die Protektivität von Ganz-Zell-Vakzinen [3] oder einzelner Antigene [4] zu evaluieren
- Die Konzentration an spezifischen Antikörpern, und damit die protektive Wirkung, ist abhängig von Infektionsdosis und Mauslinie. Somit ist ein Schutz durch eine natürliche Infektion fragwürdig.