



## **Empfehlung der ZKBS zum Umgang mit etablierten Zelllinien, die mit dem *Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)* kontaminiert sind**

### **Allgemeines**

In den vergangenen Jahren gab es immer wieder Berichte über in der Tierproduktion eingesetzte Impfstoffe, die mit infektiösen Viren kontaminiert waren. Als Quelle einer möglichen Kontamination mit dem *Bovine viral diarrhoea virus* (BVDV) wurde Fötales Kälberserum (FKS) ausgemacht [1,2,3]. FKS wird aus dem Blut von Kuhföten gewonnen und ist ein Hauptbestandteil vieler Nährmedien, die zur Aufzucht und Kultivierung von Zellen in der Zellkultur benötigt werden.

Das BVD-Virus ist als Genus *Pestivirus* innerhalb der Familie der *Flaviviridae* klassifiziert [4] und gemäß § 5 Abs. 6 GenTSV als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet worden [5]. Es handelt sich um ein umhülltes Virus mit einzelsträngigem RNA-Genom in Plusstrangorientierung. Es ist weit verbreitet und infiziert hauptsächlich Rinder; Infektionen mit dem Virus sind aber auch für andere Vertreter innerhalb der Ordnung *Artiodactyla* (Paarhufer) beschrieben [6,7]. Es führt bei Rindern zu schweren respiratorischen und gastrointestinalen Erkrankungen, sowie zu reproduktiven Problemen. Letztere werden dadurch verursacht, dass das Virus in trächtigen Tieren auf den Fötus übertragen werden kann. Dies führt zu Aborten oder zur Geburt meist kränklicher und persistent infizierter Kälber (PI-Tiere), die ihr Leben lang Dauerausscheider von BVDV sind. PI-Tiere stellen eine permanente Infektionsquelle für andere Tiere der Herde dar. Ein weiteres Problem ist die Kontamination von bovinen Produkten, z. B. FKS. Eine Infektion von humanen und nicht-humanen Primaten ist nicht beschrieben. Die Übertragung der Viren zwischen den Wirten erfolgt oronasal durch Kontakt mit virusausscheidenden Tieren oder intrauterin vom Muttertier auf den Fötus. In epithelialer Zellkultur verhalten sich einzelne Biotypen des Virus zytopathogen, andere nicht-zytopathogen. Eine Infektion mit nicht-zytopathogen replizierenden Viren ist nur mit Hilfe spezifischer Nachweismethoden zu erkennen [8].

Aufgrund der Hinweise auf Zellkulturkontaminationen mit BVDV durch FKS als Bestandteil von Nährmedien, wurden ausgewählte Zelllinien der *American Type Culture Collection* (ATCC) auf eine mögliche Kontamination mit dem Virus getestet. Die durchgeführten Nachweismethoden lassen auf infektiöse BVD-Viruspartikel nicht nur in den getesteten bovinen Zelllinien, sondern auch in einer Rehzelllinie (Muntjac), einer von zwei getesteten Schafzelllinien (SCP), einer Ziegenzelllinie (Ch1Es), einer Bisonzelllinie (BU), einer von fünf getesteten Katzenzelllinien (Fc2Lu) und einer von sieben getesteten Kaninchenzelllinien (RK-13) schließen. Auffällig bei diesen Untersuchungen ist die *in vitro*-Suszeptibilität verschiedener Zelllinien für das BVDV, welche sich von der *in vivo*-Suszeptibilität einzelner Spezies unterscheidet [9].

Die Kontamination der beschriebenen Zelllinien mit dem BVDV ist auf eine Verunreinigung des Kälberserums als Zusatz von Zellkulturmedien zurückzuführen. Nach Erkennen der Infektionsquelle FKS wurden diverse Qualitätsmerkmale an dessen Produktion, insbesondere der BVDV-Freiheit beim Einsatz in der Impfstoffproduktion, geknüpft [10]. FKS wird in der Zwischenzeit in der Regel auf BVDV-Kontamination getestet. Jedoch besteht die

Möglichkeit, dass in der Vergangenheit aufgetretene Kontaminationen in der Zellkultur noch vorhanden sind.

## Empfehlung

Es wird darauf hingewiesen, daß BVDV nicht für humane Primaten infektiös und eine Übertragung auf susceptible Wirte *in vivo* nur durch direkten Kontakt der Tiere mit BVDV-haltigen Lösungen bzw. intrauterin gegeben ist. Dies erklärt die Tatsache, dass bei bisherigen Arbeiten mit den genannten Zelllinien als Empfängerorganismen, unter Einhaltung der Maßnahmen der **Sicherheitsstufe 1** gemäß Anhang III GenTSV, keine Übertragung des BVDV auf susceptible Tiere stattgefunden hat.

Da nur einzelne Zellen der o. g. jeweiligen Zellkultur infiziert worden sind, ist davon auszugehen, dass durch die Passagierung der Zellen auch Sublinien existieren, die keine Kontamination mit dem BVDV aufweisen. Die genannten Zelllinien werden in Deutschland als Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten langjährig unter Maßnahmen der **Sicherheitsstufe 1** verwendet. Dennoch wird empfohlen, einen Test auf Anwesenheit infektiöser BVDV in den o. g. Zelllinien durchzuführen und bei positivem BVDV-Nachweis die Zelllinie entweder zu autoklavieren oder bei Arbeiten mit susceptible Wirtstieren unter Sicherheitsmaßnahmen der Stufe 2 weiter zu verwenden.

## Literatur

- [1] Brusckhe, CJ, Paal HA, Weerdmeester K (2001) Detection of bovine virus diarrhoea virus in live bovine herpes virus 1 marker vaccine. *Tijdschr Diergeneeskde* **126**(6):189-90.
- [2] Wessman SJ, Levings RL (1999) Benefits and risks due to animal serum used in cell culture production. *Dev Biol Stand* **99**:3-8.
- [3] Levings RL, Wessman SJ (1991) Bovine viral diarrhoea virus contamination of nutrient serum, cell cultures and viral vaccines. *Dev Biol Stand* **75**:177-81.
- [4] King AMQ, Adams MJ, Carstens EB and Lefkowitz EJ (2011) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier ISBN: 9780123846846.
- [5] Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten, Bekanntmachung vom 15. Juni 2010 gemäß § 5 Absatz 1 Satz 1 und Anhang I Nummer 1 GenTSV
- [6] Evermann JF (2006) Pestiviral infection of llamas and alpacas. *Small Ruminants Res* **61**:201-206.
- [7] Passler T, Walz PH (2009) Bovine viral diarrhoea virus infections in heterologous species. *Animal Health Res Rev* **11**(2):191-205.
- [8] World Organisation for Animal Health (OIE) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2010; Chapter 2.4.8. Bovine viral diarrhoea.
- [9] Bolin SR, Ridpath JF, Black J, Macy M, Roblin R (1994) Survey of cell lines in the American Type Culture Collection for bovine viral diarrhoea virus. *J Virol Meth* **48**:211-221.
- [10] European Medicines Agency (EMA) (2005) Guideline on requirement and controls applied to bovine serum used in the production of immunological veterinary medicinal products. Doc. Ref. EMA/CVMP/743/00-Rev.2