

Ersatz des Neurovirulenztests (NVT) an Primaten zur Sicherheitsprüfung von Polioimpfviruschargen: *In vivo* Methode „NVT an transgenen Mäusen“

Andreas Schmeel und Mathias R. Fibi
Chiron Behring GmbH & Co, D-Marburg

Zusammenfassung

Der von Albert B. Sabin etablierte Neurovirulenztest von oraler Poliomyelitis-Vakzine (OPV) ist ein in verschiedensten Monographien (WHO Technical Report Series, Europ. Pharmakopöe, DAB) vorgeschriebener Test und dient der Beurteilung einer ausreichenden und konsistenten Attenuierung der Polio-Lebendvakzine. Da dieser Tierversuch den Einsatz einer relativ großen Anzahl an Primaten vorschreibt (mindestens 22 Tiere pro Charge bei den Serotypen 1 und 2 und mindestens 36 Tiere bei Serotyp 3), wird seit Jahren intensiv nach Ersatzmethoden gesucht. Das Modell der transgenen Maus stellt neben molekularbiologischen Methoden (MAPREC) eine vielversprechende Alternative zum Primatenmodell dar:

Die Isolierung und Einführung des humanen Poliomyelitisvirus-Rezeptorgens in Mäuse machte erstmals kleine Labortiere für die Infektion mit Poliomyelitis empfänglich. Diese Tiere entwickeln nach Infektion die gleiche klinische Symptomatik sowie die entsprechenden Läsionen im Zentralnervensystem (ZNS) wie sie bei Affen beobachtet werden. In einer ersten, 1993 angelegten WHO-Ringstudie konnte gezeigt werden, daß der Maus-NVT für OPV Typ 3 mindestens ebenso sensitiv wie der Affen-NVT ist. Weiterhin wurde festgestellt, daß zwischen der Stärke der klinischen Ausfallerscheinungen und der Schwere der spezifischen histopathologischen Läsionen im ZNS eine sehr strenge Korrelation besteht. D.h. die Beurteilung der klinischen Symptomatik ist für die Auswertung des Experiments ausreichend, die aufwendige histopathologische Untersuchung des ZNS kann entfallen, da sie keine zusätzliche Information erbringt. Ähnliche Ergebnisse wurden für OPV Typ 2 gezeigt; ausreichende Daten für OPV Typ 1 liegen noch nicht vor.

Eine von der WHO 1997 initiierte erweiterte Validierungsstudie, an der 5 Laboratorien aus 3 Kontinenten teilnehmen, hat zum Ziel, eine ausreichende Anzahl OPV Typ 3 Chargen verschiedener Produktionslinien (Produktion in primären Zellen oder in Zelllinien) zu testen und Aussagen über die Konsistenz und Validität des Maus-NVT zu machen.

Die bisher erzielten Ergebnisse zu OPV Typ 3 ermutigen zu der Hoffnung, daß der Neurovirulenztest an transgenen Mäusen, zukünftig zunächst für diesen Serotyp, als Alternativmethode zum Affen NVT in die Monographien aufgenommen werden kann.

Summary: Alternative for the neurovirulence test (NVT) in primates for safety-testing of poliomyelitis attenuated live virus vaccine (Sabin): NVT in transgenic mice
The neurovirulence test established by Albert B. Sabin is required according to different pharmaceutical monographies (WHO

Technical Report Series, US-Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia, etc) and is used for evaluation of sufficient and consistent attenuation of live monovalent poliomyelitis virus bulk lots (Sabin) which are used for the manufacture of oral poliomyelitis vaccines (OPV). Since this animal experiment is based on the use of relatively high numbers of primates (at least 22 animals per test vaccine for the virus serotypes 1 and 2 and at least 36 animals for serotype 3) it is searched for alternatives since several years. Besides a molecular approach (MAPREC) a test based on the use of transgenic mice seems to be a promising alternative for the primate model.

The isolation and introduction of the human poliomyelitis virus receptor gene into the mouse genome made small laboratory animals susceptible for poliomyelitis for the first time. After infection with attenuated virus, the transgenic animals develop the same clinical symptomatic and the respective lesions in the central nerve system (CNS) as observed in monkeys. In a WHO collaborative study it could be demonstrated that the transgenic mouse neurovirulence test for OPV serotype 3 is at least as sensitive as the monkey neurovirulence test. Furthermore, it was shown that there is a strong correlation between the strength of the clinical defects and the spread of the specific histopathological lesions in the CNS. Therefore, the observation and description of the clinical symptoms seems to be sufficient for the evaluation of the experiment. Thus the time-consuming histopathological investigation can be avoided, since it does not provide additional information to the results of the clinical investigations. In a first evaluation, similar results were shown for serotype 2, however there are not yet sufficient data on serotype 1.

In 1997 an extended validation study under the participation of 5 laboratories from 3 continents has been initiated by the WHO with the objective to test a sufficient number of OPV serotype 3 charges from different manufacturers and to gain further informations on the consistency and validity of the mouse neurovirulence test. Results obtained from recent experiments suggest that the neurovirulence test of serotype 3 in transgenic mice may be included into the monographies as an alternative method for the monkey NVT.

Keywords: monkey neurovirulence test, alternative mouse neurovirulence test

Korrespondenzadresse

Dr. Andreas Schmeel
Chiron-Behring GmbH & Co
D-35041 Marburg