



Impfungen von Tieren

Gegenwärtige Entwicklungen und Konzepte

Egbert Mundt, DVM, PhD, Dipl ECPVS

Impfstoffe

Ein Impfstoff ist eine biologische Präparation das die Immunität zu einer bestimmte Krankheit verbessert. Ein Impfstoff enthält gewöhnlicherweise ein Agent das den Krankheitserreger widerspiegelt. Er enthält abgeschwächte oder inaktivierte Formen des Mikroorganismus, seiner Toxine oder Oberflächenproteine. Der Impfstoff stimuliert das Immunsystem des Impflings so dass er den Microorganisms als Fremd erkennt, ihn zerstört und sich “erinnert”. Damit kann das Immunsystem des Impflings diesen Mikroorganisms an einem späteren Zeitpunkt einfacher erkennen und zerstören.*

* Definition OIE

Das Konzept der Impfung ist mehr als 1000 Jahre bekannt

Früheste Beschreibung einer Impfung im 10. Jahrhundert: In China und Indien, Menschen wurden mit Pockenviren inokuliert. Dazu wurden wahrscheinlich pulverisierte Pockenpusteln in die Nase verimpft.



FIGURES SHOWING VACCINATION PUSTULES

From a Chinese work on Vaccination.

Die erste dokumentierte Vakzine wurde durch Edward Jenner entwickelt. Diese basierte auf der Beobachtung das Melkerinnen, die Pusteln und leichte Symptome von Kuhpockeninfektionen entwickelt hatten, im gewissen Umfang vor schweren Pockenerkrankungen geschützt waren.



Edward Jenner's Era (1749-1823): Edward Jenner, "Der Vater der Impfung"

Der erste rational entwickelte Impfstoff wurde durch Luis Pasteur entwickelt

Louis Pasteur (1822-1895):

- 1879: Entwickelte den ersten attenuierten Hühnerimpfstoff gegen Geflügelschnupfen durch serielle Passage von virulenten *Pasteurella multocida*.
- 1885: Louis Pasteur und Emile Roux entwickelten den ersten Tollwutimpfstoff durch serielle Passage in Kaninchen.



Gelbfiebertivirus

1648

(Quarantäne in Boston)



1927



1937

Schritte der Impfstoffentwicklung

Identifikation der Erkrankung



Isolation des Pathogen



Charakterisierung des Pathogens und der Krankheit



Entwicklung des Impfstoffes



Einreichung des Dossiers



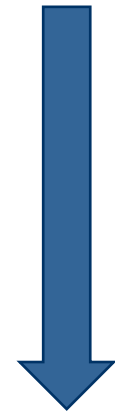
Zulassung

SARS-CoV-2

2019



2019



2020

Kategorien von Tierimpfstoffen

- 1) **Attenuierte Lebendimpfstoffe**
- 2) **Inaktivierte Totimpfstoffe**
- 3) **Toxoid Impfstoffe**
- 4) **Vektorimpfstoffe**
- 5) **Untereinheit-Impfstoffe (Subunit)**
- 6) **DNA-Impfstoffe**

Impfstoffentwicklung basierend auf Plattformen

- **Expressionsysteme (Viren, Bakterien, eukaryotische Zellen) kodieren für ein Antigen eines Pathogens, welches eine schützende Immunantwort gegen das jeweilige Pathogen induzieren kann.**
- **Das den Schutz induzierende Antigen des Zielpathogens muss dazu bekannt sein.**
- **Mit Plattformen ist die Attenuierung des Pathogens nicht notwendig (Attenuierung wurde durch serielle, langwierige Passagen in Zellkultursystemen mit unbekanntem Ausgang durchgeführt, meist Jahre)**

Vektorimpfstoffe basierend auf Plattformen

- **Der das Fremdantigen-kodierende Vektor sollte keine Pathogenität (mehr) besitzen**
- **Der Vektor sollte im Zieltier vermehrungsfähig sein**
 - ❖ **ständige Replikation (e.g. Herpesvirus der Puten und Geflügelpockenviren in Hühnern, Vakziniavirus in Säugetieren)**
 - ❖ **Nur eine abortive Replikation (Kanariepockvirus in Säugetieren)**

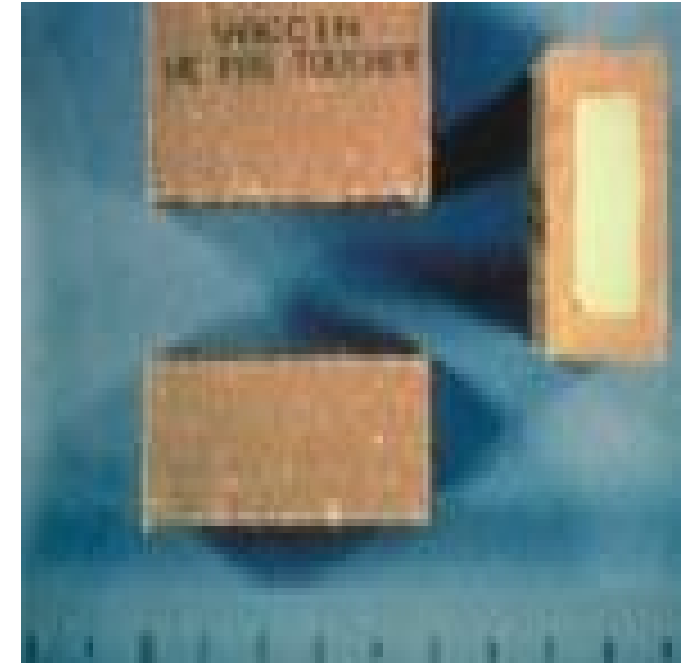
Der erste Vektor war ein rekombinantes Vakziniavirus (Pockenvirus) mit dessen Hilfe die Tollwut in der Wildtierpopulation in großen Teilen Europas eradiziert wurde.

Vaccinia Virus Δ TK-Rabies/gG (Raboral VR-G[®],)

KIENY M.P., LATHE R., DRILLIEN R., SPEHNER D., SKORY S., SCHMITT D., WIKTOR T., KOPROWSKI H. & LECOCQ J.P. (1984). – Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature*, **312** (9990), 163-166.

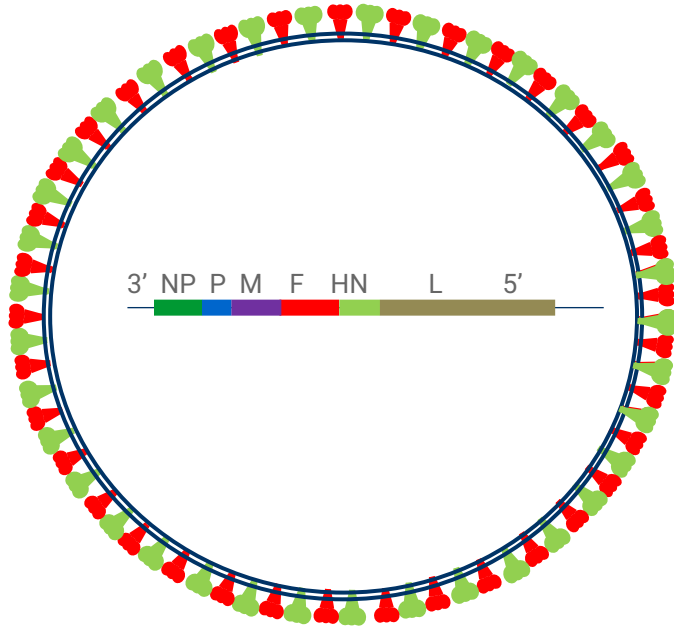
BULLER R.M.L., SMITH G.L., CREMER K., NOTKINS A.L. & MOSS B. (1985). – Decreased virulence of recombinant vaccinia virus expression vectors is associated with a thymidine kinase-negative phenotype. *Nature*, **317**, 813-815.

FRISCH R., WOLFF F., KRIER A., BROCHIER B. & SCHNEIDER L.G. (1987). – Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée au grand-duché de Luxembourg. Contrôles d'efficacité chez le renard roux (*Vulpes vulpes*, L.). *Ann. Méd. vét.*, **131** (6), 449-456.

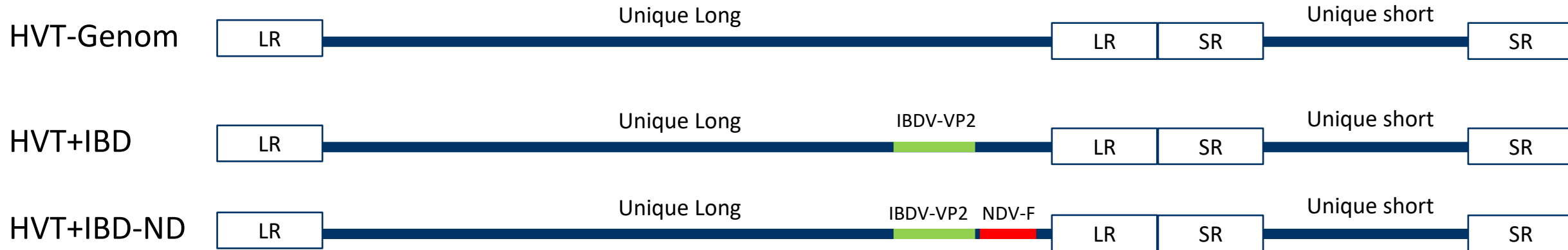
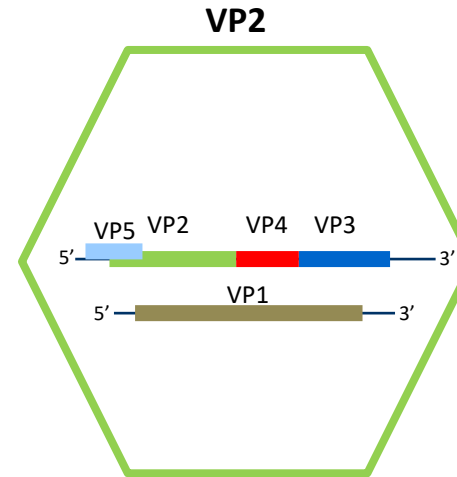


Rectangular Fishmeal polymer bait (France)
for red foxes and raccoon dogs (Merial)

Virus der Newcastle Erkrankung (NDV)

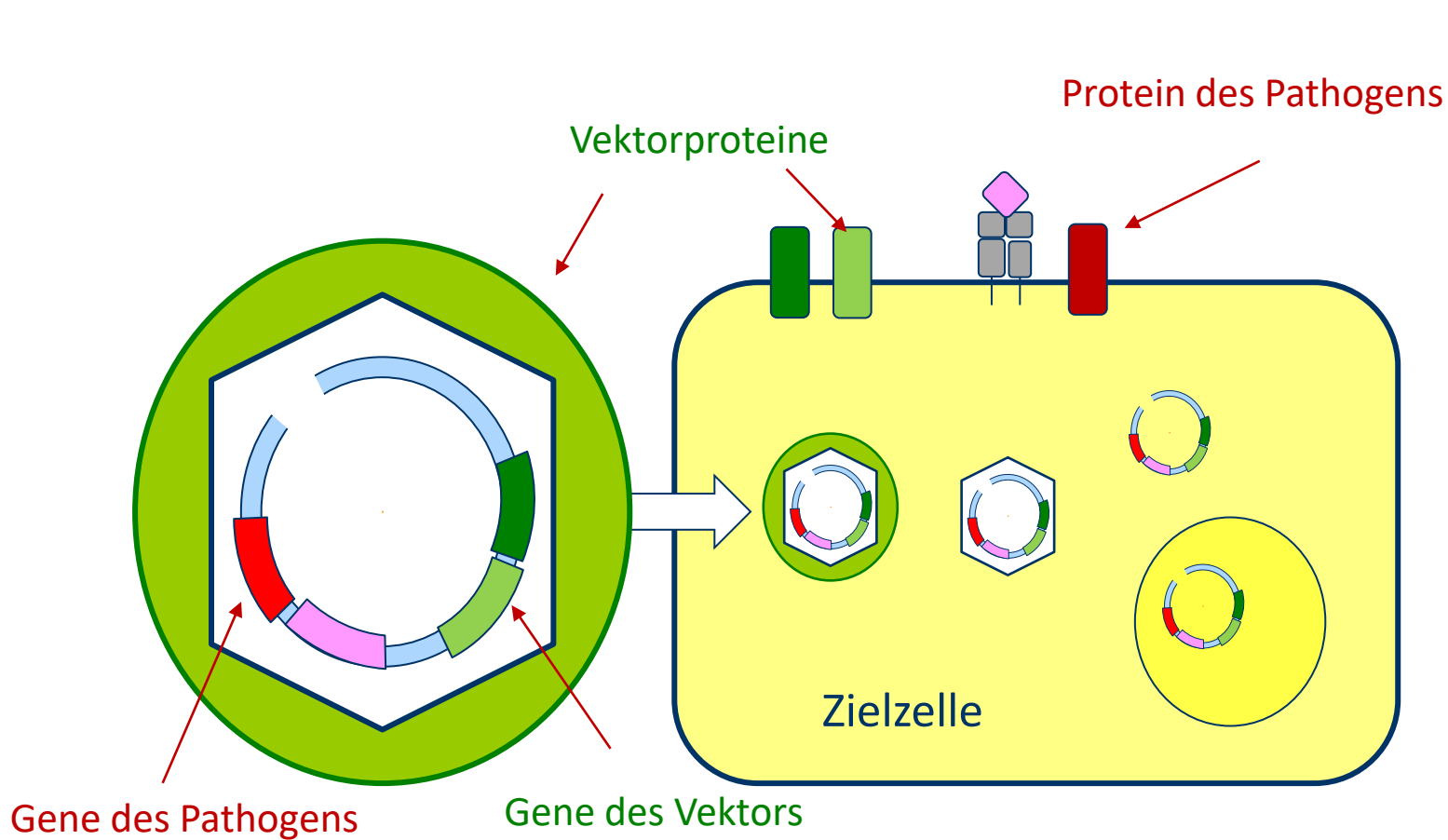


Virus der infektiösen Bursitis (IBDV)



HVT = Herpesvirus der Puten

Vektorimpfstoffe haben verschiedene Vorteile



Induzieren B- und T-Zell Immunantwort - agiert wie eine attenuiertes Pathogen ohne dass das Pathogen attenuiert werden musste. Die Schutz-induzierenden Antigene verschiedener Pathogene können kombiniert werden.

Vektorimpfstoffe beim Geflügel

Name	Vektor	Antigen
VECTORMUNE [®] FP-NDV	Fowlpoxvirus	NDV F Protein
TROVAC [®] NDV	Fowlpoxvirus	NDV F Protein
TROVAC [®] AIV-H5	Fowlpoxvirus	LPAI H5
INNOVAX [®] MD-ND	HVT	NDV F Protein
INNOVAX [®] vvMD	HVT	MDV
VECTORMUNE [®] FP-LT	Fowlpoxvirus	ILTV-gB
VECTORMUNE [®] FP-MG	Fowlpoxvirus	different MG-Ag
Vaxxitek [®] HVT-IBD	HVT	IBDV-VP2(52/70)
VECTORMUNE [®] IBD	HVT	IBDV-VP2(E/Del)
VECTORMUNE [®] ND	HVT	NDV-F Protein
INNOVAX [®] ND	HVT	NDV-F Protein
INNOVAX [®] ILT	HVT	ILTV-gB
NDV-H5	NDV	H5
VECTORMUNE [®] LT	HVT	ILTV gD
VECTORMUNE [®] AI	HVT	HPAI H5
Newxxitek HVT+ND	HVT	NDV-F Protein
INNOVAX-ND-IBD	HVT	NDV-F, IBDV-VP2
VAXXITEK [®] HVT+IBD+ND	HVT	NDV-F, IBDV-VP2
VAXXITEK [®] HVT+IBD+ILT	HVT	NDV-F, ILT-gD
Poulvac [®] Procerta [™] HVT-ND	HVT	NDV-F
Poulvac Procerta HVT-IBD	HVT	IBDV-VP2

> 25 unterschiedliche Vektorimpfstoffe wurden beim Geflügel bisher zugelassen. Diese *werden* in hochmechanisierten Prozessen in den Brütereien verimpft. Entweder *“in ovo”* am 18. Tag der Inkubation oder am Tage des Schlupfes subkutan. Problem: Unterschiedliche Antigene die auf dem selben Vektor basieren, können nicht kombiniert werden: Vektorinterferenz.

Automatisierung der Impfung beim Geflügel in der Brüterei

IN OVO-EXTRACTOR UND IN OVO JECTOR



Entnimmt nicht befruchtete Eier und injiziert den Impfstoff *in ovo* (ca 50000 Eier/h)

SPRAY VAC LINE



Immunisiert mit gesprühtem Impfstoff ca. 60000 Küken/h)

Vektorimpfstoffe bei Säugetieren

Name	Vektor	Antigen	Firma	1. Zulassung
Raboral VR-G	Vaccinavirus	G-Protein des Tollwutvirus	B	1987
Oncept IL-2	Canarypoxvirus	Feline IL2	B	2013
Purevax FeLV	Canarypoxvirus	GAG und Env des Felinen Leukosevirus	B	2000
Purevax Rabies	Canarypoxvirus	G-Protein des Tollwutvirus	B	2011
Proteq West Nile	Canarypoxvirus	PreM- und E-Protein des Westnilvirus	B	2011
ProteqFlu	Canarypoxvirus	HA3 des equinen Influenza A Virus	B	2003

Expression von viralen Antigenen in Plattformsystemen

Nutzung rekombinanter Insektenviren in Insektenzellen

kodierende Sequenz des Immunschut-induzierendes Antigens
(VP2 von Parvoviren, VP2 von Circoviren, Hemagglutinin bei Influenzaviren)



Recombination in das Genom der Insektenviren



Generation von rekombinanten Insektenviren



Infektion von Insektenzellen in Bioreaktoren



Produktion des Immunschut-induzierendes Antigens



Inaktivierung der rekombinanten Insektenviren



Reinigung des Immunschut-induzierendes Antigens



Formulierung des "Subunit"-Impfstoffes

Expressions Plattform: Insektenzellen

Virus like particles

ReproCyc ParvoFLEX



Porcilis PCV



Ingelvac CircoFLEX®



Rekombinante Proteine

VOLVAC H5 BEST



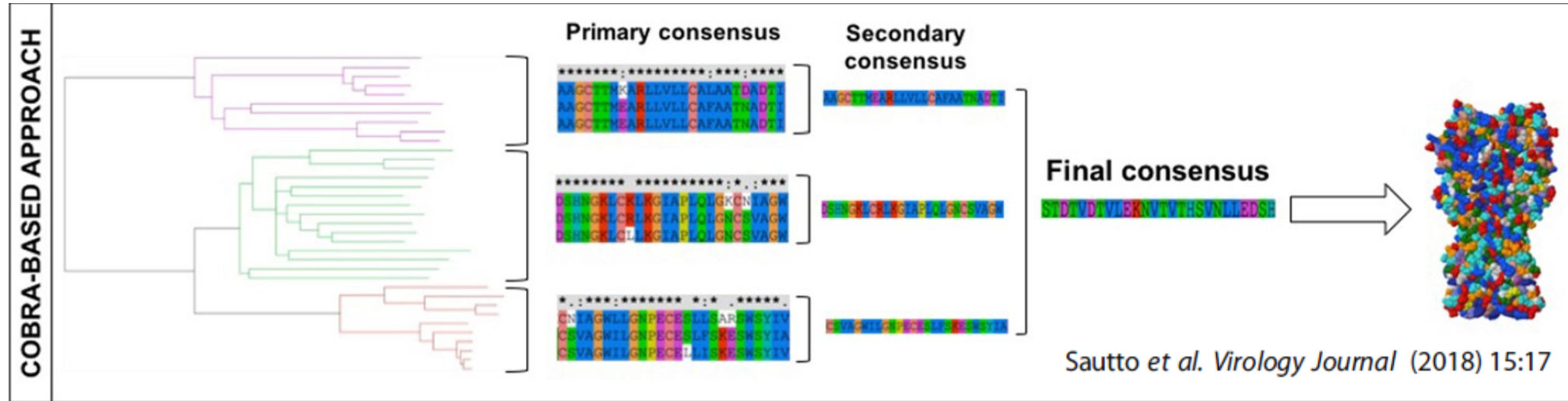
Herausforderungen und Möglichkeiten in der Tiergesundheit

Antigenische Diversität bei Viren und Bakterien

- Hoch pathogenes aviäres Influenza virus H5Nx: > 20 antigenetisch unterschiedliche Kladen
- Virus der afrikanischen Pferdesterbe: 9 Serotypen
- Virus der Blauzungenerkrankung; wenigstens 24 Serotypen
- Virus der Maul-und Klauenseuche: Sieben Serotypen, jeder Serotyp enthält eine Vielzahl von ständig sich verändernden Subtypes
- Rotavirus: 9 Gruppen (A to J) mit Subgruppen: 23 P-typen, 15 G-Types, in unterschiedlichen Kombinationen
- Virus der infektiösen Bronchitis: unbekannte Anzahl von Serotypes, Nun protectotypes
- Streptococcus suis: 29 Serotypes
- E coli: 50,000-100,000 Serotypes
- Salmonella: 2,463 Serotypes (serovare)

Überwinden der antigenischen Diversität bei Viren

Computationally optimized broadly reactive antigens (COBRA)



- Aminosäuresequenzen von Influenza A Viren innerhalb einer Clade (Aminosäuresequenzen, die statistisch nicht unterschiedlich sind) eines Subtyps (H1-H13) werden in eine Aminosäuresequenz überführt (Consensus).
- Consensusaminoäuresequenzen verschiedener Claden werden dann in eine Aminosäuresequenz überführt (Finales Consensus) .
- Diese Aminosäuresequenz sollte dann ein breites Spektrum der Antigenität haben

Ein mögliches Problem: Wird die lineare Sequenz auch die notwendige dreidimensionale Struktur einnehmen und ein Homotrimer bilden.

Article

Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold

[AlphaFold](#) ist ein KI System welches durch [DeepMind](#) entwickelt wurde. Es berechnet die 3D Struktur ausgehend von der Aminosäuresequenz. Es hat eine Präzision entwickelt, welches der klassischen Bestimmung der Proteinstruktur mittels Proteinkristallen gleichwertig ist.

<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

Received: 11 May 2021

Accepted: 12 July 2021

Published online: 15 July 2021

Open access



Check for updates

John Jumper^{1,4}✉, Richard Evans^{1,4}, Alexander Pritzel^{1,4}, Tim Green^{1,4}, Michael Figurnov^{1,4}, Olaf Ronneberger^{1,4}, Kathryn Tunyasuvunakool^{1,4}, Russ Bates^{1,4}, Augustin Židek^{1,4}, Anna Potapenko^{1,4}, Alex Bridgland^{1,4}, Clemens Meyer^{1,4}, Simon A. A. Kohl^{1,4}, Andrew J. Ballard^{1,4}, Andrew Cowie^{1,4}, Bernardino Romera-Paredes^{1,4}, Stanislav Nikolov^{1,4}, Rishub Jain^{1,4}, Jonas Adler¹, Trevor Back¹, Stig Petersen¹, David Reiman¹, Ellen Clancy¹, Michal Zielinski¹, Martin Steinegger^{2,3}, Michalina Pacholska¹, Tamas Berghammer¹, Sebastian Bodenstein¹, David Silver¹, Oriol Vinyals¹, Andrew W. Senior¹, Koray Kavukcuoglu¹, Pushmeet Kohli¹ & Demis Hassabis^{1,4}✉

Berechnung der dreidimensionalen Proteinstrukturen basierend auf linearen Aminosäuresequenzen ist möglich

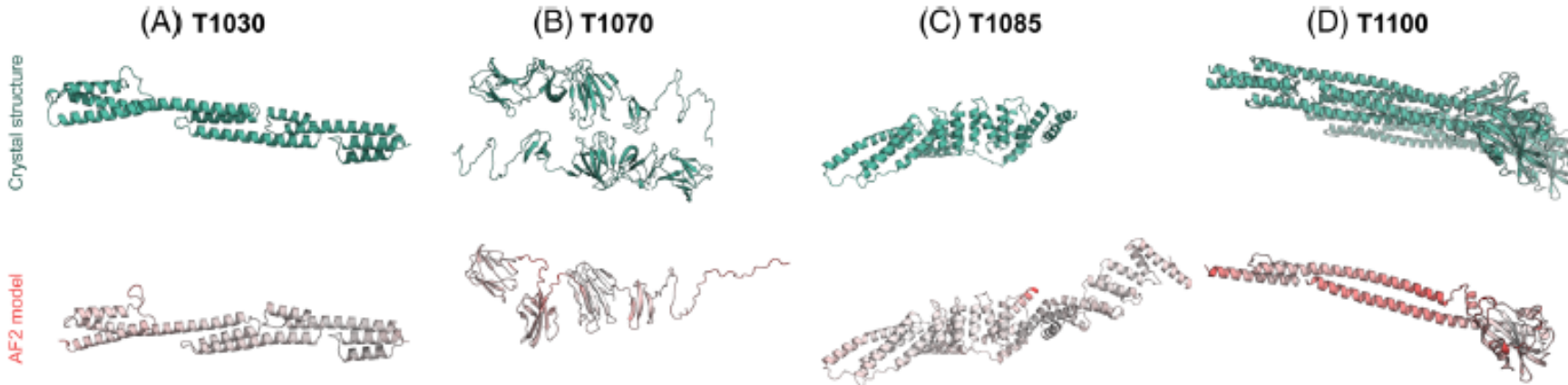
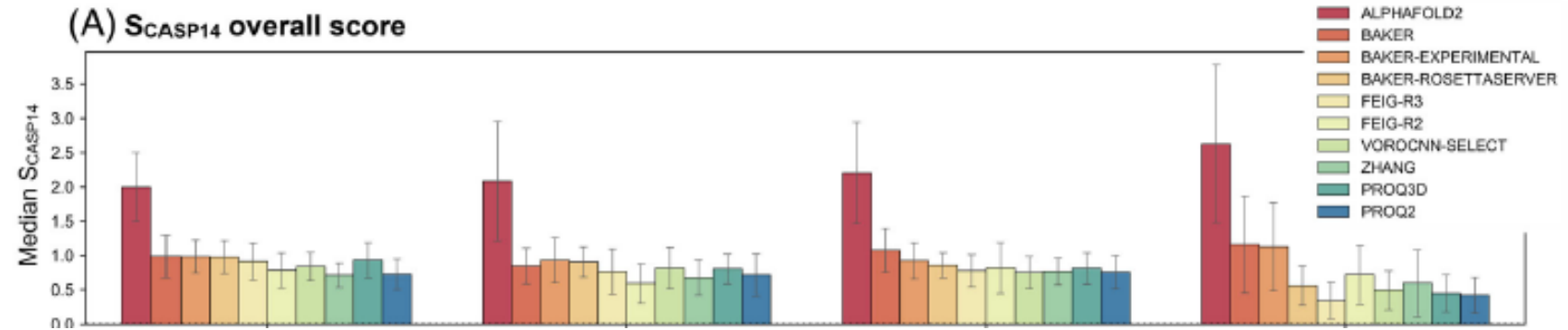
Received: 5 May 2021 | Revised: 16 June 2021 | Accepted: 23 June 2021
 DOI: 10.1002/prot.26171

RESEARCH ARTICLE



High-accuracy protein structure prediction in CASP14

Joana Pereira¹ | Adam J. Simpkin² | Marcus D. Hartmann¹ |
 Daniel J. Rigden² | Ronan M. Keegan³ | Andrei N. Lupas¹



Krankheitsausbrüche kommen meist als Überraschung

West Nile



19

West Nile virus disease cases reported t

State	Neuroinvasive disease cases*	Non-neuroinvasive disease cases†
New York	59	0
Total	59	0

*Includes cases reported as meningitis or encephalitis.

†Includes confirmed and probable cases.



201

West Nile Virus Disease Cases* and Presumptive United States, 2019

State	Neuroinvasive Disease Cases*	Non-neuroinvasive Disease Cases†
Alabama	0	3
Alaska	0	1
Arizona	112	61
Arkansas	7	2
California	147	78
Colorado	32	70
Connecticut	1	0
Delaware	0	0
District of Columbia	0	2
Florida	2	0
Georgia	0	3
Hawaii	0	0
Idaho	3	8
Illinois	22	6
Indiana	4	0
Iowa	1	4
Kansas	7	6
Kentucky	4	6
Louisiana	11	9
Maine	0	0
Maryland	0	1
Massachusetts	2	3
Michigan	11	1
Minnesota	2	2
Mississippi	12	3
Missouri	4	1
Montana	3	0
Nebraska	17	11
Nevada	14	11
New Hampshire	0	0
New Jersey	6	2
New Mexico	30	10
New York	14	3
North Carolina	1	0
North Dakota	2	7
Ohio	2	0
Oklahoma	6	2
Oregon	6	3
Pennsylvania	5	2
Rhode Island	0	0
South Carolina	1	0
South Dakota	0	11
Tennessee	3	0
Texas	24	2
Utah	14	7
Vermont	0	2
Virginia	0	2
Washington	2	2
West Virginia	0	0
Wisconsin	0	2
Wyoming	2	0
Total	633	338

*E.g., meningitis, encephalitis, or acute flaccid paralysis
†Includes confirmed and probable cases

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

BRIEF REPORT

A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019

Na Zhu, Ph.D., Dingyu Zhang, M.D., Wenling Wang, Ph.D., Xingwang Li, M.D., Bo Yang, M.S., Jingdong Song, Ph.D., Xiang Zhao, Ph.D., Baoying Huang, Ph.D., Weifeng Shi, Ph.D., Roujian Lu, M.D., Peihua Niu, Ph.D., Faxian Zhan, Ph.D., Xuejun Ma, Ph.D., Dayan Wang, Ph.D., Wenbo Xu, M.D., Guizhen Wu, M.D., George F. Gao, D.Phil., and Wenjie Tan, M.D., Ph.D., for the China Novel Coronavirus Investigating and Research Team

Syndrome (MERS)



Natural Language Processing (NLP) und Künstliche Intelligenz (KI) zur Analyse von täglich 500 Millionen Tweets, drei Millionen Nachrichten und Tausenden von wissenschaftlichen Artikeln zur Erkennung und frühzeitigen Berichterstattung über globale Krankheitsausbrüche und deren Verfolgung.



x



PRESS RELEASE

Multi-Year AI Partnership

Disease Surveillance | Drug Identification | Target Discovery



Zusammenfassung

- Impfung ist immer noch DIE wirksamste Methode gegen infektiöse Erkrankungen: PREVENTION WORKS
- Heute genutzte Impfstoffe sind sicher und wirksam.
- Der Gebrauch von Vektorimpfstoffen und Expressionsplattformen erlaubt die Entwicklung von Impfstoffen ohne dass die Abschwächung (Attenuierung) des Krankheitserregers notwendig ist (die Schutz induzierende Struktur MUSS bekannt sein)
- Diversität zwischen Antigenen innerhalb gleicher Krankheitserreger ist immer noch eine Herausforderung, entsprechende Methoden wurden entwickelt und werden weiter entwickelt.
- Berechnung der Proteinstrukturen basierend auf linearen Aminosäuresequenzen ist möglich.
- Das frühe Erkennen von Krankheitsausbrüchen in Echtzeit wird möglich und helfen, schneller Impfstoffe (Vektor/Plattform/mRNA) entwickeln zu können.

Danke für die Aufmerksamkeit

- Copyright:
- The concepts, statements and data elaborated in this presentation are the intellectual property of Boehringer Ingelheim GmbH and are subject to current copyright law. Complete or partial reproduction and passing on to third parties is not permitted.
- Boehringer Ingelheim GmbH
- Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany
Phone +49 (0) 6132 770
Fax +49 (0) 6132 720
info@boehringer-ingelheim.de
www.boehringer-ingelheim.com