

Nachweis des Virus der Equinen Rhinopneumonitis als Ursache von Stutenaborten

Autor(en): **Bürki, F. / Bärswyl, K. / Lindt, S.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **107 (1965)**

Heft 7

PDF erstellt am: **15.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592441>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem veterinär-bakteriologischen Institut (Direktor Prof. Dr. H. Fey)
und dem veterinär-pathologischen Institut (Direktor Prof. Dr. H. Hauser)
der Universität Bern

Nachweis des Virus der Equinen Rhinopneumonitis als Ursache von Stutenaborten

Von F. Bürki, K. Bärswyl und S. Lindt

Das Virus der Equinen Rhinopneumonitis (E.R.) [11] ist für häufige Infektionen des Respirationsapparates bei Pferden verantwortlich [10, 15], die von Abortus als Spätfolge begleitet sein können [8, 10, 15]. Das Virus läßt sich, unter Erzeugung eines charakteristischen cytopathogenen Effekts, wie ihn erstmalig japanische [18] und amerikanische [17] Autoren beschrieben, auf Gewebekulturen von Pferdenieren isolieren. Verschiedene Autoren haben seither die Zweckmäßigkeit dieses Verfahrens bestätigt. Indirekte Nachweismethoden stehen in der Komplementbindungsreaktion [9] und im Gewebekultur-Neutralisationstest [18] zur Verfügung.

Für das Auftreten des E.R. Virus in der Schweiz lagen mehrere Indizien vor. Nach dem Vorschlage von Manninger und Csontos [15] hatte Guthauser [12] vor 15 Jahren Foetusmaterial aus Abortusfällen auf trüchtige Meerschweinchen verimpft und dabei Aborte induziert. Matsumoto et al. [16] fanden 1960 in 20 wahllos gesammelten Pferdeseren schweizerischer Provenienz 17mal komplementbindende und 19mal neutralisierende Antikörper gegen den amerikanischen Bezugsstamm Kentucky D. Schließlich ermittelten Bürki et al. [3] anlässlich eines enzootischen Respirationsleidens in einem größeren Pferdebestand hochtitrige Antikörper gegen E.R. Virus.

Im vergangenen Jahr konnte nun das E.R. Virus als Ursache von Stutenaborten eruiert werden, worüber nachstehend kurz berichtet wird.

Material und Methoden

Zwei Stuten des Besitzers P. V. in C./GE, abortierten am 3. März bzw. 3. April 1964 nach je 9½monatiger Trächtigkeit. Beiden wurde alsdann eine Serumprobe zur indirekten Feststellung der Abortusursache entnommen. Von der Stute 1 wurde das Fohlen zunächst verscharrt, am folgenden Tag jedoch exhumiert, und es gelangten die unten beschriebenen Organe zur Laboruntersuchung. Die Organe des Fohlens von Stute 2 wurden dem Laboratorium sofort per Expreß übersandt. Von beiden Fohlen wurden die Organe virologisch (in Fohlennieren-Gewebekulturen nach andernorts beschriebenen Techniken [1]) sowie bakteriologisch und histologisch untersucht. Das cytopathogene Isolat aus Fohlen 2 wurde im Kreuzneutralisationstest mit dem Virus der Equinen Rhinopneumonitis verglichen. Hierzu standen uns ein amerikanischer Bezugsstamm von Prof. Doll, Lexington, und ein auf Kaninchen erzeugtes Anti-Army-strain-Hyperimmunserum von Prof. Mayr, München, zur Verfügung, die auch an dieser Stelle bestens verdankt seien.

Die Stutenserum wurden auf neutralisierende Antikörper gegen das E.R.-Virus (Technik s. 2), auf komplementbindende Antikörper gegen Influenza equi A Viren [3], auf Agglutinine gegen Salmonella abortus equi, Brucella abortus und 7 im Lande verbreitete Leptospirentypen untersucht.

Zur histologischen Untersuchung wurde Material nach Bouin fixiert; es wurden Paraffinschnitte Hämalaun-Eosin, van Gieson und PAS-Hämalaun gefärbt.

Befunde

Pathologisch-anatomische

Bei der makroskopischen Organuntersuchung der beiden abortierten Fohlen konnten in der Leber Stauung, kleinfleckige Blutungen, beim Fohlen 2 außerdem disseminiert ausgestreute, knapp sichtbare, graue Herdchen festgestellt werden. Beide Lungen waren stark ödematös durchtränkt. Die Nieren wiesen z. T. in der Rinde allein, z. T. auch perirenal und subkapsulär kleinfleckige Blutungen auf. Der Herzbeutel enthielt einige ml blutig-seröses Exsudat. Fohlen 2 wies einen blassen, ödematös durchtränkten Herzmuskel und einige subendo- und subepikardiale Petechien auf.

Histologische¹

In beiden Fohlen konnten prinzipiell dieselben Veränderungen festgestellt werden, mit dem Unterschied, daß beim Fohlen 1 die nachfolgend näher beschriebenen entzündlichen Vitalreaktionen schwächer ausgeprägt waren als beim Fohlen 2.

Zwei in allen Organen ermittelte Veränderungen seien vorab besprochen. Es betrifft dies einerseits die eosinophilen Kerneinschlüsse vom Typ Cowdry A (Abb. 6). Sie fanden sich einesteils in den Randgebieten der Nekrosen, im weiteren aber auch in Gefäßendothelien, in Leberzellen, in Lungenalveolarendothelien, in Muskelzellen des Herzens, in Epithelzellen der Thyreoidea. Sie besaßen teilweise ein typisches Aussehen, waren nicht selten aber kaum von vergrößerten, verquollenen Nukleolen zu unterscheiden.

Bei der zweiten generell feststellbaren Veränderung handelt es sich um Erythrozytenverklumpungen in kleineren und größeren Gefäßen, umgeben von einer homogenen bis feinstkörnigen basophilen Substanz; wie sie bei Paraproteinosen anlässlich anderer Krankheiten angetroffen wird.

Nebst diesen Allgemeinbefunden wiesen einzelne Organe bestimmte weitere Veränderungen auf.

Die Milz zeigte eine alterative und follikulär nekrotisierende Entzündung (Abb. 1). Dabei fiel auf, daß aus der hämatopoietischen Reihe nur wenige Zellen vorhanden und daß sie meist katabiotisch verändert waren. Im weiteren wurden einige kleinfleckige hämorrhagische Infarkte beobachtet. Sie

¹ Wir danken Herrn Prof. Dr. H. J. Hansen, Stockholm, für die freundliche Übersendung histologischer Vergleichspräparate.

wiesen reichlich Blutabbaupigment auf, wogegen solches im übrigen Milzgewebe nur spärlich auftrat.

In der Leber lag eine schwere akute alterative bis desquamative Hepatitis vor. Das ganze Organ zeigte hochgradige Anschoppung mit kleinfleckigen Stauungsdiapedesen und war mehr oder weniger dicht diffus durchsetzt mit submiliaren bis miliaren Nekroseherdchen (Abb. 2), die teilweise kollateral entzündliche Hyperämie aufwiesen. Blutpigment fand sich z. T. frei liegend, z. T. in Kupferschen Sternzellen phagozytiert.

Ein wesentlicher Befund an den Nieren bestand in Glomerulo- und Tubulonephrose. Stellenweise fanden sich glomerulonephritische Reaktionen und kapilläre Hyperämie mit kleinfleckigen Diapedesen. Angeschoppte Glomerulusschlingen zeigten z. T. beginnende hämorrhagische Infarzierung. Herdweise war im Plasma von Hauptstückzellen eine sehr deutliche granuläre Degeneration zu beobachten (Abb. 3). Die diffusen, degenerativen bis desquamativen Erscheinungen waren im Mark deutlicher vorhanden als in der Rinde.

Im Herz konnte eine frische diffuse, alterative bis seröse Entzündung mit disseminiert ausgestreuten, submiliaren, schlecht abgegrenzten Nekroseherdchen beobachtet werden.

Während die Lunge des Fohlens 1 in fötaler Atelektase vorlag, waren peribronchiale Gebiete beim Fohlen 2 mäßig lufthaltig, enthielten aber z. T. auch eiweißarme Flüssigkeit, von aspirierten Hornschuppen durchsetzt. Weiter entfernte Lungenpartien wiesen stark eiweißreiche Flüssigkeit auf. Beide Lungen zeigten eine diffuse Desquamation geringen Grades, stellenweise feinfädiges, in Alveolen und Bronchen ausgeschwitztes Fibrin (Abb. 4), sowie eine starke Sekretion PAS-positiver Tropfen von seiten der Bronchialepithelien (Abb. 5).

Die Thyreoidea zeigte auffallenden Kolloidschwund; nur größere Follikel enthielten ein feinkörniges, netzartiges, eiweißarmes Sekret. Venöse Stauung und massive Kapillaranschoppung mit Stauungsdiapedesen vervollständigten das Bild.

Virologische Ergebnisse

Aus einem Organpool des frischen Fohlens 2, nicht aber beim verspätet eingesandten Fohlen 1, konnte auf Pferdenieren-Gewebekulturen ein cytopathogenes Agens isoliert werden. Die in Primärkulturen wie in Passagen auftretenden cytopathischen Veränderungen sind aus den Abbildungen 7 bis 10 ersichtlich.

Das isolierte Virus wurde durch Äther und Chloroform vollständig inaktiviert, durch 5-Iodo-2-Desoxyuridin in seiner Vermehrung gehemmt. Es hat mithin Eigenschaften eines DNS-Lipovirus [4, 7], was es, wie auch die Cowdry A-Kerneinschlüsse [6], bei der Gruppe der Herpesviren einweist [1a].

Im Neutralisationstest konnte unser Isolat einwandfrei mit dem Virus der Equinen Rhinopneumonitis identifiziert werden (Tab. 1).

Tab. 1 Serologische Klassifizierung des Isolats V 100/64 aus dem Fohlen 2.

Virusstamm	Kaninchenseren 1:10		Neutralisationsindex
	normal	immun ¹	
100/64	4.75 ²	2.25	2.50
57 F 94 (L) (Doll)	5.25	1.50	3.75

¹ anti Army-strain

² neg. log 10, nach Kärber

Ergebnisse serologischer Untersuchungen¹

Die Seren der Stuten 1 und 2 vermochten bis zur Verdünnung 1:80 rund 100 TCD₅₀ des amerikanischen Bezugsvirus zu neutralisieren. Abortstuten anderer Besitzer enthielten in ihren Seren in der Mehrzahl keine, in der Minderzahl niedrigtitrige Antikörper gegen dieses Virus. (Bezüglich niedriger Titer verweisen wir auf die Einleitung).

Weder Stute 1 noch 2 wies demgegenüber positive Agglutinationsbefunde gegen *Salmonella abortus equi* (O und H-Antigene), *Brucella abortus* oder *Leptospiren* auf.

Bakteriologische Befunde

Aus den Placenten beider Stuten ließen sich keine Brucellen, im Anreicherungsverfahren auch keine Salmonellen isolieren. Beim Fohlen 1 wurden in Herz und Lunge spärlich *E. coli* und alpha-hämolytische Streptokokken nachgewiesen, wogegen Milz- und Nierenkulturen ärob wie anärob bakteriosteril blieben. Beim Fohlen 2 wurden in allen untersuchten Organen *E. coli* in unterschiedlicher Menge, wie vereinzelt alpha-hämolytische Streptokokken und *Bacillus cereus* ermittelt. Gesamthaft bieten sich keine Anhaltspunkte für eine ursächliche Bedeutung von Bakterien für die Abortusfälle.

Diskussion

Serologische Anhaltspunkte für eine Verbreitung des Virus der Equinen Rhinopneumonitis bei schweizerischen Pferden lagen, wie einleitend vermerkt, bereits vor [16]. Auch konnte kürzlich seine ursächliche Bedeutung an einer ausgedehnten Enzootie respiratorischen Charakters auf serologischer Basis eruiert werden [3].

In den hier erörterten Untersuchungen konnte das Virus nun erstmals aus einem abortierten Fohlen isoliert und überzeugend als Ursache zweier Stutenaborte ermittelt werden. In den Organen beider Fohlen ließen sich

¹ Das Eidg. Veterinäramt hat Untersuchungen an einem größeren Pferdmaterial finanziell unterstützt, wofür ihm bestens gedankt sei.

Cowdry A-Kerneinschlüsse [6] feststellen. Weitere histologische Veränderungen entsprachen weitgehend den in der Literatur beschriebenen [5, 11, 13, 14, 18].

An dieser Stelle seien unsere patho-histologischen Beobachtungen nur soweit diskutiert, als sie in der uns bekannten Literatur nur ungenügend Berücksichtigung fanden. So beschrieben bisher einzig japanische Autoren [14] hämatopoietische Zellen in geringer Anzahl in der Milz von Abortfohlen, ohne aber daran nekrobiotische Prozesse wahrzunehmen. Einzig Corsico [5] fand eine Alteration und fettige Degeneration der Leberzellen vom Ausmaß unserer Befunde. Die von ihm erwähnten beginnenden dystrophischen Verkalkungen in Nekroseherdchen konnten an unserem Material nicht bestätigt werden. Wie wir, hatten schon andere Autoren Vitalreaktionen in der Leber gefunden [13, 14], welche belegen, daß sich außer der Degeneration alterative Entzündungen abspielten.

Während japanische Autoren [14, 18] keine pathologischen Veränderungen in den Lungen ihrer Abortfohlen fanden, ermittelten Doll u. Mitarbeiter [11] solche. Sie beschrieben ein eiweißreiches Ödem und ausgeschwitztes Fibrin (vgl. unsere Abb. 4) in über 90% ihrer Fälle, teilweise aber auch Nekrobiosen und Nekrosen in den Bronchialepithelien. Die dortige Hypersekretion in Form PAS-positiver Tropfen (Abb. 5) wurde von diesen Autoren nicht erwähnt.

Nachdem dieselbe amerikanische Forschergruppe in Lungen und Lebern abortierter Fohlen die höchsten Virustiter [17] und die größte Dichte eosinophiler Kerneinschlüsse [9] fand, sind die negativen Lungenbefunde der japanischen Autoren [14, 18] zunächst unerwartet.

Lindt u. Mitarb. [14a] wiesen aber kürzlich auf die Bedeutung des Zeitfaktors bei einer anderen Herpesvirusinfektion, der Felinen Virus-Rhinotracheitis, hin. Die *Cowdry* A-Kerneinschlüsse waren dort, als Residuen erfolgter Virusvermehrung, nur während einiger Tage post infectionem feststellbar und fehlten oftmals in nekrotischen Bezirken. Es ist durchaus möglich, daß bei E.R.-Infektionen ähnliche Verhältnisse vorliegen. Das Fehlen von *Cowdry* A-Körpern schließt jedenfalls das E.R.-Virus als Abortusursache nicht aus.

Die massiven Degenerationen der Tubulushauptstücke in den Nieren, die gebietsweise bis zu Nekrobiosen und sogar Nekrosen einzelner Epithelgruppen führten, wurden bisher nicht beschrieben.

Die deutlich feststellbare Kolloidausschüttung aus der Thyreoidea weist, beim Fehlen anderweitiger Schädigung, auf ihre Überbeanspruchung hin.

Bei zahlreichen bisher an unseren Instituten untersuchten Abortusfällen

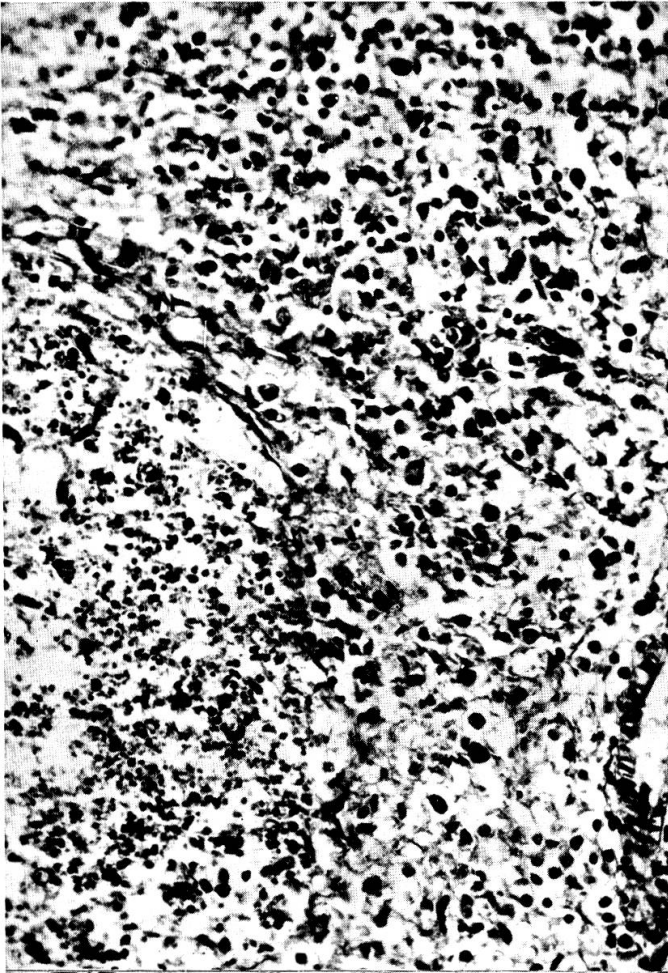
Abb. 1 Follikuläre Milznekrose, starke Dissoziation und Katabiose des Reticulums. HE 250 ×.

Abb. 2 Nekroseherdchen in der Leber, geringe Vitalreaktion. HE 600 ×.

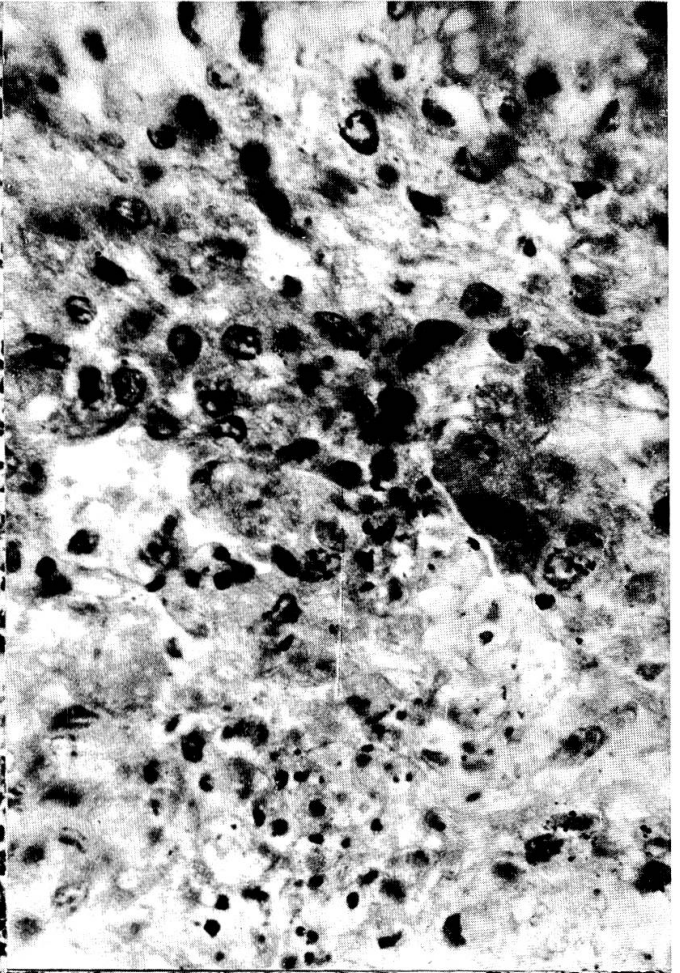
Abb. 3 Glomerulus- und Tubulus-Degeneration, Granulärer Plasmazerfall. HE 600 ×.

Abb. 4 Eiweißreiches Lungenödem; Alveolarendotheldesquamation; Emphysem; Hornschuppenaspiration. HE 150 ×.

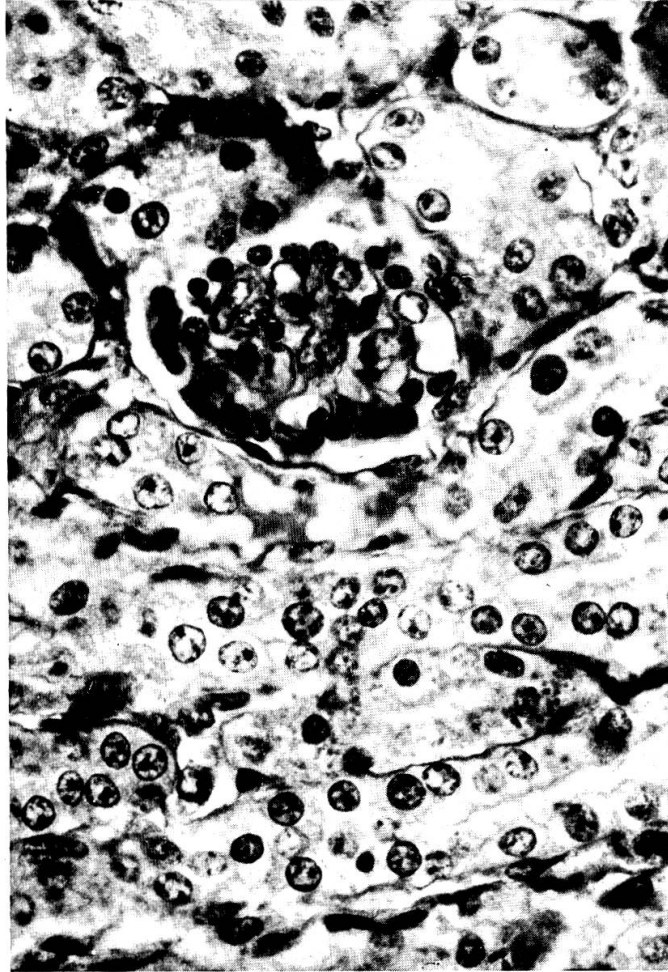
1



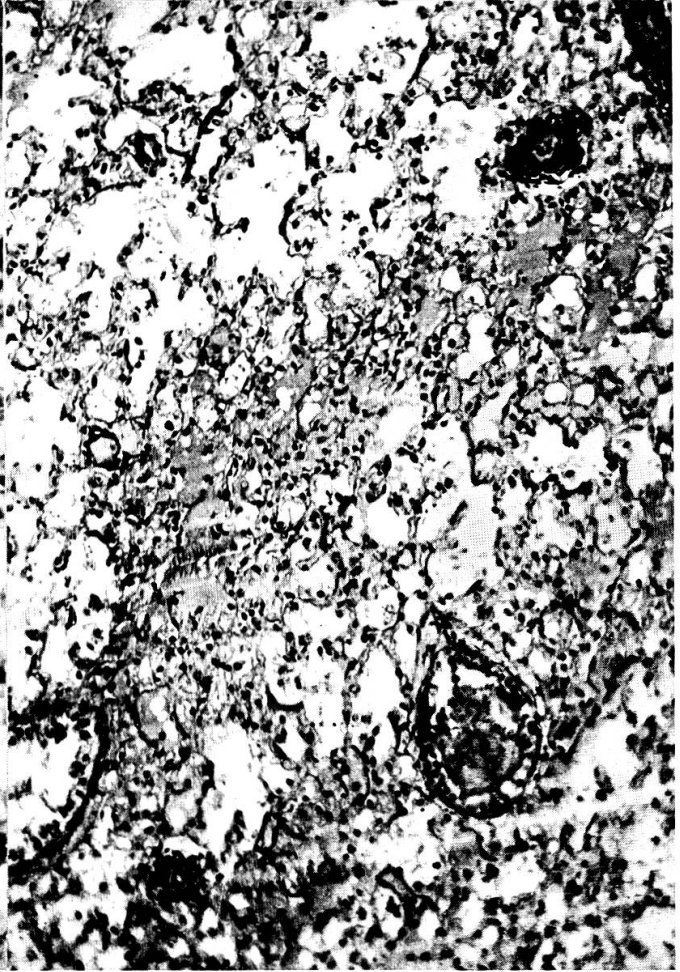
2



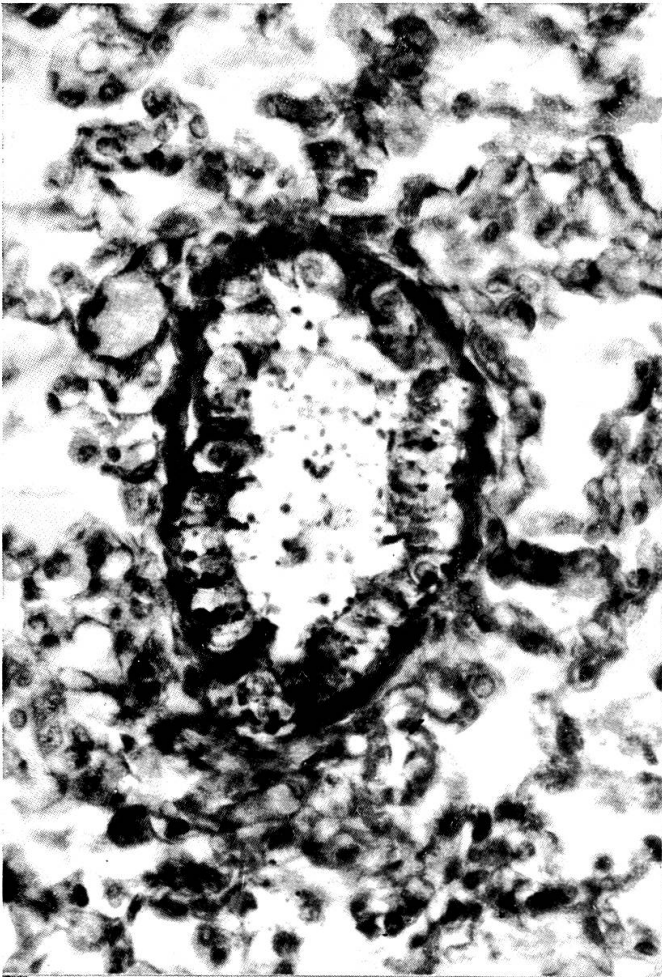
3



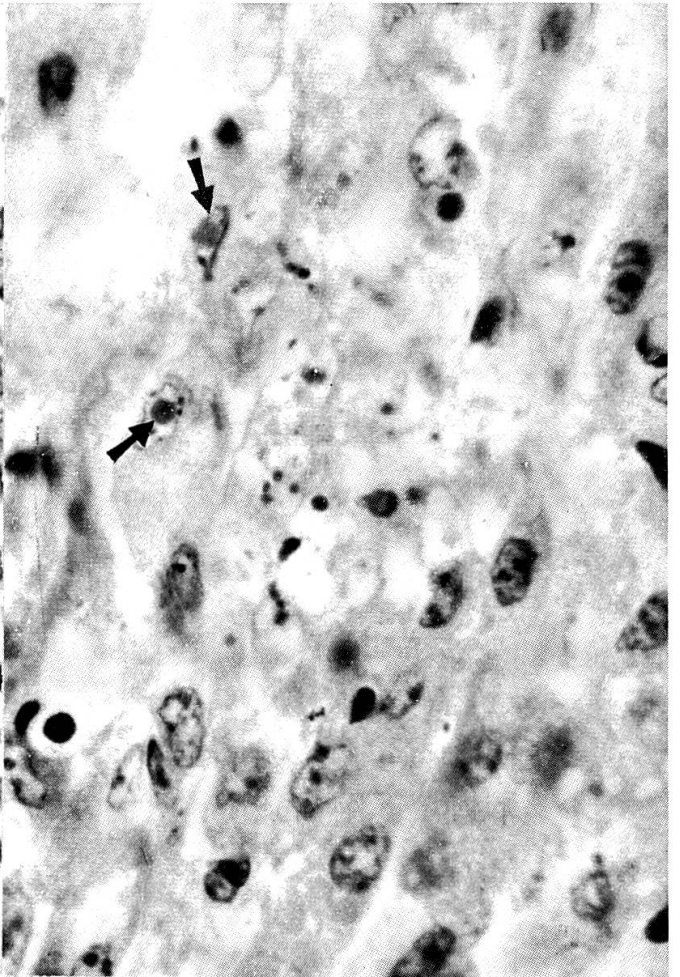
4



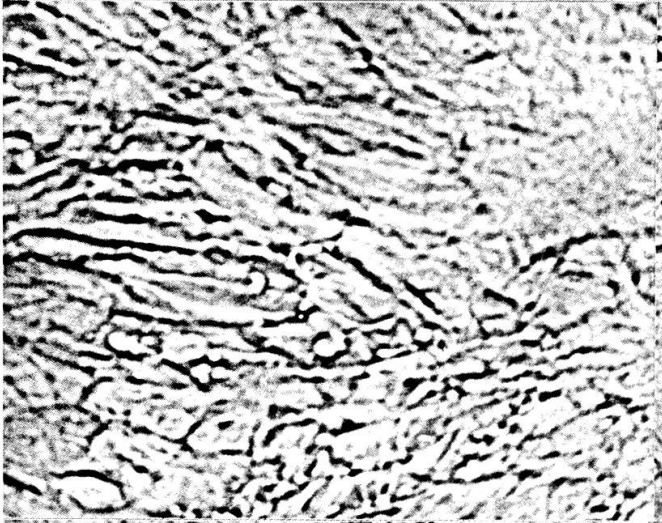
5



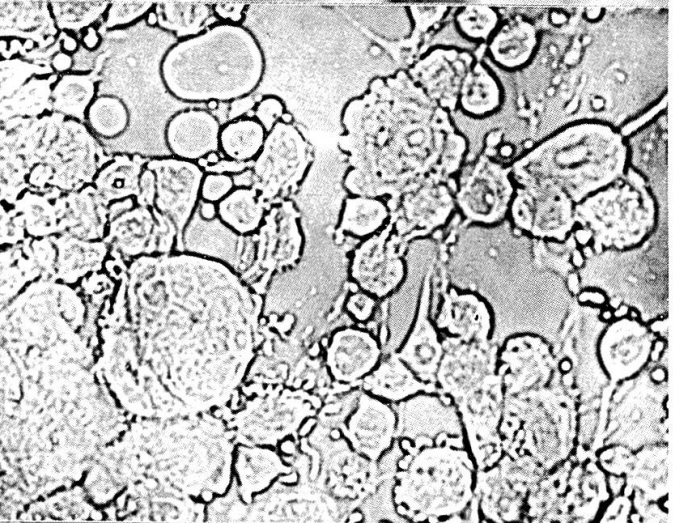
6



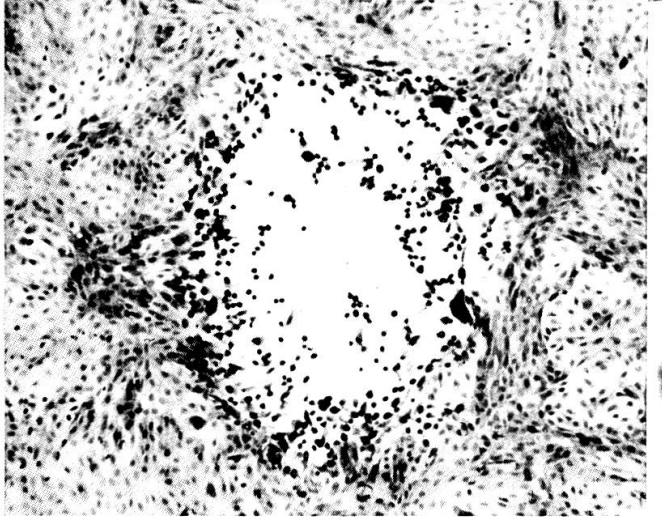
7



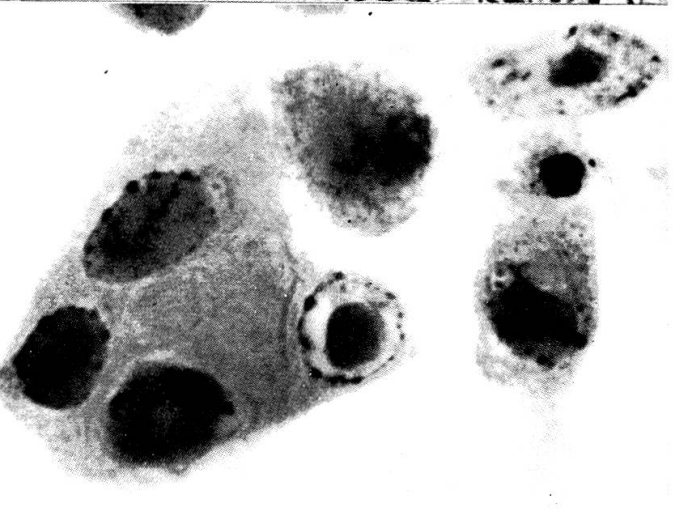
8



9



10



bei Stuten konnte keine bakterielle Ätiologie gefunden werden, was, insbesondere bei gehäuften Auftreten [12], an ein Virus als verantwortliches Agens denken ließ. Nun können aber nach Manninger [15a] verschiedene Virusarten beim Pferd Aborte veranlassen. Die erfolgreiche Isolierung eines Stammes und seine Klassifizierung als Virus der Equinen Rhinopneumonitis verdient, angesichts der bisher ungenügend fundierten Ätiologie bei Abortusfällen in der Schweiz, Beachtung.

Zusammenfassung

Zwei Stuten eines Besitzers abortierten nach je 9 1/2 monatiger Trächtigkeit. Aus einem Fohlen wurde ein cytopathogenes Virus isoliert, das als DNS-haltiges Lipovirus charakterisiert und serologisch mit dem Virus der amerikanischen Equinen Rhinopneumonitis identifiziert werden konnte. Beide Stutenserum neutralisierten das amerikanische Bezugsvirus hochtitrig. Beide Fohlen und die Gewebekulturen zeigten die für Herpesviren typischen Cowdry A-Kerneinschlüsse. Die Patho-Histologie der Fohlen wird erörtert.

Résumé

Deux juments d'un propriétaire ont avorté après une gestation de 9 1/2 mois. Sur l'un des poulains, on a isolé un virus cytopathogène caractérisé par un lipovirus à teneur DNS et qui, sérologiquement, a pu être identifié avec le virus de la rhinopneumonie équine américaine. Les 2 sérums des juments ont neutralisé avec un haut titrage le virus américain. Les 2 poulains et les cultures tissulaires présentaient les anneaux nucléaires A de Cowdry, typiques pour les virus herpétiques. Débat sur l'histopathologie des poulains.

Riassunto

Due giumente avevano abortito dopo 9 mesi e mezzo di gestazione. Da un puledro fu isolato un virus citopatogeno, che fu caratterizzato quale lipovirus contenente DNS, il quale ha potuto essere identificato con il virus americano delle rinopolmonite degli equini. Ambedue i sieri delle giumente neutralizzarono il virus americano di alto titolo.

I due puledri e le colture tissurali presentarono le inclusioni nucleari di Cowdry A tipiche per i virus di erpete. Si esamina l'istologia patologica dei puledri.

Summary

Two mares belonging to the same owner aborted their foals after 9 1/2 months gestation. From the organ pool of one foal a cytopathogenic virus was isolated,

Abb. 5 Hypersekretion PAS-positiver Tropfen in Brochiolus. Hämalaun-PAS Färbung 500 ×.

Abb. 6 Fokalnekrose in Leber mit Cowdry A-Einschlußkörpern (↗). HE 1000 ×.

Abb. 7 Normale Fohlennierenkultur nativ, 240 ×.

Abb. 8 Fohlennierenkultur nativ, beimpft mit Isolat V 100/64. Riesenzellen und abgerundete Epithelzellen. 300 ×.

Abb. 9 Fohlennierenkultur, Bouin HE, beimpft mit Isolat V 100/64. Virus-bedingter Plaque in Zellrasen. 128 ×.

Abb. 10 Fohlennierenkultur, Bouin, HE, beimpft mit Isolat V 100/64. Riesenzelle, Cowdry A Kern-Einschlußkörper. 1600 ×.

which was characterized as a DNA-Lipovirus and which was identified serologically with the virus of American Equine Rhinopneumonitis. Both mares had titers of neutralizing antibodies against the American reference strain in their sera. Cowdry A nuclear inclusion bodies were demonstrated in the organs of both foals and in tissue culture cells. The patho-histologic findings of the aborted foals are discussed.

Literatur

- [1a] Andrewes C.H.: *Adv. Virus Res.* 9, 271 (1962). – [1] Bürki F.: *Zbl. Vet. Med.* 9, 748 (1962). – [2] Bürki F.: *Zbl. Vet. Med.* 9, 999 (1962). – [3] Bürki F. et al.: *Zbl. Vet. Med.* (im Druck). – [4] Cooper P.D.: *Nature* 190, 302 (1961). – [5] Corsico G.: *Clin. Vet.* 77, 321 (1954). – [6] Cowdry E.V.: *Arch. Path.* 18, 527 (1934). – [7] Darlington R.W. and Randall C.W.: *Virology* 19, 322 (1963). – [8] Dimock W. W. and Edwards P.R.: *Cornell Vet.* 26, 231 (1936). – [9] Doll E.R., McCollum W.H., Wallace M.E., Bryans J.T., Richards M.G.: *Am. J. Vet. Res.* 14, 40 (1953). – [10] Doll E.R. and Kintner J.H.: *Cornell Vet.* 44, 355 (1954). – [11] Doll E.R., Bryans J.T., McCollum W.H., Crowe E.W.: *Cornell Vet.* 47, 3 (1957). – [12] Guthäuser A.: *Diss. Bern* (1951) – [13] Hansen H.J. und Holst S.J.: *Nord. Vet. Med.* 2, 131 (1950). – [14] Kawakami Y., Kaji T., Sugimura K., Ishitani R., Shimizu T., Matumoto M.: *Jap. J. Exp. Med.* 29, 635 (1959). – [15] Manninger R. und Csontos J.: *Dtsch. Tierärztl. Wsch.* 69, 105 (1941). – [15a] Manninger R.: *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 65, 13 (1958). – [16] Matumoto M., Shimizu T., Ishizaki R.: *Compt. rend. Soc. Biol.* 154, 1685 (1960). – [17] McCollum W., Doll E.R., Wilson J.C., Johnson O.B.: *Cornell Vet.* 52, 1963 (1962). – [18] Shimizu T., Ishizaki R., Ishii S., Kawakami Y., Kaji T., Sugimura K., Matumoto M.: *Jap. E. Exp. Med.*, 29, 643 (1959).

Unser verbindlichster Dank gebührt den Herren Kantonstierarzt Dr. M. Leuenberger, Genf, und Dr. P. Egli, Avenches, für Untersuchungsmaterial und anamnestiche Angaben; Herrn PD Dr. U. Krech, St. Gallen, für die Leptospirenagglutinationen; Fräulein G. Schermer für ihre zuverlässige technische Assistenz im Viruslabor.

Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. Emil Hess)

Der differentialdiagnostische Nachweis von Brucellen und *C. burneti* in Köster-positiven Nachgeburtsausstrichen mit fluoreszierenden Antikörpern

Von H. Becht

Die Immunofluoreszenz hat sich als schnelle und sichere Methode bei den verschiedensten Aufgaben im diagnostischen Laboratorium bewährt. Wir haben versucht, diese Technik zur differential-diagnostischen Beurteilung von Köster-positiven Cotyledonen einzusetzen mit dem Ziel, die oft massive und entsprechend gefährliche Nachgeburtinfektion (Hess und Staehli, 1961) möglichst rasch zu erfassen und zu tilgen.