

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

**Band:** 111 (1969)

**Heft:** 1

**Artikel:** Nachweis von IBR-IPV-Virus, Klinik und Pathologie bei zwei Ausbrüchen von Bläschenseuche

**Autor:** Steck, F. / Raaflaub, W. / König, H.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-588547>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 17.11.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut (Prof. Dr. H. Fey)  
und dem Institut für Tierpathologie (Prof. Dr. H. Luginbühl)  
der Universität Bern

## Nachweis von IBR-IPV-Virus, Klinik und Pathologie bei zwei Ausbrüchen von Bläschenseuche

Von F. Steck, W. Raaflaub<sup>1</sup>, H. König und H. Ludwig<sup>2</sup>

### Einleitung

Die Erreger der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und der infektiösen pustulösen Vulvovaginitis (IPV) (= Bläschenseuche) sind Herpesviren, die beim Rind eine Reihe zum Teil schwerwiegender pathologischer Veränderungen hervorrufen. Die beiden unabhängig voneinander entdeckten Erreger sind antigenetisch nicht unterscheidbar und werden deshalb in der IBR-IPV-Virusgruppe zusammengefaßt. Straub und Mitarb. berichteten 1964 über einen Unterschied zwischen IBR-Virus und IPV-Virus auf Grund von Untersuchungen mit der trägerfreien Viruszonenelektrophorese in einem Glukose-Dichtegradienten. IBR-IPV-Virus verursacht eine im Grade variierende akute Infektion der oberen Atemwege und der Lungen (Madin et al. 1956), verbunden mit Konjunktivitis (Abinanti und Plumer 1961), Enzephalitis (French 1962), im weitern pustulöse Vulvovaginitis (= Bläschenseuche) (Gillespie et al. 1959) und Abort bei der Kuh, infektiöse Balanoposthitis beim Stier (Studdert et al.) und nach künstlicher Besamung mit infiziertem Samen nekrotisierende Endometritiden (Kendrick und McEntee 1967). IBR-IPV-Virusinfektionen sind weit verbreitet, wie Berichte aus USA, Canada, Australien Neuseeland, England, Deutschland und Italien belegen.

Die vorliegende Arbeit berichtet über zwei Ausbrüche von Bläschenseuche als Deckinfektion. Ein modifizierter Serumneutralisationstest erlaubte den Nachweis von Antikörpern bei allen infizierten Tieren, soweit entsprechende Serumproben zur Verfügung standen.

Die erhobenen Befunde werden eingehend besprochen, da es sich unseres Wissens um die ersten ätiologisch abgeklärten Ausbrüche von Bläschenseuche in der Schweiz handelt. Es ist aber anzunehmen, daß die Krankheit auch bei uns schon seit langer Zeit auftritt (Hess 1920, Hofmann und Flückiger 1953).

### Material und Methoden

*Viren:* Als Vergleichsvirus wurde der LA-Stamm des infektiösen bovinen Rhinotracheitis-Virus (IBR) verwendet. Der Virusstamm gelangte 1962 von Prof. McKercher in Davis, Californien, über Prof. Mayr in München an unser Institut, wo er 11mal in

<sup>1</sup> Praktizierender Tierarzt in Schwarzenburg BE.

<sup>2</sup> Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, Gießen, Frankfurterstraße 85.

Kälberhoden- oder Kälbernieren-Zellkulturen passagiert wurde. Der Titer der 11. Passage betrug  $10^6$  TCD<sub>50</sub> pro 0,1 ml (Tissue Culture Dose 50%)<sup>1</sup>.

*Antiserum:* Ein Kaninchen-Immuns Serum gegen IBR-Virus wurde uns in freundlicher Weise von Dr. O.C. Straub, Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Haustiere, Tübingen, zur Verfügung gestellt. Der Neutralisationstiter gegen 100 TCD<sub>50</sub> des IBR-Virus betrug 1/160. Gegen den Stamm 227/67 stellten wir durch 12malige intradermale und 4malige intravenöse Injektion von Kaninchen im Abstand von je 7 Tagen ein Antiserum her mit einem Neutralisationstiter von 1/200.

*Gewebekultur:* Primäre Kälberhodenkulturen wurden bei 37 °C bebrütet. Für Virusisolierung und Serumneutralisationstest wurden Röhrenkulturen, für Einzelplaquereinigung und für den Plaque-Reduktionstest wurden Plastic-Gewebekulturschalen<sup>2</sup> mit einem Durchmesser von 60 mm verwendet.

Die Anzüchtung von etwa 300 000 Zellen/Röhren erfolgte in 2 ml Medium 199 mit 0,5 % Lactalbuminhydrolysat, 100 E. Penicillin, 0,1 mg Streptomycin und 25 E. Mycostatin pro ml und 10% Kälberserum (frei von Antikörpern gegen Virusdiarrhoe und Parainfluenza 3). Nach 3 bis 4 Tagen war der Zellrasen geschlossen und wurde beimpft, gleichzeitig wurde auf Erhaltungsmedium gewechselt, welches anstelle des Kälberserums 2% Pferdeserum enthält.

*Virusisolierung:* Die Materialentnahme aus der Vagina und der Nasenschleimhaut erfolgte mit einem trockenen Wattetupfer, der 0,2 bis 0,3 ml Flüssigkeit aufsaugen kann. Die Tupfer wurden unmittelbar nach der Materialentnahme in 5 ml *Isoliermedium* eingetaucht (mit folgenden Antibiotikamengen pro ml: 500 E. Penicillin, 0,5 mg Streptomycin, 500 E. Mycostatin; 2% Pferdeserum und 0,5% Lactalbuminhydrolysat in Hanks physiologischer Salzlösung) und in Eiswasser gekühlt. Bei Stieren wurde die Präputialschleimhaut mit 20 ml Isoliermedium gespült, wovon etwa 5 bis 10 ml wieder zurückgewonnen werden konnten. Anschließend wurde das Material bis zur Verimpfung bei -20 °C eingefroren gehalten. Unmittelbar vor dem Verimpfen wurde der Tupfer ausgedrückt und das Medium bei 3000 rpm während 10 Minuten zentrifugiert. Das Beimpfen erfolgte durch Überschichten von 1,0 ml, 0,4 ml und 0,1 ml auf den Zellrasen, Adsorption während 2 Stunden bei 37 °C, Absaugen und Überschichten der Zellen mit 2 ml Erhaltungsmedium. Zytopathogene Effekte durch IBR-Virus wurden nach 48 bis 72 Stunden beobachtet.

### Serologische Untersuchungen

*Komplementbindungsreaktion* leicht modifiziert nach der Methode des National Communicable Disease Center, Atlanta, USA (1965), Public Health Monograph No. 74.

*Serumneutralisation:* Die Seren wurden vor dem Versuch für 30 Minuten bei 60 °C inaktiviert.

Die Serumneutralisation wurde in den *zwei* folgenden *Varianten* durchgeführt:

*Variante 1:* Das inaktivierte Serum wurde 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 verdünnt mit PBS und zu gleichen Teilen mit einer IBR-Virusverdünnung, die 100 TCD<sub>50</sub> enthält, versetzt und für eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Danach wird 0,2 ml des Serum-Virusgemisches in ein Gewebekulturröhrchen mit 2 ml Erhaltungsmedium gegeben; oder aber es wird 0,2 ml des Virus-Serumgemisches für 1 Stunde direkt an den Zellrasen adsorbiert, anschließend wird der Zellrasen mit PBS gewaschen und 2 ml Erhaltungsmedium beigelegt. In beiden Fällen kommt es zu einer zehnfachen Verdünnung des Virus-Serumgemisches, mit oder unmittelbar nach dem Beimpfen.

*Variante 2:* Da mit der ersten Methode der Serumneutralisation keine oder nur selten Antikörper nachgewiesen werden konnten, wurde folgende Modifikation eingeführt: Zu 2 ml Serumverdünnung in Erhaltungsmedium wurde 100 (-1000) TCD<sub>50</sub> des

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. med. vet. F. Bürki, Wien, sei an dieser Stelle für die Überlassung des Virusstammes herzlich gedankt.

<sup>2</sup> Falcon-Plastics, Division of B-D Laboratories, Inc., California.

IBR-Virus in 0,1 ml beigefügt und für eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden die 2,1 ml Virus-Serumgemisch auf den Zellrasen gegeben und dort für die ganze Dauer des Versuches belassen. Dadurch wurde eine Verdünnung des Virus-Serumgemisches während der Inkubation vermieden. Die Ablesung der Röhren erfolgte nach 3, definitiv nach 7 Tagen.

#### *Plaquereduktionstest*

Die Serumverdünnungen und eine Verdünnung des Virus, enthaltend 30 bis 80 Plaque-bildende Einheiten des IBR-Virus pro 0,1 ml, wurden zu gleichen Volumenteilen gemischt und für eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden 0,2 ml des Virus-Serumgemisches bei Zimmertemperatur direkt auf den konfluierenden Zellrasen einer 60 mm Petrischale gegeben und unter wiederholtem leichtem Schwenken der Platten adsorbiert. Nach einer Stunde wurden die Platten mit PBS gewaschen und mit 5 ml einer Agarmediumschicht überdeckt. (Agarmedium: Medium 199 mit 10 % Tryptosephosphatbouillon [Difco], 5 % Kälberserum; etwa 0,2 % NaHCO<sub>3</sub> und 0,7 % Noble Agar.) Die Plaque-Zahl wurde nach 3 bis 4 Tagen bestimmt nach Überschichten jeder Platte mit 1,5 ml einer Neutralrotlösung (0,01 % Neutralrot, 0,1 % NaHCO<sub>3</sub>, 0,1 % Glukose in Earle's physiologischer Salzlösung) und weiterer Inkubation für 4 bis 10 Stunden.

#### *Prüfung der Empfindlichkeit gegenüber Äther und Chloroform* (modifiz. nach Bögel und Mayr (1961).

*Ätherlabilität:* 4 Teile Virussuspension wurden mit 1 Teil Narkoseäther versetzt, geschüttelt und über Nacht bei 4 °C inkubiert. Anschließend wurde zentrifugiert bei 3000 rpm für 30 Minuten, die Ätherphase abgesaugt und der restliche Äther im Vakuum verdampft.

*Chloroformlabilität:* 4,5 ml Virussuspension und 0,5 ml Chloroform (analysenrein) werden für 1 Stunde bei Zimmertemperatur im Schaukelapparat gemischt und anschließend über Nacht bei 4 °C aufbewahrt. Dann wird nochmals geschüttelt und für 30 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Der obere Teil der wässrigen Phase wurde zur Virustiterbestimmung verwendet.

Die mit Äther oder Chloroform behandelten Virussuspensionen werden anschließend in Gewebekultur austitriert.

#### *Bestimmung der Nukleinsäureart durch Hemmwirkung von 5-Iodo-2-Deoxyuridin (IDU)*

Die Inkorporation von IDU anstelle von Thymidin in Virus-Deoxynukleinsäure führt zur Bildung nicht infektiöser Viruspartikel, während ribonukleinsäurehaltige Viren nicht beeinflusst werden.

100 TCD<sub>50</sub> der fraglichen Virusisolate wurden in parallelen Gewebekulturen ohne und mit 50 Mikrogramm IDU<sup>1</sup> ml für 3 Tage bei 37 °C inkubiert und anschließend die gebildete Virusmenge in Gewebekultur austitriert.

#### *Ultrafiltration*

In einem 10 ml Druckfiltergerät unter 1 Atm. Stickstoff-Druck wurde die zu filtrierende Virussuspension entweder sukzessive durch Millipore-Zelluloseester Filter von 220, 100 und 50 m $\mu$  Porendurchmesser filtriert, oder es wurden durch jedes Filter je 10 ml einer nicht vorfiltrierten Virussuspension filtriert.

## Resultate

### *Epidemiologie*

Der Verlauf der Bläschendeckseuche ist in Abb. 1 dargestellt. Erkrankte Tiere wurden erst am 13. Februar gemeldet. Anhand der Buchführung der

<sup>1</sup> kristallines IDU der Sigma Chemical Co.



Stierhalter über das Deckgeschäft, der klinischen und der virologischen Befunde ließ sich aber der Seuchenverlauf wie folgt ermitteln:

Der *Stier A* im Bestand N hat bis zum 4. Februar laufend Kühe gedeckt, ohne selbst klinisch erkrankt zu sein und ohne eine nachweisbare Deckinfektion zu übertragen. Um diesen Zeitpunkt herum muß sich dieser Stier infiziert haben. Die Seuchenquelle konnte nicht eindeutig eruiert werden. Am 5. und 6. Februar deckte der Stier A 3 Kühe und Rinder aus 3 verschiedenen Beständen, davon erkrankten 2 an Bläschenseuche. In beiden Fällen blieb die Krankheit auf das gedeckte Einzeltier beschränkt. Am 7. Februar deckte der Stier A eine Kuh 1882 aus dem Bestand H. Drei weitere Kühe im gleichen Bestand erkrankten der Reihe nach, beginnend mit der Kuh, die der erstinfizierten am nächsten stand. Übertragung mit dem Deckakt ist ausgeschlossen. Sie könnte durch Kontakt (Schwanzschlagen) erfolgt sein. Scheidenspülungen, die zur Übertragung hätten führen können, wurden nach Aussage des Besitzers nicht vorgenommen. Der virologische und der klinische Befund sprechen für ein allmähliches Weitergreifen auf die Nachbartiere.

Eine der kontaktinfizierten Kühe wurde am 18. Februar durch den *Stier C* aus dem Bestand F gedeckt. Dieser Stier erkrankte ebenfalls an einer pustulösen Balanoposthitis. Bevor er als möglicher Streuer erkannt wurde, übertrug er die Krankheit am 21. Februar noch auf eine weitere Kuh im gleichen Bestand F. Diese Infektkette scheint nicht weitergegriffen zu haben.

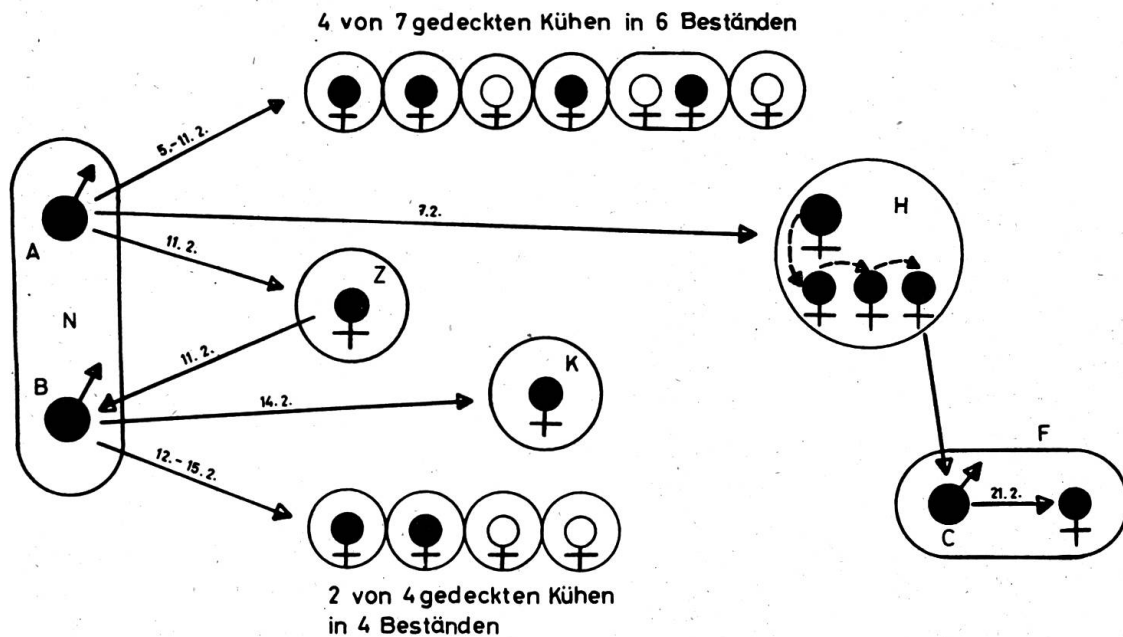


Abb. 1 Schematische Darstellung des beobachteten Seuchenverlaufes. ♂ ♀ infizierte und erkrankte Stiere bzw. Kühe und Rinder. ♀ im gleichen Zeitabschnitt gedeckte, aber nicht erkrankte Kühe oder Rinder. Die detaillierte Beschreibung des Seuchenverlaufes ist im Text zu finden.

3



4



2



Abb. 2 Frühstadium von Bläschenseuche mit einzelnen Pusteln und schleimig-eitrigem Sekret in Vagina.

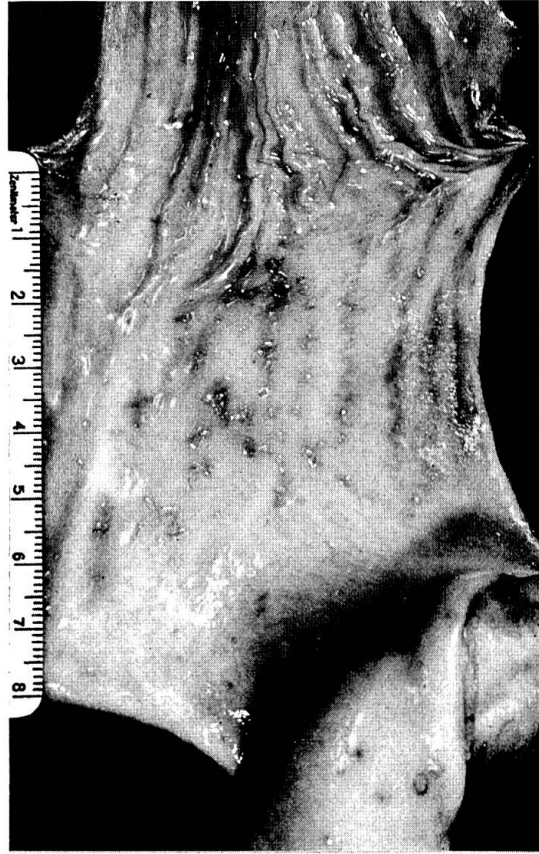
Abb. 3 Beginnendes Konfluieren der Pusteln zu streifenförmigen und unregelmäßigen Schleimhautläsionen.

Abb. 4 Konfluieren der Läsionen zu flächenhaften diphtheroiden Prozessen (Beginn der Abheilung).

6



5



8



7



Abb. 5 und 6 Präputial- und Penisschleimhaut von Stier C mit multiplen *Ulcer*a, namentlich in der Nähe der Umschlagstelle. An Penis zudem kleinleckige Rötungen und kleine Knötchen (Abb. 6).

Abb. 7 Nichtinfizierte Kälberhodenzellkultur. Phasenkontrast, Vergr.  $720\times$ .

Abb. 8 Gleiche Zellkultur, infiziert mit IBR-IPV-Virus, Stamm V 227/67. Charakteristisch ist die Abkuglung der Zellen und die Verschmelzung zu mehrkernigen Zellen. Phasenkontrast-Aufnahme 72 Stunden nach Infektion. Vergrößerung  $720\times$ .

Nachdem der oben erwähnte Stier A im Bestand N am 8. Februar 2 Kühe und 1 Rind aus 3 verschiedenen Beständen gedeckt und zwei davon infiziert hatte, deckte er am 11. Februar ein Rind aus Bestand Z. «Um sicherzugehen», wurde dieses Rind 5 Minuten später noch mit dem jungen Stier B, ebenfalls aus dem Bestand N, gedeckt. Sowohl das Rind als auch dieser Stier B erkrankten in der Folge an Bläschenseuche. Ein weiteres Rind, das der Stier A in diesem Bestand deckte, erkrankte nicht. Der Stier B belegte vom 12. bis 15. Februar noch 5 Kühe und Rinder aus 5 verschiedenen Beständen und übertrug die Krankheit noch je auf ein weiteres Tier in 3 Beständen. Insgesamt wurden, soweit sich dies feststellen ließ, vom 5. bis 21. Februar in 10 Beständen 3 Stiere sowie 13 Kühe und Rinder befallen. Nach Verhängung einer Decksperrre von 4 Wochen Dauer sind keine neuen Fälle mehr beobachtet worden. (Mit Ausnahme von Bestand H konnte kein Weitergreifen von Kuh zu Kuh beobachtet werden.)

Ohne offensichtlichen Zusammenhang mit den obgenannten Fällen (etwa 25 km östlich davon) wurde uns kurze Zeit später ein Bestand W zur Untersuchung gemeldet. Dort waren 6 von 10 Kühen und Rindern klinisch erkrankt. Über Herkunft und eventuelles Weitergreifen der Infektion konnte nichts in Erfahrung gebracht werden. Die Übertragung von Tier zu Tier erfolgte sehr wahrscheinlich mit einem vom Besitzer zu Scheidenspülungen verwendeten Schlauch, der – ohne desinfiziert zu werden – bei einer Reihe von Kühen zur Anwendung gelangte. Eine hochträchtige Kuh, die zwischen infizierten Tieren stand und bei der auch keine Spülungen durchgeführt wurden, blieb von der Infektion verschont.

Im Laufe des Jahres 1967 konnten wir mit Hilfe serologischer und virologischer Erhebungen zwei weitere Ausbrüche in anderen Gegenden nachweisen.

### Klinik

Die Gesamtdauer der Krankheit vom Zeitpunkt der Infektion bis zur klinischen Abheilung betrug bei *Kühen* etwa 14 Tage. Schon 24 Stunden nach dem Deckakt traten Schwellung und Rötung der Vulva auf. Anschließend erschienen an den Vulvalippen, unmittelbar an die Außenhaut angrenzend und in die Vagina hineinreichend, etwa 1 mm große Pusteln, die in einigen Tagen bis zu einem Durchmesser von 3 bis 4 mm anwuchsen (Abb. 2). Die Pusteln waren in diesem Stadium noch von Epithel bedeckt und ließen sich nicht oder nur unter Zurücklassen eines blutenden Kraters abreiben. In der Folge konfluieren die Pusteln und ergaben das Bild einer flächenhaften und streifenförmigen, eitrig-diphtheroiden Vulvovaginitis (Abb. 3 und 4). Die Pseudomembranen lösten sich, darunter kamen Geschwüre zum Vorschein, die in unseren Fällen unter Behandlung mit Akridinorangesalbe in wenigen Tagen abheilten. Die spontane Heiltendenz ist wahrscheinlich groß.

Von den 10 durch *Deckakt* infizierten Tieren haben 6 gleichzeitig konzipiert. Von den 4 übrigen konzipierten 2 nach erster künstlicher Besamung



und eines nach zweiter Besamung, während eine ältere Kuh ohne Belegungsversuch geschlachtet wurde.

Von den drei nach *Kontakt* mit weiblichen Tieren erkrankten Kühen konzipierte eine beim Deckakt, bei dem sie Stier C infizierte, eine Kuh wurde infolge Alters geschlachtet und eine war 6 Monate nach Erkrankung trotz 3 Besamungen und einem natürlichen Deckakt noch untrüchtig.

Zusammenfassend ergibt sich also: Von den 13 erkrankten weiblichen Tieren wurden zwei wegen Alters geschlachtet, ein Tier blieb innert 6 Monaten untrüchtig, und die übrigen haben entweder beim Deckakt, bei dem sie sich infizierten, oder kurz später konzipiert.

### Seuchenpolizeiliche Maßnahmen

Die infizierten Bestände wurden während vier Wochen für den natürlichen Deckakt gesperrt. Während dieser Zeit wurde künstlich besamt.

### Pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen

Die infizierten Kühe und Rinder konnten nur klinisch untersucht werden, da kein weibliches Tier während der Erkrankung geschlachtet wurde. Dagegen gelangten die Geschlechtsorgane der 3 infizierten Stiere nach der Schlachtung zur näheren pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchung (Technik s. König, 1960, S. 511ff. Fixation: Bouinsches Gemisch. Paraffineinbettung. Schnitte mit Hämalaun-Eosin und nach van Gieson gefärbt). Dabei wurden folgende Befunde erhoben:

*Stier A (K 684/67)*, Alter etwa 2 Jahre

(vermutlich um den 4. Februar 1967 infiziert, geschlachtet am 22. Februar 1967)

*Penis- und Präputialschleimhaut:* Blaßgelb, mit feinfleckigen Rötungen und zahlreichen, knapp stecknadelkopfgroßen Knötchen. Histologisch deutliche *chronische Balano-Posthitis follicularis*, herdförmig vermehrt Leukozyten, Eosinophile, Plasmazellen. An mehreren Stellen mit Epitheldurchbrüchen gehäuft Neutrophile. Außerdem Hyperämie und kleine Diapedesisblutungen. Zonenweise verstärkte *hydropische Epithel-degeneration* mit beginnender Neutrophileninfiltration und spärlichen blassen *Kerneinschlußkörperchen*.

*Urethra:* (nahe Penisspitze und im Penisschaft): Leicht- bis mittelgradige herdförmige chronische Urethritis mit spärlichen Leukozyten.

*Stier B (K 785/67)*, Alter 13 Monate

(anscheinend am 11. Februar 1967 infiziert, bei der Schlachtung am 1. März 1967 seziiert)

*Penis- und Präputialschleimhaut:* Blaßgelb, mit einzelnen, knapp stecknadelkopfgroßen Knötchen. Mäßige chronische *Balano-Posthitis follicularis*, an einzelnen Stellen mit Epitheldurchbrüchen. Subepithelial reichlich Plasmazellen und spärlich Eosinophile.

*Urethra:* Bis hinauf zur Prostata mittelgradige chronische Urethritis mit mäßig vielen Leukozyten.

*Hoden:* Beidseitig deutliche vakuolige Degeneration, vor allem im Bereich der Spermiozyten. Spermiogenese herabgesetzt. In Samenkanälchen spärlich Spermien, dagegen vermehrt Restitutionskerne und Spermidenriesenzellen.

*Nebenhoden:* Beidseitig fast entleert. In der Cauda locker gelagerte pyknotische und Restitutionskerne, sehr spärlich Spermien.

Übrige Teile des Geschlechtsapparates und übrige Organe o. B.

*Gliedmaßen:* An Prädilektionsstellen beginnender Dekubitus (nach Festliegen von 10 Tagen Dauer infolge «Vergritten»).

*Stier C (K 760/67),* Alter etwa 4 Jahre

(anscheinend am 18. Februar 1967 infiziert, bei der Schlachtung am 28. Februar 1967 seziiert)

*Penis- und Präputialschleimhaut:* Neben Umschlagstelle des Präputiums eine gut 5 cm breite, ringförmige Zone mit multiplen, rundlich-ovalen, flachen *Ulcera* von 2 bis 3 mm  $\varnothing$ , oft mit gerötetem Rand (Abb. 5). An Glans penis außerdem kleinfleckige Rötungen und 1 bis 2 mm große Knötchen (Abb. 6). Histologisch im Bereich der *Ulcera* reichlich Neutrophile. Daneben etwas vermehrt vakuolige Degeneration, kleine intra-epitheliale Leukozytennester, Hyperämie und kleine Diapedesen. Solitärfolikel vergrößert.

*Urethra:* Im Penisschaft leicht eitrig, gegen die Prostata hinauf abnehmende Urethritis.

*Samenblase links:* Vereinzelt submiliare Infiltrate (Plasmazellen, Lymphozyten).

*Hoden:* In einzelnen Tubuli vakuolige Degeneration im Bereich der Spermiozyten, sonst o. B. (Spermiengehalt in beiden Nebenhoden normal).

Übrige Teile des Geschlechtsapparates und übrige Organe o. B.

### Virusisolierung

Die Ergebnisse der Virusisolierungsversuche im ersten Ausbruch sind in Tabelle 1 zusammengefaßt; die beschränkte Zahl der Tiere erlaubt keine allgemeinen Schlüsse. Der Virusnachweis gelang zwischen 1 bis 15 Tagen

Tabelle 1

Bestand	Tier Nr.	Klinisches Bild am Tag der Materialentnahme	Tage nach der Infektion durch Deckakt	Virustiter in Tupfer oder Spülproben TCD <sub>50</sub> /0,1 ml <sup>1</sup>
N	Stier A	Balanoposthitis granulosa	17	negativ
	Stier B	Balanoposthitis granulosa	11	< 10 <sup>0</sup> , positiv nach Subkultur
H	Kuh 1882	abgeheilt	15	nicht untersucht
	Kuh 755	diphtheroide Vulvovaginitis	< 15	10 <sup>0</sup>
	Kuh 2178	pustulöse, semikonfluierende diphtheroide Vulvovaginitis	< 15	10 <sup>5</sup>
K	Kuh 6035	pustulöse Vulvovaginitis a	8	10 <sup>2</sup>
	Kuh 6079	b	8	10 <sup>2</sup>
F	Stier C	Balanoposthitis	4	10 <sup>4.7</sup>
	Kuh 1413	katarrhalische, akute a	1	10 <sup>3.0</sup>
		b	1	10 <sup>1.7</sup>

<sup>1</sup> Berücksichtigt man die ungefähre Verdünnung der mit den Tupfern entnommenen vaginalflüssigkeit im Isoliermedium, so ergibt sich ein Virustiter/0,1 ml, der etwa 20 mal höher liegt als die aufgeführten Werte. Bei den Präputialspülungsproben läßt sich die Verdünnung nicht genau abschätzen, sie könnte aber etwa gleich groß sein.



nach der Infektion. Die maximalen Virustiter betragen auf der Höhe der klinischen Erkrankung unter Berücksichtigung der Verdünnung im Isoliermedium etwa 10 Millionen Gewebekultur-infektiöse Dosen (TCD<sub>50</sub>) pro Milliliter Vaginalflüssigkeit und Präputiumschleim. Elf bzw. 11 bis 15 Tage nach Beginn der Erkrankung waren nur noch Spuren des Virus nachweisbar, ein Tag nach dem Deckakt bei einer Kuh ein- bis zehntausend infektiöse Einheiten. Es wurde nicht versucht, die Dauer der Virusausscheidung zu verfolgen, obgleich diese Information natürlich sehr wertvoll wäre.

Das Isolat von Stier C wurde weiterverwendet für die nähere Charakterisierung; es trägt die Bezeichnung V 227/67.

Im unabhängigen Bestand W wurde IBR-Virus bei 2 Kühen mit klinischen Erscheinungen aus Vaginalabstrichen und bei einer weiteren Kuh aus einem Nasentupfer isoliert.

### Viruscharakterisierung

V 227/67 wurde plaque-gereinigt und dreimal in Kälberhodenzellen passagiert. Die in den Charakterisierungsversuchen verwendete Viruscharge hatte einen Titer von 10<sup>6</sup> TCD<sub>50</sub>/0,1 ml.

### Äther- und Chloroformempfindlichkeit

Die in Tabelle 2 aufgeführten Versuchsergebnisse zeigen die vollständige Inaktivierung des Virus durch Äther und Chloroform.

Tabelle 2 Äther- und Chloroformempfindlichkeit

	Virusmenge TCD <sub>50</sub> /0,1 ml
V 227/67 unbehandelt	10 <sup>6.5</sup>
V 227/67 nach Ätherbehandlung <sup>1</sup>	< 1
V 227/67 nach Chloroformbehandlung	< 1

<sup>1</sup> Technik siehe unter Methoden

### Hemmung der Virusreplikation durch 5-Iodo-2-Deoxyuridin

Die Beisetzung von IDU zum Kulturmedium führte zu einer vollständigen Unterdrückung der Virusentwicklung und des charakteristischen zytopathischen Effektes (Tabelle 3).

Tabelle 3 Hemmung der Virusreplikation durch 5-Iodo-2-Deoxyuridin

Virusinokulum TCD <sub>50</sub>	Inkubation in GK für 3 Tage bei 37° C	Virustiter (TCD <sub>50</sub> /0,1 ml) nach Inkubation
10 <sup>2</sup>	ohne IDU	10 <sup>6.3</sup>
10 <sup>2</sup>	mit 50 µg IDU pro ml Kultur- medium	< 1

### Ultrafiltration

Millipore-Filter mit einem mittleren Porendurchmesser von  $220 \pm m\mu$  hemmen den Durchtritt von Viruspartikeln sehr stark. Filter mit dem mittleren Porendurchmesser von  $100 \pm m\mu$  halten das Virus vollständig zurück (Tabelle 4).

Das Virus besitzt einen Durchmesser von über  $100 m\mu$  und unter  $220 m\mu$ .

Tabelle 4 Ultrafiltration von V 227/67

Mittlerer Filterporen- durchmesser	Virustiter im Ultrafiltrat TCD <sub>50</sub> /0,1 ml	
	Versuch a	Versuch b
Unfiltriert	10 <sup>6.0</sup>	10 <sup>6.2</sup>
220 $\mu\text{m}$	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2.3</sup>
100 $\mu\text{m}$	< 1	< 1
50 $\mu\text{m}$	< 1	< 1

### Verhalten in Gewebekultur

In Kälberhodenzellkultur produziert das Isolat 227/67 einen charakteristischen CPE, identisch mit den Veränderungen, hervorgerufen durch den IBR-Vergleichsstamm. Der CPE ist charakterisiert durch eine Abkuglung der Zellen innerhalb von etwa 48 Stunden, unter Bildung von Polykaryozyten, gefolgt von Ablösung der Zellen und vollständiger Zerstörung des Zellrasens innerhalb von etwa 72 Stunden. Die Kultur zeigt keine hämasorbierenden Eigenschaften (Abb. 7 und 8).

### Serologische Identifizierung des Isolates 227/67

Die Kreuzneutralisationsversuche mit den IBR-IPV-Antiseren zeigten eine gleichsinnige Neutralisation unseres Isolates 227/67 und des IBR-Vergleichsstammes (Tabelle 5).

Tabelle 5 Kreuzneutralisation von IBR und V 227/67, Neutralisationsindex

Virusstamm	Anti-IBR 10 neutralisierende Einheiten	Anti-V 227/67 10 neutralisierende Einheiten
IBR	4,2	4,7
V 227/67	5,3	5,2

### Serologische Bestandsuntersuchungen

Für die serologischen Untersuchungen standen uns je zwei Serumproben zur Verfügung. Beim ersten beobachteten Ausbruch wurde die erste Serumprobe am 22. Februar entnommen, also je nach Tier 1 bis 17 Tage nach der

Deckinfektion. Eine zweite Serumprobe wurde am 25. April, das heißt 62 Tage später entnommen. Beim isoliert beobachteten Ausbruch in einem Einzelbestand wurde eine erste Serumprobe am 25. April, eine zweite Serumprobe am 2. Juni entnommen, also im Abstand von 38 Tagen; in diesem Bestand ist der Zeitpunkt der Infektion der Einzeltiere nicht bekannt.

Versuche, neutralisierende Antikörper nachzuweisen in einer Versuchsanordnung, bei der das Virus-Serumgemisch nach Ablauf der Virus-Antikörperreaktion 10fach verdünnt wurde (vgl. Methoden Variante 1), verliefen nur bei 6 von 24 Serumproben positiv. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Rapporten aus der Literatur (Gillespie et al. 1959) (Rolle und Mayr 1966), welche über geringgradiges oder fehlendes Auftreten zirkulierender Antikörper im Anschluß an die vaginale Infektion mit IBR-IPV berichten. Beim Serumneutralisationstest Variante 1 trat aber der zytopathische Effekt des Virus bei einzelnen Seren etwas verzögert auf, was auf eine partielle Hemmung schließen ließ. Die Seren wurden deshalb im Plaque-reduktionstest gegen 30 bis 80 plaquebildende Einheiten des V 227/67 geprüft.

Im Plaque-Reduktionstest ließen sich bei allen Tieren in der zweiten Serumprobe – bei einzelnen auch in der ersten – neutralisierende Antikörper nachweisen (Abb. 9). Wird als Serumtiter eine 50% Reduktion der Plaquezahl angenommen, so betragen die Titer bei den positiven Seren 1/16 bis 1/32 und mehr (Tab. 6). Diese Methode ist leider sehr aufwendig und für Routine-diagnostik in unsern Verhältnissen nicht geeignet.

Die Serumneutralisation in Gewebekulturröhrchen wurde deshalb so modifiziert (vgl. Methoden Variante 2), daß keine Verdünnung des Virus-Serumgemisches während der Adsorption und der nachfolgenden Inkubation erfolgt. Die Resultate dieser modifizierten Serumneutralisation sind in Tabelle 6 aufgeführt. Der Test zeigte eine ähnliche Empfindlichkeit wie der Plaquereduktionstest und ergab gleichsinnige Resultate. Der einzige Nachteil der modifizierten Methode liegt im relativ großen Serumverbrauch.

In der Komplementbindungsreaktion, in der ein Gewebekulturantigen verwendet wurde, konnte bei keiner der getesteten Serumproben eine positive Reaktion nachgewiesen werden.

### Diskussion

Die wirtschaftliche Bedeutung der Bläschenseuche läßt sich schwer in Zahlen fassen. Obschon die Genitalinfektion beim Stier und beim weiblichen Tier mit wenigen Ausnahmen gutartig verläuft, ergeben sich doch wirtschaftliche Verluste: 1. wird das normale Deckgeschäft unterbrochen, 2. ist die Konzeptionsrate der Kühe, die beim Deckakt infiziert werden oder die schon vorher erkrankt waren, herabgesetzt, 3. kann die Infektion trächtiger Kühe zu Abort führen. Als besonders schwerwiegend wirkt sich 4. die Verbreitung von IPV-Virus durch infizierten Samen bei künstlicher Besamung

Tabelle 6 Vergleich zwischen verschiedenen Serumneutralisationstesten für IBR-IPV-Virus

Tier Nr.	Zeitpunkt der Serumentnahme Tage nach Infektion		SN-Test (Variante 1)		Modifiz. SN-Test (Variante 2)		Plaque-Reduktionstest (50% Reduktion)	
	1. Probe	2. Probe (62 Tage später)	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe
	Kuh 1413	1	63	< 1/5	< 1/5	< 1/4	1/8 <sup>1</sup>	< 1/2
Kuh 1882	15	77	< 1/5	< 1/5	1/16	1/16	> 1/32	1/32
Kuh 755	< 15	62-77	< 1/5	< 1/5	< 1/4	1/4	1/2	1/32 <sup>1</sup>
Kuh 2178	< 15	62-77	< 1/5	< 1/5	< 1/4	1/16 <sup>1</sup>	< 1/2	> 1/32 <sup>1</sup>
Kuh 6035	< 15	-	< 1/5	-	-	-	< 1/2	-
Kuh 6079	8	70	< 1/5	1/5	< 1/4	1/32 <sup>1</sup>	< 1/2	> 1/32 <sup>1</sup>
Stier A	17	-	-	-	-	-	> 1/2	-
Stier B	11	-	< 1/5	-	-	-	< 1/2	-
Kuh 1	nicht	38 Tage	< 1/5	< 1/5	< 1/4	1/16 <sup>1</sup>	< 1/2	> 1/32 <sup>1</sup>
Kuh 2	bekannt	nach	1/10	1/20	1/32	> 1/64	> 1/32	> 1/32
Kuh 3		1. Serum-	1/20	1/10	1/64	1/32	> 1/32	> 1/32
Kuh 4		entnahme	< 1/5	< 1/5	1/8	1/16	> 1/32	> 1/32
Kuh 5			< 1/5	1/5	1/8	1/16	> 1/32	> 1/32
Kuh 6			< 1/5	< 1/5	1/4	1/16 <sup>1</sup>	1/16	> 1/32

<sup>1</sup> Signifikanter Titeranstieg von 1. auf 2. Serumprobe

- nicht untersucht

Serumneutralisationstest: Varianten 1 und 2 arbeiten beide mit konstanter Virusmenge und variabler Serumkonzentration. Bei Variante 1 erfolgt beim Beimpfen der Gewebekulturröhrchen eine Verdünnung von 1/20, bei Variante 2 erfolgt keine Verdünnung des Virus-Serumgemisches. Details siehe Methoden.

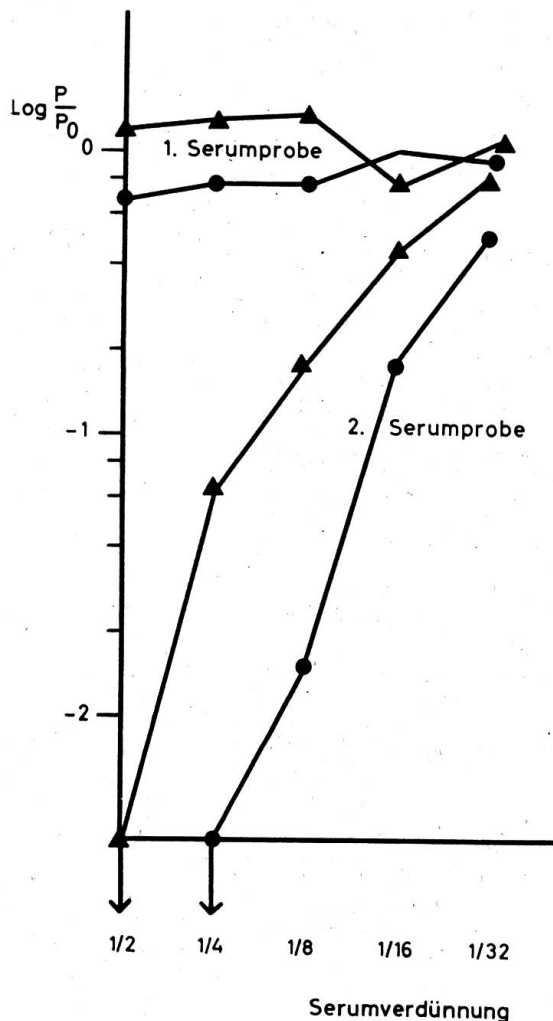


Abb. 9 *Plaque-Reduktionstest* mit Serumpaaren zweier Kühe.  $\blacktriangle$  Kuh 1413,  $\bullet$  Kuh 6079; erste Serumprobe am 1. bzw. 8. Tag nach der Infektion, zweite Serumprobe 62 Tage später. Durchführung der Neutralisation siehe unter Methoden.  $P$  = beobachtete Plaquezahl,  $P_0$  = Anzahl Plaques in Kontrollkulturen ohne Antikörper.

aus (Straub und Mäckle 1965), da der Erreger in diesem Fall in das Uteruslumen deponiert wird und dort zu nekrotisierenden Endometritiden führen kann (Kendrick und McEntee 1966).

Verschiedene ausländische Veterinärbehörden verlangen für Importstiere eine serologische Untersuchung auf IBR-IPV-Antikörper, um sich gegen Ausbrüche im Anschluß an künstliche Besamung zu schützen. Serologische Untersuchungen als Grundlage für seuchenpolizeiliche Maßnahmen im internationalen Tierverkehr sind sicher nur dann berechtigt, wenn eine genügend empfindliche Nachweismethode für Antikörper angewendet wird. Es ist aber fraglich, ob es sinnvoll ist, Tiere mit positiven Antikörpertitern zu sperren, da zirkulierende Antikörper meist parallel mit Immunität gehen und umgekehrt negative Tiere sich im Inkubationsstadium befinden können. Der Entscheid hängt unter anderem auch von der Seuchelage im Importland ab.

Wie unsere Untersuchungen in Übereinstimmung mit ausländischen Autoren (Roth und Mayr 1966, Dawson und Darbyshire 1964) zeigen, sind

die neutralisierenden Antikörper gegen IPV-Virus bei Tieren mit nachgewiesener Genitalinfektion in der üblichen Testanordnung nur in sehr geringen Titern oder bei vielen Tieren überhaupt nicht nachweisbar.

Damit wäre auch die serologische Untersuchung als Grundlage seuchenpolizeilicher Kontrolle der Bläschenseuche, zum Beispiel im künstlichen Besamungsbetrieb, unbrauchbar. In unseren Fällen zeigten nur 6 von 24 Serumproben infizierter Tiere positive Reaktionen in der üblichen Anordnung der Virusneutralisation, wobei in keinem Fall signifikante Titerbewegungen auftraten. Im Plaquereduktionstest und im modifizierten Serumneutralisationstest ließen sich dagegen spezifische Reaktionen in 18 von 22 untersuchten Serumproben nachweisen. Bei 5 von 11 Tieren, von welchen gepaarte Serumproben zur Verfügung standen, konnten mit diesen Methoden zudem signifikante Titeranstiege festgestellt werden. Diese erhöhte Sensibilität der beiden letztgenannten Methoden könnte sowohl auf einer Verhinderung der Reaktivierung von Virus durch Verdünnung des Serum-Virusgemisches beim Beimpfen der Kulturen als auch auf der längeren Einwirkungsdauer der Antikörper oder auf beiden zusammen beruhen.

Als einziger Nachteil für die Routinediagnostik ist der relativ große Serumverbrauch zu nennen (2 ml Serum bei einer Ausgangsverdünnung von 1/4 und zwei Röhrchen pro Verdünnung). Wie wir nachträglich feststellten, verwendeten auch McKercher et al. 1959, McKercher und Straub 1960 sowie Mondino und Straub 1966 eine ähnliche Versuchsanordnung mit einem kleineren Endvolumen von 1 ml.

Der neutralisierende Effekt auf IBV-Virus wird als spezifisch angesehen, weil signifikante Titeranstiege im Anschluß an eine nachgewiesene Infektion mit diesem Virus beobachtet werden konnten. Die Titeranstiege stehen in keiner Beziehung zu neutralisierenden Antikörpern gegen Virusdiarrhoevirus und zu hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegen Parainfluenza 3.

In den von uns untersuchten Fällen wurde die Infektion vor allem durch den Deckakt übertragen, daneben aber auch durch Kontakt mit weiblichen Nachbartieren und eventuell via Scheidenspülungen durch den Besitzer. Die Übertragung wird durch die hohen Virustiter in den Genitalsekreten von bis zu 1 Million infektiöser Viruspartikel pro 1 ml Exsudat und Schleim begünstigt.

Was die klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen angeht, so entsprechen unsere Beobachtungen den Angaben in der Fachliteratur (zum Beispiel der farbig bebilderten Darstellung von Straub 1967). Auch die histologischen Befunde bei den 3 untersuchten Stieren bieten nichts Neues, abgesehen von *sekundären degenerativen Hodenveränderungen*, welchen gewöhnlich zu wenig Beachtung geschenkt wird. Beim Stier C dürfte dazu allerdings das akzidentelle Festliegen wesentlich beigetragen haben. Auf die Möglichkeit sekundärer ascendierender Infektionen im Harnsamenweg und auf die gelegentlich im Anschluß an Bläschenseuche auftretende Orchitis wurde schon früher hingewiesen (König 1960). In den vorliegenden Fällen



kam es nicht zu dieser schweren Verlaufsform. Die im Harnsamenweg der 3 Stiere vorhandenen Abwehrreaktionen dürften als unspezifisch zu werten sein, während ein großer Teil der Präputial- und Penisschleimhaut-Läsionen bei Stier A und C mit Bläschenseuche in Zusammenhang zu bringen ist. Bei Stier B schien – morphologisch gesehen – die Infektion bei der Schlachtung bereits abgeklungen.

#### Zusammenfassung

Zwei Ausbrüche von Bläschenseuche wurden epidemiologisch, klinisch, pathologisch-anatomisch und virologisch untersucht. Der Nachweis von IBR-IPV-Virus und von spezifischen Antikörpern gelang bei der Mehrzahl von 22 infizierten Tieren (19 Kühe und Rinder, 3 Stiere). Zum Nachweis neutralisierender Antikörper wurden 3 verschiedene Methoden geprüft. Der Plaque-Reduktionstest und eine Methode ohne Verdünnung des Serum-Virusgemisches beim Beimpfen erwiesen sich als wesentlich empfindlicher als die übliche Serumneutralisation. Klinische, pathologisch-anatomische und histologische Befunde entsprachen dem aus der Literatur bekannten Krankheitsbild.

#### Résumé

Deux éruptions de vaginite contagieuse ont été étudiées sur les plans épidémiologique, clinique, anatomo-pathologique et virologique. Les auteurs ont réussi à déceler la présence du virus IBR-IPV et d'anticorps spécifiques chez la plupart des 22 animaux infectés (19 vaches et génisses et 3 taureaux). Ils ont expérimenté trois méthodes différentes pour prouver la présence d'anticorps neutralisants. Le test de la réduction sur plaque et une méthode sans dilution du mélange sérum-virus se sont avérés beaucoup plus sensibles lors des inoculations que la neutralisation usuelle du sérum. Les résultats des examens clinique, anatomo-pathologique et histologique correspondent à l'aspect clinique décrit dans la littérature.

#### Riassunto

Due casi di vaginite contagiosa vennero esaminati dal lato epidemiologico, clinico, patologico-anatomico. L'identificazione del virus IBR-IPV e di anticorpi specifici fu possibile nella maggior parte di 22 animali infetti (19 vacche e 3 tori). Per l'identificazione di anticorpi neutralizzanti si usarono 3 metodi diversi. Il test della riduzione sulla placca ed un metodo senza diluzione del miscuglio siero-virus si dimostrarono molto più sensibili che le altre usuali neutralizzazioni. Reperti clinici, patologico-anatomico ed istologici corrisposero a quelli descritti nella letteratura.

#### Summary

Two outbreaks of vesicular stomatitis were examined epidemiologically, clinically, pathological-anatomically and virologically. IBR-IPV-virus and specific antibodies could be proved in most of the 22 infected animals (19 cows and heifers, 3 bulls). Three different methods were tested to prove neutralising antibodies. The plaque-reduction test and a method not involving dilution of the serum-virus mixture in inoculation proved to be considerably more sensitive than the usual serum neutralisation. Clinical, pathological-anatomical and histological findings corresponded to the picture of the disease as already known in literature.

## Literatur

Abinanti F.R. and Plumer G.J.: The isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from cattle affected with conjunctivitis. Observations on the experimental infection. *Am. J. vet. Res.* 22, 13–17 (1961). – Bögel K. und Mayr A.: Untersuchungen über die Chloroformresistenz der Enteroviren des Rindes und des Schweines. *Zbl. Vet. Med.* 8, 908–922 (1961). – Dawson P. S. and Darbyshire J. H.: The occurrence and distribution in the United Kingdom of antibodies to parainfluenza 3 and infectious bovine rhinotracheitis viruses in bovine sera. *Vet. Rec.* 76, 111–115 (1964). – French E. L.: Relationship between infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus and a virus isolated from calves with encephalitis. *Austr. Vet. Sci.* 38, 555–556 (1962). – Gillespie J.H., McEntee K., Kendrick J.W. and Wagner W.C.: Comparison of infectious pustular vulvovaginitis virus with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Cornell Vet.* 49, 288–297 (1959). – Hess E.: Die Sterilität des Rindes, ihre Erkennung und Behandlung. Schaper Hannover 1920. – Hofmann W. und G. Flückiger: Die Fortpflanzungsstörungen des Rindes und deren Behebung. 2. Aufl., Huber Bern 1953. – Kendrick J.W. and McEntee K.: The effect of artificial insemination with semen contaminated with IBR-IPV virus. *Cornell Vet.* 57, 3–11 (1967). – König H.: Zur Pathologie der Geschlechtsorgane beim Stier (Habilitationsschrift Bern 1960). *Arch. exp. Veterinärmed.* 16, 501–584 (1962). – Madin S.H., York C.J. and McKercher D.G.: Isolation of the bovine rhinotracheitis virus. *Science* 124, 721 (1956). – McKercher D.G., Straub O.C., Saito J.K. and Wada E.M.: Comparative studies of the etiological agent of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis. *Canad. J. comp. Med.* 23, 320–328 (1959). – McKercher D.G. and Straub O.C.: Isolation of the virus of infectious bovine rhinotracheitis from range cattle. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 137, 661–664 (1960). – Mondino G. und Straub O.C.: Vergleichende Untersuchungen an zwei europäischen Rhinotracheitis-Virusstämmen. *Tierärztl. Umschau* 21, 569–572 (1966). – Rolle M. und Mayr A.: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. Enke Stuttgart 1966. S. 620–621, Immunologie des Bläschenausschlages des Rindes. – Straub O.C.: Die Rhinotracheitis und der Bläschenausschlag des Rindes. *Vet.-med. Nachrichten* 1967, 253–263. – Straub O.C. und Mäckle N.: Ein Ausbruch des Bläschenausschlages in einer Besamungsstation. *Tierärztl. Umschau* 20, 113–116 (1965). – Straub O.C., Matheka H.D. und Strohmayer K.: Die Differenzierung des Virus der Rhinotracheitis (IBR) vom Virus des Bläschenausschlages (IPV) durch die trägerfreie Viruszonenelektrophorese in einem Glukose-Dichtegradienten. *Zbl. Vet.-med. Reihe B*, 11, 565–571 (1964). – Studdert M.J., Barker C.A.V. and Sava M.: Infectious pustular vulvovaginitis virus infection of bulls. *Am. J. vet. Res.* 105, 303–314 (1964). – U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Monograph No. 74 (1965). Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro Test. Allen L. Casey and Laboratory Branch Task Force, Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia USA.

Frl. Gertrud Schmer sei an dieser Stelle für ihre ausgezeichnete technische Hilfe herzlich gedankt.

**Zur Behandlung der Ranula beim Hund.** Von C.W. Prescott. *Aust. vet. J.* 44/8, 382 (1968).

Die Speichelzyste, die beim Hund oftmals unter der Zunge zum Vorschein kommt, kann erhebliche Ausmaße annehmen, so daß aus kosmetischen Gründen und um Futter- und Wasseraufnahme zu erleichtern, eingeschritten werden muß. Wenn man die Zyste nur spaltet, so fließt zwar der Inhalt aus, aber der Sack füllt sich in der Regel bald wieder. Die radikale Therapie ist bekanntlich die Exstirpation der Gl. sublingualis und submaxillaris, was beim Hund ziemlich leicht möglich ist, aber immerhin eine eingreifende Operation bedeutet. Der Verfasser hat in einigen Fällen eine einfachere Behandlung als wirksam befunden: Nach breiter Spaltung, eher vertikal, Einnähen einer Drahtligaturschleife in den Zungengrund, so daß der zusammengedrehte Teil aus der Wunde herauschaut, aber nicht zwischen die Zähne kommt. In allen Fällen blieb eine Öffnung, durch welche sich der Speichel entleeren konnte. Kontrollen nach 5 bis 6 Monaten ergaben guten Speichelabfluß bei immer noch vorhandener Ligaturschleife.

A. Leuthold, Bern