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

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 122 (1980)

Artikel: Die Wirksamkeit der Pferde-Influenza-Impfstoffe mit Berücksichtigung des Tetanustoxoids der kombinierten Impfstoffe

Autor: Bommeli, W. / Kihm, U. / Löhrer, J.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-588623

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.08.2025

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

Schweiz. Arch. Tierheilk. *122*, 27–37, 1980

Aus dem Eidgenössischen Vakzine-Institut des Bundesamtes für Veterinärwesen[1], der Kuranstalt der Eidgenössischen Militärpferdeanstalt[2] und dem Veterinär-Bakteriologischen Institut der Universität Bern[3]

Die Wirksamkeit der Pferde-Influenza-Impfstoffe mit Berücksichtigung des Tetanustoxoids der kombinierten Impfstoffe

von *W. Bommeli*[1], *U. Kihm*[1], *J. Löhrer*[2] und *H. Fey*[3]

Respirationskrankheiten verursacht durch equine Influenzaviren treten immer wieder und in den verschiedensten Ländern seuchenhaft auf (*Thein* und *Härtl,* 1977; *Sherman* et al., 1977; *Hulse,* 1972; *Powell* et al., 1977; *Bommeli* und *Kihm,* 1979). Erkrankte Pferde werden häufig so stark geschädigt, dass sie nach durchgemachter Influenza eine lange Schonzeit benötigen, bis man ihnen wieder Hochleistungen abverlangen kann (*Gerber* und *Löhrer,* 1966).

Der Schweizer Pferdebestand wurde 1936, 1965 und 1979 von Influenza-A-equi-2-Epidemien heimgesucht. 1936 und 1965 waren die Pferde nicht geimpft. 1979 blieben die immunisierten Tiere verschont oder zeigten nur leichtere Krankheitserscheinungen.

Influenza-A-equi-1-Epidemien wurden viel häufiger und in kürzeren Abständen beobachtet. A-equi-1-Infektionen waren in der Eidgenössischen Militärpferdeanstalt oft die Wegbereiter für Akklimatisationskrankheiten mit Druse und ihren Folgen. Seit dem Jahr 1967, als die Influenzaimpfung eingeführt wurde, verliefen die Akklimatisationserkrankungen weniger dramatisch. Die Druseerkrankungen wurden seltener und harmloser. Zudem werden seit 1970 alle Armeepferde jährlich gegen Influenza geimpft. Dadurch blieben sie von dieser Infektionskrankheit weitgehend verschont.

Grössere Influenzaepidemien beim Menschen sind häufig gefolgt von wesentlichen Veränderungen der Oberflächenantigene des Influenza-A-Virus (antigenic shift). Im Gegensatz dazu konnte bis jetzt bei Influenza A equi 1 und 2 kein solches Verhalten nachgewiesen werden. Isolate verschiedener Seuchenzüge zeigen höchstens leichte Unterschiede im serologischen Verhalten. Diese Tatsache erleichtert die Herstellung von equinen Influenzavakzinen, indem man grundsätzlich immer die gleichen Antigen-Varianten mit relativ gutem Erfolg verwenden kann.

Bis zur systematischen Starrkrampfschutzimpfung aller Depotpferde im Jahre 1957 wurden in der Eidgenössischen Militärpferdeanstalt pro Jahr drei bis acht Starrkrampffälle verzeichnet. Seither ist kein einziges geimpftes Tier mehr an Tetanus erkrankt, obwohl nur noch eine zweimalige Grundimmunisierung im Abstand von sechs bis acht Wochen durchgeführt wurde. Der Antikörpertiter kann zwar unter die Nachweisgrenze absinken, es bleibt aber eine lebenslängliche Immunität erhalten (*Löhrer* und *Radvila,* 1970).

Korrespondenzadresse: Dr. W. Bommeli, Eidg. Vakzine-Institut, Hagenaustrasse 74, Postfach, CH-4000 Basel 25.

Ziel der vorliegenden Publikation ist es, die Möglichkeiten und Grenzen der Prophylaxe gegen Influenza anhand der in der Schweiz zugelassenen Vakzinen darzustellen. Wir berichten über die immunogene Wirksamkeit der verschiedenen Erzeugnisse. Die Resultate der Antikörperuntersuchungen bei Pferden, Mäusen und Hühnern werden verglichen, und es wird mit statistischen Verfahren versucht, Korrelationen zu finden. Zusätzlich haben wir die Tetanuskomponente der kombinierten Impfstoffe auf ihre Wirksamkeit geprüft.

Material und Methoden

Vakzinen:

Acht verschiedene Vakzinen wurden untersucht, welche aus Allantoisflüssigkeit von mit A equi 1 und 2 infizierten Hühnereiern hergestellt wurden.

I	Fluvac (Fort Dodge, USA)	Öl-Adjuvans (neuerdings Aluminiumphosphat-Adjuvans)
II	Fluvac-T (Fort Dodge, USA)	Aluminiumphosphat-Adjuvans, zusätzlich Tetanustoxoid enthaltend
III	Prevacun (Behringwerke, BRD)	Aluminiumhydroxid-Adjuvans
IV	Prevacun T (Behringwerke, BRD)	Aluminiumhydroxid-Adjuvans, zusätzlich Tetanustoxoid enthaltend
V	Duvaxyn IE (Philips-Duphar, Holland)	kein Adjuvans
VI	Duvaxyn IET (Philips-Duphar, Holland)	Aluminiumphosphat-Adjuvans, zusätzlich Tetanustoxoid enthaltend
VII	Equiflu (Norden, USA)	Aluminiumhydroxid-Adjuvans
VIII	Gripiffa (Iffa-Mérieux, France)	Aluminiumhydroxid-Adjuvans

Alle Vakzinen ausser I und II enthalten die Virusstämme A equi 1/Prag/56 und A equi 2/Miami/63. Die Vakzinen I und II enthalten Stamm A equi 2/Lexington, welcher allerdings serologisch dem Stamm A equi 2/Miami/63 entspricht.

Die Kuranstalt der Eidgenössischen Militärpferdeanstalt stellte uns 119 im Januar und Februar 1978 frisch zugekaufte 4jährige Freiberger Pferde für die Impfversuche zur Verfügung. Die Pferde wurden in 8 zufällige Gruppen aufgeteilt, die je mit einer Vakzine behandelt wurden.

Der Impfstoff VII konnte nur an einer Gruppe von 7 Pferden getestet werden, da er erst nach Versuchsbeginn verfügbar war. Für die andern Impfstoffe standen je 16 Pferde zur Verfügung.

Die Pferde standen während des ersten halben Jahres des Versuchs entweder in der Eidgenössischen Militärpferdeanstalt oder waren in Train-Rekrutenschulen im Einsatz. Später wurden sie grösstenteils an private Halter verkauft. Als Laborversuchstiere verwendeten wir pro Vakzine 4 Hühner und 6 10–12 g schwere SPF-Mäuse (Auszucht-Stamm Füllinsdorf Albino).

Tabelle 1 Impfplan

Tier-art	Injektions-weg	Intervall zwischen 1. und 2. Vakzination	Intervall zwischen 2. und letzten Blutproben
Pferd	i.m.	6 Wochen	3½ Wochen, 11–14 Monate
Huhn	i.m.	6 Wochen	3 Wochen
Maus	s.c.	2 Wochen	2 Wochen

Der zu prüfende Impfstoff wurde den Pferden zweimal im Abstand von 6 Wochen seitlich am Hals in der vorgeschriebenen Dosierung i.m. appliziert.

Sämtliche Pferde, die nicht bereits im Kombinations-Impfstoff Tetanustoxoid erhalten hatten, wurden gleichzeitig mit einer Tetanusvakzine an der andern Halsseite i.m. geimpft. Die Hühner und Mäuse wurden nach der von *Frerichs* et al., (1972) vorgeschlagenen Methode jeweils mit einer Vierteldosis, erstere im Abstand von 6 Wochen i.m., letztere im Abstand von 2 Wochen s.c. vakziniert.

Blutproben:

Den Pferden wurden jeweils unmittelbar vor den Impfungen, 3½ Wochen und 11 bis 14 Monate nach der zweiten Impfung Blutproben entnommen. Den Hühnern wurden bei der ersten Impfung, 10 Tage nach der ersten Impfung und 20 Tage nach der zweiten Impfung Blutproben genommen. Eine Hälfte der Mäuse wurde 14 Tage nach der ersten Impfung, die andere 14 Tage nach der zweiten Impfung entblutet.

Hämagglutinationshemmtest (HAH-Test):

Die Seren wurden bei –20 °C bis zur Weiterverarbeitung gelagert. Um eventuelle unspezifische Hämagglutinine und Hemmstoffe zu entfernen, wurden sämtliche Seren unmittelbar vor Titration folgendermassen behandelt: je 0,4 ml Serum wurde 1 : 4 mit PBS verdünnt und 30 Min. bei 56 °C inaktiviert. Dann wurde je 0,4 ml 25% Kaolin zugegeben und nach 30 Min. Einwirkungszeit bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Der Überstand wurde mit 0,05 ml 50%iger Hühnererythrozyten-Suspension 1 Std. bei 37 °C versetzt und nach 1 Std. bei 37 °C zentrifugiert. Der so gewonnene Überstand entsprach folglich einer 1 : 8-Serumverdünnung.

Als Antigen dienten die Myxovirusstämme Influenza A equi 1/Prag 56 und A equi 2/Miami/63[1], die auf embryonierten Hühnereiern vermehrt wurden. Die virushaltige Allantoisflüssigkeit wurde 20 Min. bei 3000 rpm klarzentrifugiert. Das A-equi-2-Virus wurde nach der Methode von *John* und *Fulginiti* (1966) mit Tween-Äther behandelt: Tween-80 wurde bis zu einer Endkonzentration von 0,125% zugegeben. Nach 10 Min. Mischen wurde Äther bis zu einer Endkonzentration von 33 Vol.-% zugegeben und während 15 Min. bei 4 °C geschüttelt.

Das Gemisch wurde dann 20 Min. bei 3000 rpm kühlzentrifugiert und die wässrige Phase anschliessend gewonnen. Der Äther wurde im Vakuum verdampft.

Die HAH-Titrationen wurden in V-förmigen Mikroplatten durchgeführt. Die Seren wurden in 2er-Schritten verdünnt, dann mit 4 hämagglutinierenden Einheiten gemischt und 30 Min. bei 37 °C inkubiert. Anschliessend wurden frische Erythrozyten (1%) von Eintagskücken zugegeben. Die Hämagglutinationsreaktion wurde nach 60 Min. Inkubation bei 4 °C abgelesen. Dabei wurde die Mikroplatte schräg gehalten und die sich bildenden Erythrozyten-Knopf-Tropf-Gebilde beobachtet. Nicht hämagglutinierte Erythrozyten-Knöpfe müssen dabei charakteristische Tropfen formen. Diese Eigenschaft wurde denn auch als Kriterium der Endpunktablesung herangezogen.

Bekannte positive und negative Seren wurden zur Standardisierung bei jedem Versuch mitgeführt. Jedes Serum wurde 3mal untersucht, wobei jener Titer als gültig betrachtet wurde, der mindestens 2mal gleich war.

Ausserdem wurde ein Teil der Seren in einem Blindtest von einem anderen Labor vergleichsweise untersucht, da es keine internationalen Standardmethoden gibt.

Die Internationalen Einheiten (IE/ml) an Tetanusantikörpern wurden mit der von *Fey* und *Stiffler-Rosenberg* (1977) beschriebenen kompetitiven ELISA-Methode bestimmt. Dabei kamen fol-

[1] American Type Culture Collection, Maryland, USA.

gende Modifikationen zur Anwendung: der Antitoxingehalt eines Pferdeimmunserums wurde 10mal im Vergleich zum zweiten Tetanus-Antitoxin-Standard 1969 der WHO bestimmt und mit einem Mittelwert von 13,4 IE/ml als Substandard benutzt. Ein normales Pferdeserum wurde mittels Immunosorption an Toxoid-Sepharose von allfällig vorhandenem Tetanus-Antitoxin befreit. Dieses negative Kontrollserum diente als Verdünnungsmittel zur Erstellung einer linearen Standard-Verdünnungsreihe von A) 10/7/4/1 IE/ml bzw. von B) 1/0, 7/0, 4/0, 1 IE/ml. Für die Messung hoher Titer wurden die Standard-Verdünnungsreihe A) und die Serumproben 1/100 verdünnt. Für niedrige Titer diente die Standard-Verdünnungsreihe B), die wie die Seren 1/50 verdünnt wurde. Die Evaluation der Werte erfolgte mit der von *Fey* und *Gottstein* (1979) konzipierten Messeinheit. Diese besteht aus einem digital anzeigenden Fotometer, welches mit dem programmierbaren Rechner/Drucker TI 59 von Texas Instruments gekoppelt ist.

Statistik:

Sämtliche Resultate wurden statistisch auf mögliche Korrelationen und Unterschiede hin geprüft. Da Serokonversionen aus verschiedenen Gründen keine statistische Normalverteilung aufweisen, wurden Tests von Wilcoxon, Mann und Whitney, Kruskal und Wallis, und Spearman (*Sachs*, 1974) herangezogen. Diese Methoden sind empfindlich auf Unterschiede der Medianwerte und berücksichtigen auch die Verteilung der einzelnen Werte.

Resultate

Sämtliche Medianwerte der serologischen Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Bei der zufälligen Einteilung der Pferde in Gruppen war noch unklar,

Tabelle 2 Medianwerte der reziproken Antikörpertiter gegen Influenza A equi 1 und 2 beim Pferd

Vakzine	A equi 1						A equi 2			
	n [5]	1	2	3	n [6]	4	1	2	3	4
I	6: 10:	– 16	8 45	724 256	12:	45	– < 8	8 45	724 512	23
II	2: 14:	– 16	23 64	128 256	7:	64	– < 8	8 64	181 91	16
III	5: 11:	– 8	16 32	128 64	9:	16	– 8	8 16	128 64	< 8
IV	13: 3:	– 16	< 8 23	64 64	8:	11	– 8	8 8	64 64	< 8
V	3: 13:	– 16	< 8 32	256 256	8:	64	– < 8	< 8 16	128 512	< 8
VI	6: 10:	– 8	< 8 8	64 256	10:	32	– < 8	< 8 < 8	32 91	< 8
VII	3: 4:	– 11	8 128	128 181	5:	32	– < 8	< 8 362	128 512	16
VIII	1: 15:	– 16	8 64	16 256	4:	32	– < 8	< 8 128	16 512	16

[1] Titer vor Vakzination
[2] Titer 6 Wochen nach 1. Vakzination
[3] Titer 3½ Wochen nach 2. Vakzination
[4] Titer 1 Jahr nach 2. Vakzination
[5] Erste Zahl: ohne Antikörper vor Vakzination; zweite Zahl: Pferde mit Antikörpern vor Vakzination
[6] Anzahl untersuchter Pferde nach 1 Jahr

wie gross der jeweilige Anteil der Pferde mit anamnestischen Antikörpern gegen Influenza war. Die serologischen Untersuchungen zeigten dann, dass 80 der 119 Pferde bereits vor der Vakzination Antikörper entweder gegen A equi 1 oder 2 aufwiesen. Wegen durchgemachter Infektion oder bereits früher erfolgter Vakzination hatten 79 von den 119 Pferden Antikörper gegen A equi 1 und 18 gegen A equi 2. Diese Pferde konnten für die Auswertungen nur beschränkt verwendet werden. Die Verteilung der Pferde ohne Antikörper gegen Influenza auf die einzelnen Gruppen ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Diese Pferde antworteten auf die erste Impfung mit meist niedrigen Titern. Gesamthaft wiesen nur 3 von 39 der grundimmunisierten Pferde einen Titer von 1:40 gegen A equi 1 und A equi 2 auf. Nach der zweiten Impfung stiegen die HAH-Titer mit allen Vakzinen auf beachtliche Titer an. In diesem Zeitpunkt unterschied sich nur Vakzine I in bezug auf ihre bessere Immunogenität von A equi 1 signifikant von den anderen (Tabelle 3).

Tabelle 3 Statistisch signifikante Unterschiede[1] zwischen den Vakzinen in bezug auf Antikörperbildung 6 Wochen nach 1. Vakzination und 3½ Wochen nach 2. Vakzination[1]

Vakzinen mit stärkerer Antikörperbildung	Vakzinen mit schwächerer Antikörperbildung	Antigen	Vakzinierte Tierart	Blutproben
I	alle übrigen	A equi 1	Pferd	nach 2. Vakzination
III	alle übrigen	A equi 1	Huhn	nach 2. Vakzination
V	VI	A equi 1	Huhn	nach 2. Vakzination
IV	III	A equi 2	Huhn	nach 1. Vakzination
II	I	A equi 1	Maus	nach 2. Vakzination

[1] $p < 0{,}05$
[2] Alle Tiere hatten keine Antikörper gegen A equi 1 und 2 vor Vakzination

Die bereits bei Beginn der Versuche serologisch positiven Pferde zeigten nach der ersten Vakzination zum Teil hohe HAH-Titer, die allerdings mit der zweiten Impfung nicht höher als bei den grundimmunisierten Pferden getrieben werden konnten.

Ein Jahr nach der zweiten Impfung waren aus organisatorischen Gründen nur noch von 84 Pferden Blutproben erreichbar. Von diesen konnten 63 für die Untersuchungen herangezogen werden, da 21 Pferde inzwischen revakziniert worden waren.

Die Frage, ob vor der Grundimmunisierung Antikörper gegen Influenza vorhanden waren oder nicht, hatte bei den Titern, 1 Jahr nach der Impfung, keine Bedeutung mehr. Es zeigten sich aber nach dieser Zeitspanne signifikante Unterschiede in der Wirksamkeit der einzelnen Produkte. Die Vakzinen I und II schliessen bei dieser Betrachtung am besten ab (Tabelle 4). Auffallend ist der stärkere Titerabfall gegen A equi 2 (Tabelle 2).

Es konnte keine Korrelation zwischen der Antikörperbildung gegen A equi 1 und A equi 2 bei den einzelnen Pferden gefunden werden, d.h. die Pferde reagierten

auf A equi 1 nicht unbedingt gleich wie auf A equi 2. Auch zwischen der Antikörperbildung gegen die Influenzaantigene und die Tetanus-Komponente gab es bei den kombinierten Vakzinen keine Korrelation.

Da die Immunisierung gegen Starrkrampf allgemein als problemlos angesehen wird, haben wir nur die Immunantwort 3½ Wochen nach der zweiten Vakzination betrachtet. Sämtliche mit kombinierter Vakzine behandelten Pferde wiesen erwar-

Tabelle 4 Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Vakzinen in bezug auf Antikörperbildung 1 Jahr nach 2. Vakzination beim Pferd

Vakzinen mit stärkerer Antikörperbildung	schwächerer	Antigen	P
I	III	A equi 1	0,005
	IV		0,01
II	III	A equi 1	< 0,02
	IV		0,02
I	III	A equi 2	< 0,001
	IV		< 0,01
	V		< 0,02
	VI		< 0,01
	VII		< 0,05
II	III	A equi 2	0,01

Tabelle 5 Verteilung der Antikörpertiter gegen das Tetanustoxin, ausgedrückt in Internationalen Einheiten (IE), 3½ Wochen nach 2. Vakzination bei den einzelnen Pferden.

Vakzine	II	IV	VI	[1]	IE/ml
Anzahl Pferde			3	1	1– 1,9
		3	2		2– 2,9
	2	3	1	1	3– 3,9
	1	2	2	1	4– 4,9
	1	1	4	2	5– 5,9
	4	1	1	3	6– 6,9
		2	3	2	7– 7,9
	1			2	8– 8,9
	1				9– 9,9
	1				10–10,9
	1				11–11,9
		3			12–12,9
	1				14–14,9
	1				15–15,9
Total	14	15	16	12	
Medianwert	6,5	4,5	5,0	6,5 IE/ml	

[1] Pferde, die anlässlich der Influenza-Schutzimpfung auf der anderen Halsseite mit Tetanus-Anatoxin simultan geimpft wurden

tungsgemäss zu diesem Zeitpunkt genügende Antikörperspiegel auf. Aber auch hier erwies sich die Vakzine II signifikant immunogener (gegenüber VI: $p < 0.01$; gegenüber IV: $p = 0.01$), Tabelle 5.

Der Einfluss der Influenza-Schutzimpfung auf die gleichzeitig an der anderen Halsseite vorgenommene Tetanus-Schutzimpfung wurde bei 12 Pferden untersucht. Es wurde festgestellt, dass trotz simultaner Impfung hohe Antikörpertiter gegen Tetanus gebildet wurden (Tabelle 5).

Nebenreaktionen nach Vakzination wurden generell nicht festgestellt.

Die geimpften Mäuse und Hühner reagierten gleich wie die Pferde auf eine Impfung mit sehr geringen HAH-Titern. Nach einer zweiten Impfung erreichten beide Versuchstierarten mit allen Vakzinefabrikaten hohe HAH-Titer (Tabelle 6). Die HAH-Titer der Pferde, Hühner und Mäuse wurden mittels Rangkorrelationstest nach Spaerman miteinander verglichen. Die Prüfung ergab, dass die verschiedenen Vakzinen weder nach erster noch nach zweiter Vakzination bei Pferd, Huhn und Maus ähnliche Immunreaktionen ausgelöst haben. Im Gegenteil, die beim Pferd besten Vakzinen bewirkten bei Huhn und Maus zum Teil sogar die niedrigsten Antikörpertiter und umgekehrt (Tabelle 6).

Tabelle 6 Medianwerte der reziproken Antikörpertiter gegen Influenza A equi 1 und 2 bei Pferden, Mäusen und Hühnern[1]

Vakzine	Pferd				Maus				Huhn			
	A equi 1		A equi 2		A equi 1		A equi 2		A equi 1		A equi 2	
Wochen	6	3½	6	3½	2	2	2	2	3	6	3	6
p.v.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
I	8	724	8	724	< 8	16	< 8	32	< 8	128	8	362
II	23	128	8	181	< 8	256	< 8	128	4	64	23	91
III	16	128	< 8	128	< 8	512	8	512	11	724	16	362
IV	< 8	64	< 8	64	16	128	8	128	32	724	64	1024
V	< 8	256	< 8	128	8	16	8	16	11	1448	45	1448
VI	< 8	64	< 8	32	8	32	16	16	8	512	16	362
VII	8	128	< 8	128	< 8	32	< 8	16	16	362	45	724
VIII	8	16	< 8	16	16	256	8	16	< 8	362	23	1024

[1] Alle Tiere hatten keine Antikörper gegen A equi 1 und 2 vor Vakzination

Diskussion

Dem Vakzinehersteller und dem Kontrolleur immunbiologischer Präparate fehlt oft die Möglichkeit, die Influenza-Vakzinen bei Pferden auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. *Lucam* et al. (1974), *Rouse* and *Ditchfield* (1970) und *Dannacher* et al. (1977) ist es zwar gelungen, experimentelle Infektionen mit Influenza beim Pferd durchzuführen und damit die Wirksamkeit der Vakzinen bei Pferden mit anschliessender Virusbelastung zu prüfen. Da aber bei diesen Versuchen nicht wie bei anderen Infektionskrankheiten mit einem Verhältnis von toten zu überlebenden Tieren gerechnet werden kann, sondern eine Grenze zwischen klinisch erkrankten und gesunden nur arbiträr gefunden wird, operierten *Lucam* et al. (1974) mit einem

klinischen und Virusreisolierungs-Index. Impfversuche mit anschliessender Virusbelastung am Pferd sind ausserdem wegen der benötigten statistisch signifikanten Anzahl Probanden finanziell zu aufwendig.

Die Güte einer Vakzine kann weitaus einfacher geprüft werden, indem man deren Vermögen, Antikörper zu stimulieren, untersucht. *Bryans* et al. (1966) haben die Beziehung zwischen HAH-Antikörper und Schutz vor klinischer Erkrankung dargestellt. Pferde mit Titern kleiner als 1:20 erkranken regelmässig, mit Titern von 1:20 zu 50%, und solche mit Titern 1:40 sind immun gegenüber einer Infektion, d.h. letztere sollen nach Exposition auch keine Titeranstiege aufweisen. Auch *Rouse* and *Ditchfield* (1970) sprechen von einer Korrelation zwischen HAH-Antikörpern und Resistenzgrad bei Pferden. Nach ihnen soll ein Titer von 1: 80 einen genügenden Schutz bieten. Von der europäischen Pharmacopöe-Kommission wird ein Titer von 1: 64 als zu fordernde Minimalreaktion auf eine Impfung diskutiert.

Die Virusbelastungsversuche von *Lucam* et al. (1974) führten bei Antikörpertitern unter 1:10 zu gleich schweren Erkrankungen wie bei den Kontrollen; bei Titern zwischen 1:10 und 1:100 nahmen die klinischen Erscheinungen ab, und bei einem Titer grösser als 1:100 verschwanden die exsudativen und pulmonären Veränderungen ganz. Bei der Beurteilung solcher Titerangaben muss man sich bewusst sein, dass der HAH-Test von den verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich durchgeführt wird und deshalb nur ein bedingt vergleichbares Mass darstellt. Leider steht ein internationales Standardpräparat für Vergleichszwecke nicht zur Verfügung.

Häufig wird auch auf Unterschiede zwischen A equi 1 und A equi 2 in bezug auf Titerhöhe nach Immunisierung hingewiesen (*Bryans,* 1966; *Mayr* et al., 1973). *Berlin* et al. (1963) haben aber bereits 1963 gezeigt, dass die Ätherbehandlung des A-equi-2-Antigens die Empfindlichkeit des HAH-Tests entscheidend steigert. *Burrows* et al. (1977) untersuchten 771 Seren und fanden gegen behandeltes A-equi-2-Antigen durchschnittlich 20mal höhere Titer als gegen unbehandeltes. Wir fanden in unseren Untersuchungen mit dieser Behandlung 2–4mal höhere Titer, und die Durchschnittswerte der Titer entsprachen dann denjenigen gegen A equi 1.

Die mit Tetanustoxoid kombinierten Impfstoffe riefen sowohl gute Titer gegen die Influenzaantigene als auch gegen das Tetanustoxin hervor. Die gleichzeitige Grundimmunisierung mit kombiniertem Impfstoff gegen Influenza und Tetanus kann wegen des vereinfachten Verfahrens beim Pferd empfohlen werden, ohne dass eine Einbusse der Wirksamkeit befürchtet werden muss.

Nach unseren Beobachtungen zeigen sich deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit der einzelnen Vakzinefabrikate erst ein Jahr nach abgeschlossener Grundimmunisierung. Solche Beobachtungen sind zwar von grundsätzlicher Bedeutung, können aber für die routinemässige Zulassung eines Produktes kaum herangezogen werden.

Die zusätzliche Schwierigkeit, eine genügend grosse Anzahl Pferde ohne Antikörper und früheren Kontakt mit Influenzaviren zu beschaffen, macht die Vakzineprüfung an Pferden mit anschliessender Beobachtung des Antikörperverlaufs äusserst aufwendig. Oft wurde deshalb auf die Möglichkeit der Prüfung auf Versuchstieren hingewiesen (*Mayr* et al., 1973; *Frerichs* and *Frerichs,* 1973; *Frerichs* et al.,

1973; *Kucera,* 1977). Allerdings sind sich die Autoren nicht einig darüber, welches Versuchstier sich für diesen Zweck am besten eignet.

Es erstaunt nicht, dass die Immunantwort auf die verschiedenen Vakzinen beim Pferd nicht mit derjenigen bei Versuchstieren korreliert. Die Vakzinefabrikate enthalten viele Variablen: Antigenmenge, Antigenqualität, Spalt-Vakzine, Tetanuskomponente, Ingredienzien, Inaktivierungsmittel usw. Ausserdem sind sie mit verschiedenen Methoden gereinigt und konzentriert worden. Dabei stellt sich das Problem der Wirksamkeitsprüfung für den Vakzinehersteller etwas anders als für den Kontrolleur immunbiologischer Präparate. Der Hersteller hat es immer mit dem gleichen Produkt zu tun, in dessen Herstellungsprozess das Antigen die einzige Variable darstellt. Deshalb ist es ihm möglich, seine Vakzine auf einem bestimmten, zweckmässig befundenen Versuchstier zu kontrollieren und mit einem bereits auf dem Pferd geprüften Standardpräparat in einer Dosis-Wirkungs-Kurve zu vergleichen.

Allerdings muss er eine Versuchstierpopulation zur Verfügung haben, die bezüglich ihrer Immunreaktion einigermassen homogen ist. Bekanntlich ist die Fähigkeit, auf antigene Determinanten zu reagieren, genetisch verankert. Dass unsere Pferde individuell sehr unterschiedlich und mit einer breiten, nicht normalverteilten Streuung auf die Influenza- und Tetanus-Impfung reagiert haben, ist wahrscheinlich auf diese genetischen Unterschiede zurückzuführen.

Unsere Untersuchungen wurden mit Freiberger Pferden durchgeführt. Aufgrund eigener, nicht publizierter Ergebnisse mit Halbblutpferden darf angenommen werden, dass Pferde anderer Rassen wahrscheinlich nicht signifikant verschieden auf eine Influenza-Schutzimpfung reagieren.

Abschliessend sei bemerkt, dass zur Erreichung einer guten Immunisierung eine vorschriftsgemässe Lagerung und Anwendung des Impfstoffes grundlegende Voraussetzung ist. Ausserdem gibt es für einen praktizierenden Tierarzt durchaus noch andere als die hier besprochenen Kriterien bei der Beurteilung eines Produktes. So könnten nach mehrmaliger Vakzination mit einem bestimmten Fabrikat häufiger Nebenreaktionen auftreten. Bei unseren Versuchen mit zweimaliger Vakzination konnten allerdings keine solchen Reaktionen beobachtet werden. Auch mögen Preis und Darbietungsform die Wahl eines Produktes beeinflussen.

Zusammenfassung

Acht Impfstoffe gegen Influenza A equi 1 und 2 – drei davon kombiniert mit Tetanustoxoid – wurden auf ihre Wirksamkeit bei 119 Pferden geprüft. Die Antikörperreaktionen der Pferde wurden mit denjenigen der Maus und des Huhnes verglichen.

Zwei Impfstoffe unterschieden sich in ihrer Immunogenität beim Pferd statistisch signifikant von anderen Vakzinen. Diese beiden riefen im Durchschnitt höhere Antikörpertiter hervor als die anderen.

Wenn alle untersuchten Vakzinen betrachtet werden, kann keine Korrelation zwischen den Antikörperreaktionen bei den Pferden, Mäusen und Hühnern gefunden werden. Deshalb kann der Kontrolleur immunbiologischer Präparate die Labortiere nicht generell für vergleichende Vakzineprüfungen gebrauchen. Wird hingegen nur ein einziges Produkt untersucht, so kann zwischen der Antikörperreaktion auf einem Labortier und jener auf dem Pferd durchaus eine Korrelation bestehen.

Alle drei kombinierten Impfstoffe stimulierten gute Antikörpertiter gegen das Tetanustoxin.

Résumé

Huit vaccins contre l'influenza A equi 1 et 2, dont trois étaient combinés avec des toxoïdes du tétanos, ont été éprouvés chez 119 chevaux quant à leur efficacité. Les réactions aux anticorps des chevaux ont été comparées à celles de la souris et de la poule.

En ce qui concerne l'immunogénéité chez le cheval, deux vaccins ont présenté une différence statistique significative par rapport aux autres vaccins. Ces deux vaccins produisaient des titres d'anticorps plus élevés que les autres vaccins.

Si l'on se réfère à tous les vaccins analysés on ne peut pas établir une corrélation entre les réactions des anticorps chez les chevaux, les souris et les poules. Pour cette raison le contrôle des préparations immunobiologiques ne peut pas faire appel, d'une manière générale, aux animaux de laboratoire pour des examens comparatifs de vaccins. En revanche si on n'examine qu'une seule préparation il peut exister une corrélation entre la réaction des anticorps chez l'animal de laboratoire et celle chez le cheval.

Les trois vaccins combinés ont produit de bons titres d'anticorps contre la toxine tétanique.

Riassunto

L'efficacia di otto vaccini contro l'influenza A equi 1 e 2 – di cui tre combinati con tossoide del tetano – è stata controllata in 119 cavalli. Le reazioni anticorpali del cavallo sono state comparate con quelle del topo e del pollo.

Due vaccini si sono differenziati nel cavallo in modo statisticamente significativo dagli altri per il loro potere immunogenico. Entrambi hanno prodotto in media un titolo anticorpale più alto degli altri.

Se si prendono in considerazione tutti i vaccini studiati, non si può trovare alcuna correlazione tra la reazione anticorpale nel cavallo, nel topo e nel pollo. Perciò chi è preposto al controllo di preparati immunobiologici non può usare gli animali di laboratorio in modo generico per test comparativi di vaccini. Invece se è uno solo il prodotto da sottoporre ad analisi, è senz'altro possibile che esista una correlazione tra reazione anticorpale dell'animale da laboratorio e quella del cavallo.

Summary

Eight vaccines against influenza A equi 1 and 2–3 of them combined with tetanus toxoid – were tested for their efficacy on 119 horses. The antibody reactions of the horses were compared with those of mice and chickens.

There was a statistically significant difference in the immunogenous effect of two of the vaccines as compared with the others. On the average the antibody titres from these two were higher.

When all the tested vaccines are considered it is not possible to establish a correlation between the antibody reactions of the horses, mice and chickens. Therefore the controller checking immunobiological preparations cannot make general use of laboratory animals for comparative vaccine tests. But if only one product is being tested it is quite possible to find a correlation between the antibody reaction in a laboratory animal and that in the horse.

All three combined vaccines stimulated good antibody titres against the tetanus toxin.

Literatur

Berlin B. S., McQueen J. L., Minuse E. and *Davenport F. M.:* A method of increasing the sensitivity of the hemagglutination inhibition test with equine influenza virus. Virol. *21,* 665–666 (1963). – *Bommeli W.* und *Kihm U.:* Ein Influenza-Ausbruch in einem vakzinierten Pferdebestand. Im Druck. – *Bryans J.T., Doll E.R., Wilson J.C.* and *McCollum W.H.:* Immunization for equine Influenza. J.A.V.M.A. *148,* 413–417 (1966). – *Burrows R., Spooner P.R.* and *Goodridge D.:* A three-year evaluation of four commercial equine influenza vaccines in ponies maintained in isolation. Intern. Symp. Influenza Immunization II, Genf, 1977. Develop. Biol. Standard. *39,* 341–346 (1977). – *Dannacher G., Coudert M., Fédida M.* et *Perrin M.:* La grippe équine: étude quantitative de l'état immunitaire post-vaccinal et des corrélations entre ses différents aspects. Rev. Méd. vét. *128,* 323–334 (1977). – *Fey H.* und *Gottstein B.:* Ein preiswertes ELISA-Lesegerät kombiniert mit dem program-

mierbaren Rechner TI 59 von Texas Instruments. Schweiz. Arch. Tierheilk. *121,* 387–394 (1979). – *Fey H.* und *Stiffler-Rosenberg G.:* Messung von Tetanus-Antitoxin beim Pferd mit dem Enzyme Linked Immuno Sorbend Assay (ELISA). Schweiz. Arch. Tierheilk. *119,* 437–446 (1977). – *Frerichs C.C., Frerichs G.N.* and *Burrows R.:* Some aspects of the hemagglutination-inhibition test used in serological studies of equine influenza. Intern. Symp. Influenza Vaccines for Men and Horses, London, 1973. Symp. Series immunobiol. Standard. *20,* 338–346 (1973). – *Frerichs G.N., Burrows R.* and *Frerichs C.C.:* Serological response of horses and laboratory animals to Equine Influenza vaccines. Proc. 3rd int. Conf. Equine Infectious Diseases, Paris, 503–509 (1972). – *Frerichs G.N.* and *Frerichs C.C.:* Serological response of chickens, rabbits and guinea-pigs to equine Influenza vaccines. Res. Vet. Sci. *14,* 187–193 (1973). – *Gerber H.* und Löhrer J.: Influenza A/equi-2 in der Schweiz 1965. III. Symptomatologie. 2. Komplikationen, Folgekrankheiten und pathologisch-anatomische Befunde. Zbl. Vet. Med. B *13,* 513–527 (1966). – *Hulse E.C.:* Current problems concerning the control of equine influenza vaccines. Symp. Series immunobiol. Standard. *20,* 305–310 (1972). – *John T.J.* and *Fulginiti V.A.:* Parainfluenza 2 virus: increase in hemagglutinin titer on treatment with Tween-80 and ether. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. *121,* 109–111 (1966). – *Kucera C.J.* and *Beckenhauer W.H.:* Studies on the antigenicity of an inactivated, aluminium hydroxide adjuvant equine influenza vaccine. Can. J. Comp. Med. *41,* 326–331 (1977). – *Löhrer J.* und *Radvila P.:* Aktive Tetanusprophylaxe beim Pferd und Immunitätsdauer. Schweiz. Arch. Tierheilk. *112,* 307–314 (1970). – *Lucam F., Fédida M., Dannacher G., Coudert M.* et *Peillon M.:* La grippe équine. Caractères de la maladie expérimentale et de l'immunité post-vaccinale. Revue Méd. vét. *125,* 1273–1293 (1974). – *Mayr A., Thein P.* und *Moll Ch.:* Wirksamkeitsprüfung von Pferdeinfluenza-Vaccinen an kleinen Versuchstieren. Zbl. Vet. Med. B. *20,* 325–339 (1973). – *Powell D.G., Burrows R., Spooner P., Mumford J.* and *Thomson G.:* Field observations on influenza vaccination among horses in Britain. Develp. biol. Standard. *39,* 347–352 (1977). – *Rouse B.T.* and *Ditchfield W.J.B.:* The response of ponies to Myxovirus influenza A-equi-2. III. The protective effect of serum and nasal antibody against experimental challenge. Res. Vet. Sci. *11,* 503–507 (1970). – *Sachs L.:* Angewandte Statistik, S. 230–240 und 309–312. Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg–New York 1974. – *Sherman J., Thorsen J., Barnum D.A., Mitchell W.R.* and *Ingram D.G.:* Infectious causes of equine respiratory disease on Ontario standardbred racetracks. J. Clin. Microbiol. *5,* 285–289 (1977). – *Thein P.* und *Härtl G.:* Untersuchungen zur Virusätiologie respiratorischer Erkrankungen des Pferdes. Der Praktische Tierarzt *58* (Sondernummer), 24–29 (1977).

Verdankung

Wir danken Herrn Baumgartner, Bundesamt für Militärveterinärdienst, für seine organisatorische Hilfe und den vielen Herren Veterinäroffizieren, die während militärischen Schulen und Kursen für unsere Arbeit Blutproben entnommen haben.

REFERAT

Ursachen und Behandlung der Anöstrie der Zuchtsauen*. Von Prof. Dr. *W. Bollwahn,* München.

Als Anöstrie wird die nach dem 7. Lebensmonat bestehende Brunstlosigkeit oder Brunstschwäche ausserhalb der Laktation und normalen Gravidität angesehen. Die fehlende oder unzureichende Ovarfunktion dieser Sauen geht vorwiegend auf anatomische Defekte der Gonaden oder hormonale Regulationsstörungen im hypothalamen-hypophysären Bereich zurück. Eine ätiologische Sonderstellung nimmt die Anöstrie bei abnormem Uterusinhalt (Mumien, Pyometra, Hydrometra)