

Serologische Übersichtsuntersuchung über die Verbreitung des bovinen Coronavirus in der Schweiz

Autor(en): **Battaglia, M. / Lutz, H. / Wyler, R.**

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): **128 (1986)**

PDF erstellt am: **21.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589374>

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.

Schweiz. Archiv für Tierheilk. 128, 213–218, 1986

Aus der Veterinär-Medizinischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. P.F. Suter) und dem Institut für Virologie (Direktor: Prof. Dr. R. Wyler) der Universität Zürich

Serologische Übersichtsuntersuchung über die Verbreitung des bovinen Coronavirus in der Schweiz

M. Battaglia^{1,3}, H. Lutz¹, R. Wyler²

Einleitung

Das bovine Coronavirus (BCV) gilt neben dem Rotavirus als wichtigster viraler Durchfall-Erreger des Kalbes [5, 21, 26]. Das BCV wurde Anfang der siebziger Jahre in den USA erstmals beschrieben [17, 22]. In der Folge wurde es – früher «neonatal calf diarrhoea virus» (NCDCV) genannt – auch in England und Dänemark [1], Deutschland [4, 10], Italien [18], Belgien [28] und Frankreich [6] nachgewiesen.

BCV-Partikel haben einen Durchmesser von zwischen 80–150 nm und tragen auf ihrer Oberfläche Projektionen, die im Elektronenmikroskop an eine Krone erinnern. Das BCV enthält einen einzelnen RNS-Strang; es ist von einer Lipid-Doppelmembran umhüllt, woraus sich seine geringe Resistenz gegen oberflächenaktive Desinfektionsmittel erklärt. Immunologisch ist BCV verwandt mit dem hämagglutinierenden Enzephalomyelitis-Virus des Schweines, dem menschlichen Coronavirus OC 43, welches Erkrankungen der oberen Luftwege verursacht, und dem Maus-Hepatitis-Virus [8, 19].

Der durch die Infektion hervorgerufene Durchfall tritt nach einer Inkubationszeit von ca. 24 Std., bei den meisten Tieren im Alter von 2 bis 3 Wochen, in einzelnen Fällen bis zur 6. Lebenswoche auf. Die Virusinfektion allein kann tödlich sein, auch wenn bakterielle Sekundärinfektionen ausbleiben [5, 17]. Neuere Arbeiten weisen zudem darauf hin, dass das BCV auch Erkrankungen der Luftwege verursachen kann [15, 24].

Obwohl die Pathogenität des BCV erwiesen ist, liegen über die Verbreitung dieses Virus in unserem Land bislang keine Untersuchungen vor. Die vorliegende seroepidemiologische Arbeit hatte zum Ziel, die Verbreitung von BCV-Infektionen bei der schweizerischen Rinderpopulation aufzuzeigen.

¹ Veterinär-Medizinisches Labor, Universität Zürich, Winterthurerstr. 260, 8057 Zürich,

² Institut für Virologie, Universität Zürich, Winterthurerstr. 266a, 8057 Zürich.

³ Zur Zeit: Istituto di Medicina Sperimentale

Clinica Pediatrica

Università di Roma

Viale Regina Elena 324

00161 Roma

Material und Methoden

Serumproben:

Bei den untersuchten 170 Seren handelte es sich um Proben gesunder Rinder, die uns zum Nachweis einer bovinen Leukämievirus-Infektion zugesandt worden waren. Angaben über Alter, Geschlecht und durchgemachte Krankheiten standen uns nicht zur Verfügung. Es darf angenommen werden, dass praktisch alle diese Tiere für den Export bestimmt, somit zwischen 18 und 36 Monate alt und weiblichen Geschlechts waren. Die Proben stammten aus den Kantonen Aargau, Luzern, Zug, Uri, Schwyz, Zürich, Schaffhausen, Thurgau, St. Gallen, Graubünden und Tessin.

Zellkulturen und BCV-Vermehrung

Zum Nachweis von Antikörpern gegen BCV wurden in Microtiterplatten Vero-Zellkulturen angesetzt [7]. Nachdem sich Monolayer gebildet hatten, wurde mit 30–60 Plaque-forming units BCV in 50 µl Eagle's minimum essential medium (EMEM, Gibco, USA) ohne Serum infiziert und 60 Min. bei 33 °C inkubiert (Adsorption). Nach 60 Min. dauernder Virus-Adsorption wurden pro Delle 100 µl EMEM mit 10% fetalem Rinderserum zugegeben, wodurch ein generalisierter ZPE verhindert wird [8]. Nach einer Inkubation von 46–48 Std. entfernte man das Medium und fixierte mit absolutem Aethanol. Die Kulturen liessen sich ohne merkliche Verluste während mehreren Monaten bei –70 °C lagern.

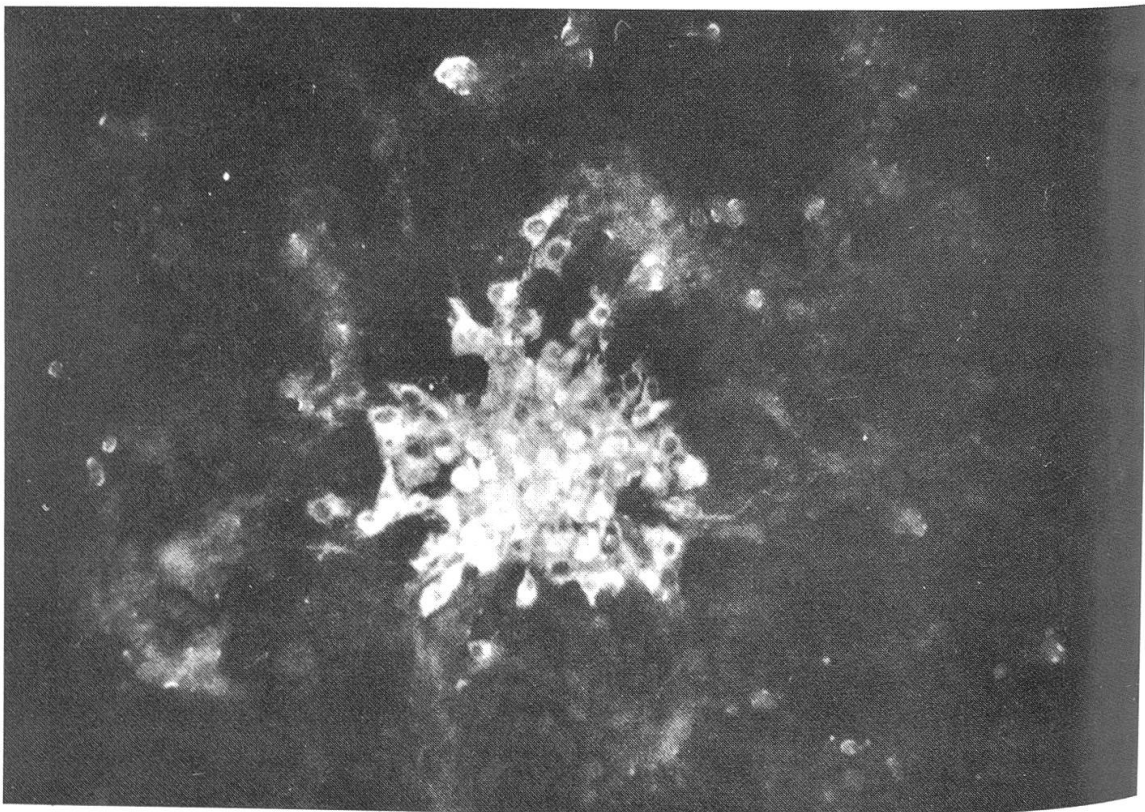


Fig. 1. Die Abbildung zeigt eine durch BCV induzierte, im indirekten Immunfluoreszenztest sichtbar gemachte Plaque. Das Rinderserum wurde 1:100 verdünnt. Infizierte Zellen lassen sich deutlich von nicht infizierten abgrenzen.

Indirekter Immunfluoreszenztest

Von den zu testenden Seren wurden Verdünnungen von 1 : 20 bis zu 1 : 1280 in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) hergestellt.

Jeweils 50 µl der so verdünnten Serumproben wurden über Nacht bei 40 °C mit den BCV-infizierten Kulturen inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBS wurden die Dellen während 60 Min. bei 37 °C mit 50 µl eines verdünnten anti-Rinder-IgG-FITC-Konjugates (Cappel, USA) inkubiert. (Die optimale Verdünnung war in einem vorgängigen Experiment bestimmt worden.) Nach nochmaligem Waschen konnten die fluoreszierenden Plaques in einem Wild-Leitz-Mikroskop mit Auflichtfluoreszenz ausgewertet werden. Als Titer wurde die höchste Verdünnung angegeben, bei welcher die Plaques noch deutlich erkannt wurden. Titer unter 20 wurden als negativ gewertet.

Resultate

Die durch BCV induzierten Plaques liessen sich durch Antikörper gegen BCV aufgrund der spezifischen zytoplasmatischen Fluoreszenz deutlich von den nicht infizierten Zellen abgrenzen (Fig. 1), was eine eindeutige Bestimmung der Titer erlaubte. Die Häufigkeiten der bei den 170 Seren gefundenen Antikörpertiter sind in Fig. 2 zusammengestellt. Es wird deutlich, dass 158 Seren (92,9%) Titer von 1 : 20 und höher aufwiesen. Bei 131 Tieren (79,1%) liessen sich Titer von 160 und höher nachweisen, lediglich 12 Proben (7,1%) wurden als seronegativ eingestuft.

Diskussion

Nachdem die Infektion mit BCV in den meisten europäischen Ländern nachgewiesen wurde, erstaunt es nicht, dass das BCV auch in der Schweiz vorkommt. Auch wenn

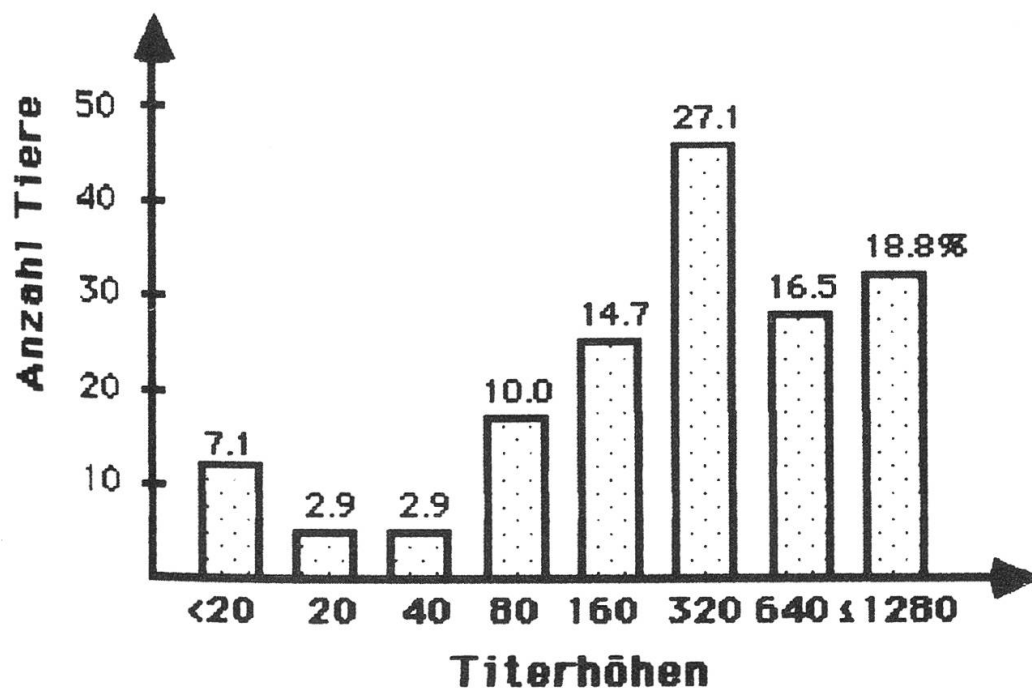


Fig. 2. Häufigkeitsverteilung der in 170 Rinderseren gefundenen gegen BCV gerichteten Antikörper. Die Zahlen über den Balken geben Prozentwerte an.

sich die vorliegende Arbeit auf die Bestimmung von Antikörpern gegen BCV beschränkt, so lässt sie doch den Schluss zu, dass die BCV-Infektion mit über 90% seropositiver Tiere in unserem Land weit verbreitet sein muss. Zwar hat sich unsere Untersuchung nur auf wenige Kantone der Schweiz beschränkt, und es wurden nur relativ wenige Proben erfasst, es darf aber angenommen werden, dass die serologische Situation auch in den anderen Kantonen und bei Berücksichtigung grösserer Probenzahlen nicht anders aussehen würde. Die von uns verwendete Immunfluoreszenz-Technik erlaubt den spezifischen Nachweis von Antikörpern gegen BCV, da bei jedem Test ausser den durch BCV infizierten Plaques auch nicht infizierte Zellen beurteilt werden und somit als negative Kontrolle dienen. Ein positiver Titer deutet auf einen früheren Kontakt mit BCV hin, beweist jedoch nicht, dass das Tier auch Durchfall gehabt hat. Es ist damit zu rechnen, dass es verschiedene BCV-Stämme gibt, die sich zwar immunologisch nicht oder nur wenig unterscheiden, aber ungleiche Pathogenität aufweisen. So liessen sich z. B. die in den USA und Grossbritannien isolierten Stämme hinsichtlich Inkubationsdauer und Schwere der hervorgerufenen Krankheit differenzieren [26].

Wie erst kürzlich gezeigt wurde, verursacht das BCV nicht nur Durchfälle, sondern auch Erkrankungen der Luftwege [16, 24]. Diese Affinität des BCV für die Atmungsorgane kommt eigentlich nicht überraschend, man kennt sie bei Coronaviren anderer Tierarten schon länger: So wurde z. B. der Erreger der transmissiblen Gastroenteritis (TGE) aus Lungen und Luftwegen von Schlachtschweinen isoliert [14, 27]. Bei experimenteller Infektion von Katzen mit dem Erreger der felines infektiösen Peritonitis (FIP) sind die ersten Symptome Nasenausfluss und Schnupfen, bevor Durchfall und schlussendlich Peritonitis auftreten [20]. Auch die weitverbreitete infektiöse Bronchitis des Geflügels wird durch ein Coronavirus verursacht [11]. Die beim Menschen vorkommenden Coronaviren kennt man ebenfalls hauptsächlich als Erreger von Atemwegserkrankungen [13].

Es darf damit gerechnet werden, dass durch Coronavirus bedingte Durchfallerkrankungen in Zukunft vermehrt auch intra vitam diagnostiziert werden können. Aus Kanada und Grossbritannien liegen nämlich Berichte vor, in welchen ELISA-Verfahren beschrieben sind, die den raschen Nachweis von Coronaviren im Kot von Kälbern und älteren Tieren ermöglichen [2, 3, 23]. In französischen und deutschen Betrieben mit gehäuften Durchfallerkrankungen konnte durch Vakzination der Muttertiere mit einer auf Corona- und Rotavirus beruhenden Vakzine eine drastische Verminderung der Durchfallhäufigkeit erzielt werden [6, 10, 15]. Die in den vorliegenden Arbeiten festgestellte weite Verbreitung der Coronavirus-Infektion deutet darauf hin, dass auch in unserem Land der gezielte Einsatz eines solchen Impfstoffes in Betrieben mit Durchfallproblemen sinnvoll sein dürfte.

Zusammenfassung

Seren von 170 Rindern wurden mittels eines indirekten Immunfluoreszenztests auf Antikörper gegen das bovine Coronavirus (BCV) untersucht. Bei über 90% der getesteten Tiere lassen sich für BCV spezifische Antikörper nachweisen. Diese Befunde deuten darauf hin, dass das BCV in der Schweiz weit verbreitet ist und als Erreger des Kälberdurchfalls eine wichtige Rolle spielen dürfte.

Résumé

Dans 170 sérums de bovins les titres d'anticorps contre le Coronavirus furent déterminés par l'immunofluorescence indirecte. Chez plus de 90% des bêtes examinées, des titres positifs étaient décelables. Ces résultats montrent que l'infection due aux Coronavirus est très répandue dans le cheptel bovin de notre pays et on peut en déduire que le virus joue un rôle primordial dans l'étiologie des diarrhées du veau.

Riassunto

Mediante immunofluorescenza indiretta si è indagato sulla presenza di anticorpi per il coronavirus bovino (BCV) in campioni di siero provenienti da 170 giovani bovini allevati in Svizzera. Mediante le indagini sierologiche si è potuto dimostrare una precedente infezione da BCV in oltre il 90% degli animali esaminati. I risultati indicano un'ampia diffusione dell'infezione da BCV, che potrebbe costituire una rilevante causa di diarrea bovina in Svizzera.

Summary

Sera from 170 Swiss cattle were examined for antibody to bovine coronavirus (BCV) by indirect immunofluorescence. Serological evidence of past BCV infection was obtained in over 90% of the animals tested. These data indicate a high circulation of BCV and show that BCV may be of importance in the calf diarrhea complex.

Literaturverzeichnis

- [1] Bridger J. C., Woode G. N., Meyling A.: Isolation of coronaviruses from neonatal calf diarrhoea in Great Britain and Denmark. *Vet. Microbiol.*, 3, 101–113, (1978). – [2] Crouch C. F., Raybold T. J. G., Acres S. D.: Monoclonal antibody capture-enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine enteritic coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 19, 388–393, (1984). – [3] Crouch C. F., Acres S. D.: Prevalence of rotavirus and coronavirus antigens in the feces of normal cows. *Can. J. Comp. Med.* 48, 340–342, (1984). – [4] Dirksen G., Bachmann P. A.: Zum Vorkommen von Rota- und Coronavirus als Ursache von Kälberdiarrhoe in der Bundesrepublik Deutschland. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 90, 475–477, (1977). – [5] Dirksen G.: Kälberruhr in neuer Sicht. *Prakt. Tierarzt, Colleg. veterinarium*, 59, 42–44, (1978). – [6] Fremont Y., Chaton-Schaffner M.: Innocuité et efficacité d'un vaccin administré par voie orale contre les diarrhées virales à rota et corona virus chez le veau. *Bull. de la Société Vét. Pratique de France*, 63, 2–11, (1979). – [7] Gerna G., Battaglia M., Cereda P. M., Passarani N.: Reactivity of human coronavirus OC 43 and neonatal calf diarrhoea coronavirus membrane-associated antigens. *J. gen. Virol.* 60, 385–390, (1982). – [8] Gerna G., Cereda P. M., Grazia Ravello M., Cattaneo E., Battaglia M., Torsellini Gerna M.: Antigenic and biological relationships between human coronavirus OC 43 and neonatal calf diarrhoea coronavirus. *J. gen. Virol.*, 54, 91–102, (1981). – [9] Hofmann W.: Bekämpfung von Rota- und Coronavirusinfektionen der Kälber durch Muttertierimpfung. *Tierärztl. Umschau*, 38, 142, (1983). – [10] Hofmann W.: Therapie und Prophylaxe von Rota- und Coronavirusinfektionen der Kälber. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 96, 453–457, (1983). – [11] Hofstad M. S.: Avian Infectious Bronchitis, in Hofstad M. S., Calnek B. W., Reid W. M., Yoder H. W. (editors) *Diseases of Poultry*, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA; pp. 429–443, (1984). – [12] Hogue B. G., King B., Brian D. A.: Antigenic relationships among proteins of bovine coronavirus, human respiratory coronavirus OC 43, and mouse hepatitis coronavirus A 59. *J. Virol.*, 51, 384–388, (1984). – [13] Kaye H. S., Marsh H. B., Dowdle W. R.: Seroepidemiologic survey of coronavirus (strain OC 43) related infections in a children's population. *Am. J. Epidemiol.* 94, 43–49, (1971). – [14] Kemeny C. J.: Isolation of transmissible gastroenteritis virus from pharyngeal swabs obtained from sows at slaughter. *Am. J. Vet. Res.* 39, 703–705, (1978). – [15] Kunz W.: Muttertierimpfung mit einer Rota-Corona-Vakzine zur Bekämpfung des Kälberdurchfalles – klinische Erfahrungen. *Tierärztl. Umschau*, 37, 505–506, 1982. – [16] McNulty M. S., Bryson D. G., Allan G. M., Logan E. F.: Coronavirus infection of the bovine respiratory tract. *Vet. Microbiol.*, 9, 425–434, (1984). – [17] Mebus C. A., Stair E. L., Rhodes M. B., Twiehaus M. J.: Pathology of neonat-

al calf diarrhea induced by a corona-like agent. *Vet. Pathol.* 10, 45–64, (1973). – [18] *Misciattelli M. E., Belletti G. L., Guarda F., Manstretta G., Biancardi G.*: Rota- e coronavirus associati a diarrea neonatale dei vitelli: identificazione al microscopio elettronico con applicazioni di immuno-electronmicroscopia, rilievi istopatologici e clinici. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 122, 403–413, (1980). – [19] *Pedersen N. C., Ward J., Mengeling W. J.*: Antigenic relationship of the feline infectious peritonitis virus to coronaviruses of other species. *Arch. Virol.* 58, 45, (1978). – [20] *Pedersen N. C., Boyle J. F., Floyd K.*: Infection studies in kittens using feline infectious peritonitis virus propagated in cell culture. *Am. J. Vet. Res.* 42, 363–367, (1981). – [21] *Pohlenz J., Palmer D., Zindel W.*: Zur Pathologie und Pathogenese der neonatalen Diarrhoe beim Kalb. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 121, 607–614, (1979). – [22] *Stair E. L., Rhodes M. B., White R. G., Mebus C. A.*: Neonatal calf diarrhea: Purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.* 33, 1147–1156, (1972). – [23] *Reynolds D. J., Chasey D., Scott A. C., Bridger J. C.*: Evaluation of ELISA and electron microscopy for the detection of coronavirus and rotavirus in bovine feces. *Vet. Rec.* 114, 397–401, (1984). – [24] *Thomas L. H., Gourlay R. N., Stott E. J., Howard C. J., Bridger J. C.*: A search for new microorganisms in calf pneumonia by the inoculation of gnotobiotic calves. *Res. Vet. Science* 33, 170–182, (1982). – [25] *Thurber E. T., Bass E. P., Beckenhauer W. H.*: Field trial evaluation of a reo-coronavirus calf diarrhea vaccine. *Can. J. Comp. Med.* 41, 131–136, (1977). – [26] *Tzipori S.*: The aetiology and diagnosis of calf diarrhoea. *Vet. Rec.* 108, 510–514, (1981). – [27] *Underdahl N. R., Mebus C. A., Stair E. L., Rhodes M. B., McGill L. D., Twiehaus M. J.*: Isolation of transmissible gastroenteritis virus from lungs of market-weight swine. *Am. J. Vet. Res.* 35, 1209–1216, (1974). – [28] *Zygraich N., Georges A. M., Vascoboinic E.*: Resultats d'une enquête sérologique relative aux virus reo-like et corona dans la population bovine belge. *Ann. Med. Vét.*, 119, 105–113, (1975).

Manuskripteingang: 5. November 1985

Verdankungen

M. Battaglia war während seiner Arbeit in Zürich Stipendiat der italienischen Stiftung *Villa Rusconi*. Die Arbeit wurde weiter unterstützt durch Beiträge der *Sandoz-Stiftung*, Basel und der Firma *Dr. E. Graeub*, Bern. Wir danken *Frl. C. Horner* für die Erstellung des Manuskripts.

BUCHBESPRECHUNGEN

The Anatomy of the Domestic Animals. Vol. 1: The Locomotor System of the Domestic Mammals.

Nickel/Schummer/Seiferle. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 1986. 515 pages with 517 illustrations in the text and on 11 colour plates. Bound DM 188.–.

Das Anatomie-Werk von Nickel/Schummer/Seiferle ist nicht nur zu einer Basis für den Unterricht, sondern auch zu einem Massstab für ähnliche Bücher geworden. Die vierte Auflage von Band I (Bewegungsapparat) ist von mehreren Autoren überarbeitet worden.

Nun liegt der erwähnte Band in der Übersetzung in die englische Sprache vor. Ein Anatomie-Lehrbuch muss naturgemäss ein Bilderbuch sein. Obwohl demzufolge der Text nicht überbewertet sein soll, scheint mir doch, dass die Sätze in der Übersetzung einfacher und die Aussagen noch präziser geworden sind.

Einige Muskelbilder sind leider – gleich wie in den vorhergehenden Auflagen – in einem sehr dunklen Ton gehalten und weisen eine geringe plastische Wirkung auf. Es handelt sich dabei um Darstellungen, die von älteren Autoren übernommen worden sind. Sie passen so gar nicht zu den andern in einem ansprechenden Grauton gehaltenen Bildern. Schade.

Wer der englischen Sprache mächtig ist, dem sei die Anschaffung von «The Locomotor System of the Domestic Mammals» empfohlen. Er bekommt dabei ein gut lesbares, inhaltlich wie auch preislich wertvolles Anatomiebuch in die Hand.

T. Kohler, Bern