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: 128 (1986)

Artikel: Stellen nichtbovine Paarhufer ein IBR-Virus-Reservoir dar?

Autor: Ackermann, M. / Metzler, A.E. / McDonagh, H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-592067

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: 31.07.2025

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

Schweiz. Arch. Tierheilk. *128*, 557–573, 1986

Aus dem Eidg. Vakzine-Institut, Basel und dem Institut für Virologie der Universität Zürich

Stellen nichtbovine Paarhufer ein IBR-Virus-Reservoir dar?

I. BHV-1- und CapHV-1-Infektions- und Reaktivierungsversuche an Ziegen, Virustyp-Spezifität der humoralen Antikörper und Charakterisierung der viralen Antigene

M. Ackermann[1], *A. E. Metzler*[2], *H. McDonagh, L. Bruckner, H. K. Müller und U. Kihm*

Einleitung

Das Bekämpfungsprogramm mit dem Ziel der Tilgung der IBR/IPV (Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis bzw. Balanoposthitis) in der Schweiz ist in naher Zukunft abgeschlossen [18]. In die Wege geleitet wurde es in den Jahren 1979 bzw. 1983 wegen des seuchenhaften Verlaufes in erstinfizierten Rindviehbeständen und wegen der damit einhergehenden wirtschaftlichen Verluste (fieberhafte Allgemeinerkrankung, Entzündung der oberen Luftwege, Aborte). Die Bekämpfungsstrategie gegen die Seuche basiert auf den besonderen biologischen Eigenschaften ihres Erregers, des bovinen Herpesvirus 1 (BHV-1):

i) Obwohl im Verlaufe der Infektion neutralisierende Antikörper gebildet werden, bleiben infizierte Tiere zeitlebens Virusträger. Nach der Virusvermehrung am Ort der Infektion (Respirationstrakt, bzw. Vagina) wandert das Virus den sensiblen Nerven entlang bis zu den korrespondierenden Ganglien und verbleibt dort latent und für die humorale Immunabwehr nicht erfassbar, bis gewisse Umstände (z. B. Stress) zur Reaktivierung und Ausscheidung von infektiösem Virus führen [1, 2, 17, 20].

ii) Eine Vakzination kann eine Feldvirusinfektion und damit die Etablierung einer Latenz nicht verhindern [9].

iii) Latent infizierte Tiere stellen ein ernstzunehmendes Virusreservoir dar, besonders weil die Virusausscheidung symptomlos verlaufen kann [8].

Aufgrund dieser Tatsachen basiert die Seuchenbekämpfung auf der Erfassung und Eliminierung von IBR/IPV seropositiven Tieren und auf Einschränkungen des Tierverkehrs [18].

Die bisherigen Erfahrungen lassen nicht zwingend auf wesentliche BHV-1-Reservoirs ausserhalb der Rinderpopulation schliessen.

Andere Paarhufer sind jedoch empfänglich für eine IBR-Virusinfektion [z. B. 14, 21]. In diesem Zusammenhang bilden Ziegen einen besonders zu beachtenden Faktor,

[1] Eidg. Vakzine-Institut, Hagenaustr. 75, 4025 Basel
[2] Institut für Virologie der Universität Zürich, Winterthurerstr. 266A, 8057 Zürich

weil bei ihnen eine Caprine Herpesvirus-1-(CapHV-1) Infektion bekannt ist, welche mit IBR-Virus kreuzreagierende Antikörper hervorruft [5, 11]. Frühere Untersuchungen zeigten, dass dieses Virus in der Schweiz vorkommt [16, 22]. Auch die positive Reaktion von Ziegenseren im IBR-ELISA ist gelegentlich beobachtet worden (*Ackermann und Ascherl,* nicht publiziert).

Die vorliegende Arbeit schafft wesentliche Voraussetzungen zur Abklärung der Rolle der Ziegen als IBR-Virusreservoir und zur Unterscheidung einer IBR-Virus (IBRV)- und einer CapHV-1-Infektion mittels verschiedener ELISA-Techniken.

Zu diesem Zwecke wurden zwei Ziegen mit IBR-Virus und zwei Ziegen mit Ziegenherpesvirus (CapHV-1) infiziert. Nach erfolgter Serokonversion wurden die Ziegen mit Dexamethason (DM) belastet, um eine Reaktivierung der Infektion herbeizuführen. Eine mögliche Virusausscheidung wurde in vitro auf Zellkulturen und in vivo durch beigestellte Kontakttiere untersucht. Der Verlauf der Immunantwort und das spezifische Reaktionsvermögen der Antikörper nach einer IBRV- und einer CapHV-Infektion wurde anhand von nacheinander entnommenen Seren im Seroneutralisationstest (SNT) und im IBR-ELISA sowie im CapHV-ELISA geprüft. Aufgrund dieser Untersuchungen kann bei Ziegen serologisch eine IBRV-Infektion von einer CapHV-Infektion unterschieden werden. Ausserdem wurden die typspezifischen und kreuzreagierenden viralen Antigene in nativem und denaturiertem Zustand charakterisiert.

Material und Methoden

1. Virus und Zellkultur

Beim IBR-Virus (IBRV) handelt es sich um ein schweizerisches Feldisolat, das bereits von *Probst et al.* beschrieben wurde [17]. Das Caprine Herpesvirus (CapHV-1) war ebenfalls ein Schweizer Feldisolat und wurde bereits mehrfach beschrieben und charakterisiert [5, 11, 16]. Beide Virusisolate wurden, wie anderswo beschrieben [9], auf primären fötalen Kälbernasenepithelzellen (FKNE) propagiert. Für die Infektionen wurden dieselben Viren verwendet wie für die Seroneutralisationen, die Herstellung von ELISA-Antigenen und die Antigencharakterisierungen. Die verwendeten Zellkulturbedingungen und -medien wurden an anderer Stelle beschrieben [17].

2. Versuchsanordnung

Zwei Ziegenböcke und zwei Geissen im Alter von 2 bis 3 Jahren wurden aus einem IBRV- und CapHV-freien Bestand zugekauft. Die seronegativen Tiere wurden in zwei Pärchen aufgeteilt und in separaten Stallungen mit unabhängiger Betreuung gehalten. Ein Ziegenpärchen wurde intranasal mit 10^7 $TCID_{50}$ IBRV inokuliert. Die zwei anderen Ziegen wurden mit 10^7 $TCID_{50}$ CapHV ebenfalls intranasal inokuliert. In der 4. Woche nach der Infektion (p.i.) wurden zwei seronegative Kälber zu den IBR-Ziegen in den Freilaufstall gebracht. Gleichzeitig wurden die IBR-Ziegen während 5 aufeinanderfolgenden Tagen mit Dexamethason (DM) (Voren®, Böhringer, Ingelheim, BRD) behandelt. Die tägliche Kortison-Dosis enthielt 2,5 mg DM pro kg Körpergewicht und wurde i.v. verabreicht. In der 5. Woche wurden die CapHV-Ziegen auch mit DM behandelt. Zwischen diese wurde ein weiteres Pärchen seronegativer Ziegen aus dem gleichen Herkunftsbestand gestellt.

Während der ersten acht Wochen des Versuches wurden die Tiere täglich klinisch untersucht (Körpertemperatur, Atmung, Puls, Allgemeinbefinden, Fresslust).

Ausserdem wurden täglich bei allen Tieren Nasen-, Augen-, Anal- und Vaginal- bzw. Präputialtupfer zur Virusisolation entnommen. Zweimal pro Woche bis 11 Wochen nach der Infektion wurde

eine Blutprobe zur Feststellung von IBRV- und CapHV-Antikörpern und zur Virusisolation aus Leukozyten (buffy coat) entnommen. Bei den Kontakttieren wurde neben der täglichen klinischen Untersuchung zweimal pro Woche Blut zur Antikörperbestimmung entnommen.

3. Virusnachweis

3.1 in vitro:

Die Nasen-Rachen-, Augen-, Anal- und Vaginal- bzw. Präputialtupfer sowie die Leukozyten der Blutproben wurden auf konfluente FKNE-Zellrasen inokuliert und somit auf die Anwesenheit von infektiösem Virus geprüft wie bei Lazarowicz et al. [9] beschrieben. Die Virusidentität in positiven Proben wurde durch eine Schachbrettneutralisation bestätigt.

3.2 in vivo:

Beginnend mit den Reaktivierungsversuchen wurden den infizierten Ziegen empfängliche Kontakttiere beigesellt. Diese sollten anhand klinischer Symptome, mindestens aber aufgrund einer Serokonversion indirekt eine Virusausscheidung der infizierten Ziegen aufdecken.

4. Serologische Untersuchungen

4.1 Seroneutralisation

Neutralisierende Antikörper gegen IBRV bzw. CapHV-1 wurden mit dem Serumneutralisationstest (SNT) [9] jeweils gegen das homologe und das heterologe Virus bestimmt.

4.2 IBR-ELISA

Der IBR-ELISA wurde im Trachitest®-System (Labor Dr. W. Bommeli, Länggassstrasse 7, 3001 Bern) durchgeführt. Die Reaktion der Seren wurde mit einem Titertek Multiskan Photometer gemessen.

Die Messwerte wurden on line auf einen SORD M68 Computer übertragen, wo gleichzeitig die Umrechnung in die relativen Werte prozentual zum Referenzserum erfolgte.

4.3 CapHV-ELISA

Die Antigene für den CapHV-ELISA wurden aus dem Überstand infizierter und nicht infizierter FKNE-Zellen nach dem gleichen Prinzip wie beim IBR-ELISA hergestellt. Die Durchführung des CapHV-ELISA erfolgte identisch zum IBR-ELISA. Weil jedoch ein Referenzserum fehlte, wurde als Resultat jeweils Delta OD angegeben. Delta OD ergab sich aus dem Mittelwert derDifferenz der optischen Dichte (OD405 nm) von je 2 Dellen mit positiv-Antigen (Überstand von infizierten Zellen als Antigen) und 2 Dellen mit negativ-Antigen (Überstand von nicht infizierten Zellen).

5. Charakterisierung der Antigene

5.1 Immunfärbung von Antigenen, die auf der infizierten Zelloberfläche exprimiert werden

Die Methode entsprach der Vorschrift von *Ackermann et al.*, 1986 [4]: Konfluente FKNE-Zellrasen wurden mit ca. 500 $TCID_{50}$ IBRV oder CapHV-1 infiziert. Nachdem die entstehenden Plaques die geforderte Grösse erreicht hatten, wurden die Zellen (*ohne* vorherige Fixation) während 1 Stunde mit 10% Pferdeserum bei 37 Grad inkubiert. Dann wurde der Überstand bis auf einen kleinen Rest abgegossen und mit 1 ml Medium und Ziegenserum in einer Verdünnung von 1 : 50 während einer Stunde weiterinkubiert. Nach einmaligem Waschen mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) erfolgte eine 30minütige Inkubation mit Anti-Ziegen-IgG-Biotin. Gleichzeitig wurde in einem sepa-

raten Gefäss die sog. ABC-Lösung (je 1 Tropfen Avidin (A) und Biotin-Peroxidase (B) pro 10 ml PBS) inkubiert. Nach 30 Minuten und einmaligem Waschen wurden die infizierten Zellkulturen mit je 1 ml ABC-Lösung überschichtet und weitere 30 Minuten inkubiert. Nach erneutem Waschen erfolgte die Zugabe des präzipitierenden Substrates, welches Chloronaphthol und Peroxid enthielt. Die Färbung der Plaques war nach ca. 10 Minuten abgeschlossen. Der biotinylierte Antikörper und die Reagentien für die ABC-Lösung stammten aus dem Vectastain® ABC Kit der Firma Vector, Burlingame, CA, USA.

5.2 SDS Polyacrylamid Gelelektrophorese, Elektrotransfer und Immunfärbung

Prinzipiell wurde die Methode von *Ackermann et al.*, 1984 [3] angewendet. Infizierte und nichtinfizierte (Mock) Zellen wurden in SDS Buffer solubilisiert und im SDS Polyacrylamid Gel (Crosslinker: DATD) aufgetrennt. Als Molekulargewichtsmarker wurden die infizierten Zellproteine von Herpes-Simplex-Virus Typ-1 (HSV-1) nach den für dieses Gelsystem etablierten Angaben [15] verwendet.

Nach der Elektrophorese wurden die separierten Proteine elektrophoretisch auf Nitrocellulose übertragen. Die Immunfärbung auf der Nitrocellulose erfolgte nach dem gleichen Schema wie oben beschrieben, unter Verwendung des ABC-Kits. Der 10%igen Pferdeserumlösung wurde zusätzlich noch 0,5% OBG (Octyl-Beta-Glucopyranoside, Sigma, St. Louis, MO, USA) beigemischt (Blocking Lösung). Die Ziegenseren wurden in 0,3-x-Blocking-Lösung verdünnt.

Resultate

Klinischer Verlauf der Infektions- und Reaktivierungsversuche

1.1 Infektion von zwei Ziegen mit IBR-Virus

Um die Auswirkungen einer IBR-Virusinfektion bei Ziegen zu prüfen, wurde eine Dosis von 10^7 $TCID_{50}$ IBR-Virus intranasal zwei Ziegen inokuliert. Während einer Beobachtungszeit von 3 Wochen nach der Infektion konnten keinerlei klinische Krankheitssymptome an diesen Ziegen festgestellt werden.

1.2 Infektion von zwei Ziegen mit CapHV-1

Die Auswirkungen einer Ziegenherpesvirusinfektion wurden an zwei separat gehaltenen und betreuten Ziegen geprüft. Zwei Tage nach der intranasalen Inokulation von 10^7 $TCID_{50}$ CapHV-1 konnten bei beiden Ziegen diskrete klinische Anzeichen der Infektion festgestellt werden: Neben geringgradiger Apathie und Fressunlust erhöhte sich die Körpertemperatur während drei bzw. vier Tagen auf über 40 Grad. Ab dem 8. Tag nach der Infektion verschwanden alle Symptome. Während einer dreiwöchigen Beobachtungszeit traten keine weiteren Störungen mehr auf.

1.3 Reaktivierungsversuche

Um die möglicherweise latenten Infektionen zu reaktivieren, wurden die IBR-Ziegen während 5 Tagen in der 4. Woche p.i., die CapHV-Ziegen ebensolange in der 5. Woche p.i. mit Dexamethason behandelt. Ausserdem wurden zwei CapHV-sero-

negative Ziegen als Kontakttiere zwischen die CapHV-Ziegen gestellt. Zu den IBR-Ziegen wurden zwei IBR-seronegative Kälber gegeben. Während einer Beobachtungszeit von 7 (IBRV-Infektion) bzw. 6 (CapHV-Infektion) Wochen nach dem Beginn der Kortisontherapie konnten weder an den infizierten noch an den Kontakttieren irgendwelche klinische Anzeichen einer Infektionsübertragung festgestellt werden.

2. *Virusisolation*

Um eine Virusvermehrung bzw. -reaktivierung in den Ziegen festzustellen, wurden täglich während 8 Wochen von allen infizierten Tieren Nasen-, Augen-, Anal- und Vaginal- bzw. Präputialtupfer genommen und auf Zellkulturen inokuliert. Zweimal wöchentlich wurden zusätzlich Virusisolationen auf «buffy-coat»-Zellen angesetzt.

IBR-Virus konnte vom 3. bis 10. Tag p.i., CapHV vom 1. bis 6. Tag p.i. aus den Nasentupfern isoliert werden. Später und insbesondere nach der Kortisontherapie konnte keine Virusausscheidung nachgewiesen werden. Weder aus dem Blut noch aus den Augen-, Anal- und Vaginal- bzw. Präputialtupfern konnte je Virus isoliert werden.

3. *Serologie*

3.1 Seroneutralisation

Um den Erfolg der Virusinfektionen zu prüfen, wurden die Ziegenseren auf neutralisierende Antikörper gegen das IBRV- und das Ziegenherpesvirus untersucht.

Der Verlauf der neutralisierenden Antikörpertiter der IBR- bzw. CapHV-Ziegen ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Neutralisierende Antikörper sowohl gegen IBR-Vi-

Tabelle 1 Auftreten und Titerverlauf neutralisierender Antikörper gegen IBRV und CapHV-1 im Serum infizierter Ziegen

	IBR-Ziegen		CapHV-Ziegen	
Zeitpunkt	Anti IBRV[a]	Anti CapHV[b]	Anti IBR	Anti CapHV
Vor Infektion	neg[c]	neg	neg	neg
Infektionstag	neg	neg	neg	neg
1. Woche p.i.	neg	neg	neg	3[d]
2. Woche p.i.	neg	neg	3	>4
3. Woche p.i.	4	4	4	>4
4. Woche p.i.	20	35	6,8	>2187
5. Woche p.i.	27	4	6,8	>2187
6. Woche p.i.	N.U.[e]	N.U.	9	>2187

a = Neutralisierende Antikörper gegen IBR-Virus
b = Neutralisierende Antikörper gegen CapHV-1
c = keine neutralisierenden Antikörper nachweisbar
d = Angabe der reziproken Serumverdünnung
e = Nicht untersucht

rus wie auch gegen CapHV traten zuerst in den CapHV-Ziegen auf. Ab der 3. Woche p.i. serokonvertierten auch die IBR-Ziegen. Die Antikörpertiter gegen das IBR-Virus waren in allen Tieren nicht sehr hoch (zwischen 1 : 3 und 1 : 27). Die Antikörpertiter gegen das CapHV hingegen stiegen in den homolog infizierten Ziegen ab der 4. Woche p.i. stark an (über 1 : 2000) während sie in den heterolog (IBRV) infizierten Tieren niedrig (max. 1 : 35) blieben. In den Seren der Kontakttiere konnten nie neutralisierende Antikörper gegen IBRV oder CapHV nachgewiesen werden.

3.2 IBR-ELISA

Um die Tauglichkeit des Trachitest® IBR-ELISA für die Feststellung einer IBRV- bzw. CapHV-Infektion von Ziegen zu prüfen, wurden alle Ziegenseren im routinemässigen IBR-ELISA unter Verwendung des gebräuchlichen Konjugates (Anti-bovine-IgG-Peroxidase) geprüft. Die Reaktionen konsekutiv entnommener Seren einer IBRV- und einer CapHV-infizierten Ziege mit dem IBR-Antigen sind in Fig. 1A dargestellt. Die mit dem ELISA feststellbare Serokonversion erfolgte interessanterweise zuerst bei der CapHV-Ziege (in der 2. Woche p.i.) und erst in der 3. Woche auch beim IBRV-infizierten Tier. Während die Seren der CapHV-infizierten Tiere jedoch maximal Werte von der Grössenordnung der auf jeder Platte mitgeführten schwach positiven Kontrolle erreichten, stiegen die Werte der IBR-Ziegenseren von der 3. bis 8. Woche p.i. in den stark positiven Bereich und fielen bis zur 11. Woche wieder deutlich ab. Alle Seren der Kontakttiere blieben immer negativ. Die Reaktionen der beiden anderen infizierten Tiere waren von den in Fig. 1A dargestellten kaum unterscheidbar. Aus diesem Grunde wurde auf deren Darstellung verzichtet.

3.3 CapHV-ELISA

Um die Reaktivität der CapHV-spezifischen Antikörper weiter zu charakterisieren, wurde ein einfacher CapHV-ELISA entwickelt und die Seren aller infizierten und Kontrolltiere wurden damit getestet.

Wie in Fig. 1B für je eine IBR- und eine CapHV-Ziege dargestellt, schnellte die Reaktion der CapHV-Ziegenseren bereits in der zweiten Woche p.i. hoch, stieg bis zur 4. Woche p.i. an und blieb bis zum Ende des Versuches in der 11. Woche p.i. hoch. Im Gegensatz dazu verlief die Reaktion der IBR-Ziegenseren sehr flach und wurde nur ausnahmsweise schwach positiv. Die Reaktion der Seren der Kontakttiere blieb während des ganzen Versuches deutlich negativ.

4. Charakterisierung der IBRV- und CapHV-Antigene

Um typspezifische und kreuzreagierende Virusantigene zu evaluieren, wurde die Reaktion stark positiver IBR- und CapHV-Ziegenseren mit nativen und denaturierten Antigenen geprüft.

4.1 Native Virusantigene auf der Oberfläche infizierter Zellen

Membranglykoproteine der Herpesviren sind bedeutende Faktoren bezüglich Pathogenität. Weil sie nicht nur auf der Oberfläche des Virions, sondern auch auf den Oberflächen von infizierten Zellen exprimiert werden, sind sie auch für die Entwicklung der Immunantwort des befallenen Wirtes wichtig [19]. Solche Oberflächenproteine konnten wie folgt auf nativen infizierten Zellen festgestellt werden:

i) Mit dem Serum der IBR-Ziegen liessen sich sowohl Plaques von IBRV- wie auch von CapHV-infizierten Zellen schwarz anfärben.

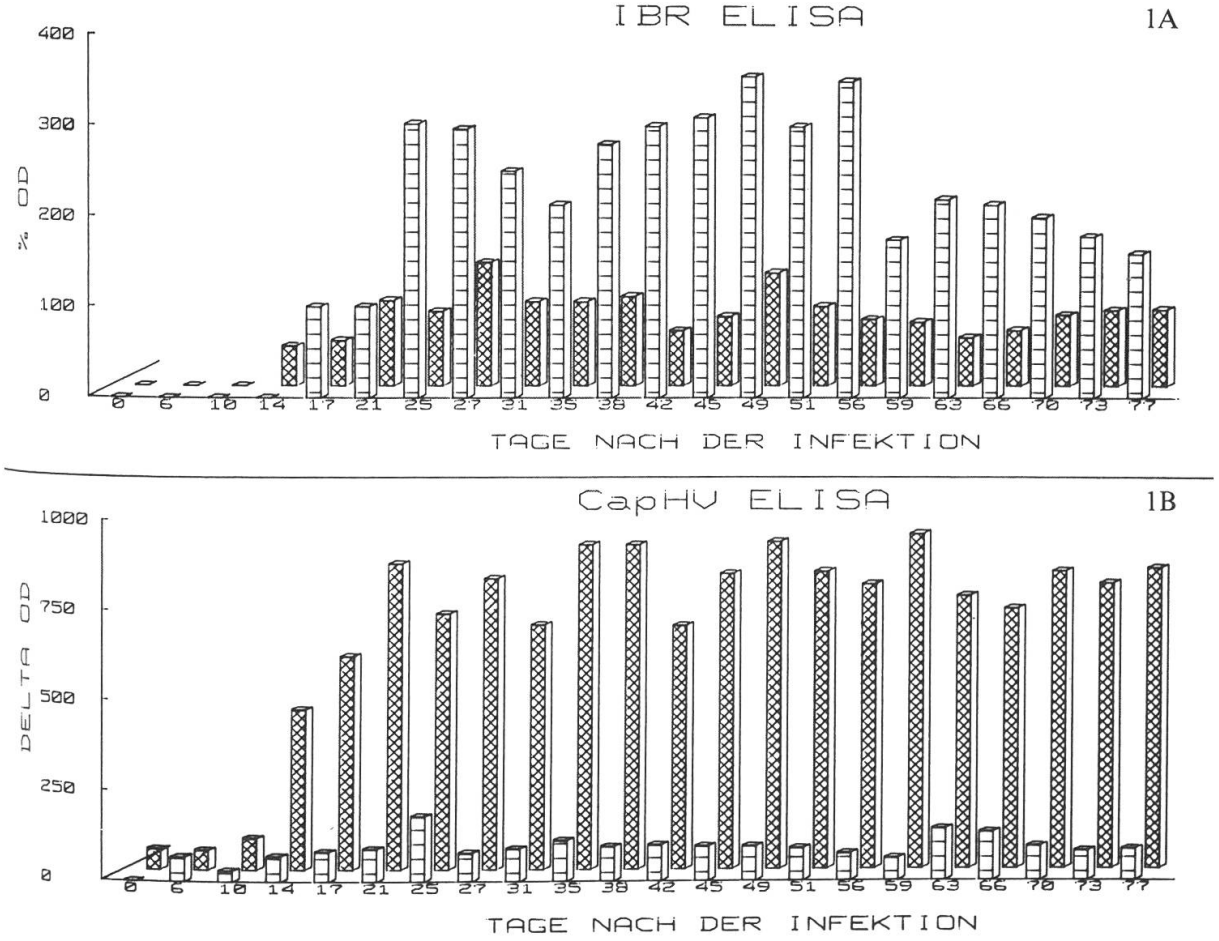

Fig. 1 Reaktion der Seren der IBRV-infizierten Ziege (▭) und der CapHV infizierten Ziege (▩) im ELISA.

1A IBR ELISA. Die X-Achse gibt den Zeitpunkt der Serumentnahme nach der jeweiligen Infektion an. Auf der Y-Achse sind die relativen Extinktionswerte der Seren prozentual bezogen auf das schwach positive Referenzserum dargestellt (%OD).

1B CapHV-ELISA. Die X-Achse gibt den Zeitpunkt der Serumentnahme nach der jeweiligen Infektion an. Auf der Y-Achse sind die Delta OD der jeweiligen Seren dargestellt. Delta OD errechnet sich aus der Differenz der Mittelwerte der Serumreaktion mit 2 Dellen des positiven und des negativen Antigens.

ii) Seren der CapHV-Ziegen vermochten nur die CapHV-infizierten Zellen zu schwärzen. IBRV-infizierte Zellen wurden höchstens grau.

Diese Ergebnisse sind in Fig. 2 dargestellt.

4.2 Typspezifische und kreuzreagierende Virusantigene

Um die Art der typspezifischen und kreuzreagierenden viralen Antigene näher zu charakterisieren, wurden infizierte und nichtinfizierte (mock) Zell-Lysate auf Poly-

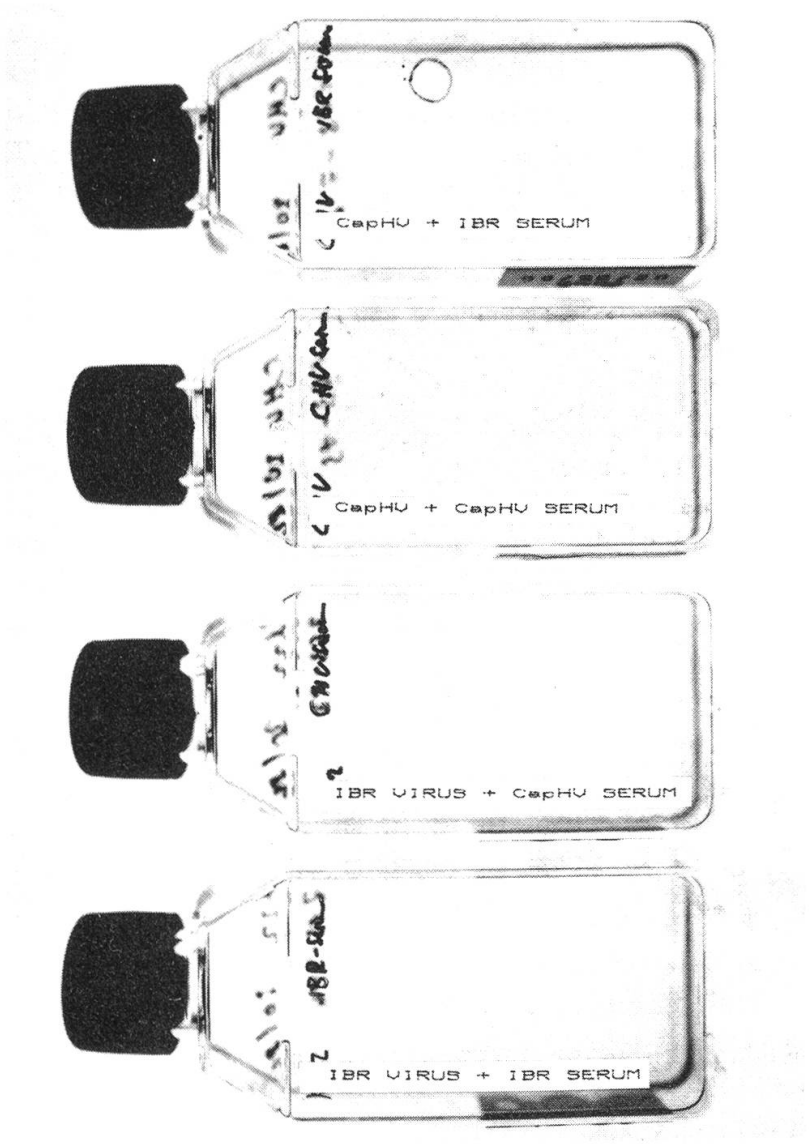

Fig. 2 Darstellung der nativen Antigene auf den Oberflächen infizierter Zellen mittels Immunfärbung. FKNE-Zellen wurden mit CapHV- bzw. mit IBR-Virus infiziert. Die entstandenen Plaques wurden, wie in Material und Methoden beschrieben, mit je homologem und heterologem Antiserum markiert. Die als Plaques sichtbaren infizierten Zellen sind je nach Reaktivität des Ziegenserums grau (= schwache Reaktion) bis schwarz (= starke Reaktion) angefärbt. Nicht infizierte Zellen sind unsichtbar.

acrylamid-Gel aufgetrennt und elektrophoretisch auf Nitrocellulose übertragen. Die transferierten Antigene wurden mit IBR- bzw. mit CapHV-Ziegenserum inkubiert und die Reaktion wurde mit einem Biotin-Avidin-verstärkten ELISA unter Verwendung eines präzipitierenden Substrates sichtbar gemacht. Wie Fig. 3 zeigt, reagierten die Seren im homologen System nur mit wenigen Banden stark. Das Muster der mit IBR-Serum

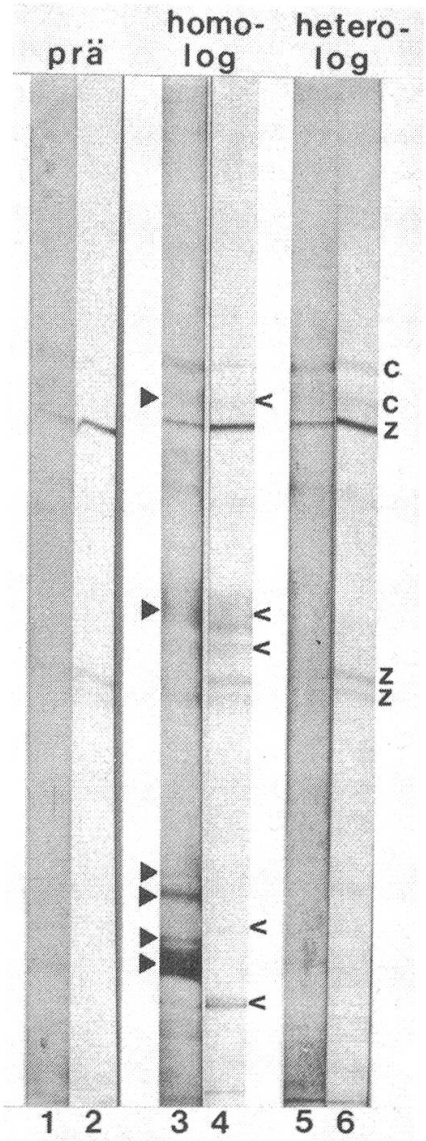

Fig. 3 Immunfärbung von SDS Polyacrylamidgel (9,3% Acrylamid) separierten und elektrophoretisch auf Nitrocellulose transferierten Proteinen aus IBR- und CapHV-infizierten Zell-Lysaten mit Präimmunserum (Bahn 1 und 2), mit stark positiven, homologen Seren (Bahn 3 und 4) und den gleichen Seren im heterologen System (Bahn 5 und 6). Die Nitrocellulose Streifen, die mit ungeraden Zahlen (1, 3, 5) bezeichnet sind, enthielten CapHV-Proteine. Die Streifen 2, 4, 6 enthielten IBRV-Proteine. Die im homologen System stark reagierenden CapHV-Proteine sind mit (▶) bezeichnet. Die homolog stark reagierenden IBRV-Proteine sind mit (>) bezeichnet. Kreuzreagierende Antigene (Bahn 5 und 6) wurden mit C (= common) markiert. Die stark reagierenden Zellproteine sind mit Z bezeichnet.

angefärbten IBRV-Antigene entsprach den viralen Glykoproteinen VP7, VP17 und 22A sowie den Virusproteinen VP31 und VP32A/33A (Nomenklatur nach *Metzler et al.* [12, 13]).

Im homologen CapHV-1-System reagierten v.a. die Virusglykoproteine VP7 und VP17 sowie weitere Virusproteine mit Molekulargewichten (MW) von 40 000, 38 000, 34 000 und 32 000/31 000 [MW nach 12, 13]. Im heterologen System reagierten bei

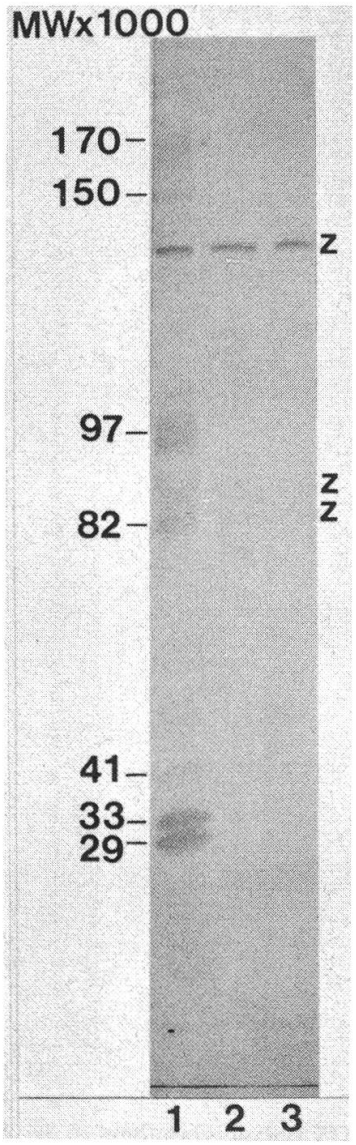

Fig. 4 Immunfärbung von 11% Polyacrylamidgel-separierten und elektrophoretisch auf Nitrocellulose transferierten Zell-Lysaten mit dem Serum einer CapHV-infizierten Ziege. Bahn 1 enthielt Proteine aus CapHV-infizierten Zellen, Bahn 2 Proteine nicht infizierter Zellen und Bahn 3 Proteine von IBR-infizierten Zellen. Die Molekulargewichte der stark reagierenden CapHV-Proteine sind auf der linken Seite angegeben (MW × 1000).

Als Molekulargewichtsstandard dienten HSV-1 infizierte Zellproteine gemäss *Morse et al.*, 1978 [15]. Die reaktiven, nichtviralen Zellantigene wurden am rechten Rand der Figur mit Z bezeichnet.

den Antigenen v. a. das Hauptkapsidprotein und das virale Glykoprotein VP7. Wie die Reaktion mit Präimmunseren zeigte, reagierten auch nichtvirale Zellproteine (Z).

In einem weiteren Experiment wurde die Reaktion des CapHV-Ziegenserums mit CapHV-, dem IBRV- und dem Mock-Antigen näher untersucht und die Molekulargewichte der reaktiven Proteine wurden bestimmt. Die Resultate sind in Fig. 4 dargestellt.

Im wesentlichen reagierten Polypeptide des CapHV-Lysates mit folgenden Molekulargewichten: 170 000 (VP3), 150 000 (Hauptkapsidprotein, VP4), Glykoprotein VP17 mit MW 94 000 bis 100 000, eine relativ starke Bande im Bereich 80 000 bis 84 000, die dem Glykoprotein VP22A oder VP23 entsprechen könnte und eine schwache Bande im Bereich 41 000. Die Hauptreaktion aber stammte von einer Doppelbande mit MW 33 000 (VP32) und 29 000 (VP33). Anhand des mock-infizierten Zell-Lysates konnten die reaktiven nichtviralen Zellproteine (Z) aufgezeigt werden.

Diskussion

Um die Rolle der Ziegen als IBR-Virus-Reservoir abzuklären, wurden Grundlagen für die Unterscheidung von zwei verschiedenen Herpesvirusinfektionen (nämlich der IBR-Virus- und der Ziegenherpesvirus-Infektion) bei Ziegen – anhand serologischer Daten – geschaffen. Zu diesem Zweck wurden die folgenden drei Aspekte untersucht:

i) Zuerst wurde abgeklärt, ob Ziegen überhaupt durch experimentelle intranasale Inokulation mit den genannten Viren angesteckt werden konnten und ob eine möglicherweise latente Infektion durch Kortison reaktivierbar sei.
ii) Durch Serumneutralisation mit beiden Viren und durch IBR- und CapHV-ELISA wurden die typspezifischen und kreuzreagierenden Antikörper im Serum der Ziegen nachgewiesen.
iii) Die Eigenschaften der typspezifischen und der kreuzreagierenden viralen Antigene wurden charakterisiert.

1. Infektions- und Reaktivierungsversuch von IBR-Virus (BHV-1) und Ziegenherpesvirus (CapHV-1) an Ziegen

Es konnte gezeigt werden, dass Ziegen sowohl für eine IBRV- wie für eine CapHV-1-Infektion empfänglich sind. Die intranasale Inokulation der entsprechenden Viren führte zu einer lokalen Virusvermehrung und zu einer Serokonversion. Es konnten jedoch keine weiteren Beweise für eine Generalisierung der Infektion erbracht werden. Weder aus Augen-, Anal-, Vaginal- bzw. Präputialtupfern noch aus dem Blut («buffy-coat») der infizierten Tiere konnte je Virus isoliert werden.

Vier bzw. fünf Wochen nach der Infektion wurde ein Reaktivierungsversuch mittels Kortisontherapie durchgeführt. Andere Autoren hatten schon vorher gezeigt, dass eine Dexamethasonmenge von 0,1 mg/kg Körpergewicht, die normalerweise zur IBR-Virusausscheidung bei latent infizierten Rindern führt [1, 2, 17], nicht ausreichte, um eine Herpesvirusinfektion bei Ziegen zu reaktivieren [21]. Aus diesem Grunde verwendeten wir die 20fache Dosis, wie sie auch bei Schweinen zur Reaktivierung von Aujeszkyvirus eingesetzt werden muss [23]. Trotzdem zeigte keiner der drei verwendeten

Indikatoren eine Virusreaktivierung an: Erstens blieben Kontaktkontrollen gesund und seronegativ; zweitens konnte zu keinem Zeitpunkt (ausser während der Primärinfektion) Virus aus den Ziegen isoliert werden; drittens konnte auch kein signifikanter Antikörpertiteranstieg im Gefolge des Reaktivierungsversuches gemessen werden. Somit muss zumindest festgestellt werden, dass eine BHV-1-, aber auch eine CapHV-1-Infektion bei Ziegen nicht ohne weiteres reaktiviert werden kann. Unter Berücksichtigung der seroepidemiologischen Studie von *Hasler* und *Engels* [7], führen unsere Resultate zum Schluss, dass *die Ziegen in der Schweiz in der IBR-Epidemiologie keine oder höchstens eine minimale Rolle spielen.*

2. *Serologische Unterscheidung der BHV-1- und der CapHV-1-Infektion bei Ziegen*

Ein weiteres Hauptziel dieser Arbeit war, im Hinblick auf seroepidemiologische Studien [7], Grundlagen für die serologische Unterscheidung einer BHV-1- und einer CapHV-1-Infektion bei Ziegen zu schaffen. Vorhergehende Arbeiten hatten gezeigt, dass natürliche CapHV-Infektionen in Ziegen zu niedrigen Titern von IBRV-neutralisierenden Antikörpern und zu sehr hohen Titern von CapHV-neutralisierenden Antikörpern führten [16]. Allerdings war hier unbekannt, inwieweit diese Reaktionen von überlagernden IBRV-Infektionen verursacht worden waren. Umgekehrt wusste man, dass die Seren von IBRV-infizierten Rindern CapHV-1 und BHV-1 in etwa dem gleichen Masse zu neutralisieren vermochten [16]. Unsere Resultate zeigten, dass die Seren von IBRV-infizierten Ziegen ungefähr gleich hohe Titer neutralisierender Antikörper gegen BHV-1 und das Ziegenherpesvirus aufwiesen. Die Seren der CapHV-Ziegen neutralisierten das homologe Virus in sehr hohem Masse und enthielten relativ geringe Titer von BHV-1-neutralisierenden Antikörpern. Die Titerhöhe der neutralisierenden Antikörper gegen das Ziegenherpesvirus ermöglichte also die Typisierung des infizierenden Virus.

Der Trachitest® IBR-ELISA eignete sich sowohl zur serologischen Erfassung einer IBRV- wie einer CapHV-1-Infektion von Ziegen. Obwohl als Konjugat Anti-Rind-IgG-Peroxidase verwendet wurde, reagierten die Seren der IBR-Ziegen stark, die Seren der CapHV-Ziegen ungefähr im gleichen Masse wie das schwach positive Kontrollserum. Das typenspezifische Resultat wurde jedoch vom CapHV-ELISA erbracht: Während die Seren der IBR-Ziegen fast keine Reaktion hervorriefen, reagierten die Seren der CapHV-Ziegen sehr stark. Ausserdem war während des ganzen Versuches kein Titerabfall der CapHV-ELISA-Antikörper zu bemerken.

3. *Charakterisierung der typspezifischen und kreuzreagierenden viralen Antigene*

Die viralen Antigene wurden in drei verschiedenen Präsentationen untersucht: Im Seroneutralisationstest (SNT) und in der immunologischen Plaquefärbung reagierten native Antigene. Im ELISA waren die Antigene an Polystyrol adsorbiert und mit Detergens behandelt. Auf der Nitrocellulose schliesslich handelte es sich um denaturierte Antigene.

Im Unterschied zum SNT, wo die Menge neutralisierender Antikörper gemessen wurde, erlaubte die immunologische Plaquefärbung mit stark positiven Seren Rück-

schlüsse auf die Antigenmenge, die auf der Oberfläche infizierter Zellen exprimiert wurde. Dass die Seren der IBR-Ziegen IBRV- und CapHV-Antigen auf den infizierten Zellen ungefähr gleichmässig anfärbten, lässt darauf schliessen, dass CapHV-1 ein Oberflächenantigen kodiert, das dem IBRV-Antigen verwandt ist und das in einer vergleichbaren Menge produziert wird. Andererseits bedeutet die sehr intensive Schwarzfärbung der CapHV-Plaques mit dem Serum der CapHV-Ziegen und die vergleichsweise schwache Reaktion der IBRV-Plaques mit den gleichen Seren, dass das Ziegenherpesvirus ein typspezifisches Protein kodiert, das in sehr grossen Mengen auf der Oberfläche infizierter Zellen erscheint. Die Tatsache, dass aus dem Überstand CapHV-infizierter Zellen wohl eine grosse Menge typspezifisches ELISA-Antigen, aber nur wenig infektiöses Virus gewonnen werden kann *(Ackermann* und *Ursenbacher:* nicht publizierte Beobachtung), führt zur Vermutung, dass das typspezifische Ziegenherpesvirusprotein nicht nur auf der Zelloberfläche exprimiert, sondern auch sezerniert wird. Diese Behauptung wird unterstützt durch die Tatsache, dass CapHV extrem hohe Titer von neutralisierenden Antikörpern induziert. Die Separierung von Proteinlysaten der infizierten Zellen auf Polyacrylamidgelen und der anschliessende Transfer auf Nitrocellulose erlaubte nicht nur die Bestimmung der Molekulargewichte, sondern auch die Untersuchung einzelner Antigene in denaturiertem Zustand. Dieserart konnten drei verschiedene Antigengruppen festgestellt werden:

i) Für die jeweilige Virusinfektion typische Antigene.
ii) Kreuzreagierende virale Antigene (C-AG, C = common).
iii) Reaktive Zellantigene (Z-AG), die sowohl in der infizierten wie auch in der nichtinfizierten Zelle vorhanden waren und die von den Präimmunseren gleichermassen wie von den Immunseren angefärbt wurden.

Die Z-Antigene mussten für die Analyse der jeweiligen Immunfärbung zuerst subtrahiert werden.

Als C-Antigene konnten das Hauptkapsidprotein (VP4) und das Glykoprotein VP7 identifiziert werden (Nomenklatur nach *Metzler et al.* [12, 13]). In Kombination mit den Resultaten der immunologischen Plaquefärbung führt diese Feststellung zum Schluss, dass VP7 auf der Oberfläche infizierter Zellen exprimiert wird (diese Vermutung konnte mittels monoklonaler Antikörper bestätigt werden [*Spirig, Metzler und Akkermann,* nicht publiziert]) und kreuzreagierende, neutralisierende Antikörper induziert [6]. Für die typspezifische Reaktion waren jeweils mehrere Proteine verantwortlich. Von besonderem Interesse waren dabei die Glykoproteine und die speziell stark reagierenden Antigene. Im IBRV-System reagierten mit VP32A und VP33A zwei nichtglykosylierte virale Proteine am intensivsten. Die Hauptreaktion im CapHV-System verursachte eine Protein-Doppelbande mit einem Molekulargewicht von 33 000 (VP32) bzw. 29 000 (VP33). Von den Glykoproteinen reagierten in unserem System VP17 und VP22A typspezifisch. Bezüglich Typspezifität dürfte jedoch dem Glykoprotein VP12 die grösste Bedeutung zukommen, obwohl dieses Protein im denaturierten Zustand auf der Nitrocellulose von den Seren gar nicht angefärbt wurde. Bisher konnten weder bei Verwendung von monoklonalen Antikörpern noch in der Radioimmunpräzipitation gemeinsame Antigene auf VP12 festgestellt werden [5 und *Metzler,* nicht

publiziert]. Die starke typspezifische Reaktion im ELISA und im Plaquetest ist wahrscheinlich auf dieses VP12 zurückzuführen. Die auf der Nitrocellulose am stärksten reagierenden Proteine kommen dafür weniger in Frage, weil sie als Nicht-Glykoproteine wohl kaum auf der Zelloberfläche exprimiert oder gar sezerniert werden. Um diesen Punkt definitiv abzuklären, sind allerdings weitere Experimente durchzuführen. Im Polyacrylamidgel, in dem Methylenbisacrylamid als Crosslinker verwendet wird, hat VP17 ein offensichtliches Molekulargewicht von 73 000 [13]. Im hier verwendeten System, mit DATD als Crosslinker migrierte das fragliche Protein offensichtlich zwischen 100 000 und 94 000. Solche Unterschiede des apparenten Molekulargewichtes, verursacht durch die beiden Crosslinkersysteme, sind aus der Literatur bekannt [3, 10, 15].

Zusammenfassung

Um die Bedeutung der Ziegen als Reservoir von IBR/IPV (Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Pustulöse Vulvovaginitis)-Virus abzuklären, wurden neben seroepidemiologischen Untersuchungen [7] die folgenden Experimente durchgeführt: i) Je zwei Ziegen wurden intranasal mit IBR-Virus (IBRV = Bovines Herpesvirus 1 = BHV-1) bzw. mit Caprinem Herpesvirus-1 (CapHV-1) inokuliert. Später wurde die Reaktivierbarkeit der jeweiligen Infektion geprüft. ii) Neutralisierende- und ELISA-Antikörper gegen das homologe und das heterologe Virus bzw. die virusinduzierten Antigene wurden gemessen. iii) Native und denaturierte virale Antigene wurden mit verschiedenen Techniken untersucht.

Die Ergebnisse waren wie folgt: i) Die Ziegen waren sowohl für eine IBRV- wie für eine CapHV-Infektion empfänglich. ii) Mittels Kortisontherapie konnte weder die IBRV- noch die CapHV-Infektion reaktiviert werden. iii) Durch die Prüfung der Ziegenseren im IBR-ELISA und im CapHV-ELISA konnten IBR-Ziegen von CapHV-Ziegen unterschieden werden. iv) Kreuzreagierende Antikörper wurden hauptsächlich durch das Hauptkapsidprotein (VP4) und das virale Glykoprotein VP7 induziert. v) Mehrere virale Proteine induzierten Antikörper, welche nur mit dem ursächlichen Virustyp spezifisch reagierten. vi) Für die Induktion hoher Titer an CapHV-spezifischen Antikörpern, die sowohl im homologen Seroneutralisationstest als auch im CapHV-ELISA nachgewiesen werden konnten, war vermutlich das CapHV-1-kodierte VP12 verantwortlich.

Unter Berücksichtigung der seroepidemiologischen Untersuchungen [7] und der hier erarbeiteten Grundlagen kann geschlossen werden, dass Ziegen in der Schweiz keine oder nur eine unbedeutende Rolle als IBR-Virus-Reservoir spielen.

Résumé

Afin de pouvoir déterminer le rôle de la chèvre dans la transmission de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (RIB), en plus d'une étude séroépidémiologique (*Hasler et Engels* [7]), l'expérimentation suivante a été réalisée: 1) Deux chèvres ont été infectées par voie intranasale avec le virus de la RIB (Herpesvirus bovin = BHV-1). 2) Deux autres subirent le même traitement avec l'Herpesvirus caprin (CapHV-1). Après séroconversion, les animaux infectés BHV-1 furent mis en contact avec des veaux séro-négatifs vis-à-vis du BHV-1, tandis que celles infectées au CapHV-1 furent mises en contact avec des chèvres séronégatives vis-à-vis du CapHV-1. Les animaux de contact furent contrôlés sérologiquement, tandis que les différents isolats journaliers des animaux infectés furent contrôlés sur cultures cellulaires. D'autre part, la présence d'anticorps dans les sérums de tous les animaux a été systématiquement suivie deux fois par semaine. 3) La réponse immunitaire spécifique à l'infection homologue ainsi qu'hétérologue a été déterminée par séroneutralisation et par ELISA. 4) Les antigènes viraux spécifiques et de réaction croisée ont été mis en évidence d'une part à l'état natif par la méthode dite de «Black plaque» (coloration immunologique enzymatique des antigènes exprimés à la surface des cellules infectées) et d'autre part à l'état dénaturé, par réaction des antiserums aux protéines pro-

venant de cellules infectées et non infectées, séparées en gel de polyacrylamide et transférées par électrophorèse sur feuilles de nitrocellulose. Ainsi, nous avons pu constater: 1) que les chèvres sont aussi réceptives à une infection BHV-1, qu'à celle du CapHV-1, 2) qu'aucune réactivation des infections respectives n'a été provoquée par le traitement à la cortisone, 3) que le virus responsable des infections respectives peut être défini par les tests ELISA BHV-1 et CapHV-1, 4) que la capside protéinique majeure VP4 et la glycoprotéine VP7 sont responsables de l'induction de l'immunité croisée, c.a.d. que l'antigène du BHV-1 induit des anticorps envers le CapHV-1 et vice versa, 5) que les anticorps spécifiques aux types de virus ont été induits par plusieurs polypeptides virales, que la proteine VP12 est responsable de l'induction d'anticorps neutralisants spécifiques au type CapHV-1, 6) que celle-ci est également responsable de la réaction des sérums CapHV-1, prouvée par le test ELISA-CapHV-1. En outre, cette glycoprotéine a très probablement été exprimée sur la surface des cellules infectées avec le CapHV-1 et semblerait même être secrétée dans le surnageant.

Les résultats de l'étude séroépidémiologique [7] – démontrant que les chèvres suisses sont rarement atteintes de RIB, ainsi que ceux de nos expériences, démontrant qu'une réactivation de l'infection est très difficile sinon impossible – nous permettent d'affirmer que les ongulés non-bovins ne peuvent être source de transmission de la RIB.

Riassunto

Per valutare l'importanza delle capre come serbatoio della IBR/IPV (rinite infettiva dei bovini/vulvovaginite pustulosa) accanto a ricerche sieroepidemiologiche [7], vennero eseguiti i seguenti esperimenti: i) Ogni volta vennero inoculate due capre per via intranasale con IBR-virus (IBRV = Herpesvirus bovino 1 = BHV-1), rispettivamente con Herpesvirus caprino 1 (CapHV-1). Di seguito venne controllata la capacità reattiva delle due infezioni. ii) Anticorpi neutralizzanti ed ELISA contro il virus omologo ed eterologo, rispettivamente gli antigeni virusinducenti vennero quantificati. iii) Antigeni virali naturali e denaturati vennero esaminati con diverse tecniche.

I risultati sono stati i seguenti: i) Le capre risultarono recettive sia per una infezione IBR, sia per una CapHV. ii) Con una terapia cortisonica non potè esser riattivata nè una IBRV, nè una CapHV. iii) Con il controllo dei sieri caprini con la IBR-ELISA e la CapHV-ELISA fu possibile distinguere le capre IBR da quelle CapHV. iv) Anticorpi a reazione crociata vennero indotti principalmente per mezzo della capsidproteina principale (VP4) e la glicoproteina virale VP7. v) Diverse proteine virali inducono anticorpi, i quali reagiscono in modo specifico solo con il tipo virale originale. vi) Per la induzione di titoli specifici elevati di CapHV, che possono esser individuati sia nell'omologa sieroneutralizzazione, sia nel CapHV-ELISA, è responsabile probabilmente il CapHV-1, codificato con la sigla VP12.

Sulla scorta degli esami sieroepidemiologici [7] e delle conclusioni qui accertate, si può ritenere che le capre in Svizzera non sono, o lo sono in modo irrilevante, serbatoi di IBR-virus.

Summary

In order to investigate the role of goats as a source for Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1)-infection in Swiss cattle, the following experiments gave complementary evidence to a seroepidemiological study on Swiss non-bovine ungulates [7]: i) Each of two goats were inoculated intranasally with BHV-1 and Caprine Herpesvirus-1 (CapHV-1). ii) After seroconversion the separately kept animals were treated with dexamethasone (DM) (2.5 mg DM/kg of bodyweight). At the same time susceptible animals (seronegative calves with BHV-1 infected goats, and seronegative goats with CapHV-1 infected goats) were housed with the infected animals. In order to monitor reactivation of the respective infections, the sera of the sentinel animals were tested for seroconversion. Furthermore, swabs taken daily from the infected goats were tested for presence of virus by inoculation of cell cultures. Finally, the sera of all animals were checked twice every week for the amount of antibodies to both viruses. iii) The specific antibody-response to each infection was determined by homologous and heterologous seroneutralization tests and BHV-1-ELISA as well as CapHV-1-ELISA. iv) Native as well as denaturated, type-

specific and crossreactive antigens were characterized by immunostaining of antigens expressed on the surface of infected cells, and by reaction of antisera with proteins, separated on polyacrylamidgel and transferred to nitrocellulose, in infected and mockinfected cell lysates.

The results were as follows: i) The goats were susceptible to BHV-1 as well as to CapHV-1 infection. ii) Neither infection could be reactivated by DM treatment. iii) The respective infecting virus type could be determined by testing the goat sera with BHV-1-ELISA and CapHV-1-ELISA. iv) The major capsid protein (VP4) and viral glycoprotein VP7 were responsible for the induction of crossreacting antibodies. v) Type specific antibodies were induced by several viral polypeptides. vi) VP12 specified by CapHV-1 seemed to be responsible for the induction of type specific CapHV neutralizing antibodies and largely for the reactivity of homologous sera in the CapHV ELISA test. Furthermore, this glycoprotein was, most probably, expressed on the surface of CapHV infected cells and it seemed even to be secreted to the supernatant.

Regarding the rare occurrence of BHV-1 infected goats and the fact that this infection may not be easily reactivated in these animals, we conclude that this species is of no importance in the transmission of BHV-1 infection in Switzerland.

Zitierte Literatur

[1] *Ackermann M., Peterhans E. and Wyler R.:* DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. Am. J. Vet. Res. *43,* 36–40 (1982). – [2] *Ackermann M. and Wyler R.:* The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. Vet. Microbiol. *9,* 53–63 (1984). – [3] *Ackermann M., Braun D. K., Pereira L. and Roizman B.:* Characterization of herpes simplex virus type 1 alpha proteins 0, 4, and 27 with monoclonal antibodies. J. Virol. *52,* 108–118 (1984). – [4] *Ackermann M., Longnecker R., Roizman B. and Pereira L.:* Identification, properties, and gene location of a novel glycoprotein specified by herpes simplex virus 1. Virology *150,* 207–220 (1986). – [5] *Engels M., Gelderblom H., Darai G. and Ludwig H.:* Goat herpesviruses: Biological and physiocochemical properties. J. gen. Virol. *64,* 2237–2247 (1983). – [6] *Friedli K. and Metzler A. E.:* Reactivity of monoclonal antibodies to proteins of a neurotropic bovine herpesvirus 1 (BHV-1) strain and to other proteins of representative BHV-1 strains. Arch. Virol. (in press). – [7] *Hasler J. und Engels M.:* Stellen nichtbovine Paarhufer ein IBR-Virus-Reservoir dar? II. Seroepidemiologische Untersuchungen an Ziegen, Schafen, Schweinen und Wildpaarhufern in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. *128,* 579–589 (1986). – [8] *Köhler H. und Kubin G.:* Zur Virologie, Serologie und Pathomorphologie des männlichen Genitale nach natürlicher und experimenteller Infektion mit dem IBR/IPV-Virus. Dt. tierärztl. Wschr. *79,* 121–144 (1972). – [9] *Lazarowicz M., Steck F., Ackermann M. und Kihm U.:* Prüfung von zwei Impfstoffen gegen die Infektiöse Bovine Rhinotracheitis. Schweiz. Arch. Tierheilk. *125,* 797–808 (1983). – [10] *Marsden H. S., Stow N.D., Preston V. G., Timbury M. C. and Wilkie N. M.:* Physical mapping of herpes simplex virus-induced polypeptides. J. Virol. *28,* 624–642 (1978). – [11] *Mettler F., Engels M., Wild P. und Bivetti A.:* Herpesvirus-Infektion bei Zicklein in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. *121,* 655–662 (1979). – [12] *Metzler A. E., Matile H., Gassmann U., Engels M. and Wyler R.:* European isolates of bovine herpesvirus 1: A comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. Arch. Virol. *85,* 57–69 (1985). – [13] *Metzler A. E., Schudel A. A. and Engels M.:* Bovine herpesvirus 1: Molecular and antigenic characteristics of variant viruses isolated from calves with neurological disease. Arch. Virol. *87,* 205–217 (1986). – [14] *Mohanty S. B., Lillie M. G., Corselius N. P. and Beck J. D.:* Natural infection with infectious bovine rhinotracheitis virus in goats. JAVMA. *160,* 819–880 (1972). – [15] *Morse L. S., Pereira L., Roizman B. and Schaffer P. A.:* Anatomy of herpes simplex virus (HSV) DNA. IV. Mapping of viral genes by analysis of polypeptides and functions specified by HSV-1 × HSV-2 recombinants. J. Virol. *26,* 389–410 (1978). – [16] *Plebani G. F., Engels M., Metzler A. E. und Wyler R.:* Caprines Herpesvirus in der Schweiz: Verbreitung, Häufigkeit und Latenz der Infektion. Schweiz. Arch. Tierheilk. *125,* 395–411 (1983). – [17] *Probst U., Wyler R., Kihm U., Ackermann M., Bruckner L., Müller H. K. und Ehrensperger F.:* Zur IBR-Virus-Ausscheidung experimentell infizierter Kühe insbesondere in der Milch. Schweiz. Arch. Tierheilk. *127,*

723–733 (1985). – [18] *Riggenbach Chr.:* Bekämpfung der IBR/IPV in der Schweiz. Referat an der Arbeitstagung des Bundesverbandes der beamteten Tierärzte. 24./25.4.1986. Lichtenfels, BRD. – [19] *Spear P. G.:* Glycoproteins specified by herpes simplex virus. In «The Herpesviruses» (B. Roizman, ed.), Vol. *3,* pp. 315–356, Plenum, New York (1985). – [20] *Sheffy B. E. and Davies D. H.:* Reactivation of a bovine herpesvirus after corticosteroid treatment. Proc. Soc. exp. Biol. Med. *140,* 974–976 (1972). – [21] *Wafula J. S., Mushi E. Z. and Wamwayi H.:* Reaction of goats to infection with infectious bovine rhinotracheitis virus. Res. Vet. Sci. *39,* 84–86 (1985). – [22] *Waldvogel A., Engels M., Wild P., Stuenzi H. and Wyler R.:* Caprine herpesvirus infection in Switzerland. Some aspects of its pathogenicity. Zentralblatt für Veterinärmedizin. B *28,* 612–623 (1981). – [23] *Wittmann G., Rhiza H.-J. and Döller P. C.:* Occurrence of clinical Aujeszky's disease in immunosuppressed latently infected pigs. In «Aujeszky's disease» pp. 211–214 (G. Wittmann and S. A. Hall eds), Martinus Nijhoff, The Hague (1982).

Wir danken U. Probst und R. Pool für die Mithilfe bei der Entnahme der Tupferproben, W. Fräfel und L. Meyer für die vorbildliche Betreuung der Versuchstiere sowie für die Hilfe bei der Durchführung der Virusisolationen.

Manuskripteingang: 5. August 1986

BUCHBESPRECHUNGEN

Wie behandle ich meinen Tierarzt? (Wunderliche Erlebnisse eines Landtierarztes). *F. Knüsel,* mit Illustrationen von Caspar Frei. Ca. 170 S., Pappbd. NZN-Buchverlag AG, Zürich, Preis ca. Fr. 26.–.

Dr. Franz *Knüsel,* Luzern, der Chronist der Gesellschaft Zentralschweizerischer Tierärzte (Schweiz. Arch. Tierheilk. *128;* 26, 1986) überrascht und erfreut uns – vier Jahre nach seinem Erstling (Schweiz. Arch. Tierheilk. *124;* 565–566, 1982) – mit einem weiteren literarischen Werk. Es handelt sich wohl zum grössten Teil um eigene Erfahrungen und Erinnerungen, was aber geschickt hinter einer kleinen Rahmenerzählung verborgen wird.

Er – der Autor – besucht auf einer Fahrt ins Bündnerland im Herbst 1945 seinen Studienfreund Peter *Dolder,* der kaum zwei Jahre nach dem Fachexamen, gegen Ende des letzten Weltkrieges, im unteren Toggenburg eine tierärztliche Praxis übernommen hat. Dies von einem älteren Kollegen, dem es an Selbstsicherheit nicht zu mangeln schien und der in eine amtliche Stellung überwechselte: Dr. Rothenbühler. (Est nomen omen?) Der Freund gibt dem Autor seine Aufzeichnungen aus den ersten Praxisjahren zu lesen, während er selbst – auf Praxis fährt. Dieser ist davon zunehmend gefesselt, nimmt sie mit in den Urlaub. Ihre Wiedergabe in 33 kurzen Kapiteln macht nun den Inhalt seines kleinen Buches aus.

Um das Ende – d.h. den zweiten Teil der Rahmenerzählung – vorauszunehmen: ein Jahr später stirbt Cordelia, Peters grosse Liebe, unerwartet an akuter Leukämie; der junge Tierarzt gibt seine Praxis auf und wandert aus.

Der Inhalt der Abschnitte mit den mannigfachen Erfahrungen eines jungen Landtierarztes, von der gestrengen Haushälterin über währschafte Bauern bis hin zu recht romantischen Figuren lässt erkennen, dass der Tierarzt nicht nur Tiere, sondern auch Menschen behandeln muss – wenn auch nicht im medizinischen Sinne – und dass er sich selbst auf vielfache, erfreuliche und oft weniger erfreuliche, Weise behandelt sieht. Es soll aber nichts davon verraten werden, um dem Leser nicht den Gluscht zu stehlen.

Der Stil ist unterhaltsam, die Sprache oft eigenwillig – was sich schon in den Kapitelüberschriften verrät – aber man wird dies dem Autor gerne nachsehen.

Nachdem vor nicht so langer Zeit die Erinnerungen eines Kollegen aus der französisch sprechenden Schweiz erschienen und einen erfreulichen Erfolg hatten (Schweiz. Arch. Tierheilk. *125;* 108–110, 1983) ist zu hoffen, dass dieses ganz anders geartete, aber liebenswerte Buch aus dem alemannischen Bereich eine ebenso freundliche Aufnahme finden wird. *R. Fankhauser,* Bern