

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: 121 (1979)

Artikel: Nachweis des caninen Herpesvirus in einem Fall von Welpensterben

Autor: Engels, M. / Suter, M. / Ruckstuhl, B.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593626>

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: 02.07.2025

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

Aus dem Institut für Virologie (Direktor: Prof. Dr. R. Wyler)¹
und dem Institut für Veterinärpathologie (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Stünzi)²
der Universität Zürich

Nachweis des caninen Herpesvirus in einem Fall von Welpensterben

von M. Engels¹, M. Suter² und B. Ruckstuhl

I. Einleitung

Die canine Herpesvirus-Infektion wurde 1965 erstmals in den USA beschrieben [7]. Seither wurden Ausbrüche der Infektion in Hundezuchten in verschiedenen Ländern festgestellt, so in Kanada [8], den USA [20, 21, 22], Deutschland [1, 3], England [9, 18], Frankreich [10], Holland [24], Norwegen [5], Australien [13, 14, 15, 25] und Neuseeland [11, 12].

In der Schweiz wiesen positive serologische Untersuchungen in 3 von 7 untersuchten Hundezuchten, die Verluste bei der Aufzucht von Welpen hatten [23], auf das Vorhandensein des caninen Herpesvirus hin. Schiefer et al. [19] fanden danach bei einem Wurf Setterhunde bei der Sektion das Bild einer Herpesvirus-Infektion und konnten mittels elektronenmikroskopischer Aufnahmen am Paraffinschnitt ein Herpesvirus nachweisen. Aus dem Sektionsmaterial liess sich in Zellkulturen jedoch kein Virus isolieren.

Die vorliegende Arbeit berichtet nun über die erfolgreiche Isolierung des caninen Herpesvirus aus Organen von Welpen, die aus einem Zwinger stammten, in dem seit Januar 1979 24 von 48 Welpen starben.

II. Material und Methoden

1. Material

Aus einer Hundezucht mit 8 Deutschen Boxerhündinnen und 4 Französischen Bulldoggenhündinnen wurden 5 Welpen untersucht, die 12–14 Tage post partum gestorben waren. Die Welpen stammten aus einem Wurf Deutscher Boxer und einem Wurf Französischer Bulldoggen. 7 Zuchthündinnen aus diesem Bestand, 4 mit und 3 ohne Welpenverluste, wurden serologisch auf canine Herpesvirus-Antikörper untersucht. Die Blutentnahme erfolgte 6–8 Wochen nach der Geburt.

2. Methoden

Pathologische Untersuchungen:

Bei der Sektion wurden Organproben (Hirn, Lunge, Leber, Nieren und Darm) in 4% Formaldehyd fixiert, dann in Paraffin eingebettet und 6 µm dicke histologische Schnitte angefertigt, welche mit Hämalaun-Eosin angefärbt wurden.

¹ Institut für Virologie, Winterthurerstrasse 266 a, 8057 Zürich.

² Institut für Veterinärpathologie, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich.

Virologische Untersuchungen:

Von jedem Welpen wurden die Leber, die Nieren, die Lunge und die Milz bei -20°C eingefroren.

Für den Virusnachweis züchteten wir embryonale Hundelungenzellen. Einem gesunden, 50 Tage alten Hundeföten wurde anlässlich einer Sectio caesarea sofort die Lunge entnommen und in PBS-A (phosphatgepufferte Salzlösung) eingelegt. Anschliessend befreiten wir die Lunge von sichtbarem nicht dazugehörigem Gewebe und zerkleinerten sie fein. Der Organbrei wurde in PBS-A gewaschen, danach mit Trypsin 0,125%³ versetzt und 15 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt.

Die Trypsinisierung wiederholten wir zweimal. Die Zellen wurden dann durch Gaze filtriert, während 10 Minuten bei 150 g zentrifugiert und das Zellsediment in E'MEM⁴ mit Zusatz von 10% fötalem Kälberserum⁴, 100 IE/ml Penicillin⁵ und 100 µg/ml Streptomycin⁵ resuspendiert. Die Zellen wurden in einer Konzentration von ca. 10^6 Zellen/ml in 25-cm²-Falcon-Flaschen⁶ ausgesät und anschliessend bei 37°C inkubiert.

Nach 24 Stunden wurde das Wachstumsmedium erneuert, danach alle 3 Tage, bis nach 8 Tagen der Zellrasen vollständig ausgewachsen war. Für die Beimpfung verwendeten wir 4 Tage alte Zellen der ersten Subkultur [16].

Zur Aufbereitung des Untersuchungsmaterials liessen wir die Organe der Welpen bei Zimmertemperatur auftauen. Je ein erbsengrosses Stück der Organe der verschiedenen Welpen wurde gepoolt, mit der Schere fein zerkleinert, mit wenig sterilem Seesand und ca. 3 ml E'MEM mit 2% fötalem Kälberserum und üblichem Antibiotikazusatz versetzt, zermörsert und zu einer ca. 20% igen Suspension aufgearbeitet. Die Suspension wurde während 10 Minuten bei 1800 g ($+4^{\circ}\text{C}$) zentrifugiert und der Überstand direkt auf Zellmonolayer gegeben: Zuerst wusch man den Zellrasen 2mal mit PBS-A, beimpfte ihn mit 0,7 ml Inokulum pro Gefäss und inkubierte 1 Stunde bei 37°C . Danach wurde das Inokulum dekantiert und ersetzt durch 4 ml/Flasche E'MEM mit 2% fötalem Kälberserum und üblichem Antibiotikazusatz. Die bei 35°C inkubierten infizierten Zellen wurden täglich beobachtet und bei Bedarf mit 3–4 Tropfen NaHCO_3 8,8% versehen.

Nach 5 Tagen Inkubation wurden die beimpften Kulturen zur Aufschliessung der Zellen zweimal bei -20°C eingefroren und wieder aufgetaut, die Zelltrümmer abzentrifugiert und der Überstand auf Monolayer der 2. Subkultur verimpft (Viruspassage). Nach 60 Stunden färbte man die Zellkulturen mit Giemsa⁷.

Zur Charakterisierung der Isolate wurden diese auf MDCK-Zellen (Madin Darby Canine Kidney) adaptiert und im Mikrotitersystem eine Virustitration und ein nach Mayr et al. [17] modifizierter Neutralisationstest mit einem Hundeserum, das CHV-spezifische Antikörper aufwies (Titer 1: 54), durchgeführt.

Zum elektronenoptischen Nachweis verwendeten wir zellfreien, während 60 Minuten bei 39 000 g pelletierten Zellkulturüberstand. Der Nachweis von CHV-spezifischen Serumantikörpern erfolgte mit dem Mikro-Neutralisationstest, modifiziert nach Bibrack und Schaudinn [3].

III. Resultate

1. Klinik

Im Januar 1979 traten in diesem Zuchtbetrieb erstmals Todesfälle bei Boxerwelpen auf. Zunächst führte man sie auf eine Infektion nach dem Schwanzcoupieren zurück. Bis Juli 1979 starben dann aber aus 6 Würfen Deutscher Boxer und 2 Würfen Französischer Bulldoggen insgesamt 24 von 48 Welpen. Die Todesfälle traten im Alter von 10–26 Tagen auf. Dabei konnte ein einheitlicher, aber nicht charak-

³ Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA.

⁴ GIBCO Bio-Cult, Glasgow, Scotland.

⁵ NOVO Industri A/S Kopenhagen, Dänemark.

⁶ Falcon Plastics, Los Angeles, Calif.

⁷ Diff-Quick®, Harleco, Herstal, Belgien.

teristischer klinischer Verlauf beobachtet werden. Die Welpen zeigten plötzlich starke Nervosität, begannen den Kopf hin und her zu schlagen und schrien ununterbrochen. Vereinzelt trat Erbrechen und Durchfall auf. Jegliche Futteraufnahme wurde verweigert. Mit und ohne Behandlung starben die Tiere innerhalb weniger Stunden.

2. Pathologie

Das Sektionsbild und die histologischen Befunde waren pathognostisch und entsprachen den von *Schiefer* et al. [19] beschriebenen Veränderungen. Alle 5 Tiere wiesen disseminierte Gewebsnekrosen auf in Lunge, Leber und Niere. Bei einem Tier waren zusätzlich der Darm, bei einem zweiten die Hirnhäute betroffen.

3. Virologie

Am dritten Tag nach der Infektion konnten auf den Zellrasen einzelne Herde mit abgerundeten Zellen beobachtet werden. Am 5. Tag hatte der zytopathische Effekt ca. 50% des Zellrasens erfasst. Nach der Viruspassage entwickelten sich die zytopathischen Veränderungen schon 24 Stunden nach der Infektion. In den gefärbten Präparaten liessen sich Zellabrundungen, Synzytien und selten intranukleäre Einschlusskörperchen beobachten.

Elektronenoptisch konnten im Zellkulturüberstand Partikel mit Herpesvirusstruktur nachgewiesen werden (Abb. 1).

Bei Mischung der Virussuspension mit dem CHV-positiven Hundeserum (Verdünnung 1:4) erniedrigte sich der Titer des einen Isolates von $10^{6,38}$ auf $10^{3,5}$ TCID₅₀/ml, was einem Neutralisationsindex von 758 entspricht.

Serologie: Unabhängig davon, ob sie Welpen verloren hatten oder nicht, wiesen alle 7 untersuchten Muttertiere des Zwingers einen CHV-spezifischen Antikörpertiter auf (Bereich 1:16 bis 1:96).

IV. Diskussion

In einer Hundezucht traten ab Januar 1979 plötzlich gehäuft Todesfälle bei Welpen auf. 5 Tiere aus 2 Würfen, von denen alle Welpen starben, wurden seziert. Bei 5 Welpen konnten wir aus Organen mit histologisch typischen Herpesvirusläsionen ein Herpesvirus isolieren. Die Vermehrung des Isolates sowohl auf primären Hundezellen wie auf einer weniger empfindlichen Hundezelllinie, der elektronenmikroskopische Befund und die Neutralisierbarkeit des Isolates durch ein canines CHV-Antiserum lassen den Schluss zu, dass es sich um das canine Herpesvirus handelt.

Dieser Befund wird untermauert durch den Nachweis von CHV-spezifischen Antikörpern bei allen untersuchten Hündinnen des Zwingers. 1976 wurden einige Zuchttiere des Bestandes serologisch auf CHV-Antikörper untersucht. Alle untersuchten Tiere waren damals negativ. Es muss also in der Zwischenzeit eine Einschleppung des Virus in den Zwinger stattgefunden haben. Die Infektionsquelle ist nachträglich nicht mehr abklärbar.

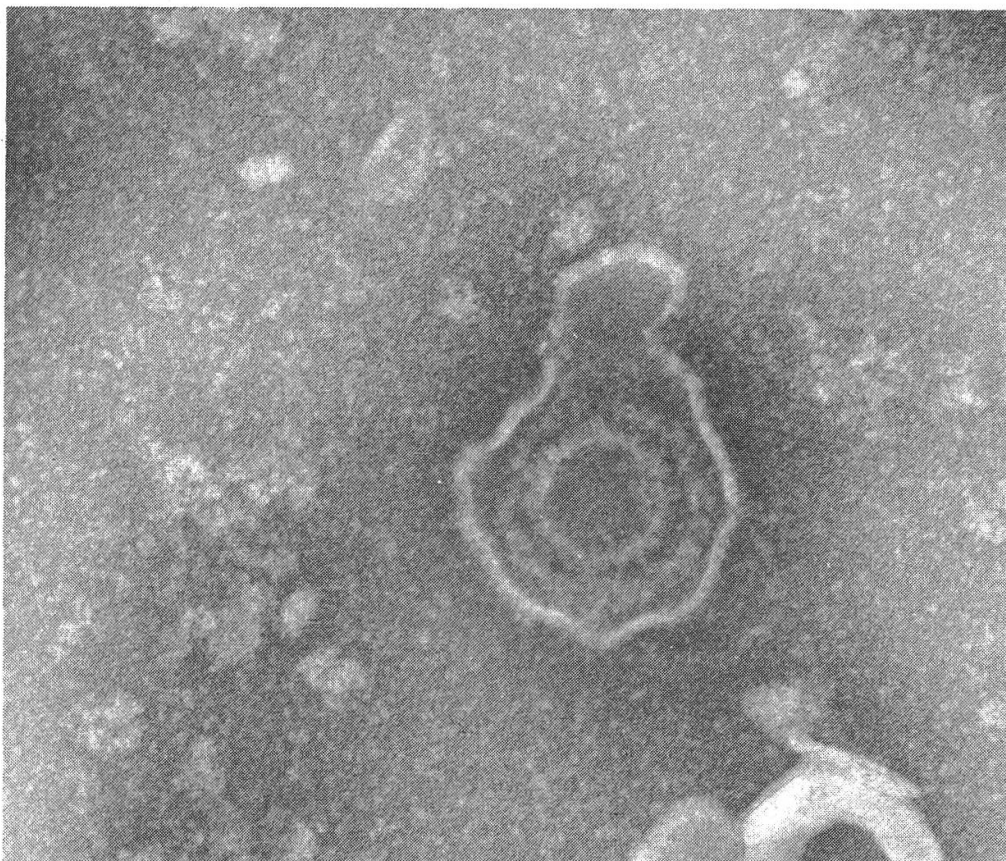


Abb. 1 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Herpesviruspartikels mit Hülle aus zellfreiem Überstand einer infizierten Zellkultur. Vergrößerung 130 000mal.

Nachdem schon die serologischen [23] sowie die pathologischen und elektronenoptischen Befunde [19] auf die Existenz der CHV-Infektion in der Schweiz schliessen liessen, ist sie nun durch die Erregerisolierung bestätigt.

Es stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage, wie in der Praxis in einem Fall von Welpensterben am einfachsten und schnellsten eine CHV-Infektion diagnostiziert werden kann. Eine eindeutige Diagnose lässt sich nur durch die Isolierung des Erregers stellen. Die Chance einer Erregerisolierung ist jedoch meist nicht gross: sie hängt vor allem vom Zustand des Untersuchungsmaterials ab, d.h. je frischer, desto besser. Ausserdem sollten beim Eintreffen des Untersuchungsmaterials primäre Hundezellen zur Verfügung stehen.

Der elektronenmikroskopische Nachweis von Herpesviren am Gewebeschnitt stellt eine weitere diagnostische Möglichkeit dar. Bedingung ist aber, dass das Untersuchungsmaterial von allem Anfang an entsprechend vorbereitet wird. Beide Methoden stellen besondere labortechnische Anforderungen. Sie sind deshalb für die Diagnose von «Feldfällen» eher ungeeignet.

Eine einmalige serologische Untersuchung kann lediglich den Hinweis erbringen, dass das untersuchte Tier die Infektion durchgemacht hat. Die Frage, wie aktuell die Infektion ist oder wie weit sie zurückliegt, kann so nicht beantwortet werden. Eine Möglichkeit zum Nachweis einer beim Muttertier akuten Infektion ergäbe sich durch die Untersuchung eines «Serumpaars», wenn die erste Probe beim Auftreten

der ersten klinischen Erscheinungen und die zweite ca. 14 Tage später entnommen würde. Dabei sollte ein mindestens 4facher Antikörpertiteranstieg zu beobachten sein.

Das Sektionsbild und die histologischen Befunde sind jedoch bei der CHV-Infektion pathognostisch. Anhand einer pathologischen Untersuchung kann eine ausreichend verlässliche Diagnose gestellt werden. Die Sektion dürfte also für eine rasche Abklärung das Mittel der Wahl sein.

Bei der CHV-Infektion ist nur eine symptomatische Behandlung möglich. Von *Bibrack* [2] wird ein Prämunizitätsinducer mit gutem Erfolg zum Schutze der Welpen angewandt. Ein Impfstoff steht noch nicht zur Verfügung.

Zusammenfassung

Aus Organen von 5 im Alter von 12–14 Tagen gestorbenen Welpen wurde das canine Herpesvirus isoliert und charakterisiert. Die Welpen stammten aus einer Hundezucht, in der seit Januar 1979 Welpensterben auftrat. Die Problematik und Aussagekraft verschiedener Diagnostikmethoden werden diskutiert. Es wird darauf hingewiesen, dass für die Diagnostik von «Feldfällen» die pathologische Untersuchung das Mittel der Wahl ist.

Résumé

Le herpèsvirus canin a été isolé à partir de différents organes de 5 chiots morts à l'âge de 12 à 14 jours. Ces chiens venaient d'un chenil où une grande mortalité des chiots a été observée à partir de janvier 1979. Le choix de différentes méthodes de diagnostic ainsi que leur validité sont discutés. Pour le diagnostic des cas courants nous proposons l'examen pathologique et histologique.

Riassunto

L'herpesvirus canino è stato isolato e caratterizzato dagli organi di 5 cuccioli morti in età di 12–14 giorni. I cuccioli provenivano da un allevamento in cui dal gennaio 1979 si verificavano casi di mortalità neonatale. Si discute la problematica e la significatività di diversi metodi diagnostici. Si conclude che per la diagnosi dei casi spontanei le indagini patologiche costituiscono il criterio di scelta.

Summary

Canine herpesvirus was isolated from different organs of five puppies of a kennel with a history of puppy loss since January 1979. The dogs died at the age of 12 to 14 days. The difficulties and meaning of different diagnostic methods are discussed. It is suggested that post-mortem examination and histology are the best methods for the diagnosis of "field cases".

Literaturverzeichnis

- [1] *Bibrack B.*: Die Bedeutung von Virusinfektionen beim Welpensterben und beim Zwingerhusten. *Kleintierpraxis* 19, 223–226 und 228–229 (1974). – [2] *Bibrack B.*: Aktive Interferonisierung: eine neue Möglichkeit der Bekämpfung des Welpensterbens. *Kleintierpraxis* 20, 245–276 (1975). – [3] *Bibrack B.* und *Schaudinn W.*: Untersuchungen über das Vorkommen von Herpesvirus-Infektionen bei Hunden in der BRD mit Hilfe eines Neutralisations-Schnelltestes. *Zbl. Vet. Med. B* 23, 384–390 (1976). – [4] *Bonin O.*: Quantitativ-virologische Methodik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1973. – [5] *Bratberg B., Bjerkaas I.* and *Bjerkaas E.*: Neonatal Herpes Virus Infeksjon hos Hund. *Nord. Vet. Med.* 25, 627–633 (1973). – [6] *Carmichael L. E., Squire R. A.* and *Krook L.*: Clinical and pathological features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am. J. vet. Res.* 26, 803–814 (1965). – [7] *Carmichael L. E., Strandberg J. D.* and *Barnes F. D.*: Identification of a cytopathologic agent infectious for puppies as a canine herpes virus. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 120, 644–650 (1965). –

- [8] *Carmichael L. E.*: Herpesvirus canis. Aspects of pathogenesis and immune response. *J.A.V.M.A.* 156, 1714–1721 (1970). – [9] *Cornwell J. J. C.* and *Wright N. G.*: Neonatal Canine Herpesvirus Infection. *Vet. Rec.* 84, 2–6 (1969). – [10] *De Ratuld Y.* and *Werner G. H.*: Canine herpes virus. *Ann. Inst. Pasteur* 112, 802–807 (1967). – [11] *Durham P. J. K.*: Experimental Canine Herpesvirus Infection in Newborn Puppies using a New Zealand Isolate. *New Zealand Vet. J.* 25, 213–214 (1977). – [12] *Durham P. J. K.* and *Poole W. S. H.*: Experimental Canine Herpesvirus Infection in Newborn Puppies, using a New Zealand Isolate. *New Zealand Vet. J.* 27, 14–16 (1979). – [13] *Geldard H., Geering W. A.* and *Bagust T. J.*: Isolation of a herpesvirus from neonatal dogs in Australia. *Austral. Vet. J.* 47, 286–287 (1971). – [14] *Huxtable C. R.* and *Farrows B. R. H.*: Canine herpesvirus as a suspected cause of neonatal mortality in puppies. *Austr. Vet. J.* 46, 344–345 (1970). – [15] *Jones R. T.*: Neonatal Canine Herpes Virus Infection. *Vet. Practitioners* 5, 82–83 (1975). – [16] *Mayr A., Bachmann T. A., Bibrack B.* und *Wittmann G.*: Virologische Arbeitsmethoden. Band I. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1974. – [17] *Mayr A., Bachmann P. A., Bibrack B.* und *Wittmann G.*: Virologische Arbeitsmethoden. Band II. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1977. – [18] *Prydie J., Harrison M. J.* and *Graham J.*: Isolation of a canine herpes virus. *Vet. Rec.* 79, 660–661 (1966). – [19] *Schiefer B., Ruckstuhl B., Metzler A.* und *Shirley I.*: Auftreten der caninen Herpes-Virus-Infektion in der Schweiz. *Arch. Tierheilk.* 120, 409–418 (1978). – [20] *Schwartz W. L.* and *Martin W. D.*: Canine herpes virus infection. *VM/SAC* 61, 1171–1173 (1966). – [21] *Spertzel R. O., Huxsoll D. L., McConnel S. J., Binn L. N.* and *Yager R. H.*: Recovery and characterisation of a herpeslike virus from dog kidney cell cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 120, 651–655 (1965). – [22] *Steward S. E., David-Ferreira J., Lovelace E., Landon J.* and *Stock N.*: Herpes-like virus isolated from neonatal and fetal dogs. *Science* 148, 1341–1342 (1965). – [23] *Suter M.*: Peri- und postnatale Todesursachen beim Hund. Inaug. Diss. Zürich 1977. – [24] *Van der Linde, Sipman J. S.*: Canine Herpesvirus Infection in Pups. *Tijdschr. Diergeneesk.* 96, 265–271 (1971). – [25] *Watt D. A., Spradkrow P. B.* and *Lamberth J. L.*: Neonatal Mortality of Puppies in Queensland caused by Canine Herpesvirus Infection. *Austral. Vet. J.* 50, 120–122 (1974).