

<b>Eichhorn, Bussian, Linhart, Kaaden und Mayr:</b> Untersuchungen zur BHV1-Virusausscheidung bei feldvirusinfizierten, korrekt geimpften Milchkühen nach einmaliger Applikation eines Kortikosteroidpräparats / The effect of a single dose of corticosteroid on the excretion of BHV1 by infected, vaccinated dairy cows	743
<b>Evans:</b> In-vivo-Bewertung des Knochenzustands bei Rennpferden / In vivo assesment of bone quality in racehorses	746
<b>Breitfeld:</b> Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) Auslegung von § 9 Abs. 1 Satz 3	751
<b>Müller, Iliadis, Christodoulos:</b> Kompostierung von Hühner- und Schweinedung mit dem OKADA-Verfahren – 2. Mitteilung: Erste hygienische Untersuchungen an Hühnerdungkomposten / Treatment of poultry and pig manure by OKADA composting. II. Trials of composting poultry manure	754
<b>Rothfritz, Loeffler und Drescher:</b> Einfluß unterschiedlicher Haltungsverfahren und Bewegungsmöglichkeiten auf die Spongiosastruktur der Rippen sowie Brust- und Lendenwirbel von Versuchs- und Fleischkaninchen – 4. Mitteilung / The effects of different housing systems on the structure of cancellous bones of Chinchilla and New Zealand White rabbits	758
<b>Adrian und Hilliger:</b> Längerfristige Untersuchungen über die aerobe Bakterienflora im Tränkwasser eines Legehennenbatteriestalles mit Nippeltränken – II. Qualitative Befunde / Long term study on aerobic bacteria in the drinking water of laying hens – II. Qualitative results	768
<b>Hildebrandt:</b> Haitransporte im Flugzeug / Air transport of sharks	777
<b>Neophytou:</b> Ein Kurzbericht über die Damaskusziege auf Zypern	778
<b>Thielscher:</b> Amorphus (Acardius s. Amorphus globosus) beim Rind	780
Aus der Homöopathie	
<b>Wolter:</b> Scheinträchtigkeit der Hündin und deren homöopathische Behandlung	780
Bayerischer Tierärztag 1991	
<b>Wanner:</b> Therapeutische Anwendung von Antibiotika mit dem Futter beim Ferkel	782
<b>Kamphues:</b> Ernährung der Ziervögel – zwischen Gefühl, Erfahrung und Wissen	784
<b>Kourim:</b> Tätigkeit des Amtstierarztes als Gutachter in Tierschutzfragen vor Gericht	784
<b>Schäffer:</b> Pathologie der Netzhaut	791
Impfstoffe und Sera für Tiere – »Katze«, »Kaninchen«, »Pferd«	794
Vet-Report	796
Ehrungen	800
Personalia	800
Hochschulnachrichten	800
Aus dem Gerichtssaal	801
Tagungsberichte (Dromedare, die Rennpferde Arabiens; Geburtsprobleme bei der Stute)	801
Buchbesprechungen	802
Firmen-Infos	803
Impressum	804
Termine	805



## Calcium-Test "Linhart"

Schnelltest zur  
semiquantitativen  
Bestimmung des Blut-  
Calciumgehaltes beim  
Rind

Praxiserleichterung  
Entscheidungshilfe  
für die Therapie

### Zusammensetzung

1 Teströhrchen enthält 4,31 mg Na<sub>2</sub>-EDTA sowie eine Tablette mit 5 IE lyophilisiertem Thrombin.

### Anwendung

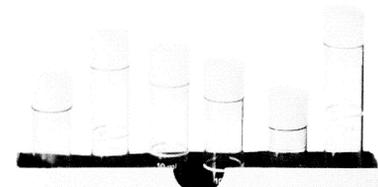
Zur Absicherung der therapeutischen Maßnahmen, auch unter forensischen Gesichtspunkten, bei den Krankheitsbildern

- rezidivierende Gebärpärese
- atypische Gebärpärese
- komatöse Gebärpärese
- Festliegen unklarer Genese
- Verdacht auf Hypocalcämie

10 ml Vollblut werden in das Teströhrchen eingefüllt und 20 mal behutsam gekippt. Nach einer Wartezeit von 5 Minuten wird anhand der Blutgerinnung beurteilt, ob der Blutcalciumspiegel über oder unter dem Schwellenwert von 7 mg/dl liegt.

### Handelsform

Packung mit 6 Teströhrchen



Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG  
Siemensstr. 14, 3008 Garbsen 4  
Tel. (05131) 705-111, Fax (05131) 465070

**Calcium-Test  
"Linhart"**

5 Teströhrchen  
Indikationen  
Rezidivierende Gebärpärese  
Atypische Gebärpärese  
Komatöse Gebärpärese  
Festliegen unklarer Genese  
Verdacht auf Hypocalcämie  
Temporäre Genese

Durchführung direkt beim Patienten im Stall mit Vollblut

Legung  
10 ml Blut und leicht über 25° C lagern!

Wichtig  
Gebrauchsanleitung aufmerksam lesen und Angaben genau beachten

02/92

Tierärztl. Umschau 47, 743–746 (1992)

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München<sup>1</sup> und der Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim<sup>2</sup> und der Praxis Dr. Linhart, Grafing<sup>3</sup>

## Untersuchungen zur BHV1-Virusausscheidung bei feldvirusinfizierten, korrekt geimpften Milchkühen nach einmaliger Applikation eines Kortikosteroidpräparats

von W. Eichhorn<sup>1</sup>, E. Bussian<sup>2</sup>, A. Linhart<sup>3</sup>, O.-R. Kaaden<sup>1</sup> und A. Mayr<sup>1</sup>

(2 Tabellen, 15 Literaturangaben)

### Zusammenfassung

Ziel der Untersuchung war es, den Einfluß einer einmaligen, therapeutischen Applikation eines Kortikosteroidpräparats (Voren<sup>®</sup>-Suspension) auf eine mögliche Virusausscheidung bei mit BHV1-Feldvirusinfizierten, aber korrekt geimpften Milchkühen zu überprüfen. Dazu wurden jeweils zehn Tieren eine therapeutische Dosis bzw. ein Placebopräparat verabreicht. Die Kühe wurden über 12 Tage klinisch überwacht. Zusätzlich wurde versucht, eine Virusausscheidung durch Anzüchtung in Zellkultur nachzuweisen, und es wurden die Antikörpertiter im Serum am Tag der Applikation sowie 12 Tage

später bestimmt. Es kam im Versuchsverlauf zu keinen klinischen Erscheinungen; auch konnte aus keiner der 100 untersuchten Nasentupferproben BHV1 isoliert werden. Die Antikörpertiter zu Versuchsbeginn und -ende veränderten sich nicht. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, daß eine einmalige therapeutische Applikation der Kortikosteroids Voren<sup>®</sup>-Suspension unter den geprüften Bedingungen zu keiner Reaktivierung und Ausscheidung von BHV1-Feldvirus führt und daher keine Gefahr für die erfolgreiche Durchführung der Bekämpfungsprogramme, die auf einer Vakzinierung seropositiver Tiere beruhen, darstellt.

### Abstract

#### The effect of a single dose of corticosteroid on the excretion of BHV1 by infected, vaccinated dairy cows.

The aim of the study was to investigate the effect of a single therapeutic dose of a corticosteroid (Voren<sup>®</sup>) on the excretion of BHV1 by infected, but vaccinated dairy cows. One group of 10 cows received the therapeutic dose of the corticosteroid and another group of ten cows received a placebo. The health of the animals was monitored in addition to attempts of virus isolation in tissue culture. Serum antibody titres were determined on days 0 and 12 post treatment. All animals remained healthy and no cytopathic agents were detected from the 100 samples examined. There

was no difference in the antibody titres at day 0 and day 12. The results indicate that a single therapeutic dose of this corticosteroid does not lead to reactivation and excretion of BHV1 and therefore does not hinder eradication programmes which involve the vaccination of seropositive animals.

### Einleitung

Infektionen mit BHV 1 führen beim Rind zu einer Reihe unterschiedlicher Krankheitsbilder (Straub, 1978), wobei die Infektiöse bovine Rhinotracheitis (IBR) das bekannteste und bedeutendste ist. Da vor allem die Krankheitsfälle von IBR seit Mitte der siebziger Jahre stark zugenommen haben (Mayr, 1983) und außerdem handelspolitische Grün-

de dafür sprechen, wurden Überlegungen zu einem Bekämpfungsprogramm angestellt. Reine Tilgungsmaßnahmen, wie sie z.B. in der Schweiz erfolgreich durchgeführt worden waren, kamen wegen des schon hohen Durchsechungsgrades in der Bundesrepublik nicht in Frage (Bauer u. Mitarb., 1980). Auch prophylaktische Impfungen schieden aus, da hier, wie bei anderen Impfstoffen auch, zwar eine Erkrankung verhindert werden kann, nicht aber eine Infektion (Mims, 1987). Dadurch kann aber das Hauptproblem bei dieser Infektion, nämlich die Latenz bzw. Persistenz des Erregers mit einer jederzeit möglichen Reaktivierung, nicht gelöst werden (Meyer u. Mitarb., 1985). Zudem lassen sich nach einer solchen Impfkampagne geimpfte Tiere nicht von infizierten unterscheiden. Daher wurde ein anderer Weg gewählt, dessen Ziel eine virusfreie Nachzucht ist. Hier werden nach serologischer Staturerhebung die seropositiven Tiere mit einem Impfstoff aus inaktivierten Erregern geimpft, um nach einer möglichen Reaktivierung des Erregers die Virusausscheidung mengenmäßig so zu begrenzen, daß eine intrauterine Übertragung des Erregers sowie eine Infektion seronegativer Kontakttiere ausgeschlossen wird (Meyer u. Mitarb., 1985; Straub, 1985).

In zahlreichen Veröffentlichungen (Sheffy und Davies, 1972; Davies und Duncan, 1973; Davies und Carmichael, 1973; Narita und Mitarb., 1978; Pastoret und Mitarb., 1980) wird darauf hingewiesen, daß durch wiederholte Verabreichung unterschiedlicher Kortikosteroide, darunter auch Voren<sup>®</sup>-Suspension (Straub, 1988; Straub, 1989; Straub und Lorenz, 1991), eine Virusausscheidung bei gegen IBR-schutzgeimpften Tieren induziert werden kann. Untersuchungen über die Auswirkungen einer einmaligen Applikation solcher Substanzen fehlen dagegen bisher, obwohl gerade bei Milchkühen eine Reihe von Erkrankungen durch den einmaligen therapeutischen Einsatz von Kortikosteroiden wirksam behandelt werden kann. Dennoch wurde in den Richtlinien zur Durchführung der IBR-Bekämpfungsprogramme die therapeutische Anwendung von Kortikosteroiden nur unter strengen Auflagen erlaubt. Ziel der vorliegenden Stu-

die war es zu überprüfen, ob es bei Milchkühen bereits nach einer einmaligen therapeutischen Applikation zur Reaktivierung einer latenten Infektion und zur Virusausscheidung kommt.

## Material und Methoden

### Tiermaterial

Die Studie wurde in einem Fleckvieh-Zuchtbestand durchgeführt, der insgesamt ca. 100 Tiere umfaßte. Der Bestand war vor Versuchsbeginn mit IBR-Feldvirus infiziert gewesen, was durch serologische Untersuchungen am zuständigen Landesuntersuchungsamt nachgewiesen worden war. Daraufhin war der Bestand zweimal mit einem inaktivierten IBR-Impfstoff (Ibepur<sup>®</sup>, Rhone Merieux GmbH, Laupheim) vakziniert worden; die letzte Impfung erfolgte vier Wochen vor Versuchsbeginn. In den Versuch wurden 20 Milchkühe einbezogen, die zufällig einer der beiden Gruppen zugeordnet wurden. Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn klinisch untersucht und als gesund eingestuft. Tiere, die in den letzten 6 Wochen mit Glukokortikoiden behandelt worden waren wurden nicht in die Studie einbezogen. Der Versuch bestand aus zwei Gruppen mit je 10 Milchkühen. Eine Gruppe erhielt am Versuchstag 0 eine i.m. Injektion von Voren<sup>®</sup>-Suspension in einer Dosierung von 2 ml/100 kg Körpergewicht. Die zweite Gruppe erhielt ebenfalls 2 ml/100 kg Körpergewicht einer Placebolösung am Versuchstag 0. Die Gesundheit der Tiere wurde täglich überwacht.

### Serologische Untersuchungen

Blutproben wurden an den Versuchstagen 0 und 12 gewonnen. Das Serum wurde 30 min bei 56°C inaktiviert und dann bei -20°C gelagert. Neutralisierende Antikörper wurden im Standard-Mikroverfahren mit ca. 10-50 KID<sub>50</sub> auf sekundären fetalen bovinen Lungenzellen nachgewiesen. Die Doppelproben aller Tiere wurden dabei im Dreifachansatz jeweils auf einer Mikroplatte untersucht. Die Platten wurden bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> bebrütet und nach fünf Tagen abgelesen. Als Titer wurde die Verdünnungsstufe angegeben, bei der in mindestens zwei von drei Vertiefungen noch eine neutrali-

sierende Aktivität beobachtet werden konnte.

### Virusisolierung

Proben zur Virusisolierung wurden an den Versuchstagen 0, 5, 8, 10 und 12 entnommen. Das Nasensekret wurde mittels Mullbinden gewonnen, die den Tieren für einige Minuten ins Nostrum eingebracht wurden. Der Mull wurde dann in Röhrchen verpackt und sofort gekühlt. Da die Probenentnahme aus technischen Gründen seitens des Landwirts erst am späten Abend erfolgen konnte, wurden die Tupfer gekühlt gehalten und am nächsten Tag ebenfalls gekühlt ins Labor verbracht. Dort wurde der Mull in eine 2 ml Einmalspritze gepackt, diese dann in ein Röhrchen eingehängt und ca. 20 min. bei 2200 g zentrifugiert. Dadurch konnten meistens ca. 0,2-1 ml Nasensekret erhalten werden, nur in zwei Fällen waren es weniger als 0,1 ml. Die so erhaltenen Proben wurden sofort weiterverarbeitet oder bei -70°C gelagert. Zur Virusisolierung wurden konfluente sekundäre fetale bovine Lungenzellen verwendet, die in die Vertiefungen von 24-Loch-Platten ausgesät worden waren. Dazu wurden je Probe im Doppelansatz 50 µl der unverdünnten sowie der 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> und 10<sup>-3</sup> verdünnten Probe inokuliert. Die Platten wurden dann sieben Tage bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> inkubiert und regelmäßig auf das Auftreten eines zytopathischen Effektes überprüft. Nach sieben Tagen wurden die Platten eingefroren und wieder aufgetaut. Dann wurden jeweils 100 µl, wiederum im Doppelansatz, in die Kavitäten neuer Zellkulturplatten überführt. Diese Kulturen wurden ebenfalls über sieben Tage kontrolliert.

### Ergebnisse

Alle Tiere blieben im Versuchszeitraum klinisch ohne besonderen Befund.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen um Nachweis neutralisierender Antikörper gegen IBR ergaben in beiden Gruppen ein sehr heterogenes Bild. Die Titerwerte schwankten in beiden Gruppen von 1:10 bis 1:64 und sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt. Die Titerwerte veränderten sich vor und nach der Behandlung weder in der Versuchs- noch in der Kontroll-

gruppe. In keiner der verimpften Proben oder in der ersten Zellkultur-Subpassage konnte während des Untersuchungszeitraumes ein zytopathogenes Agens nachgewiesen werden.

Tab. 1: Ergebnisse der serologischen Untersuchung von Seren der Tiere, die mit Voren behandelt worden waren. Angegeben sind die reziproken Titerwerte.

Tier-Nummer	Titerwert im Serum	
	Tag 0	Tag 12
1	320	160
4	640	320
6	10	10
7	320	160
8	80	160
10	640	640
14	320	320
15	160	160
17	160	160
18	320	160

Tab. 2: Ergebnisse der serologischen Untersuchung von Seren der Tiere, die mit Placebo behandelt worden waren. Angegeben sind die reziproken Titerwerte.

Tier-Nummer	Titerwert im Serum	
	Tag 0	Tag 12
2	80	160
3	160	320
5	10	10
9	160	80
11	320	320
12	640	320
13	320	320
16	640	320
19	80	80
20	320	640

### Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie belegen, daß mit einer einmaligen therapeutischen Dosis von Voren<sup>®</sup>-Suspension bei Milchkühen, die zweimal gegen IBR vakziniert worden waren, keine meßbare Virusausscheidung provoziert werden konnte. Mit der benutzten Methode gelang es anderen Untersuchern (Meyer und Mitarb., 1985; Straub und Lorenz, 1991) nach mehrmaliger Applikation von Kortikosteroiden eine Virusausscheidung mit Titern von 10<sup>2,5</sup>-10<sup>3,6</sup> bei nichtgeimpften bzw. 10<sup>1</sup>-10<sup>2</sup> bei geimpften Tieren zu erreichen. Goeth und Lechner (1978) hatten bereits in einer experimentellen Studie an Mäusen bei kurzzeitiger Applikation von Voren<sup>®</sup>-Suspension keine negativen Einflüsse bei bakteriellen Infektionen gesehen. Die geringe immunsup-

pressive Wirkung einer einmaligen Dosis ist offenbar auf die Veresterung mit Nikotinsäure zurückzuführen. Einen weiteren Einfluß auf die Virusausscheidung könnte die Titerhöhe der Tiere haben. In dieser Studie wurden Titerwerte zwischen 1:10 und 1:640 gemessen. Diese Werte änderten sich nicht nach einmaliger Voren<sup>®</sup>-Suspension-Applikation. Dies entspricht auch Befunden anderer Untersucher (Meyer und Mitarb., 1985), die ebenfalls nach mehrmaliger Applikation eines Kortikoids keinen Anstieg der Antikörpertiter nachweisen konnten. Dagegen führt eine mehrmalige Kortikosteroid-Applikation bei virusinfizierten, aber nicht-geimpften Tieren, durch die Reaktivierung des Virus zu einem deutlichen Anstieg der Antikörpertiter bereits nach einer Woche (Guy und Potgieter, 1985). Die derzeit durchgeführten Programme zur Bekämpfung der IBR basieren auf der Möglichkeit, durch die Impfung infizierter Tiere eine Virusausscheidung soweit zu reduzieren, daß seronegative Kontakttiere nicht mehr infiziert werden und eine intrauterine Übertragung vermieden wird. Zur Unterstützung dieser Programme sollten immunsuppressive Einflüsse so weit wie möglich vermieden werden. Da aus einer Reihe von Veröffentlichungen bekannt war, daß die mehrmalige Verabreichung von Kortikosteroiden wie z.B. Voren<sup>®</sup>-Suspension, durch eben diesen immunsuppressiven Effekt zur Virusausscheidung führt, wurde die Verwendung solcher Präparate zu therapeutischen Zwecken in Betrieben, die dem Bekämpfungsprogramm angeschlossen sind, nur unter erheblichen Auflagen erlaubt. Nach den Ergebnissen dieser Studie stellt eine einmalige therapeutische Anwendung von Voren<sup>®</sup>-Suspension, die aufgrund der langen Wirkungsdauer des Präparats in den meisten Fällen völlig in den allermeisten Fällen ausreichend ist, keine Gefahr für eine erfolgreiche Durchführung der IBR-Bekämpfungsprogramme dar. Es sollte daher überlegt werden, inwieweit bestehende Vorschriften entsprechend angepaßt werden könnten.

#### Schrifttum

1. Bauer, K., H. Gerbermann, E. Schmittiel und G. Winteroll (1980): Serologische Untersuchungen über den Verbreitungsgrad der IBR-IPV-Vi-

rusinfektion bei Rindern in Bayern. Tierärztl. Umschau 35, 594-600.

2. Davies, D. und J. Duncan (1973): The pathogenesis of recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus induced in calves by treatment with corticosteroids. Cornell. Vet. 64, 340-366.

3. Davies, D. und L. Carmichael (1973): Role of cell-mediated immunity in the recovery of cattle from primary and recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus. Infect. Immun. 8, 510-518.

4. Goeth, H. und U. Lechner (1978): Untersuchungen über den Einfluß von Voren<sup>®</sup> auf den Verlauf experimenteller bakterieller Infektionen und deren Behandlung mit Antibiotica und Sulfonamiden sowie auf die Phagozytoseaktivität des reticulo-endothelialen Systems (RES) und das Serumweißbild von Mäusen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 87-93.

5. Guy, J. S. und L. N. D. Potgieter (1985): Kinetics of antibody formation after reactivation of bovine herpesvirus-1 infection in cattle. Amer. J. Vet. Res., 46, 899-901.

6. Mayr, A. (1983): Wesen und Bekämpfung der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und infektiösen pustulösen Vulvovaginitis (IPV). Prakt. Tierarzt 64, 784-794.

7. Meyer, H., A. Mayr, P.A. Bachmann, G. Bernardi und H. Wagner (1985): Schutzimpfung von latent IBR-IPV-Virus infizierten Bullen mit einer Vakzine aus inaktiviertem IBR-Virus. Tierärztl. Umschau 40, 974-985.

8. Mims, C. A. (1987): The pathogenesis of infectious disease. Academic Press, London.

9. Narita, M., S. Inui, K. Namba und Y. Shimizu (1978): Neural changes in recurrent infection of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves treated with dexamethasone. Amer. J. Vet. Res. 39, 1399-1403.

10. Sheffy, B. und D. Davies (1972): Reactivation of a bovine herpesvirus after corticosteroid treatment. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140, 974-976.

11. Straub, O. C. (1978): Vorkommen der durch IBR-IPV-Viren hervorgerufenen Krankheiten und mögliche differentialdiagnostische Probleme in den verschiedenen Kontinenten und deren Ländern. Dtsch. tierärztl. Wschr. 85, 84-90.

12. Straub, O. C. (1985): A new concept for the elimination of bovine herpesvirus 1 from infected herds. in: Proc. Internat. Conferenc on Veterinary Preventive Medicine and Animal Production, Melbourne, S. 92-93.

13. Straub, O. C. (1988): Probleme und Erfahrungen bei der Bekämpfung der BHV1-Infektionen. Prakt. Tierarzt 69, 18-19.

14. Straub, O. C. (1989): Die BHV1-Infektion beim Besamungsbullen sowie die Bedeutung viraler Erreger beim Embryotransfer. Tierärztl. Umschau 44, 571-576.

15. Straub, O. C. und R. Lorenz (1991): Behandlung von im Atmungsstrakt latent BHV1-infizierten Rindern mit verschiedenen Immunsuppressiva. Tierärztl. Umschau 4, 344-353.

Anschrift der Verfasser:

Veterinärstr. 13, 8000 München 22