

<b>Audehm, Berns und Petersen:</b> Vergleich zweier Analysegeräte – Cobas Ready und Cobas Mira – im mobilen Einsatz zur Messung ausgewählter klinisch-chemischer Blutparameter beim Schwein / Comparison of two analysing systems – Cobas Ready and Cobas Mira – in mobile use to measure clinical-chemical parameters in blood plasma of pigs	607
<b>Wienhues und Will:</b> Sebacil® Pour-on – Feldversuch bei Sauen / SEBACIL Pour-on – Field trials in sows	612
<b>Matschullat, Müller und Frerking:</b> Konnatale Kardiastenose am Schweinemagen / Connate cardia stenosis in the stomach of pigs	616
<b>Bückner und Gründer:</b> Klinische, serologische und virologische Befunde bei der Mucosal Disease mit akutem, subakutem und chronischem Verlauf / Clinical, serological and virological findings in cattle with acute, sub-acute and chronic mucosal disease	619
<b>Meyer, Hübert und Eichhorn:</b> Molekularbiologisches Nachweisverfahren zur Differenzierung des in Deutschland als Lebendimpfstoff verwendeten equinen Herpesvirus-Stammes Rac H / Molecular methods for the differentiation of the equine herpes virus vaccine strain Rac H	624
<b>Straub und Bruchhof:</b> Vergleichende Serumuntersuchungen mit ELISA-KITs für den Antikörpernachweis gegen das bovine Leukosevirus / A comparison of four ELISA kits for the diagnosis of bovine leukosis	628
Aus der Praxis	
<b>Wedlich, Rüsing und Cieslicki:</b> Granulomatöse Veränderungen an Dünndarm und Milz als Zufallsbefund bei der Ovariohysterektomie	636
<b>Müller:</b> Untersuchungen zur Marble-spleen-disease bei Fasanen (Phasianus colchicus) sowie zu anderen Adenovirusinfektionen / Investigation of marble spleen disease and other adenovirus infections of pheasants	638
<b>Fries:</b> Fleischhygienestatistik als Spiegel der Tiergesundheit? / Meat inspection findings: a mirror of animal health?	642
<b>Prügner:</b> Anwendung von Arzneimitteln bei lebensmittelliefernden Tieren: gesetzliche Aspekte / Use of drugs in food-producing animals: legal aspects	647
<b>Sauer und Manz:</b> Tierschutzatbestände bei Fischen / The welfare of fish	653
<b>Dornbusch:</b> Abschreibungen für Tierärzte 1994 – Abschaffung der degressiven AfA für Praxisgebäude	658
Impfstoffe und Sera für Tiere (Hund)	665
Vet-Report	667
Tagungsbericht (Krankheiten der Zierfische; Problemtier Panda)	669
Aus der Humanmedizin	670
Personalia	671
Hochschulnachrichten	671
Mitteilungen	672
Aus dem Gerichtssaal	672
Buchbesprechungen	673
Firmen-Infos	673
Impressum	674
Termine	675

## Neu

Endlich ein Serum gegen die häufigsten Endotoxämien in der Praxis, zuverlässig in Therapie und Prophylaxe.

Ein echter Lebensretter!

## Stegantox 10

### Stegantox 10 für Hunde

**Anti-Endotoxinspezifisches Immunglobulin G (IgG), gefriergetrocknet mit Lösungsmittel**

**Zusammensetzung:** Lyophilisierte Trockensubstanz mit mindestens 10 mg endotoxinspezifischem IgG, gewonnen aus Immuns Serum von Pferden. Lösungsmittel: Wasser für Injektionszwecke. 1 Ampulle aufgelöst in 5 ml Lösungsmittel enthält in 1 ml mindestens 2 mg endotoxinspezifisches Immunglobulin G.

**Anwendungsgebiete:** Zur Behandlung von Endotoxämien und Endotoxinschock, (z.B. infolge Gastroenteritiden). Jungtiere sind besonders empfindlich gegenüber Endotoxinen. Bei ihnen ist der Einsatz von Stegantox 10 daher besonders ratsam.

**Dosierung und Art der Anwendung:** i.m., s.c. oder langsam i.v. Nach vollständigem Auflösen der Trockensubstanz im beigefügten Lösungsmittel erhalten Hunde: **0,5 mg pro kg KGW (entspricht 0,25 ml der gebrauchsfertigen Lösung)**. Bei Bedarf Anwendung wiederholen. Der Inhalt angebrochener, d.h. aufgelöster Flaschen ist innerhalb weniger Tage zu verwenden, um Verunreinigungen und Wirksamkeitsverluste zu vermeiden.

**Nebenwirkungen:** Allergische bzw. anaphylaktische Reaktionen können in seltenen Fällen durch Sensibilisierung infolge vorangegangener Injektionen mit artfremden Eiweiß ausgelöst werden.

**Hinweis:** Nicht bei trächtigen Tieren anwenden. Lichtgeschützt bei +2 bis +8°C lagern.

**Handelsform:** 1 Flasche mit mind. 10 mg IgG, lyophilisiert sowie 1 Flasche mit 5 ml Lösungsmittel. Zul-Nr.: 236a/92

## Stegantox 60

### Stegantox 60 für Pferde

**Anti-Endotoxinspezifisches Immunglobulin G (IgG), gefriergetrocknet mit Lösungsmittel**

**Zusammensetzung:** Lyophilisierte Trockensubstanz mit mindestens 60 mg endotoxinspezifischem IgG, gewonnen aus Immuns Serum von Pferden.

**Lösungsmittel:** Wasser für Injektionszwecke. 1 Ampulle aufgelöst in 20 ml Lösungsmittel enthält in 1 ml mindestens 3 mg endotoxinspezifisches Immunglobulin G.

**Anwendungsgebiete:** Zur Behandlung von Endotoxämien und Endotoxinschock, (z.B. infolge hämorrhagischer Gastroenteritiden, Fohlenlähme, Colitis X, Kolik). Zur Prophylaxe gegen Endotoxämie, insbesondere bei Fohlen (zur routinemäßigen IgG-Behandlung und zur endotoxischen Prophylaxe).

**Dosierung und Art der Anwendung:** i.m., s.c. oder langsam i.v. Nach vollständigem Auflösen der Trockensubstanz im beigefügten Lösungsmittel erhalten Fohlen: **0,5 mg pro kg KGW (1 Ampulle für 120 kg schwere Fohlen)**, Pferde: **0,12 – 0,5 mg/kg KGW (in schweren Fällen bis max. 4 Ampullen, z.B. chirurgischen Eingriffen bei schweren Kolikintoxikationen)**. Bei Bedarf Anwendung wiederholen. Der Inhalt angebrochener, d.h. aufgelöster Flaschen ist innerhalb weniger Tage zu verwenden, um Verunreinigungen und Wirksamkeitsverluste zu vermeiden.

**Nebenwirkungen:** Allergische bzw. anaphylaktische Reaktionen können bei Verabreichung von Hämoderivaten auftreten.

**Wartezeit:** 0 Tage.

Lichtgeschützt bei +2 bis +8°C lagern.

**Handelsform:** 1 Flasche mit mind. 60 mg IgG, lyophilisiert sowie 1 Flasche mit 20 ml Lösungsmittel. Zul-Nr.: 237a/92



Tierärztl. Umschau 49, 624 – 628 (1994)

Aus dem Institut für Mikrobiologie der Akademie des Sanitäts- und Gesundheitswesens der Bundeswehr<sup>1</sup>, dem Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt des Landes Schleswig-Holstein<sup>2</sup> und dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre der Tierärztlichen Fakultät der Universität München<sup>3</sup>

## Molekularbiologisches Nachweisverfahren zur Differenzierung des in Deutschland als Lebendimpfstoff verwendeten equinen Herpesvirus-Stammes Rac H

von Hermann Meyer<sup>1</sup>, Peter Hübert<sup>2</sup> und Werner Eichhorn<sup>3</sup>

(4 Abbildungen, 17 Literaturangaben)

Kurztitel: Differenzierung des Impfstammes von EHV-Isolaten

Stichworte: Equine Herpesviren – DNS-Analyse – EHV1-Lebendimpfstamm – Abortursachen

### Zusammenfassung

Eine Methode zur raschen Differenzierung des EHV1-Lebendimpfstammes Rac H von EHV1-Abortisolaten wird beschrieben. Dazu wird DNS aus virusinfizierten Zellkulturen extrahiert, mit dem Restriktionsenzym BamHI verdaut und elektrophoretisch aufgetrennt. Nach Blotting auf eine Membran erfolgt der Einsatz einer EHV-spezifischen Sonde. Diese hybridisiert mit zwei

DNS-Fragmenten, die im Falle von Rac H jeweils eine 0,9 kbp große Deletion aufweisen. Dies führt daher zu einer für den Impfstamm charakteristischen längeren Laufstrecke dieser Banden. Die Verwendung dieser Methode zur Untersuchung von Isolaten aus 75 Abortfällen ergab keinen Hinweis auf eine Beteiligung des Impfstammes bei diesem Abortgeschehen.

### Abstract

#### Molecular methods for the differentiation of the equine herpes virus vaccine strain Rac H

A method for the rapid differentiation of the EHV1 live vaccine strain Rac H and EHV1 isolates from abortions is described. Total DNA was isolated from virus-infected cell cultures and digested with restriction endonuclease BamHI. A Southern blot was prepared and hybridised with an EHV1-specific probe. Deletions of 0.9 kbp in each of the two fragments detected provided the observation of a unique pattern for strain Rac H. Comparison of the different sizes of the hybridised DNA-fragments revealed that in 75 isolates the live vaccine strain Rac H was not invol-

### 1 Einleitung

**1.1 Herpesvirusinfektionen beim Pferd**  
Von den bislang fünf bekannten, beim Pferd vorkommenden Herpesviren sind die Spezies EHV1 und EHV4 von besonderer Bedeutung (Allen und Bryans, 1986). EHV1-Isolate treten im Zusammenhang mit drei Erkrankungsbildern auf: Abort, respiratorische Erkrankungen und zentralnervöse Störungen. EHV4-Isolate werden in der Regel nur bei respiratorischen Erkrankungen, selten auch bei Aborten gefunden. Bei Jungpferden führen Infektionen mit EHV1 oder 4 zu einem fieberhaften Katarrh, bei älteren Pferden verläuft die Infektion zumeist inapparent. Bei trächtigen Stuten kann nach Infektion mit EHV1 der Erreger über eine Leukozyten-assoziierte Virämie den Uterus

erreichen. Es kommt zum Abort zwischen dem 7. und 10. Trächtigkeitsmonat oder zur Geburt lebensschwacher Fohlen. Als Folge der Virusvermehrung finden sich miliare Nekrosen in verschiedenen inneren Organen des Fetus. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz läßt sich innerhalb von Stunden der spezifische Nachweis von viralem Antigen in den veränderten Geweben führen. Unterstützt und bestätigt wird die Diagnose durch die Virusisolierung. Auch die Polymerase Kettenreaktion (PCR) wird zum Nachweis von EHV-DNS eingesetzt (Ballagi-Pordany et al., 1990).

### 1.2 Aborte in der Vollblutzucht

Herpesvirusinfektionen sorgen immer wieder für Schlagzeilen. So im Frühjahr 1983, als im Lipizzanergestüt Piper zwei Drittel aller trächtigen Stuten, insgesamt 31 Tiere, abortierten. Bei 17 Stuten traten zudem zentralnervöse Störungen auf. Keine der Stuten war gegen das equine Herpesvirus geimpft worden (Bürki et al., 1984). Allerdings wird aber auch immer wieder über Aborte bei geimpften Tieren berichtet (Steinhagen, 1986). Dies wird durch die Auswertung von Daten aus der deutschen Vollblutzucht belegt. Mit über 95% weist diese Pferdepopulation wohl den höchsten Anteil immunisierter Stuten auf. Nach einer Zusammenstellung von Merkt et al. (1993) ist es in dieser Population innerhalb der letzten 25 Jahre bei insgesamt mehr als 29000 festgestellten Trächtigkeiten in 6,5% der Fälle zum Abort gekommen ist. Die Abortursachen sind in Abbildung 1 aufgeschlüsselt. Danach stellt Zwillingsträchtigkeit mit fast 40% die häufigste Ursache dar. Ein Viertel der Aborte wird durch Infektionen verursacht. Unter »Sonstiges« (ca. 10% der Abortfälle) sind durch Koliken, Traumata, Mißbildungen und dergleichen bedingte Aborte zusammengefaßt. In über einem Viertel der Fälle ließ sich die Ursache nicht ermitteln. Bei den durch Infektion bedingten Aborten (Abbildung 2) dominieren Infektionen mit dem equinen Herpesvirus (40%), gefolgt von Infektionen mit  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken und E. coli (23 bzw. 19%). Aufgrund der gezeigten Daten muß man davon ausgehen, daß jeder zehnte Abortfall in der Vollblut-

zucht durch eine EHV-Infektion bedingt wird. Im Rahmen der Diskussion »Virusabort trotz fachgerechter Impfung« sollte nicht vergessen werden, daß es sich bei EHV1 um ein Herpesvirus handelt, das die gleichen typischen Eigenschaften wie andere Herpesviren aufweist: es führt zu persistierenden Infektionen, infizierte Tiere können lebenslang das Virus ausscheiden, und eine belastbare Immunität nach Impfung oder Infektion ist von relativ kurzer Dauer.

### 1.3 Der EHV1-Lebendimpfstamm Rac H

Wiederholt wurde der Nutzen des in Deutschland weit verbreiteten EHV-Lebendimpfstoffes angezweifelt (Bürki et al., 1991). Von Pferdebesitzern wird sogar häufig die Frage gestellt, inwieweit das Impfvirus selbst am Abortgeschehen beteiligt sein kann. Daß diese Frage durchaus ihre Berechtigung hat, zeigen die Erfahrungen mit einer in Amerika entwickelten Lebendvakzine

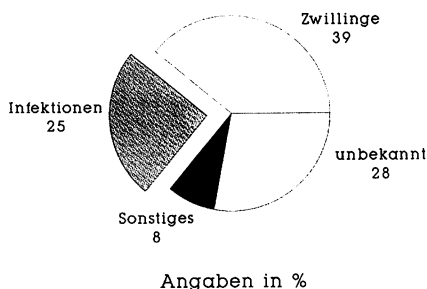


Abb. 1: Ursachen der 1817 Aborte in der Vollblutzucht 1968-1992.

(Allen et al., 1983). Diese Vakzine, die bestandsweise in sogenannten geplanten Infektionsprogrammen eingesetzt wurde, erwies sich als wenig erfolgreich und wurde 1979 vom Markt genommen. Heute vermutet man, daß dieser Impfstamm sehr wahrscheinlich an 15% aller bis 1979 in Amerika aufgetretenen Virusaborte beteiligt war. Der in Deutschland verwendete Lebendimpfstamm Rac H wurde durch fortlaufende Passagen attenuiert und wird derzeit in der 256. Passage als Le-

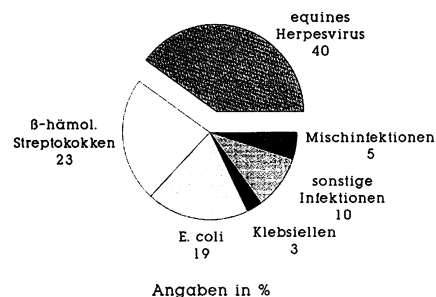


Abb. 2: Aufschlüsselung der durch Infektion verursachten 452 Aborte.

bendimpfstoff eingesetzt (Mayr et al., 1968). Mit herkömmlichen Methoden, wie z.B. Wachstumsverhalten in der Zellkultur oder mit serologischen Untersuchungen lassen sich keine Unterschiede zwischen dem Impfstamm und Feldvirusisolaten feststellen. Für eine Differenzierung verwendete man das unterschiedliche Inaktivierungsverhalten gegenüber der Chemikalie Dithiothreitol, den sog. DTT-Marker (Klingeborn und Dinter, 1972). Es wurden jedoch Virusstämme mit einem interme-

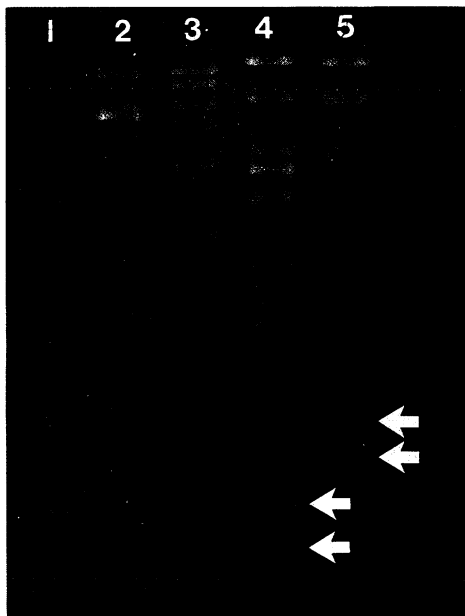


Abb. 3A



Abb. 3B

Abb. 3: (A) Auftrennung der DNS verschiedener EHV-Stämme nach Verdau mit dem Restriktionsenzym BamHI in einem Agarose-Gel. Bahn 1: Molekulargewichtsstandard kbp-ladder; Bahn 2: EHV4-Referenzstamm H45; Bahn 3: EHV3-Isolat C175; Bahn 4: EHV1-Impfstamm Rac H; Bahn 5: EHV1-Referenzstamm Kentucky D. (B) Reaktion der EHV-DNS mit der Digoxigenin-markierten Sonde pHSO2 nach Southern-Transfer des in A gezeigten Agarose-Gels.

diären Inaktivierungsverlauf beschrieben, was die Eignung des DTT-Markers zur Differenzierung einschränkt (Klingeborn, 1973). Eine Möglichkeit zur Differenzierung ergab sich jedoch durch Auswertung von Ergebnissen, die auf der Untersuchung des viralen Genoms mit Restriktionsenzymen beruhen (Meyer et al., 1987). Dabei weist der Impfstamm eine Reihe von Verän-

derungen im Wanderungsmuster der erhaltenen DNS-Fragmente verglichen mit EHV1-Referenzstämmen auf. Diese Veränderungen haben sich erst während der Attenuierung ereignet (Schwend, 1988). So verringert sich die Größe von zwei ursprünglich 4,9 und 4,5 kilobasenpaar (kbp) großen Fragmenten beim Impfstamm auf 4,0 und 3,6 kbp (Birkenmaier, 1992).

Aufgabe folgender Untersuchung war es daher, eine Methode zu etablieren, die es erlaubt, zwischen dem Lebendimpfstamm und Feldvirus-Isolaten zu unterscheiden. Damit sollte dann geklärt werden, inwieweit der in Deutschland zur Prophylaxe eingesetzte Lebendimpfstamm Rac H am Abortgeschehen beteiligt ist.

**2 Material und Methoden**

**2.1 Untersuchungsmaterial**

Für die Untersuchungen standen die EHV1- und EHV4-Referenzstämmen (Kentucky D bzw. H45; Doll et al., 1957; Shimizu et al., 1959), der Lebendimpfstamm Rac H (Mayr et al., 1968) sowie ein EHV3-Isolat (C175, überlassen von K. Petzoldt, Wien) zur Verfügung. Weiterhin konnten im Rahmen der Routineuntersuchung von abortierten Feten 40 EHV-Stämme isoliert werden. Weitere 35 Isolate wurden uns dankenswerterweise von P. Steinhagen (Neumünster) überlassen. Für die Isolierung wurden equine embryonale Lungenzellen eingesetzt, die weitere Vermehrung erfolgte in der equinen Dermalzelllinie EDMIN L-337 (P. Thein, Wuppertal).

**2.2 Molekularbiologische Untersuchungen**

Zur Isolierung der viralen DNS der Referenzstämmen wurden diese in der Zellkultur vermehrt und die Virionen gereinigt (Meyer et al., 1987). Für die Untersuchung der viralen DNS von Isolaten

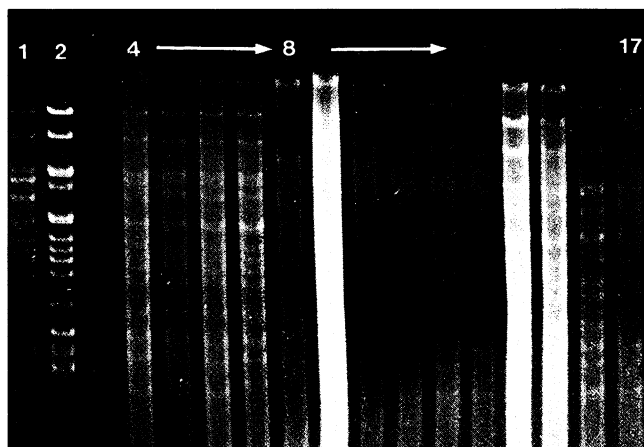


Abb. 4A

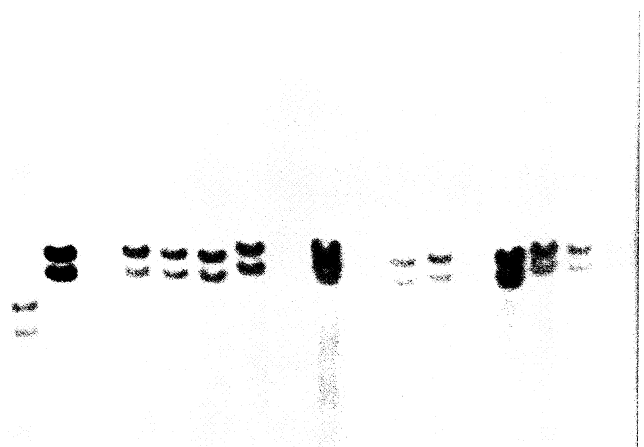


Abb. 4B

Abb. 4: (A) Auftrennung der DNS verschiedener EHV1-Stämme nach Verdau mit dem Restriktionsenzym BamHI. Die DNS in Bahn 1 und 2 (Impfstamm Rac H und Referenzstamm Kentucky D) wurde aus gereinigten Viruspräparationen isoliert, die Bahnen 4 bis 7 sowie 9 bis 17 enthalten DNS aus virusinfizierten Zellkulturen. In Bahn 8 ist DNS einer nicht infizierten Zellkultur aufgetrennt. (B) Reaktion der EHV-DNS mit der Digoxigenin-markierten Sonde pHSO2 nach Southern-Transfer des in A gezeigten Agarose-Gels.

abortierter Feten wurden L-337-Zellen in 24-Loch-Platten mit 0,4 ml Virus-suspension infiziert. Nach Inkubation die Nacht über wurde der Inhalt jeder Vertiefung nach Gefriertauen gewonnen. Zelluläre und virale DNS wurde durch eine SDS-Proteinase K-Behandlung freigesetzt und über eine Phenolextraktion gereinigt (modifiziert nach Chowdhury *et al.*, 1986). Virale DNS wurde mit dem Restriktionsenzym *Bam*HI (Boehringer, Mannheim) gespalten und in einem 0,6% Agarose-Gel aufgetrennt. Nach Transfer auf eine Nylonmembran (Hybond N+; Amersham-Buchler, Braunschweig) wurde mit einer Digoxigenin-markierten Sonde (pHSO2) hybridisiert. Die Sonde enthält ein 4,9 kbp langes *Bam*HI DNS-Fragment des EHV1-Referenzstammes. Der Nachweis der Hybride erfolgte mit Hilfe eines Kits (DNA detection kit, nonradioactive; Boehringer).

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Untersuchung des EHV-Impfstammes Rac H

Gereinigte virale DNS der EHV1-Stämme Kentucky D, des Impfstammes Rac H, des EHV3-Stammes C175 sowie des EHV4-Stammes H45 wurde mit dem Restriktionsenzym *Bam*HI verdaut. Die Auftrennung der entstandenen DNS-Fragmente durch Gelelektrophorese zeigt Abbildung 3A. Die Stämme H45, C175 und Kentucky D (Bahn 2, 3 und 5) weisen die für die Spezies EHV4, EHV3 und EHV1 typischen und voneinander deutlich unterscheidbaren Wanderungsmuster auf (Allen *et al.*, 1983). Das Muster des Impfstammes Rac H (Bahn 4) entspricht dem früherer Untersuchungen (Schwend, 1988). Es weist zahlreiche Gemeinsamkeiten mit jenem von Kentucky D auf (Bahn 5), aber einige Besonderheiten sind offensichtlich, wie z. B. fehlende oder zusätzliche DNS-Fragmente. Das Ergebnis nach Hybridisierung mit der EHV1-Sonde pHSO2 ist in Abbildung 3B dargestellt. Wie erwartet, findet sich eine spezifische Reaktion nur mit den beiden EHV1-Stämmen (Bahn 4 und 5); EHV3 bzw. EHV4-DNS wird nicht nachgewiesen. Beim Referenzstamm Kentucky D (Bahn 5) reagieren erwartungsgemäß zwei Fragmente mit 4,9 und 4,5 kbp, beim Impfstamm Rac H (Bahn 4) sind

es zwei deutlich kleinere Fragmente (4,0 und 3,6 kbp). Damit wird die Existenz der beim Impfstamm beschriebenen 0,9 kbp großen Deletionen (Birkenmaier, 1992) bestätigt. Durch Vergleich der Abbildungen 3A und 3B wird die enorme Verstärkung deutlich, die durch Verwendung der Sonde erreicht wird. In 3A sind die mit der Sonde reagierenden DNS-Fragmente (durch Pfeile hervorgehoben) von nur schwacher Intensität.

Damit steht eine Methode zur Verfügung, mit der sich die für den Impfstamm typischen Veränderungen im Bandenmuster spezifisch und auch sensitiv nachweisen lassen. Da diese Veränderungen erst während der Attenuierung aufgetreten sind (Birkenmaier, 1992), kann somit über diesen »genetischen Marker« der Lebendimpfstamm eindeutig identifiziert werden.

#### 3.2 Untersuchung von Feldvirusisolaten

Zur Klärung der Frage, inwieweit der

Impfstamm am Abortgeschehen in Deutschland beteiligt ist, standen uns insgesamt 75 Isolate aus Aborten von geimpften und nichtgeimpften Stuten aus ganz Deutschland zur Verfügung. Sie waren während der letzten 25 Jahre isoliert worden. Wie in Abschnitt 3.1 beschrieben, ist für die Abgrenzung des Impfstammes durch Hybridisierung nur eine geringe Menge an viraler DNS notwendig (siehe Abbildung 3B). Daher verzichteten wir bei der Untersuchung der 75 Isolate auf die aufwendige Herstellung gereinigter Viruspräparationen. Stattdessen wurde pro Isolat nur eine Kavität einer 24-Loch Zellkulturplatte (L-337-Zellen) infiziert. Ein deutlicher zytopathischer Effekt trat nach 24-36 Stunden auf. Sowohl zelluläre als auch virale DNS wurde isoliert und mit dem Restriktionsenzym *Bam*HI verdaut. Beispielhaft ist das Ergebnis nach Gelelektrophorese für 13 EHV-Isolate sowie für eine nicht infizierte Zellkontrolle in Abbildung 4A dargestellt (Bahn 4 bis 17). Man er-

kennt sowohl zelluläre DNS, die sich über die gesamte Laufstrecke verteilt darstellt, als auch spezifisch virale DNS-Banden. Eine Unterscheidung zwischen Impfstamm und Feldisolaten ist allerdings über die Beurteilung des Bandenmusters nicht möglich. Dies gelingt aber nach Hybridisierung mit der Sonde pHSO2 (Abbildung 4B). Trotz Überlagerung mit zellulärer DNS ergibt sich eine Reaktion nur mit einzelnen viralen DNS-Fragmenten, zelluläre DNS, die in Spur 8 aufgetragen wurde, hybridisiert nicht mit der verwendeten Sonde. In Bahn 1 und 2 sind als Kontrolle die Stämme Rac H und Kentucky D mitgeführt. Der Vergleich der reaktiven DNS-Fragmente aller 13 Isolate von Aborten zeigt die für den Referenzstamm Kentucky D typischen Fragmentgrößen. Somit können diese Isolate eindeutig vom Impfstamm (Bahn 1) differenziert werden. Auch die Untersuchung der restlichen 62 Isolate ergab in keinem Fall einen Hinweis auf eine Infektion mit dem Impfvirus Rac H. Mit der vorgestellten Technik kann daher die Frage, ob der Lebendimpfstamm am Abortgeschehen beteiligt ist, eindeutig beantwortet werden. Wir bewerten die Auswahl an untersuchten Fällen als repräsentativ für das Impfgebiet und betrachten die Rolle von Rac H am Abortgeschehen als bedeutungslos.

#### Schrifttum

1. Allen, G. P. and J. T. Bryans (1986): Molecular epidemiology, pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. *Prog. Vet. Microbiol. Immun.* 2, 78-144.
2. Allen, G. P., M. R. Yeargan, L. W. Turinen, J. T. Bryans and W. H. McCollum (1983): Molecular epidemiologic studies of equine herpesvirus-1 infections by restriction endonuclease fingerprinting of viral DNA. *Amer. J. Vet. Res.* 44, 263-271.
3. Ballagi-Pordany, A., B. Klingeborn, J. Flensburg and S. Belak (1990): Equine herpesvirus type 1: detection of viral DNA sequences in aborted fetuses with the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 22, 373-381.
4. Birkenmaier, S. (1992): Charakterisierung der Inverted Repeat-Regionen im Genom verschiedener Zellkulturpassagen des equinen Herpesvirus 1-Stammes Rac H. *Vet. Med. Diss. München.*
5. Bürki, F., N. Nowotny B. Hinaidy und C. Pallan (1984): Die Ätiologie der Lipizzanerseeche in Piber 1983: Equines Herpesvirus 1. *Wien. tierärztl. Mschr.* 71, 312-320.
6. Bürki, F., N. Nowotny, J. Oulehla, O. Schmechlik, K. Möstl, C. Pallan and E. Rossmann (1991): Attempts to immunoprotect adult horses, specifically pregnant mares, with commercial vaccines against clinical disease induced by equine herpesvirus 1. *J. Vet. Med. B* 38, 432-440.
7. Chowdhury, S. I., W. Hammerschmidt, H. Ludwig, P. Thein and H. J. Buhk (1986): Rapid method for the identification and screening of her-

- pesviruses by DNA fingerprinting combined with blot hybridization. *J. Virol. Meth.* 14, 285-291.
8. Doll, E. R., M. G. Richards and M. E. Wallace (1954): Cultivation of the equine influenza virus in suckling Syrian hamsters: Its similarity to the equine abortion virus. *Cornell Vet.* 44, 1331-137.
  9. Klingeborn, B. and Z. Dinter (1972): Equine abortion (herpes) virus: strain differences in susceptibility to inactivation by dithiothreitol. *Appl. Microbiol.* 23, 1121-1124.
  10. Klingeborn, B. (1973): Equine Abortion (Herpes) Virus: Evaluation of markers in a field vaccination trial. *Appl. Microbiol.* 26, 566-569.
  11. Mayr, A., J. Pette K. Petzoldt and K. Wagener (1968): Untersuchungen zur Entwicklung eines Lebendimpfstoffes gegen die Rhinopneumonitis (Stutenabort) der Pferde. *Zbl. Vet. Med. B* 15, 406-418.
  12. Merkt, H., E. Klug, H. Sieme und J. C. Merkt (1993): Bericht über die Herbstuntersuchung 1992 in der Bundesrepublik. *Vollblut, Zucht und Rennen, in press.*
  13. Meyer, H., P. H. Hübert and W. Eichhorn (1987): Changes in restriction enzyme pattern of the equine Herpesvirus type 1 (EHV1) strain Rac-H DNA during attenuation. *J. Vet. Med. B* 34, 310-313.
  14. Meyer, H., P. H. Hübert, C. Schwend and W. Eichhorn (1992): Rapid identification and differentiation of the vaccine strain Rac H from EHV1 field isolates using a non-radioactive DNA probe. *Vet. Microbiol.* 30, 13-20.
  15. Schwend, C. (1988): *Das Genom des Equinen*

- Herpesvirus Typ 1 (EHV1) Stammes Rac H und seine Veränderung während der Attenuierung.* *Vet. Med. Diss. München.*
16. Shimizu, T., R. Ishizaki, S. Kawakami, R. Kaji, K. Sugimura and M. Maumoto (1959): Isolation of equine abortion virus from natural cases of abortion in horse kidney cell culture. *Japan. J. Exp. Med.* 29, 643-649.
  17. Steinhagen, P. (1986): Zur Problematik der Equinen Herpesvirus 1 (EHV1)-Infektion und ihrer Bekämpfung mit Hilfe von Impfstoffen. *Tierärztl. Umschau* 41, 260-266.

Anschriften der Verfasser:

- <sup>1</sup>Dr. H. Meyer, Institut für Mikrobiologie, Akademie des Sanitäts- und Gesundheitswesens der Bundeswehr, Postfach 450161, 80901 München;
- <sup>2</sup>Dr. P. Hübert, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt des Landes Schleswig-Holstein, Max Eyth-Str. 8, 24537 Neumünster;
- <sup>3</sup>Dr. W. Eichhorn, Institut für Med. Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, Veterinärstr. 13, 80539 München.