

Neurologische Verlaufsform der EHV-1-Infektion bei Wildequiden des Zoologischen Gartens Berlin und immunhistochemischer Antigennachweis im Zentralnervensystem

Bettina Kabrmann¹, K. Dämmrich¹ und R. Göldenboth²

¹Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin

²Zoologischer Garten Berlin

Einleitung

Beim Hauspferd ist die Infektion mit Equinem Herpesvirus Typ 1 (EHV 1) als zumeist fieberhafte, zyklische Allgemeinerkrankung bekannt. Verschiedene Verlaufsformen mit Abort, respiratorischer und neurologischer Symptomatik werden beobachtet (Drommer, 1991).

Die neurologische Verlaufsform wird bei männlichen und weiblichen Pferden aller Rassen und Altersgruppen und unabhängig von einer Impfprophylaxe gesehen. Zu Beginn wird in der Regel ein fieberhafter Atemwegsinfekt beobachtet. Wenig später können sich ausgeprägte zentralnervöse Störungen einstellen, die wegen des perakuten bis akuten Verlaufs auch als „Schlaganfall des Pferdes“ (Equine Stroke) bezeichnet werden. Ausgeprägte lokomotorische Störungen in der Hinterhand und vegetativ bedingte Ausfallerscheinungen wie Harnblasendilatation/-parese und Anusparese deuten auf eine akute Schädigung spinaler Nervenanteile hin. Die Ursache der neurologischen Symptomatik wird in einer thrombotisch-nekrotisierenden Vaskulitis gesehen, die vor allem im Rückenmark, aber auch im Gehirn nachweisbar ist. Das pathologische Bild wird von ausgeprägten Blutungen mit Durchtränkung des Nervengewebes dominiert. Es wird angenommen, daß die Gefäßalteration von einer endothelialen Virusreplikation hervorgerufen wird, daß aber auch immunpathologische Vorgänge bei der Entstehung der Vaskulitis beteiligt sein können. Da Virusantigen bisher nicht im Nervengewebe selbst nachgewiesen werden konnte, geht man davon aus, daß die Schäden am Parenchym sekundär im Anschluß an die vaskulären Alterationen entstehen (Thein und Brown, 1988). Unter symptomatischer Therapie soll eine klinische Heilung bei erkrankten Pferden eintreten können (Dambacher, 1992). In zunehmendem Maße wird auch über die Bedeutung des

Zusammenfassung

Bei 12 Wildequiden des Zoologischen Gartens Berlin konnte an Hand pathologischer und immunhistologischer Befunde eine Infektion mit Equinem Herpesvirus Typ 1 (EHV 1) bei neurologischer Verlaufsform diagnostiziert werden. Die Tiere zeigten motorische Ausfallerscheinungen in Form einer Nachhandschwäche oder -ataxie. Als Ursache des progressiven Krankheitsverlaufes konnte eine zunehmende Nervenzelldegeneration in Groß- und Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark festgestellt werden. In den degenerierenden Neuronen konnte immunhistochemisch EHV-1-Antigen nachgewiesen werden. Damit unterscheidet sich die Pathogenese der EHV-1-Infektion bei den untersuchten Wildequiden von der bei Hauspferden.

Neurological form of the Equine Herpesvirus 1 (EHV 1) infection in a herd of wild equidae of the Berlin Zoological Garden and immunohistochemical demonstration of antigen in the central nervous system

By means of pathological and immunohistological investigations, 12 equidae of the Berlin Zoological Garden were diagnosed to be suffering from the neurological form of an EHV 1 infection. The animals displayed a locomotoric disease characterized by weakness and ataxia of the hindlimbs. The prolonged illness was based on a progressive degeneration of neurons in the cerebrum, cerebellum, brainstem and spinal cord. Immunohistochemical staining for EHV 1 antigen was positive in the degenerating neurons. Thus there is a difference between the pathogenesis of the EHV 1 infection of the examined wild equidae and that of domestic horses.

EHV 4 als Auslöser zentralnervöser Erkrankungen beim Hauspferd diskutiert (Meyer et al., 1987; Thein und Brown, 1988; Rösch et al., 1992).

In einer epidemiologischen Untersuchung über die Todesursachen der Equiden des Zoologischen Gartens Berlin (Kabrmann, 1992) konnte eine Gruppe von 12 EHV-1-infizierten Equiden exploriert werden, deren neurologischer Krankheitsverlauf von dem beim Hauspferd bekannten Bild deutlich abwich. Die Wildequiden zeigten über einen mehrmonatigen Zeitraum zunehmend ataktische Bewegungsstörungen bis zum Festliegen. Respiratorische Begleiterscheinungen sind nicht beobachtet worden. Infolge des schleichend progressiven neurologischen Krankheitsverlaufs wurden die Tiere entweder getötet oder verendet an sekundären Infektionen. In der vorliegenden Arbeit werden die pathologischen und immunhistologischen Befunde dieser Tiere beschrieben und diskutiert.

Material und Methoden

Für die immunhistochemische Untersuchung auf EHV 1 wurden die Tiere ausgewählt, die über einen längeren Zeitraum ataktische Bewegungsstörungen gezeigt hatten und bei denen die Bewegungsstörungen nicht auf andere Ursachen zurückgeführt werden konnten. Immunhistochemisch wurden 37 Equiden auf die Infektion untersucht. Davon konnte bei 12 Tieren EHV-1-Antigen im Zentralnervensystem nachgewiesen werden. Über diese Tiere wird nachstehend berichtet.

Fixierung, Einbettung und Färbung

Die Organproben waren in 4prozentigem gepuffertem Formalin fixiert und anschließend in Paraplast® eingebettet worden. Zur histologischen Untersuchung wurden die Präparate mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Präparateherstellung für die immunhistochemische Färbung

Zur immunhistochemischen Färbung wurden, soweit vorhanden, Gewebeproben aus 4 Lokalisationen des Zentralnervensystems verwendet. Es handelte sich um Proben aus dem Großhirn, Kleinhirn, Medulla oblongata und dem Rückenmark. Die 5 µm dünnen, pfenniggroßen Proben wurden auf Poly-L-Lysin® (Sigma-chem.-co.)-beschichtete Objektträger aufgezogen, um ein Abschwimmen während der zahlreichen Waschungen zu vermeiden.

Immunhistochemie

Zur EHV-1-Antigenfärbung in paraffineingebettetem Gewebe wurde die Avidin-Biotin-Komplex-(ABC)-Methode (Hsu et al., 1981 a und 1981 b) angewendet.

Als primärer Antikörper diente ein polyvalentes, monospezifisches Kaninchenhyperimmunserum gegen EHV 1

der Firma Bayer AG, Leverkusen (dankenswerterweise von Herrn Professor Dr. P. Thein, Bayer AG Leverkusen, zur Verfügung gestellt). Der Antikörper wurde in einer Verdünnung von 1:1000 eingesetzt.

Die Reagenzien entstammten dem Vectastain ABC-Kit „Elite“, Rabbit IgG, PK-6101, Vector Lab, Firma Camon. Die Färbung richtete sich nach der Anleitung des Kits. Die Reagenzien wurden in TBS-Puffer-Lösung (Mabrous, 1980) verdünnt. Zur Unterdrückung endogener Peroxidasen als mögliche Ursache eines falsch positiven Ergebnisses wurden die Schnitte in 3prozentigem H₂O₂-Methanol 30 Minuten inkubiert. Zur Antigendemaskierung wurde jeweils ein Schnitt zusätzlich mit 0,1prozentiger Proteaselösung Typ XXV (Pronase E, Streptomyces griseus, P 6911, Sigma chem. co.) 10 Minuten lang bei 37 °C in einer feuchten Kammer angedaut. Weiterhin war bei der Untersuchung des neuralen Gewebes eine Inkubation mit Methyl-α-D-Mannosid (M 6882, Sigma chem. co.) erforderlich, um endogene Lektine zu blockieren, die eventuell mit dem sekundären biotinierten Antikörper reagieren können (Schauer, 1991).

Tab. 1: Immunhistologisch (EHV-1-)positive Untersuchungstiere

Sektions-Nr.	Tierart/Rasse	Alter	Geschl.	Befunde	Antigennachweis in:
1104/75	Damara-Zebra	7 Monate	m	Stärker werdende Nachhandschwäche, getötet	Großhirn, Hirnstamm
0265/76	Böhm-Zebra	8 Monate	m	Schwäche der Nachhand, Ataxien. Chron. Peribronchitis, Kachexie, chron. ulzerative Gastritis	Medulla oblongata, Rückenmark
0744/76	Przewalski-Pferd	17 Jahre	m	Bewegungsstörungen, Zittern. Herdf. Peribronchiolitis, Kachexie, akute serofibr. Polyarthritis, Streptokokkensepsis	Medulla oblongata, Rückenmark
0599/78	Damara-Zebra	7 Monate	m	Kachexie, Panmyelophthisis, Streptokokkensepsis	Medulla oblongata
0305/80	Przewalski-Pferd	9 Monate	m	Seit 4 Monaten Hinterhandataxien, getötet. Chron. interst. Pneumonie und Peribronchitis, Follikelhyperplasie in Milz und Körperlymphknoten Fluoreszenzserol. EHV-1-positiv.	Medulla oblongata
0695/80	Damara-Zebra	1 Jahr	w	Seit 5 Monaten Hinterhandataxien, getötet. Chron. interst. Pneumonie und Peribronchiolitis, Myopathie	Hirnstamm, Rückenmark
0661/81	Onager	6 Jahre	m	Kachexie, zentralnervöse Störungen. Kat. Bronchitis, Lymphfollikelhyperplasie in den Luftsäcken, Myopathie mit Myoglobinurie	Medulla oblongata
1750/81	Przewalski-Pferd	1,2 Jahre	m	Fortschreitende Hinterhandataxien, getötet. Chron. interst. Pneumonie und Peribronchitis, Follikelhyperplasie in Milz und Körperlymphknoten, Myopathie	Hirnstamm
0216/85	Przewalski-Pferd	1,5 Jahre	w	Seit 2 Tagen Festliegen, getötet. Lymphfollikelhyperplasie in SH von Nase und Kehlkopf, Myopathie	Medulla oblongata, Rückenmark
0509/85	Przewalski-Pferd	7 Monate	m	Fortschreitende Nachhandparese, Kümmerer. Follikelhyperplasie in Tonsillen	Medulla oblongata
0872/86	Burchell-Zebra	7 Jahre	w	Akute Myoglobinurie, verendet. Diätetische Myopathie	Medulla oblongata
1925/86	Zwergesel	> 10 Jahre	m	Drusenerkrankung, verendet. Herdf. eitr. Hepatitis, hämorrh.-purulente Aerozystitis, Lymphfollikelhyperplasie in Rachenschleimhaut und Milz	Medulla oblongata

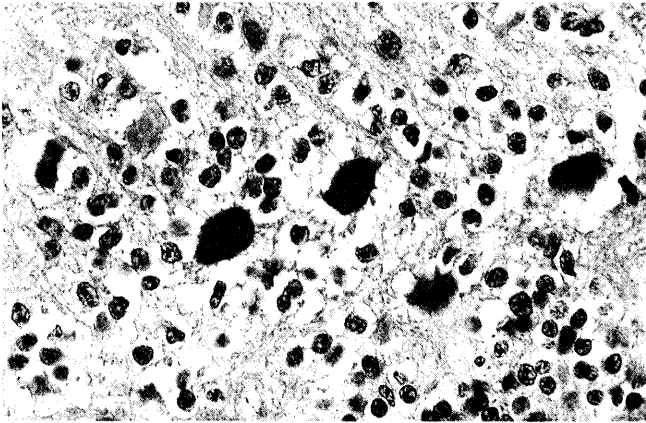


Abb. 1: 305/80, Przewalski-Pferd, männlich, 9 Monate, EHV-1-positiv. Koagulationsnekrose von Purkinje-Zellen im Kleinhirn; Neurone, tief dunkelrot gefärbt, mit charakteristischer Stechapfelform. HE-Färbung, Objektiv: 100 x.

Zur Substratfärbung wurde ein Histoprime®-Kit (braun) der Firma Camon benutzt. Die Schnitte wurden in der DAB-H₂O₂-Lösung 30 Sekunden inkubiert und lichtmikroskopisch kontrolliert. Gegenfärbung 60 Sekunden in Hämalau (Romeis, 1989) und Eindecken in Vitroclut®.

Ergebnis

Bei 5 Przewalski-Pferden, 5 Zebras, 1 Onager-Wildesel und 1 Zwergesel ergab sich ein immunhistologisch positives Ergebnis. Es handelte sich um 9 Hengste und 3 Stuten (Einzeltiere siehe Tab. 1).

Pathologisch-histologische Befunde

Bei allen 12 Zooequiden fielen lichtmikroskopisch regressive Veränderungen im Zentralnervensystem auf. Veränderungen wurden in allen 4 untersuchten Regionen des Zentralnervensystems in unterschiedlicher Ausprägung gesehen. Im Vordergrund standen Degenerationserscheinungen an den Ganglienzellen.

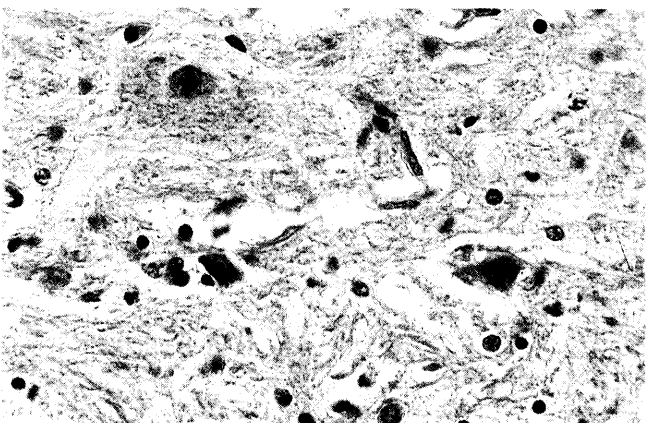


Abb. 2: 695/80, Damara-Zebra, weiblich, 1 Jahr, EHV-1-positiv. Ganglienzellnekrosen und Neuronophagie im Ventralhorn des Rückenmarks, HE-Färbung, Objektiv: 40 x.

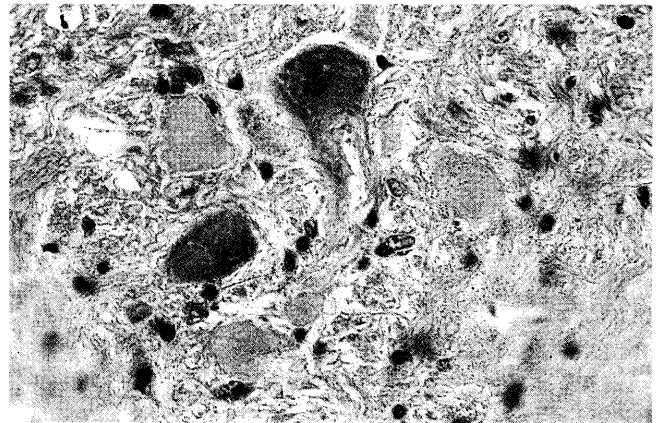


Abb. 3: 695/80, Damara-Zebra, weiblich, 1 Jahr, EHV-1-positiv. Herdförmig Ganglienzellnekrosen mit beginnender Neuronophagie neben intakt erscheinenden Neuronen in einem Kerngebiet. Die nekrotischen Ganglienzellen besitzen eine glasig-durchscheinende Struktur. Medulla oblongata, HE-Färbung, Objektiv: 100 x.

In der Großhirnrinde fiel in erster Linie eine ausgeprägte Neuronophagie an degenerierten und nekrotischen Pyramidenzellen auf. Nach Abschluß der Phagozytose blieben die Gliazellen als Zellknötchen sichtbar.

Im Kleinhirn waren Koagulationsnekrosen an den Purkinje-Zellen erkennbar (Abb. 1). Nach Verlust der dendritischen Ausläufer rundeten sich die Zellen ab und bekamen mit zunehmender Dehydratation eine charakteristische „Stechapfelform“. Das Zytoplasma erschien in der HE-Färbung zunehmend eosinophil. In einem späten Stadium waren sowohl Kern als auch Zytoplasma homogen verdichtet und von tief dunkelroter Farbe. Infolge der Zytolyse entstanden große Lücken in der Purkinje-Zellschicht. In den basalen Hirnabschnitten, insbesondere in der Medulla oblongata, traten Degeneration und Nekrose von Ganglienzellen in den Kerngebieten auf. Im Rückenmark fiel auf, daß die motorischen Wurzelzellen in den Ventralhörnern verändert waren (Abb. 2). Im Gegensatz zu der Dehydratation der Purkinje-Zellen im Kleinhirn konnte in der Medulla oblongata und auch im Rückenmark eine Kol-

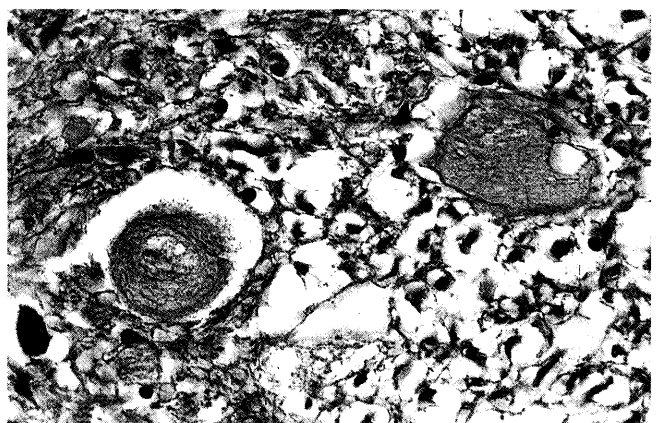


Abb. 4: 872/86, Burchell-Zebra, weiblich, 7 Jahre, EHV-1-positiv/diätetische Myopathie, Ganglienzelldegeneration in der Medulla oblongata; Zellen aufgequollen und abgerundet, Zytoplasma durchscheinend. HE-Färbung, Objektiv: 100 x.

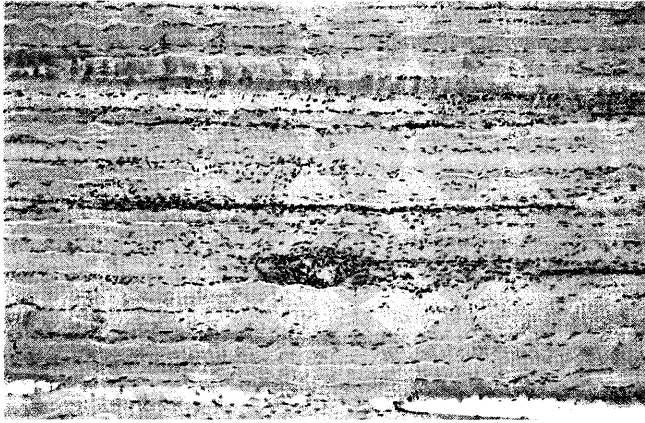


Abb. 5: 695/80, Damara-Zebra, weiblich, 1 Jahr, EHV-1-positiv. Disseminiert herdförmig segmentale Fasernekrose, Stadium der Remotion. Skelettmuskulatur, HE-Färbung, Objektiv: 16×.

liquationsnekrose der Neurone beobachtet werden (Abb. 3). In den geschwollenen und abgerundeten Ganglienzellen wurden kleine Vakuolen sichtbar (Abb. 4). Das Zytoplasma erschien in der HE-Färbung in zunehmendem Maße glasig-homogen und färbte sich nur schwach eosinophil an. Die Nissl-Schollen waren nicht mehr sichtbar. Die vergrößerten nekrotischen Perikarya enthielten im Zytoplasma eine oder mehrere optisch leere Vakuolen, die ihnen eine deformierte Gestalt verliehen. An diesen Ganglienzellen waren die neuronalen Fortsätze geschwunden. Die Zellkerne wiesen Karyorrhesis und Karyolyse auf. In der Umgebung von zugrunde gegangenen Nervenzellen konnte eine proliferative und resorptive Aktivität der Mikroglia beobachtet werden. Vereinzelt bildeten sich Gliazellknötchen.

Lediglich bei dem Przewalski-Pferd 305/80 waren die Gefäße im gesamten Zentralnervensystem manschettenartig mit Lymphozyten, Makrophagen und wenigen Plasmazellen umgeben. Bei diesem Tier war fluoreszenzserologisch bereits EHV-1-Antigen festgestellt worden. In den anderen Fällen fanden sich nur vereinzelt perivaskuläre Zellinfiltrate, oder diese konnten auch bei ausgeprägter Ganglienzelldegeneration nicht nachgewiesen werden.

Neben den Befunden im Zentralnervensystem wurden auch in anderen Organsystemen krankhafte Veränderungen beobachtet.

6 Tiere waren an einer Infektion des Respirationstraktes erkrankt. Dabei wurde 5mal eine chronische Bronchitis, Peribronchitis und/oder Peribronchiolitis festgestellt (265/76; 744/76; 305/80; 695/80; 1750/81). Charakteristisch waren hierbei manschettenartige lymphohistioplasmazelluläre Infiltrate im und um den Bronchialbaum. Als Hinweis auf einen chronischen Prozeß konnte fallweise eine Hypertrophie der Lamina muscularis mucosae beobachtet werden. Bei 3 Tieren hatte die Entzündung auch auf das Lungenparenchym übergreifen. Hier wurde eine herdförmig interstitielle Pneumonie mit einer Verbreiterung der Alveolarsepten durch massive Infiltration mit mononukleären Entzündungszellen gesehen. Bei einem Onager (661/81) fand sich eine katarrhalisch-eitrige Makrobronchitis.

Bei 6 Tieren (305/80; 661/81; 1750/81; 216/85; 509/85; 1925/86) lag eine Reaktion des lymphoretikulären Gewebes vor. Bei dem Onager 661/81 wurde im Zusammenhang mit der Bronchitis eine Follikelhyperplasie in den Luftsäcken festgestellt. 3 Tiere besaßen hyperplastische Lymphfollikel im oberen Respirationstrakt, ohne daß eine Infektion der tieferen Atemwege nachgewiesen werden konnte. Die Lymphfollikelhyperplasie wurde in der Schleimhaut von Nase, Rachenraum, Kehlkopf und in den Tonsillen gesehen. Bei 2 Przewalski-Pferden (305/80; 1750/81) trat eine generalisierte Lymphfollikelhyperplasie mit Reaktionszentren in Milz und Körperlymphknoten auf. Bei beiden Tieren bestand eine chronische Peribronchitis und interstitielle Pneumonie.

Bei 5 Equiden – 2 Przewalski-Pferden, 2 Zebras und 1 Onager – wurden Muskeldegenerationen beobachtet. In 3 Fällen handelte es sich um disseminierte akute bis subakute hyalinschollige Einzelfasernekrosen (695/80; 1750/85; 216/85). Infolge der geringen Anzahl der Fasernekrosen war es nicht zur Myoglobininurie gekommen. Im Vordergrund standen intrazelluläre segmentale Fasernekrosen (Abb. 5). Akut veränderte Muskelschläuche waren geschwollen und das Sarkoplasma hyalinschollig fragmentiert. An anderen nekrotischen Muskelfasern bestand eine lebhaft Myophagie, wobei nach Abräumung des Trümmerfeldes bereits Anzeichen der isomorphen Regeneration vorhanden waren.

Der Onager (661/81) und ein Burchell-Zebra (872/86) waren schwer an einer Myopathie mit Myoglobininurie erkrankt. Das Burchell-Zebra verendete innerhalb von zwölf Stunden. Bei der Obduktion wurde bei dem Zebra eine diätetische Myopathie festgestellt. Makroskopisch war neben der Skelettmuskulatur auch die Zungenmuskulatur hochgradig verändert. Bei der histologischen Betrachtung konnte in der Skelettmuskulatur eine akute Zenkersche Degeneration mit beginnender Resorption gefunden werden. In der Zungenmuskulatur hatte eine endomysiale Fibroblastenproliferation stattgefunden.

Der Onager wurde aufgrund zentralnervöser Störungen und allgemeiner Schwäche getötet. Die vorgefundenen Muskelveränderungen waren auf die Körpermuskulatur beschränkt. Histologisch konnten neben akuten und subakuten, teilweise dystrophisch verkalkten Faserdegenerationen auch ältere, in Reparation befindliche Muskelfasersegmente festgestellt werden, die durch eine ausgeprägte Fibroblastenproliferation auffielen.

Unter den 12 EHV-1-positiven Untersuchungstieren wurde 4mal eine Kachexie diagnostiziert (265/76; 744/76; 599/78; 661/81). Bei dem achtmonatigen Böhm-Zebra 265/76 wurde die vorgefundene chronisch-ulzerative Gastritis als primäre Ursache angenommen. Bei den übrigen 3 Equiden fanden sich keine pathologischen Befunde, die die Auszehrung direkt hätten begründen können.

Unter den 12 Zooequiden verendeten 1 Przewalski-Pferd (744/76), 1 Damara-Zebra (599/78) und 1 Zwergesel (1925/86) akut an einer sekundären Streptokokkensepsis.

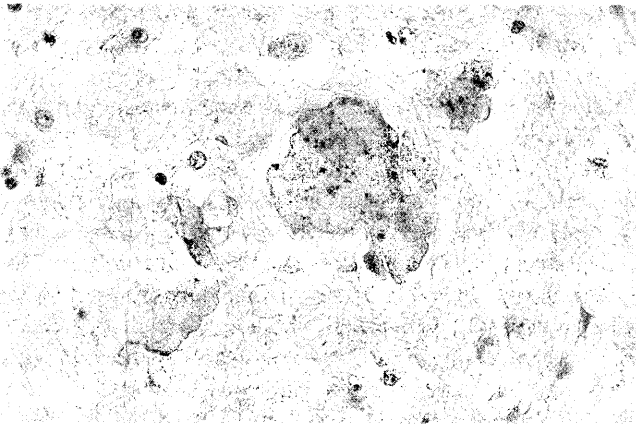


Abb. 6: 872/86, Burchell-Zebra, weiblich, 7 Jahre, EHV-1-positiv/diätetische Myopathie. Kolliquationsnekrose von Ganglienzellen in der Medulla oblongata mit positiver Immunreaktion bei hochgradiger Deformation. ABC-Färbung, Objektiv: 100x.

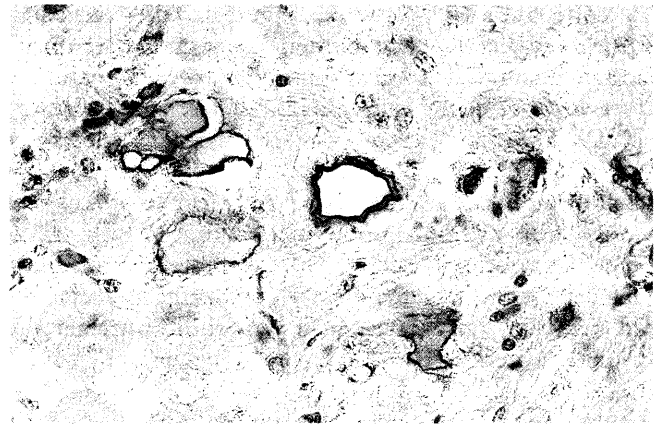


Abb. 8: 695/80, Damara-Zebra, weiblich, 1 Jahr, EHV-1-positiv. Vakuolisierung von Ganglienzellen (Vakuolen optisch leer), reaktive Mikroglia, Positive Immunreaktion in regressiv veränderten Neuronen. Medulla oblongata, ABC-Färbung, Objektiv: 100x.

Immunhistologische Befunde

EHV-1-Antigen konnte fallweise im Großhirn, Hirnstamm und/oder Rückenmark nachgewiesen werden (siehe Tab. 1). Es gelang dagegen bei keinem der Tiere, Viruspartikel im Kleinhirn anzufärben. Feingranuläre, dunkelbraun-schwarze Immunpräzipitate fanden sich in regressiv veränderten und nekrotischen Ganglienzellen. Die Präzipitate verteilten sich gleichmäßig granulär über das Zytoplasma (Abb. 6) oder bildeten aufgrund ihrer Dichte zumeist marginal gelegene, dunkelbraune kompakte Schollen (Abb. 7). In großvakuolär degenerierten Nervenzellen waren die Vakuolen antigenfrei (Abb. 8). Einige Ganglienzellen waren offensichtlich so antigenhaltig, daß sich das gesamte Zytoplasma bräunlich-schwarz anfärbte. Vielfach lagen mehrere immunreaktive Ganglienzellen in einem Kerngebiet beisammen (Abb. 7, 8 und 9). Immunreaktionen hatten nicht selten auch im Zytoplasma und Kern von Gliazellen stattgefunden, die in der Umgebung positiver reagierender Neurone lagen.

Bei einem Damara-Zebra (1104/75) war das Antigen sowohl intranukleär als auch intrazytoplasmatisch in den Pyramidenzellen der Großhirnrinde lokalisiert. An diesen

Nervenzellen waren dabei keine regressiven Veränderungen sichtbar.

In positiv gefärbten Rückenmarksschnitten hatte die Immunreaktion bevorzugt in motorischen Wurzelzellen der Ventralhörner stattgefunden. Daneben konnte fallweise auch eine Antigenfärbung in der Pars intermedia und im Nucleus thoracicus der grauen Substanz festgestellt werden.

Es wurden auch Farbreaktionen an den Gefäßen des Zentralnervensystems beobachtet. Eine Elastikafärbung nach Weigert verdeutlichte, daß der Antikörper unspezifisch an elastische Membranen der Gefäße gebunden war. Infolge der Antikörperbindung an die elastischen Fasern war nicht eindeutig zu erkennen, ob Virusantigen in den Endothelzellen vorhanden war.

Diskussion

Im Vergleich zu der beim Hauspferd beschriebenen akuten zentralnervösen Verlaufsform konnte bei Wildequiden des Zoologischen Gartens Berlin ein chronisch-progressiver Verlauf der EHV-1-Infektion festgestellt werden. Von 2

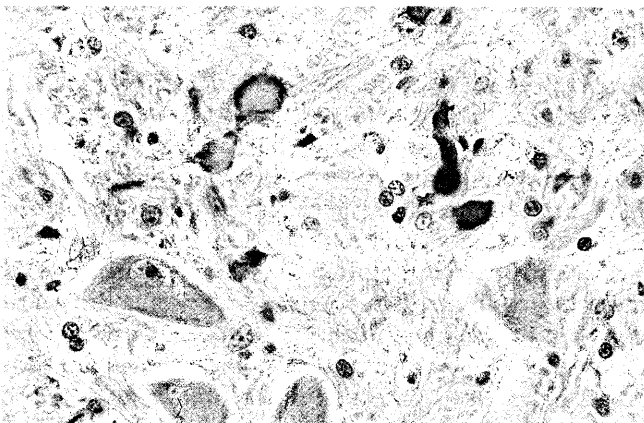


Abb. 7: 695/80, Damara-Zebra, weiblich, 1 Jahr, EHV-1-positiv. Positive Immunreaktion in nekrotischen Ganglienzellen, daneben negativ reagierende, intakte Neurone. Medulla oblongata, ABC-Färbung, Objektiv: 100x.

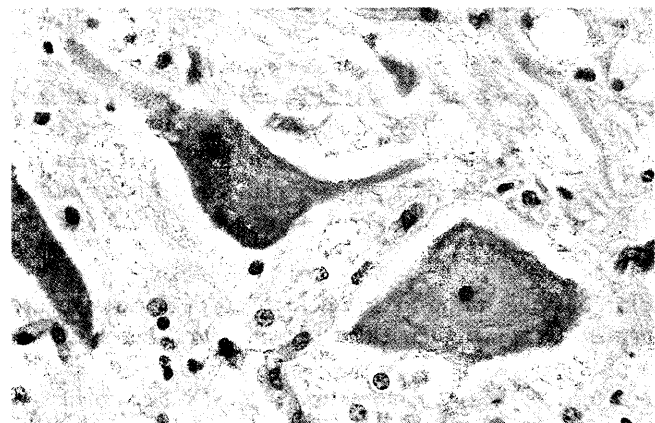


Abb. 9: 509/85, Przewalski-Pferd, männlich, 7 Monate, EHV-1-positiv. Positive Immunreaktion in intakten Ganglienzellen und einer Gliazelle. Medulla oblongata, ABC-Färbung, Objektiv: 100x.

Tieren (305/80; 695/80) war bekannt, daß die Nachhandataxien im vierten bzw. fünften Lebensmonat erstmalig auftraten und sich seitdem zunehmend verschlechterten. Insgesamt trat bei keinem erkrankten Tier eine Genesung ein. Die Equiden wurden entweder aufgrund ausgeprägter zentralnervöser Symptome getötet oder verendeten an sekundären bakteriellen Infektionen (z. B. Streptokokken-sepsis) oder nichtinfektiösen Erkrankungen, wie diätetischer Myopathie mit akuter Myoglobinurie. Trotz Impfung der Tiere seit 1980 mit einer Totvakzine und seit 1983 mit einer Lebendvakzine traten weiterhin zentralnervöse Erkrankungen durch das Equine Herpesvirus Typ 1 auf (Göltenboth und Klös, 1989).

Als pathologisches Korrelat zum protrahierten Verlauf der Erkrankung fand sich ein schleichender Ganglienzelluntergang im Zentralnervensystem der infizierten Wildequiden mit wenig ausgeprägter Neuronophagie. Die Veränderungen entsprachen nicht einer Myeloencephalitis, wie sie von Campbell und Studdert (1983) im Rahmen einer EHV-1-Infektion bei Hauspferden zusammenfassend dargestellt wird. Dabei werden die Ganglienzellveränderungen als Folge von Durchblutungsstörungen interpretiert. Die Durchblutungsstörungen gehen aus Gefäßveränderungen hervor, die einer Vaskulitis entsprechen. Die Vaskulitis wird zurückgeführt auf die direkten Endothelschäden des Virus oder auf immunpathologische Phänomene. Im Gegensatz dazu fehlten bei den untersuchten Wildequiden Gefäßveränderungen, örtliche Kreislaufstörungen oder Entzündungen. Nur in Einzelfällen fanden sich in geringer Anzahl lokal begrenzt bleibende perivaskuläre Zellinfiltrate im Sinne einer nichteitrigen Meningoenzephalitis.

In den Untersuchungen anderer Autoren (Edington et al., 1986; Whitwell und Blunden, 1992) wurde bisher lediglich in den Endothelzellen des Zentralnervensystems EHV-1-Antigen immunhistochemisch bzw. fluoreszenzserologisch nachgewiesen. Dagegen gelang es in vorliegender Untersuchung, das EHV-1-Antigen bei den Wildequiden in den Nervenzellen nachzuweisen.

Die Antigenfärbung von EHV 1 erfolgte in solchen Regionen des ZNS, in denen die regressiven Veränderungen an den Neuronen sehr ausgeprägt waren. Für den regelmäßigen Antigennachweis mit der Immunfärbung erwies sich die Medulla oblongata als besonders geeignet. Dieser Befund deckt sich mit Beobachtungen von Charlton et al. (1976), Jackson et al. (1977), Petzoldt et al. (1982) und Bergmann et al. (1990), die pathologische Veränderungen häufiger an dieser Lokalisation vorfanden. Die eigenen immunhistologischen Befunde geben Anlaß zu der Vermutung, daß es sich hier um eine Prädilektionsstelle im ZNS für das Haften des EHV 1 handeln könnte.

Eine positive Immunreaktion hatte in degenerierten und nekrotischen Ganglienzellen stattgefunden. Dieses Ereignis widerlegt die These, daß bei einer Infektion mit EHV 1 neuronale Schädigungen sekundär durch Ischämien und Hypoxien infolge vaskulärer Alterationen eintreten (Jackson und Kendrick, 1971; Petzoldt et al., 1972 und 1982; Charlton et al., 1976; Little und Thorsen, 1976; Platt et al., 1980; Edington et al., 1986; Ludwig et al., 1987; Thein und

Brown, 1988). Vielmehr liegen hiermit Hinweise vor, daß die Virusreplikation im ZNS auch in den Neuronen stattfindet und einen zytopathogenen Effekt hat.

Jönsson et al. (1989) erklären das Vorkommen von nachweisbarem Antigen im Zytoplasma damit, daß Herpesviren ihre antigenträgende Hülle erst beim Durchtritt durch die innere Kernmembran erhalten und dann auch im Zytoplasma detektiert werden können. Bei dem neunmonatigen Damara-Zebra 1104/75 fanden sich Immunpräzipitate auch im Zytoplasma und Zellkern unveränderter Ganglienzellen. Wahrscheinlich handelte es sich bei diesem Tier um ein frühes Infektionsstadium der Nervenzellen, bevor zytopathogene Effekte auftraten. Es gelang nicht, Herpesvirusantigen in den Purkinje-Zellen des Kleinhirns der infizierten Wildequiden nachzuweisen. Im Gegensatz zu den Kolliquationsnekrosen von Ganglienzellen in Medulla oblongata und Rückenmark fielen an den Purkinje-Zellen ausgeprägte Gerinnungsnekrosen auf. Die Gerinnungsnekrose wird als Äquivalent rasch einsetzender hypoxischer Zellstoffwechselstörungen beschrieben (Dahme, 1989). Somit ist zu vermuten, daß die regressiven Veränderungen im Kleinhirn nicht auf die direkte Viruseinwirkung zurückzuführen sind.

Die im Zentralnervensystem vorgefundenen regressiven Veränderungen bilden das morphologische Substrat für die aufgetretenen Nachhandataxien. Diese liegen begründet einerseits in dem Ausfall der Motoneurone in den kaudalen Rückenmarksabschnitten, andererseits im Wegfall der durch das Kleinhirn gesteuerten Stütz- und Zielmotorik. Durch zunehmenden Ganglienzelluntergang im Sinne einer „Slow Virus Infection“ nimmt die Erkrankung einen progressiven Verlauf. Der immunhistologische Befund, der sich durch einen Antigennachweis in regressiv veränderten Ganglienzellen auszeichnet, macht deutlich, daß das Virus neurotrope und neuronotrope Eigenschaften besitzt. Die Möglichkeit, daß bestimmte neurotrope Virusstämme oder Anteile einer heterogenen Viruspopulation an der Pathogenese der ZNS-Form der Herpesvirusinfektion beteiligt sein könnten, wird von Thein und Brown (1988) diskutiert. Dies führt zu der Vermutung, daß es sich hier um eine Variante des Equinen Herpesvirus Typ 1 handeln könnte. Die Autoren erwägen weiterhin eine ungewöhnliche Prädisposition für die neurologische Erkrankung.

Bergmann et al. (1990) konnten ein gleichartiges klinisches und pathomorphologisches Krankheitsbild mit schleichendem Verlauf bei 24 Serumstuten beobachten, bei denen ein Virusnachweis jedoch nicht gelang. Die Diagnose der EHV-1-Infektion stützte sich bei diesen Tieren auf Titerbestimmungen von virusneutralisierenden Antikörpern. Die Verfasser erörtern den Einfluß der Erregervirulenz und des individuellen Immunstatus auf die Ausprägung der neurologischen Erkrankung. Auch Whitwell und Blunden (1992) diskutierten Art und Ausmaß virusbedingter Läsionen in Abhängigkeit von Infektionsdruck, Infektionsweg und immunologischer Abwehrlage. Es ergibt sich hieraus die Möglichkeit, daß es sich bei der vorliegenden abweichenden Form der zentralnervösen EHV-1-Erkrankung auch um eine konstitutionell und konditionell bedingte, artspe-

zifische Reaktionsweise der exotischen Equiden handeln könnte. In der Literatur ist neben den hier vorgestellten Tieren (siehe auch *Göltenboth* und *Klös*, 1989) nur ein Fall von neurologischer Erkrankung durch EHV-1-Infektion bei einem Wildequiden, nämlich einem 9 Monate alten Zebra, beschrieben (*Montali et al.*, 1984 und 1985). Das Jungtier litt unter Nachhandataxie und partiellem Rektumprolaps bei erhöhtem Seruntiter gegen EHV 1 und konnte geheilt werden.

Neben dem Nervenzelluntergang wurden bei 5 infizierten Wildequiden Muskeldegenerationen festgestellt.

In einem Fall (872/86) handelte es sich um eine generalisierte diätetische Myopathie mit akuter Myoglobinurie. Bei 3 weiteren Tieren fand sich disseminiert in der Körpermuskulatur eine akute hyalinschollige Degeneration und Nekrose einzelner Muskelfasern. *Charlton et al.* (1976) und *Platt et al.* (1980) beobachteten gleichfalls bei Hauspferden im Rahmen einer herpesvirusbedingten Meningoenzephalomyelitis eine akute hyalinschollige Degeneration der Skelettmuskulatur. Möglicherweise handelt es sich hier um neurogen bedingte, aus Hyperkontraktionen hervorgehende Schäden an der Skelettmuskulatur. Die disseminierte Verteilung auf einzelne Muskeln in der Körpermuskulatur hat möglicherweise ihre Ursache in dem herdförmig virusinduzierten Untergang der Motoneurone im Rückenmark. Ob die disseminierte Myopathie bei einem Onager (661/81) mit akuter Myoglobinurie diesem Komplex zuzuordnen ist, konnte nicht entschieden werden.

Chronische Entzündungen im Respirationstrakt (Peribronchiolitis, interstitielle Pneumonie) und hyperplastische Reaktionen des tributären lymphatischen Gewebes weisen darauf hin, daß möglicherweise initial respiratorische Symptome vorlagen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die EHV-1-Infektion der untersuchten Wildequiden hinsichtlich ihrer Epizootologie, ihrer klinischen und pathologischen Befunde bedeutend von der bei Hauspferden bekannten neurologischen Verlaufsform der EHV-1-Infektion unterscheidet. Dabei wird die neurologische Symptomatik auf eine direkte Nervenzellschädigung durch das Equine Herpesvirus Typ 1 und nicht auf eine sekundäre Schädigung als Folge von lokalen Zirkulationsstörungen aufgrund virusinduzierter Vaskulitiden im Zentralnervensystem zurückgeführt.

Literatur:

Bergmann, V., Dietz, O., Gängel, H., Schützler, H., und Kley, B. (1990): Zur Klinik und Pathomorphologie der equinen Parese. *Mh. Vet.-Med.* 45, 310–314.

Campbell, T. M., und Studdert, M. J. (1983): Equine herpesvirus type 1 (EHV 1). *Vet. Bull.* 53, 135–146.

Charlton, D. M., Mitchell, D., Girard, A., und Corner, A. H. (1976): Meningoencephalomyelitis in horses associated with equine herpesvirus 1 infection. *Vet. Path.* 13, 59–68.

Dahme, E. (1989): Nervensystem. In: Sandersleben, J. von, Dämmrich, K., und Dahme, E. *Pathologische Histologie der Haustiere.* Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 3. Auflage, 272–293.

Dambacher, G. (1992): Die Erkrankung eines Pferdebestandes an equinem Herpesvirus 1 (Rhinopneumonitis) mit neurologischer Verlaufsform. *Pferdeheilkunde* 8, 225–229.

Drommer, W. (1991): Pferd. In: Schulz, L.-C. (Hrsg.), *Pathologie der Haustiere, Teil II, Krankheiten und Syndrome.* Gustav Fischer Verlag Jena, 1. Auflage, 11–38.

Edington, N., Bridges, C. G., und Patel, J. R. (1986): Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by equid herpesvirus 1: equine stroke. *Arch. Virol.* 90, 111–124.

Göltenboth, R., und Klös, H.-G. (1989): Zur Problematik der Nachhandataxien bei Przewalski-Pferden und Zebras im Zoologischen Garten Berlin. *Verhandlungsbericht des XXXI. Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere,* Dortmund.

Hsu, S. M., Raine, L., und Fanger, H. (1981 a): Use of avidin-biotin-peroxidase (ABC) complex in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J. Histochem. Cytochem.* 29, 577–580.

Hsu, S. M., Raine, L., und Fanger, H. (1981 b): A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am. J. Clin. Pathol.* 75, 734–738.

Jackson, T. A., und Kendrick, J. W. (1971): Paralysis in horses associated with equine herpesvirus 1 infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 158, 1351–1357.

Jackson, R. A., Osburn, B. I., Cordy, D. R., und Kendrick, J. W. (1977): Equine herpesvirus 1 infection in horses: studies on the experimentally induced neurologic disease. *Am. J. Vet. Res.* 38, 709–718.

Jönsson, L., Beck-Friis, J., Renström, L. H. M., Nikkilä, T., Thebo, P., und Sundquist, B. (1989): Equine herpes virus 1 (EHV 1) in liver, spleen and lung as demonstrated by immunohistology and electron microscopy. *Acta vet. Scand.* 30 (2), 141–146.

Kahrmann, Bettina (1992): Todesursachen der Equiden des Zoologischen Gartens Berlin in den Jahren 1970–1990 unter besonderer Berücksichtigung der Ätiologie von Bewegungsstörungen bei Myopathien und Infektionen mit Equinem Herpesvirus Typ 1 (EHV 1). *Vet. Med. Dissertation.* FU Berlin.

Little, P. B., und Thorsen, J. (1976): Disseminated necrotizing myeloencephalitis: a herpes-associated neurological disease of horses. *Vet. Path.* 13, 161–171.

Ludwig, H., Rudolph, R., Chowdhury, S. I., Van den Bossche, G., Wintzer, H.-J., und Krauser, K. (1987): Equine Herpesvirus Typ 1 (EHV 1) Infektion beim Pferd: Neurologische Symptomatik bei einer Warmblutstute mit akutem tödlichen Verlauf. Molekulare Charakterisierung des Gehirnsolates und pathologische Korrelate. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 100, 147–152.

Mahrous, A.-T. (1980): Ein Beitrag zur Klärung der Frage der hormonellen Abhängigkeit der Mammatumoren der Hündin. *Vet. Med. Dissertation.* FU Berlin.

Meyer, H., Thein, P., und Hübert, P. (1987): Characterization of two equine herpesvirus (EHV) isolates associated with neurological disorders in horses. *J. Vet. Med. B* 35, 545–548.

Montali, R. J., Allen, G. P., Bryans, J. T., und Bush, M. (1984): Equine herpes virus type 1 in exotic equidae. *American Ass. of Zoo Vet. Annual Meeting,* Louisville, 99–110.

Montali, R. J., Allen, G. P., Bryans, J. T., und Bush, M. (1985): Equine herpesvirus type 1 abortion in an onager and suspected herpesvirus myelitis in a zebra. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187/11, 1248–1249.

Petzoldt, K., Rosenbruch, M., Thein, P., Merkt, H., und Schulze-Spüntrup, J. (1982): Ein Ausbruch von Paresen und Virusabort in einem deutschen Vollblutgestüt. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 85, 81–85.

Petzoldt, K., Luttmann, U., Poblentz, J., und Teichert, U. (1972): Virologische Untersuchungen des Zentralnervensystems von Pferdefeten und Befunde bei zentralnervös erkrankten Stuten nach Aborten durch das Equine Herpesvirus Typ 1. *Schweiz. Arch. Tierheilkunde* 114, 129–139.

Platt, H., Singh, H., und Whitwell, Katherine E. (1980): Pathological observations on an outbreak of paralysis in broodmares. *Equine vet. J.* 12, 118–126.

Rösch, X., Rösch, B., und Engel, M. (1992): Verlaufsbericht einer equinen Herpesinfektion mit EHV-1- und EHV-4-Viren. *Der praktische Tierarzt* 11, 1050–1056.

- Romeis, B. (1989): Mikroskopische Technik, 17. Auflage. Verlag Urban/Schwarzenberg, München, Wien.
- Schauer, G. (1991): Immunhistologische Untersuchungen zum Nachweis von caninem Parvovirus Typ 2 (CPV) bei Hunden ohne Hinweis für eine Parvovirose. Vet. Med. Dissertation, FU Berlin.
- Thein, P., und Brown, K. (1988): Infektion mit equinen Herpesviren und Manifestation am Zentralnervensystem. Tierärztl. Prax. 16, 295-302.
- Whitwell, Katherine E., und Blinden, A. S. (1992): Pathological findings in

horses dying during an outbreak of the paralytic form of equid herpesvirus 1 (EHV 1) infection. Equine vet. J. 24, 13-19.

Dr. Bettina Kahrmann
 Institut für Veterinär-Pathologie
 der Freien Universität Berlin
 Straße 518 Nr. 15
 D-14163 Berlin

Kurzreferat

Die Auswirkungen der Aufstallung auf die Bronchoalveolarzellen von gesunden und COPD-Pferden

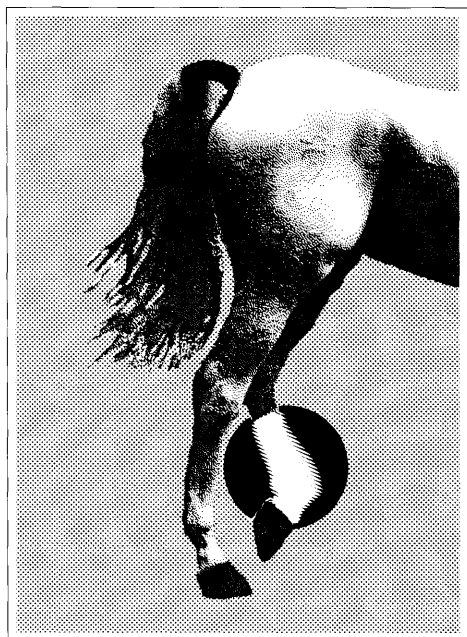
Effect of stabling on bronchoalveolar cells obtained from normal and COPD horses

G. M. Tremblay, Claudine Ferland, J.-M. Lapointe, A. Vrins, J. P. Lavoie und Yvon Cormier (1993)

Equine vet. J. 25, 194-197

Bei 5 gesunden und 5 COPD-Pferden wurde vor und 3 Wochen nach der Aufstallung eine Lungenspülung durchgeführt. In beiden Gruppen blieb die Gesamtanzahl an Zellen nach der Unterbringung im Stall unverändert. In der Spülflüssigkeit der gesunden Pferde waren die alveolaren

Makrophagen (46,4 %) und die Lymphozyten (44,9 %) am meisten vertreten. Der Anteil an Neutrophilen erhöhte sich nach der Aufstallung von 8,7 % auf 27,6 %. Bei COPD-Pferden herrschten die Lymphozyten (40,7 %) bei den Tieren auf der Weide vor; die Anzahl an Neutrophilen stieg nach der Aufstallung von 29,4 % auf 71,6 % an. Nach einer Fraktionierung des Dichtegradienten nach Percoll hatten die alveolaren Makrophagen und Neutrophilen der gesunden und erkrankten Pferde eine ähnliche Dichteverteilung. Nach der Aufstallung nahmen diese Zellen bei gesunden Pferden in der weniger dichten Schicht zu, während bei den COPD-Pferden ihr Anteil in der sehr dichten Schicht Vorrang hatte. Zellen, die durch Lungenspülung von gesunden und COPD-Pferden gewonnen wurden, unterscheiden sich also nicht nur in der Population, sondern auch in ihrer Dichtefraktion. Diese Unterschiede könnten mit unterschiedlichen Zellaktivitäten in Verbindung gebracht werden, die vielleicht für den Krankheitsverlauf der COPD verantwortlich sind.



**ÖDEME WIRKSAM ENTSTAUE
 AUF NATÜRLICHE ART**

Zur Entstauungstherapie und Ödemprophylaxe z.B. bei

- Ödemen
- Gallen
- Bursitis (aseptisch)
- Tendosynovitis (aseptisch)
- Tendovaginitis (aseptisch)
- Fesselringbandsyndrom

Ich interessiere mich für die EQUIDRAIN Gleitwellendrainage. Bitte senden Sie mir Informationen!
Absender bitte nicht vergessen!



MEDIZIN
 TECHNIK
 GMBH
 Eisenbahnweg 25 Tel. (02 41) 57 43 16 Tx. 83 292 87 bosl d
 D-5100 Aachen Tel. (02 41) 6 56 72 Fax (02 41) 57 58 17

