

Resumen

Estudios sobre la estafilococia en pollos

II. Acción patógena de las estirpes de *Staphylococcus aureus* procedentes de gallinas para varios animales de experimentación

De forma experimental se infectaron varios animales de ensayo con cepas del estafilococo dorado, procedentes de gallinas y mamíferos. En muchos casos, en ratones, conejos y pollos, que habían sido infectados con los agentes etiológicos aislados en gallinas contaminadas, se produjo una dermatitis, que en casos espontáneos también se puede observar en granjas avícolas. Sin embargo, la dermatitis semejante solo en muy contados casos se apreció en los cobayas. La capacidad de producir dermatitis e incluso la muerte en los animales era diferente en cada cepa. Contrario a esto, las estirpes originarias de mamíferos no resultaban capaces de producir una dermatitis en ninguno de los animales de experimentación empleados. Los gérmenes aislados en gallinas presentaban con ocasión de la infección experimental de embriones de pollo una virulencia algo superior a los procedentes de mamíferos. Los ratones juveniles y pollos resultaron más sensibles frente a la infección. No pudo confirmarse el que la asociación con el virus de la difteroviruela aviar aumentase la gravedad de la infección. La infección pareció discurrir de una forma más exacerbada cuando la piel se trató con xilol antes de proceder a la inoculación.

References

1. KURAMASU, S., Y. IMAMURA, T. TAKIZAWA, F. OGUCHI and Y. TAJIMA, 1967: Zbl. Vet. Med. B, 14, 646—656. • 2. SATO, G., S. MIURA and T. MIYAMAE, 1958: Jap. J. Vet. Res., 6, 167—180. • 3. OSHIMA, K. and S. MIURA, 1962: Jap. J. Vet. Sci., 22, 6. • 4. KAWASHIMA, H., M. OKUBO and S. IMAI, 1938: Bull. Vet. Lab., Ministry of Agricult. and Commerce, 18, 258—294.

2814

Zentralblatt f. Veterinärmedizin, Reihe B, 15 (1968)

Aus dem Institut für Pathologie und Gerichtliche Tierheilkunde
der Tierärztlichen Hochschule, Wien
Vorstand: Prof. Dr. H. Köhler

Über eine pockenartige Krankheit beim Rhinoceros (*Diceros bicornis* L.)

Von

W. GRÜNBERG und H. BURTSCHER

Mit 8 Abbildungen

(Eingegangen am 27. Dezember 1967)

Die Krankheiten der Pockengruppe zeichnen sich nicht nur durch die verwandtschaftlichen Beziehungen der verschiedenen Erreger, sondern auch durch übereinstimmende mikromorphologische Merkmale aus. Zwar bestimmen Wirt und pathogene Potenz des Virus den klinischen Verlauf und setzen besondere gestaltliche Akzente, doch selbst in der unterschiedlich strukturierten Haut systematisch so weit getrennt stehender Tiere wie Kanarienvogel und Elefant verursachen Pockenviren bei ihrer Auseinandersetzung mit dem Organismus homologe zyto- und histopathologische Veränderungen. Obwohl viele dieser Krankheiten spontan weder auf Menschen noch auf Haustiere übertragbar sind, kommt ihnen für die Epidemiologie der Pocken grundsätzliche Bedeutung zu. Es soll daher über eine Erkrankung der Haut und der kutanen Schleimhäute bei einem Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis* L.) berichtet werden, die auf Grund morphologischer und virologischer Befunde zur Pockengruppe gerechnet werden muß.

Klinische und pathomorphologische Befunde

Das etwa 30 Jahre alte, weibliche Nashorn wurde im Jahre 1942 in adultem Zustand als Wildfang aus Kenia importiert und lebte seither zusammen mit einem Artgenossen in einem Gehege des Tiergartens Schönbrunn. Zwei Wochen vor dem Verenden wurde erstmals Inappetenz, Schweratmigkeit und zunehmende Mattigkeit beobachtet. Sieben Tage später traten plötzlich Hautveränderungen auf, die mit Antibiotica und Cortison erfolglos behandelt wurden.

Am Tag vor dem Ableben des Tieres durchgeführte Untersuchung der Haut ergab zahlreiche, unterschiedlich große, prall-elastische, genabelte oder gekerbte Bläschen und Pusteln, die im Bereich der Flanken, der Bauchhaut und an der Schenkelinnenseite zu großflächigen Blasen konfluieren (Abb. 1). Aus den Blasen konnte klare bis opaleszierende Flüssigkeit abgesaugt werden. Eine typische Kammerung durch strang- oder leistenartige Verbindungen zwischen Blasendach und Blasengrund verhinderte dabei das Kollabie-



Abb. 4. Zahlreiche Ulcera in der Vormagenschleimhaut nahe dem Margo plicatus mit Unterminierung und Abhebung der umgebenden oberflächlichen Epithellagen.
Makrophoto: $\frac{1}{2}$ der natürlichen Größe

schädigung im Vordergrund stehen: *ballonierende* und *retikulierende Degeneration*.

Die Zellen des Stratum spinosum schwellen infolge Flüssigkeitsaufnahme an, runden sich ab und verlieren ihre verbindenden Zellbrücken. Durch weitere Insudation und durch Zerreißen der Zellwände entstehen intraepitheliale Bläschen, die durch feine Trabekel vielfach gekammert sind. Diese retikulierende Degeneration erreicht stellenweise die Oberfläche des Rete malpighii, geht aber in der Tiefe weit über den Bereich der ballonierenden Degeneration hinaus. Durch Eindringen serofibrinöser Flüssigkeit in die so gebildeten Spalträume kommt es außerdem örtlich zu vollkommener Dissoziation in der Stachelzellschicht und damit zur Ausbildung von Spaltblasen und akantholytischen Blasen (Abb. 5). Die Exsudation in das Epithel findet vorwiegend in der Epidermis statt, wo durch Auseinanderweichen oberflächlicher und tiefer Epithelschichten und Konfluieren benachbart liegender Bläschen große, mehrkammerige Blasen entstehen, deren Decke zentral nur aus Hornschicht besteht, der aber bisweilen auch abgeflachte Lagen des Stratum granulosum anliegen. Nach unten reichen die Blasen bis nahe an das Stratum basale. Im Epithel der kutanen Schleimhäute tritt die humorale Komponente der Exsudation in den Hintergrund: In die retikulären Degenerationsherde dringen frühzeitig Granulozyten ein, gleichzeitig kommt es in diesem Bereich durch Nekrose und Auflösung der tiefsten Schichten des Stratum germinativum zur Entstehung kleinerer bzw. größerer Ulcera. In der Umgebung der leukozytären Infiltrate besteht regelmäßig eine mächtige Verdickung des Stratum spinosum, die durch Hypertrophie und ballonierende Degeneration der Stachelzellen zustande kommt. Diese ist für den bereits makroskopisch erkennbaren, die Schleimhautulcera umgebenden Ringwall verantwortlich. In den Epidermisblasen dagegen kommt es erst später durch Einwanderung der Leukozyten zu Einschmelzung der Septen und Nekrose der basalen Zellschicht.

In ballonierend degenerierten Stachelzellen können solitär oder multipel vorkommende zytoplasmatische Einschlusskörperchen (EK) vorkommen. Diese



Abb. 5. Intraepitheliale Spaltblase (a) im Rete malpighii der Umgebung eines Vormagenulcus mit Abhebung der verhornten Epithelschicht (b).
Mikrophoto; HE-Färbung, mittleres Trockensystem

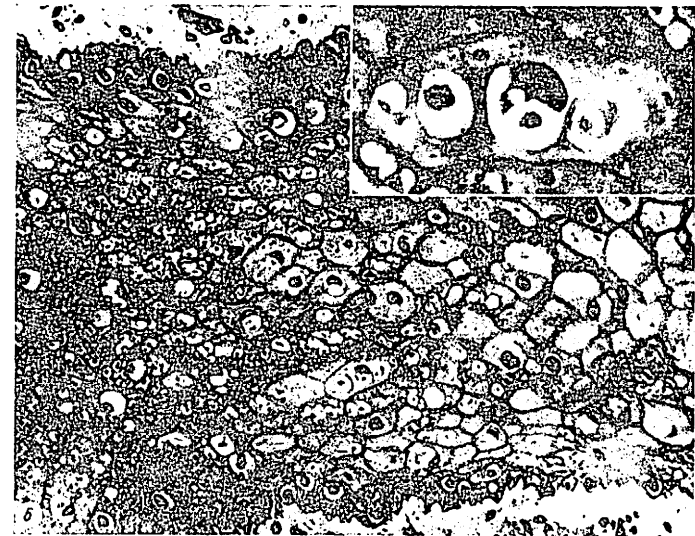


Abb. 6. Zahlreiche, multipel ausgebildete zytoplasmatische EK in ballonierend degenerierten Zellen eines Retezapfens der Mundschleimhaut (starkes Trockensystem); rechts oben: Stachelzelle mit mehreren EK, umgeben von optisch inaktiven Höfen, Kerndeformation (Himmelsberg).
Mikrophoto; HE-Färbung



Abb. 7. Mehrere, solitäre, große zytoplasmatische EK (Pfeile) in degenerierten Epithelzellen der Umgebung eines Vormagenulcus.
Mikrophoto; HE-Färbung; starkes Trockensystem

sind acidophil, reagieren Feulgen-positiv und werden von einem optisch inaktiven Hof umgeben. In den Zellen der Epidermis sowie der Mund- und Ösophagusschleimhaut werden EK stets multipel gefunden, erreichen aber nur selten die Größe des Zellkernes (Abb. 6). In den Randbereichen der Vormagenulcera kommen sie dagegen fast ausschließlich solitär vor und deformieren den an den Zellrand gedrängten Kern (Abb. 7).

Im Papillarkörper bzw. in der Propria mucosae sind die Kapillaren der regionären Gefäßkegel stark dilatiert und hyperämisch. Gelegentlich findet man kleine Diapedesis-Blutungen und perivaskuläre rundzellige Infiltrate. Auffallend ist ferner die Schwellung der Endothelzellen kleiner Cutisgefäße. Im Bereich der Schleimhautulcera werden in der Regel auch die Spitzen des Papillarkörpers eitrig eingeschmolzen.

Virologische Befunde

Kultur in bebrüteten Hühnereiern

Die Chorioallantoismembran (CAM) 10 Tage alter Hühnerembryonen wurde mit Pockenlymphe (0,2 ml mit Penicillin-Streptomycin-Zusatz) inokuliert. Von 15 bebrüteten Eiern starben 8 in der Zeit zwischen 15. und 20. Bebrütungstag ab; 2 Embryonen überlebten bis zum Schlupftermin. Die CAM eines der am 20. Bebrütungstag abgestorbenen Eier zeigte im Bereich der Inokulationsstelle eine etwa 3 cm im Durchmesser große, schwartige Verdickung. Die übrigen 7 abgestorbenen und die beiden überlebenden Embryonen und deren Eihäute waren ohne pathologische Veränderungen. Ein 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Homogenat der erwähnten CAM-Schwarte wurde auf die CAM von 15 weiteren Hühnerembryonen passagiert. Vom 14. bis zum 20. Bebrütungstag starben insgesamt 11 Embryonen ab, während 4 bis zum 21. Bebrütungstag überlebten. Sowohl die CAM der

abgestorbenen, als auch die der überlebenden Eier wiesen eine m. o. w. ausgebreitete Verschwartung im Bereich der Inokulationsstelle auf und waren darüberhinaus von zahlreichen kleineren Plaques übersät, in deren Umgebung deutliche Ringzonenbildung feststellbar war. Bei einer weiteren Passage konnten die beschriebenen Veränderungen reproduziert werden.

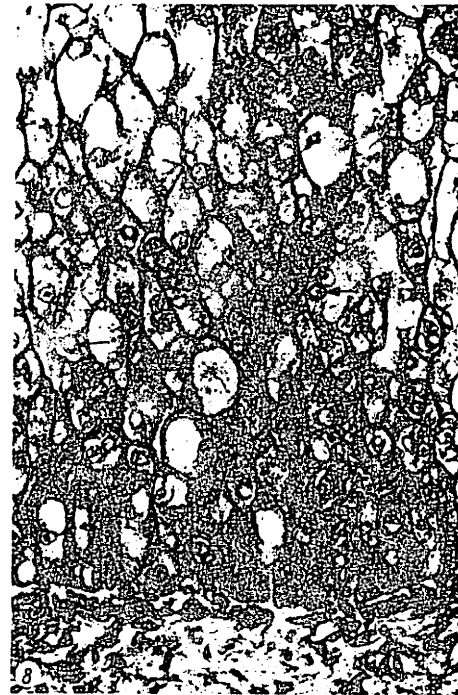


Abb. 8. Zahlreiche zytoplasmatische EK (Pfeile) in ballonierend degenerierten Zellen des proliferierten Ektodermepithels der CAM.
Mikrophoto; HE-Färbung, starkes Trockensystem

Tierversuche

Für Infektionsversuche wurden Pockenlymphe und das Homogenat der CAM der 1. Hühnerembryo-Passage verwendet. Der mit beiden Inokula an je 2 Kaninchen durchgeführte Paulsche Corneal-Versuch verlief negativ. Ebenso gelang es nicht, eine Infektion der skarifizierten Haut bei Kaninchen, Ratte und Zwergschwein zu erzwingen. Nach Einreiben des CAM-Homogenates in die skarifizierte Kammmhaut von 2 Leghornhennen entwickelten sich am 5. Tag p. i. entlang der Skarifikationsstellen zahlreiche 1 bis 3 mm große Bläschen mit wässrigem Inhalt. Am 8. Tag p. i. waren die kleineren Effloreszenzen größtenteils wieder verschwunden. An ihrer Stelle fanden sich kleine Geschwüre mit wallartig verdicktem Epithelrand. 14 Tage p. i. waren die Ulcera wieder epithelisiert und unter Narbenbildung abgeheilt. Haut und Schleimhäute der Versuchshühner waren im übrigen frei von pathologischen Veränderungen.

Diskussion

Über Empfänglichkeit für Pockeninfektionen und den klinischen Verlauf der Krankheit bei Wildtieren ist wenig bekannt. Die bisher vorliegenden

Berichte aus zoologischen Gärten betreffen Ausbrüche bösartig verlaufender Haut- und Schleimhauerkrankungen von Elefanten (POTEL u. Mitarb., 1963) und Okapis (BASSE u. Mitarb., 1964), als deren Erreger Pockenviren nachgewiesen wurden, die, wie in unserem Falle, nicht eindeutig identifiziert werden konnten.

Die vorläufige Zuordnung des Erregers der von uns beschriebenen Dermato- tose zu den Viren der Pockengruppe ergibt sich aus der formalen Pathogenese der von ihm verursachten epithelialen Läsionen und aus seinen bisher ermittel- ten mikrobiologischen Eigenschaften:

Die pathologischen Veränderungen bleiben auf die äußere Haut und die kutanen Schleimhäute des Verdauungstraktes beschränkt. Der Krankheits- prozess läuft vorwiegend im Epithel ab und führt über ballonierende und reti- kulierende Degeneration zur Ausbildung gekammerter Bläschen, aus denen durch Suppuration Pusteln und Ulcera entstehen. Der unterschichtete Papillar- körper, der beim Nashorn auch in den kutanen Schleimhäuten stark entwickelt ist, wird in der ersten Krankheitsphase durch Hyperämie und zellige Infiltra- tion mitbetroffen. Die morphologisch uneinheitlichen zytoplasmatischen Ein- schlußkörperchen lassen sich zwanglos den für die verschiedenen Formen der Pocken charakteristischen Inklusionen zuordnen. Auch die Ergebnisse der Kul- tur in bebrüteten Hühnereiern sind für Pocken charakteristisch.

Eine originäre, artspezifische Infektion kann allerdings im vorliegenden Fall ziemlich sicher ausgeschlossen werden. Dafür spricht die Tatsache, daß das an sich offensichtlich wenig pathogene Virus durch die Passage im nicht-adä- quaten Wirt weiter an Virulenz verloren hat, so daß ein im engen Kontakt mit dem verendeten Tier lebendes Nashorn der gleichen Art keinerlei Krank- heitserscheinungen erkennen ließ. Der auf Grund zoologisch-systematischer Verwandtschaft von Rhinoceros und Pferd naheliegende Verdacht des Vor- liegens einer Stomatitis pustulosa equina konnte weder durch die Anamnese noch durch die Ergebnisse der morphologischen und mikrobiologischen Unter- suchungen bestätigt werden.

Da unter den für Säugetiere pathogenen Pockenviren nur das Vaccinia- Virus experimentell auf Hühner übertragbar ist, muß an die Möglichkeit des Vorliegens von Impfpocken gedacht werden. Allerdings konnte katamnestisch durch eindringliches Befragen des Pflegepersonals keine Infektionsquelle er- mittelt werden.

Die im Epithel der CAM ausgebildeten EK lassen sich morphologisch und hinsichtlich ihres färberischen Verhaltens am ehesten mit Bollinger-Körperchen vergleichen. Diesem Befund würde auch der Verlauf der Infektionsversuche entsprechen. Eine vorbestehende Infektion der verwendeten Bruteier konnte ausgeschlossen werden, da im Betrieb des Elieferanten und in dessen näherer und weiterer Umgebung seit Jahren keine spontane Pockeninfektion auf- getreten ist und daher auch keine Impfung durchgeführt werden mußte.

Die Ergebnisse der bisher durchgeführten Untersuchungen sprechen für das Vorliegen einer Pocken-Infektion, sie erlauben aber keine genaue Artbestim- mung des Erregers. Wegen der stark herabgesetzten Resistenz (Lungenmykose und hohes Alter) und der vorangegangenen Verabreichung von hohen Dosen Cortison (dessen aktivierende Wirkung auf Virus-Infektionen bekannt ist) erscheint es immerhin möglich, daß ein an sich wenig pathogenes und nicht adäquates Pockenvirus als Ursache der bei dem Rhinoceros vorgefundenen pockenartigen Veränderungen anzusehen ist^{*)}.

^{*)} Herr Prof. Dr. A. MAYR (Tierärztliche Fakultät, Universität München) hat sich freundlicherweise bereit erklärt, die Identifizierung des Erregers vorzunehmen.

Zusammenfassung

Bei einem Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis* L.) wurde eine mit Bläs- chen-, Pustel- und Ulcusbildung einhergehende Erkrankung der äußeren Haut und der kutanen Schleimhäute beobachtet, deren makroskopisches und histolo- gisches Bild die für Pocken charakteristischen Veränderungen erkennen ließ. Aus den Läsionen wurde im bebrüteten Hühnerei ein Pockenvirus gezüchtet, dessen genaue Bestimmung noch aussteht.

Summary

A pock-like disease in the rhinoceros (*Diceros bicornis* L.)

A disease affecting the skin and the cutaneous mucous membranes was found in a rhinoceros, and its macroscopical and histological characters were those characteristics of the pock diseases. A pock virus was cultivated in chick embryos from the lesions and is being subjected to more detailed examination.

Résumé

Sur une maladie varioliforme du rhinocéros (*Diceros bicornis* L.)

On observe chez un rhinocéros (*Diceros bicornis* L.) une maladie de la peau et des muqueuses cutanées, se manifestant par des vésicules, des pustules et des ulcères et dont l'image macroscopique et histologique est caractéristi- que des lésions varioliques. A partir de ces lésions, on cultive sur embryon de poulet un virus de la variole, dont la détermination exacte reste à faire.

Resumen

Sobre una enfermedad varioliforme en el rinoceronte (*Diceros bicornis* L.)

En un rinoceronte de boca cónica (*Diceros bicornis* L.) se observó una enfermedad que afectaba la piel externa y las mucosas cutáneas, cuya imagen macroscópica e histológica permitía reconocer la existencia de alteraciones características para la viruela. De las lesiones se cultivó en el huevo embrio- nado de gallina un virus varioliforme, cuya determinación exacta aun no se pudo establecer.

Literaturverzeichnis

1. BASSE, A., E. A. FREUNDT und J. F. HANSEN, 1966: Ein Ausbruch von Pocken- krankheit bei Okapis im Kopenhagener Zoo. VI. Internat. Sympos. Erkr. Zootiere, Wien 1964, p. 55. • 2. CAVER, A. J. E., und D. B. ALLBROOK, 1959: The skin and nuchal eminence of the White Rhinoceros. Proc. Zool. Soc. London 132, 99—107. • 3. POTEL, K., A. VOIGT, TH. HIEPE, H. KAONBERGER, G. HEIDER, K. ELZE und L. DITTRICH, 1963: Eine börsartige Haut- und Schleimhauerkrankung bei Elefanten. Zool. Garten 27, 1—103.

Anschrift der Autoren: Institut für Pathologie, Wien III/Osterreich, Linke Bahngasse 11.