

**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

**Herausgeber:** Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

**Band:** 98 (1956)

**Heft:** 9

**Artikel:** Über die Persistenz des Maul- und Klauenseuche-Virus in der Leber und Milz des Rindes

**Autor:** Niggli, Julius

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-592261>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 14.03.2025

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

### Riassunto

Negli avvelenamenti da piante sono determinanti il contenuto tossico della rispettiva specie botanica e lo stato in cui si trova l'animale. Per l'avvelenamento col tasso si propone la denominazione «Taxosis baccatae» e per la sostanza ottenuta con l'analisi la dicitura «Alcaloide Taxi baccatae». I ruminanti presentano di fronte al tasso il medesimo pericolo come il cavallo.

L'alcaloidità delle foglie del tasso dipende dalla sua età, dal contenuto in umidità e dalla stagione. Gli estratti di tasso determinarono nelle strisce sopravvivenenti del panzone un tono paralitico aspecifico irreversibile. Pappa od estratto di tasso favorisce la fermentazione del succo del panzone; l'alcaloide la impedisce.

### Summary

For plant intoxications the quantity of poison in the species in question and the behaviour of the animal in the moment it approaches the plant are of fundamental importance. For yew intoxication the name «taxosis baccatae» and for the substance obtained by analysis «alcaloidetum taxi baccatae» are proposed. The leaves are as dangerous for ruminants as for horses.

The quantity of alcaloidetum in the leaves depends on the age, the water content and the season. In surviving stripes of the rumen taxus extracts provoke an unspecific irreversible tonus paralysis. Pulp and extract of taxus increase the fermentation of rumen liquid, alcaloidetum has an inhibitory effect.

Das Literaturverzeichnis kann vom Institut bezogen werden.

---

Aus dem Eidgenössischen Veterinäramt Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Flückiger)  
dem Zooprohylaktischen Institut Brescia (Direktor: Prof. Dr. B. Ubertini)  
und dem Eidgenössischen Vakzine-Institut Basel (Leiter: Dr. G. Moosbrugger)

## Über die Persistenz des Maul- und Klauenseuche-Virus in der Leber und Milz des Rindes

Von Julius Niggli

Die erste Bedingung für eine wirksame Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche liegt in der Ausschaltung der Ansteckungsquellen. Dazu bedarf es zunächst der Abschachtung aller infizierten Tiere. Hieran schließt sich eine gründliche Desinfektion des gesamten verseuchten Milieus an, um eine weitere Verschleppung des Erregers durch Menschen, Tiere, Transportmittel usw. zu verhindern. Sperre der Märkte, des Verkehrs und Ringschutzimpfungen vervollständigen die Barriere um den Infektionsherd.

Im toten Organismus vermehrt sich das Virus nicht mehr. Es kann sich aber im Blute, in der Muskulatur, in Organen oder anderswo, wie an Gewebsteilen (Zungenepithel), im Kot, an Heu usw. längere Zeit infektionstüchtig erhalten.

Die Resistenz des Erregers gegenüber äußeren Einflüssen sowie dessen Überlebensdauer in verschiedenen Medien sind daher für eine weitere Ausbreitung der Seuche von Bedeutung.

Eine erfolgreiche MKS-Bekämpfung kann sich deshalb nie einzig auf die relativ kurze Zeit schützende Vakzinierung stützen. Sie muß alle Ansteckungs- und Verschleppungsmöglichkeiten erfassen. Den Beweis hiezu liefern uns Länder, in welchen die MKS lediglich mittels Schutzimpfung bekämpft wird.

Die eidgenössische Tierseuchengesetzgebung schreibt [10] die Abschachtung aller von MKS ergriffenen Bestände vor. Das Fleisch solcher Tiere sowie die in Betracht fallenden Organe müssen unter Wahrung aller sanitäts- und seuchenpolizeilichen Vorschriften bestmöglich verwertet werden.

Über das Verhalten des Virus im Muskel besteht Klarheit [1]. Mit dieser Frage beschäftigten sich vor allem die Englische Kommission für MKS sowie auch Henderson [15]. Blut, Organe und Muskel von auf dem Höchststadium der Krankheit (48 Stunden) geschlachteten Tieren enthalten das Virus. Die sofort nach dem Tode einsetzende Milchsäuregärung in der Muskulatur bewirkt eine starke Verschiebung des pH in saurer Richtung, wodurch das Virus innert kurzer Frist (24 Stunden) vernichtet wird. Auf Grund dieses Vorgangs kann Fleisch infizierter Tiere nach 48stündiger Lagerung und Reifung und zweimaligem Bespritzen der Oberfläche mit Milchsäure (2%) gefahrlos dem Konsum übergeben werden. In sofort nach der Schlachtung eingefrorenem Muskel ist die Autolyse und die Milchsäurebildung verlangsamt; infolgedessen konserviert sich das Virus monatelang.

Die Organe stellen einen erheblichen Wert dar. Die Metzgerschaft wünscht sie in möglichst frischem Zustand zu erhalten. Die Persistenz von Virus in denselben ist noch nicht genügend abgeklärt [2].

Solange Virus im Blute kreist, wird es auch in den Organen zu finden sein. Über den Beginn, die Dauer und den Grad der Virämie können wir bei der Vielfalt von Erscheinungen, die das Bild der MKS bestimmen, keine genauen Regeln aufstellen. Sicher ist, daß das aus dem Primäraupten stammende Virus kurz nach der Infektion im Blute zu kreisen beginnt.

v. Seigneux [26] hat die infektiöse Phase von der 44. bis 66. p.i. Stunde bestimmt. Trautwein, Thomashoff und Hoeve [26] konnten das Virus im Blute des Rindes von der 18. Stunde bis zur 103. Stunde p.i. nachweisen. Waldmann und seine Mitarbeiter [26] zeigten, daß im allgemeinen in den ersten Tagen p.i. (2–5) Virämie in infektiöser Form festgestellt werden kann. Außerdem fanden sie den Erreger bis zum 7. Tag, in einem Fall sogar noch am 58. Tage.

Zwei Versuche im Eidgenössischen Vakzine-Institut in Basel zeitigten folgende Ergebnisse über den Verlauf der Virämie bei mit Stamm O<sub>2</sub> infizierten Tieren.

Versuchsordnung

Mit je 15 ccm Virussuspension 1:1000 infizierten wir zwei Kühe lingual. Den Tieren wurden in gewissen Zeitabständen mittels einer Injektionsspritze, in welche wir bereits 1 ccm Heparin 1:10000 in NaCl aufgezogen hatten, 3 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen und direkt auf Meerschweinchen plantar überimpft. Wir verwendeten für jede Blutprobe drei Meerschweinchen.

Tier Nr. 1 wurde 44 Stunden p. i. geschlachtet, Tier Nr. 2 30 Stunden p. i. Beide Tiere hatten vollständig generalisiert.

Es fanden sich an allen Prädilektionsstellen einschließlich Pansenpfeiler Aphten vor.

Tabelle 1

Ergebnisse der Blutuntersuchung

Zeit der Blutentnahme in Stunden p. i. . . . .	9	18	20	22	24	26	30	42	44
Tier Nr. 1 . . . . .		+	+	+	+	+		+	+
SK 2921 . . . . .		+	±	0	±	±		0	+
Tier Nr. 2 . . . . .	+				+	+	+		
SK 2922 . . . . .	+				+	+	+		

Zeichenerklärung: + Generalisation ± Primäraphten 0 keine Aphten

Bei Tier Nr. 2 wurden aus technischen Gründen zwischen der 9. und der 20. Stunde p. i. keine Blutproben entnommen. Auch interessierte uns vor allem der Zeitintervall zwischen der 22. und 26. Stunde p. i.

In den Blutproben des Tieres Nr. 1 konnten wir durchwegs Virus nachweisen. Es fiel uns aber auf, daß zwischen der 20. und 42. Stunde p. i. die Virämie weniger ausgeprägt war als vorher und nachher. Bemerkenswert ist, daß, entgegen allen Literaturangaben, die dem Tier Nr. 2 neun Stunden p. i. entnommene Blutprobe schon stark infektiös war. Die Zunge des Tieres wies in diesem Zeitpunkt keine Blasen auf.

Die Lebern dieser Tiere, etwa eine Stunde p. m. dem Kadaver entnommen, erwiesen sich als virusfrei. (Beschreibung der Technik folgt.)

Während des Stadiums der Virämie müßte sich theoretisch im ganzen Bereich des Blutkreislaufes Virus vorfinden. Da aber der Virustiter von der Aphtenlymphe über das Blut bis zu den Geweben erheblich abnimmt, ist der Nachweis in diesen, besonders im Anfangs- und Endstadium der Virämie erschwert. Unsere Aufgabe bestand darin, das Vorkommen von Virus und insbesondere dessen Überlebensdauer in Organen, speziell der Leber, zu untersuchen. In der Praxis werden die Innereien dem geschlachteten Tiere durchschnittlich 30–40 Minuten p. m. entnommen und hierauf bis zur erfolgten Fleischschau (zwei Stunden p. m.) in der Schlachthalle belassen. Anschließend daran verbringt man sie in die Kühlräume, wo eine Temperatur von 4° C herrschen soll.

Den größten Teil unserer Untersuchung führten wir im Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Provincie Lombarde in Brescia durch.

### Material

Im Schlachthof Brescia werden wöchentlich über 100 Kühe und Rinder zum Zwecke der Virusgewinnung infiziert. Die Tiere, verschiedenen Rassen angehörend, stammen größtenteils von den beiden Hauptmärkten der Lombardei, Montechiari und Cremona. Manche davon hatten schon MKS überstanden oder waren früher oder später dagegen schutzgeimpft worden. Im Laufe des Vormittages werden jeweils 20–30 lingual infiziert und dann in Hallen, wo im Winter recht kühle Temperaturen herrschen, aufgestellt. Anderntags schlachtet man sie, im Mittel 22–23 Stunden p.i. In diesem Zeitpunkt weisen die Tiere starke Salivation auf. Die Primärphpten sind vielfach recht unterschiedlich ausgebildet.

Die im Durchschnitt pro Tier erhaltene Virusmenge beträgt 30 g. Eine Bestimmung der MKS-Antikörper mittels Neutralisation durch das Institut ergab bei vielen Tieren recht hohe Titer. Dies dürfte der Grund für die relativ geringe Virusernte sein.

### Vorversuche

*ph der Leber, aufbewahrt bei 4° C:* Ausgehend von der Erkenntnis, daß die im Muskel überaus rasch verlaufende Milchsäurebildung und die damit verbundene ph-Verschiebung das Virus innert kürzester Zeit zu vernichten vermag, wurden vorerst die ph-Werte von Lebern gesunder sowie von an MKS erkrankter Tiere ermittelt und miteinander verglichen.

*Technik:* Im Schlachthofe wurden unmittelbar nach dem Eröffnen des Tieres (30–40 Minuten p.m.) dem Processus caudatus der Leber eine Probe im Gewichte von 100 bis 150 g entnommen. Dieser eignet sich sehr gut zur Entnahme, denn wir erhalten dadurch ein Leberstück, das wenig Schnittfläche aufweist.

Etwa 5 g wurden mit der Schere zerkleinert, in 25 ccm aqua bidest. in einem Reagensglas aufgeschwemmt und der ph-Wert dieser Aufschwemmung sofort bestimmt. Der Rest der Leberprobe ist in einem sterilen Aluminiumgefäß aufbewahrt und im Mittel während zwei Stunden p.m. des Tieres in den Kühlschrank (4° C) verbracht worden.

Die Messung der ersten Probe erfolgte anfänglich direkt an Ort und Stelle. Wir bedienten uns verschiedener kolorimetrischer Methoden. Die anschließend im Institut erfolgte Messung der gleichen Proben mit dem Potentiometer sprach eindeutig zugunsten der elektrischen ph-Messung, obwohl diese im Durchschnitt erst eine Stunde nach den früheren angestellt werden konnte.

Weiterhin stellten wir in zweistündigen Intervallen, über mehrere Tage erstreckt, in einem Falle bis zum 7. Tag, ph-Messungen an. Mittels Schere, Mörser oder Turmix hergestellte Leberaufschwemmungen zeigten keine Unterschiede. Ebenso ergaben die Konzentrationen 1:5 und 1:10 immer die gleichen Resultate.

Wir untersuchten fünf Lebern gesunder und fünf infizierter Tiere.

*Ergebnisse, zusammengefaßt:*

1. Die ph-Werte von Lebern gesunder und infizierter Tiere unterschieden sich nicht.
2. Wir fanden Anfangswerte (30–40 Minuten p.m.), die zwischen 6,8 und 6,5 schwankten.
3. Im Verlauf der nächsten 24 Stunden sank das ph um 0,1–0,3.
4. Innerhalb der folgenden 24 Stunden sank das ph weiter um 0,1 oder blieb konstant.
5. Der nach 48 Stunden erreichte Wert hielt sich mehrere Tage. Er betrug nie weniger als 6,3.

Das ph-Optimum des MKS-Virus ist 7,65 [20]. Weiter kann es sich aber in zwei kleinen Zonen zwischen 9 und 10 sowie zwischen 2 und 3 erhalten. Schon schwach saure Reaktion (ph 6,5) soll das Virus fast momentan vernichten [20]. Für Virus in Lymphe gibt Pyl als untersten Bereich die Werte 5,7–6,5 an. Unsere, in Lebern frischgeschlachteter Tiere gefundenen Werte von 6,8 bis 6,5 sprechen daher wenig für ein Persistieren von Virus.

*Testtiere:* Wir verwendeten weiße juvenile Mäuse im Alter von fünf bis sieben Tagen. Für jede Organ- und Serumprobe stand eine Familie bereit, bestehend aus einer Mutter und sechs bis sieben Jungen, wovon eines als Kontrolle diente. Es wurde 0,1 ccm Inokulat intraperitoneal injiziert. Die Kontrolle der Mäusefamilien erfolgte täglich zweimal bis zum fünften Tag post injectionem.

Juvenile Mäuse zeigen im Fall einer angehenden Infektion am dritten Tage p.i. Symptome beginnender Paralyse. Je nach dem Infektionsgrad und dem Virustyp erkranken ein bis mehrere Glieder der Familie, erholen sich hierauf oder gehen ein. In der Muskulatur der eingegangenen Mäuse wurde versucht, das Virus mittels der Komplementablenkungsreaktion nachzuweisen. Es gelangten zwei Tiere zur Verwendung, da ein einziges Tier gelegentlich versagte, insbesondere bei akut eingegangenen Mäusen.

Histologisch kann man in den eingegangenen Mäusen vor allem eine seröse und lympho-histiozytäre Myositis, welche sowohl herdförmig als auch diffus auftritt, feststellen [16].

Von zehn Lebern nicht infizierter Tiere wurden in Vorversuchen Leberaufschwemmungen hergestellt und auf juvenile Mäuse überimpft. Wir konnten keine schädigenden Wirkungen feststellen, auch dann nicht, wenn das Inokulat weder zentrifugiert noch mit Penicillin-Streptomycinzusatz versehen war.

Geringe Acetonspuren, wie sie im Inokulat von Anreicherungsproben vorkommen, sind ebenfalls unschädlich.

### Eigentliche Versuche

*Versuche mit A<sub>7</sub>:* Nach der vorstehend beschriebenen Technik wurde der Leber des geschlachteten Tieres eine Probe entnommen und in ein steriles Gefäß verbracht. Wir achteten darauf, grundsätzlich nur makroskopisch unveränderte Lebern zu verwenden. Fünf Gramm mittels Schere und Pinzette zerkleinertes Lebergewebe wurden in ein steriles Reagensglas gegeben und in 25 ccm Phosphatpuffer (M 180) aufgeschwemmt, welchem 0,1 mg Penicillin und 1 mg Streptomycin pro ccm beigelegt worden waren. Parallel hiezu schwemmten wir 5 g Lebergewebe in 25 ccm aqua bidest. auf. Etwa 1½–2 Stunden nach der Entnahme wurden die Proben (im Durchschnitt vier pro Vormittag) ins Institut verbracht, dort bei 4° C gelagert und weiter verarbeitet.

Zuerst nahmen wir die ph-Messungen vor. Hierauf wurden die Leberaufschwemmungen in Phosphatpuffer mit Hilfe von Quarz im Mörser zerrieben und einige Minuten stehengelassen. Die anschließende Zentrifugation während 15 Minuten bei 3000 Touren ergab eine trübe, bräunlich-gelbliche, visköse Flüssigkeit, welche auch bei höhertourigem Zentrifugieren (bis 8000) nicht klarer wurde. Sie wies einen ph-Wert von 6,9 bis 7,3 auf und wurde sofort auf die Testtiere überimpft.

Alle Leberproben entnahmen wir möglichst der Tiefe des Leberstückes. In dieser Versuchsreihe prüften wir 15 Lebern in folgenden Abständen auf ihren Virusgehalt: etwa 1 Stunde p.m., 7 Stunden p.m. und 33 Stunden p.m. Es konnte in keinem Falle Virus nachgewiesen werden.

Labortiere, einschließlich juveniler Mäuse, sind für A<sub>7</sub> nur bis zu einem Titer von 10<sup>-4</sup> empfindlich. Um die Frage abzuklären, ob 22 Stunden p.i. überhaupt Virämie im Blute vorliegt, untersuchten wir 12 Blutproben. Davon fielen vier positiv aus.

Bei Übertragung der vier positiv ausgefallenen Blutproben auf die betreffenden Mäusefamilien konnten wir durchwegs erkrankte Tiere mit Symptomen nervöser Art feststellen. Die Tiere erholten sich jedoch; infolgedessen fehlt die Bestätigung der Infektion durch die KA. In der Annahme, bei den letzten Versuchen auf unterinfektiöse Titer gestoßen zu sein, suchten wir nach einer Methode, die gestattete, Virus anzureichern und sich zugleich für serienmäßige Untersuchungen eignete.

Wir wählten die Fällung mit Aceton.

*Vorversuche – Überprüfung der Anreicherung mit Aceton:* Lebergewebe eines nicht

infizierten Tieres wurde in Phosphatpuffer (M 180) im Verhältnis 1:5 aufgeschwemmt, zentrifugiert und mit Penicillin-Streptomycin versehen.

Mit dieser Stammlösung und einer nach der allgemein üblichen Technik hergestellten Virussuspension A<sub>7</sub> 1:10 bereiteten wir eine Verdünnungsreihe von 10<sup>-2</sup> bis 10<sup>-8</sup> zu.

Jeder Verdünnung wurde die Hälfte entnommen, derselben 50% ihres Volumens Aceton beigelegt, gut durchpipettiert und hierauf während 15 Minuten bei 3000 Touren zentrifugiert. Das Überstehende wurde weggeschüttet. Das Zentrifugat wurde von neuem in Phosphatpuffer unter Penicillin-Streptomycinzusatz aufgelöst und verdünnt, bis eine intraperitoneale Injektion auf juvenile Mäuse möglich war. 1 g Sediment läßt sich, in 3 ccm Puffer aufgelöst, noch gut injizieren. Anfänglich arbeiteten wir mit 100 ccm Leberaufschwemmung pro Verdünnung, welche wir mit 50 ccm Aceton fällten. Das hiedurch erhaltene Fällungsprodukt war jedoch mengenmäßig für unsere Zwecke viel zu groß. Wir fanden, daß ein Mengenverhältnis 8 ccm Leberaufschwemmung zu 4 ccm Aceton vollauf genügte.

Der ganze Arbeitsvorgang vereinfachte sich damit auch noch dadurch, daß sich Fällung, Zentrifugation und Wiederauflösung des Sedimentes im gleichen Reagensglas abspielen ließen.

Beide Verdünnungsreihen (mit und ohne Acetonfällung) wurden auf juvenile Mäuse überimpft. Als Kontrollen dienten in einem Falle Leberaufschwemmung zentrifugiert ohne Virus, im andern Falle Leberaufschwemmung zentrifugiert, ohne Virus, aber mit Aceton gefällt und wieder aufgelöst.

Das Resultat zeigt uns folgende Tabelle:

Tabelle 2 (Zeichenerklärung s. Fußnote S. 399)

A) ohne Anreicherung

Versuchs-Nr.	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	Kontrolle
1 . . . . .	±	+ K—	—	—	—	—	—
2 . . . . .	±	±	—	—	—	—	—
3 . . . . .	+ K—	+ K—	+ K—	±	—	—	—

B) mit Anreicherung

Versuchs-Nr.	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	Kontrolle
1 . . . . .	+ K+	+ K—	—	—	—	—	—
2 . . . . .	±	+ K—	—	—	—	—	—
3 . . . . .	+ K—	+ K+	±	±	+ K+	—	—

Eine Verfeinerung des Virusnachweises gelang, wie vorstehende Tabelle zeigt, nicht. Auch der Nachweis mittels der Komplementablenkung liefert unregelmäßige Resultate.

Weitere Versuche gleicher Art, aber mit dem Virustyp O2 bestätigen dies.

Tabelle 3 (Zeichenerklärung s. Fußnote)

Ohne Anreicherung

Versuchs-Nr.	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	Kontrolle	Nachweis bis
1 . . . . .	+ KA+	+ KA+	+ KA+	+ KA+	—	—	10 <sup>-7</sup>
2 . . . . .	+ K+	+ KA+	+ KA+	—	—	—	10 <sup>-6</sup>
3 . . . . .	+ K+	+ KA+	+ KA+	—	—	—	10 <sup>-6</sup>
4 . . . . .	+ K+	+ KA+	+ KA—	—	—	—	10 <sup>-6</sup>

Mit Anreicherung

Versuchs-Nr.	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	Kontrolle	Nachweis bis
1 . . . . .	+ KA+	+ KA—	+ KA+	+ KA+	+ —	—	10 <sup>-7,5</sup>
2 . . . . .	+ KA+	+ KA+	+ KA+	+ KA+	—	—	10 <sup>-7</sup>
3 . . . . .	+ KA+	+ KA+	—	—	—	—	10 <sup>-5</sup>
4 . . . . .	+ KA+	+ KA+	+ KA+	—	—	—	10 <sup>-6</sup>

In dieser Versuchsreihe zeitigt die KA sehr schöne und regelmäßige Resultate. Da wir durch Fällung mit Aceton den Virusnachweis nicht verfeinern konnten, fragten wir uns, ob sich A, vielleicht in vitro in Frenkelschem Nährboden kultivieren und hierauf mit der Komplementablenkungsreaktion nachweisen ließe.

Zeichenerklärung:

- + mehrere Versuchstiere erkrankt, zum Teil gingen sie ein
- ± Versuchstiere erkrankten, erholten sich wieder
- keine erkrankten Versuchstiere
- K+ Komplementablenkung ausgeführt mit der Musk. des eingegangenen Versuchstieres positiv
- K— Komplementablenkung negativ

### Versuchsordnung

1. Herstellung einer Verdünnungsreihe in den Konzentrationen  $10^{-2}$  bis  $10^{-7}$  mit Virus A<sub>7</sub>.
2. In Fläschchen von 5 ccm Inhalt wurden je 1,5 ccm Frenkelscher Nährboden gegeben, dazu kamen eine Spatelspitze frisches, mit der Hackmaschine zerkleinertes Zungenepithel sowie ein Zusatz von Penicillin und Streptomycin.
3. In jedes Fläschchen wurden 1,5 ccm Virussuspension überimpft. Für jede Verdünnung verwendeten wir 5 Fläschchen.
4. Die mit sterilen Zapfen verschlossenen Fläschchen wurden in den Agitator gebracht und dort bei 37° C 60 Stunden belassen.
5. Nach erfolgter Kultivierung wurde der Inhalt jedes Fläschchens kurz zentrifugiert und mit dem Überstehenden Komplementablenkungsreaktionen angestellt.  
In zwei Versuchen konnten wir bis zu einem Titer von  $10^{-4}$ , in einem Versuch bis zu einem solchen von  $10^{-5}$  Virus nachweisen.

Um die Frage zu prüfen, ob der Zusatz von Lebergewebe zur Kulturflüssigkeit auf die Kultur hemmend einwirke, stellten wir mit einer VirusstammLösung und einer Leberaufschwemmung (1:5) eine Verdünnungsreihe her. Auch in diesen Versuchen konnten wir immer Virus bis zum Titer von  $10^{-4}$  nachweisen.

In mehreren Versuchen überimpften wir Leberaufschwemmung (1:5), herkommend von mit A<sub>7</sub> infizierten Tieren auf Kulturflüssigkeit. Alle Komplementablenkungsreaktionen fielen negativ aus.

Weiterhin prüften wir, ob sich mit Hilfe der Adsorption an Kohle oder Aluminiumhydroxyd Virus in der Leber A<sub>7</sub> infizierter Tiere nachweisen ließe. Wir erhielten negative bis fragliche Resultate und sahen deshalb von einer genauen Protokollierung ab.

Es gelang uns also mit den vorstehend beschriebenen Methoden nicht, Virus A<sub>7</sub> in der Leber 22–23 Stunden p.i. geschlachteter Tiere nachzuweisen. Eine Methode der Verfeinerung des Virusnachweises, welche für serienmäßige Untersuchungen geeignet wäre, fanden wir ebenfalls nicht heraus.

Einen letzten, in dieser Richtung tastenden Versuch führten wir am Ende unserer Arbeit im Basler Institut mit einem O2 infizierten Tier durch. Das Blut dieses Tieres untersuchten wir in zweistündigen Intervallen von der 18. bis zur 44. Stunde p.i. auf seinen Virusgehalt. Alle Proben erwiesen sich als stark infektiös. Die Leber entnahmen wir dem Tier 1 Stunde p.m. (45 Stunden p.i.). 20 g derselben wurden im Mörser zerrieben und mit 100 cm gepufferter Kochsalzlösung vermengt; hierauf 15 Minuten bei 8000 Touren zentrifugiert. Der erkalteten überstehenden Flüssigkeit fügten wir 5 ccm Calciumphosphat bei. Das Ganze verbrachten wir während 20 Minuten in den Schüttelapparat. Hierauf zentrifugierten wir von neuem 10 Minuten bei 3000 Touren. Das Sediment wurde in 8 ccm gepufferter Kochsalzlösung aufgenommen und auf sechs Meerschweinchen überimpft; das Überstehende (ph 8,36) auf vier Meerschweinchen.

Von den Meerschweinchen wies eines eine vorübergehende kleine Reaktion an der Einstichstelle auf, die übrigen zeigten keine Reaktionen. Somit gelang es uns auch mit diesem Potenzierungsversuch nicht, Virus nachzuweisen.

Die Leber eines Tieres, dessen Blut im Moment der Schlachtung stark infektiös war, kann demnach schon eine Stunde nach der Schlachtung frei von Virus sein.

Dank dem freundlichen Entgegenkommen von Herrn Professor Ubertini, dem Direktor des Instituts, konnte die Virusproduktion im Schlachthof Brescia auf O2 umgestellt werden. Damit hatten wir einen weitaus leichter übertragbaren Virustyp in der Hand. O2 geht aus juvenilen Mäusen bis zu einem Titer von  $10^{-6,5}$  an.

Wir entnahmen von jedem O2-infizierten Tier beim Entbluten eine Blutprobe, um, Blut- und Organbefund vergleichend, ein besseres Bild über den Grad der Virämie zu bekommen und um auch, bei positivem Ausfall der Organprobe, im Blute deren Bestätigung zu finden.

Zum Nachweis von Virus im Blut wurde nur das Serum herangezogen. Dieses ge-

wannen wir nach der allgemein üblichen Technik, vermischten es  $\bar{a}\bar{a}$  mit physiologischer Kochsalzlösung unter Beigabe von Penicillin und Streptomycin. Von jedem Tier untersuchten wir das Blut und die Leber auf ihren Virusgehalt. Jede Leber wurde in folgenden Zeitabständen p.m. des Tieres geprüft:

- etwa 1 Stunde p.m.
- 27 Stunden p.m.
- 51 Stunden p.m.

Gegen Ende unserer Versuche wurden noch zehn Milzen in die Untersuchung mit einbezogen.

Um ein bakteriell steriles Inokulat zu garantieren, wurden dem Phosphatpuffer immer Antibiotika beigefügt. Die Inokulate von vier Lebern und vier Milzen, insgesamt 24 Proben, wurden auf 72 Serum-Agarplatten überimpft. Diese erwiesen sich nach 48stündiger Aufbewahrung im Brutschrank als steril.

**Die erhaltenen Resultate zeigt die folgende Zusammenstellung**

1. Untersuchte Blutproben . . . . .	64		
davon virushaltig (Mäusetest) . . . . .		14	
bestätigt durch KA . . . . .			13
2. Untersuchte Lebern . . . . .	64		
davon virushaltig			
a) etwa 1 Stunde p.m. (Mäusetest) . . . . .		4	
bestätigt durch KA . . . . .			4
b) 27 Stunden p.m. (Mäusetest) . . . . .		2 (3)	
bestätigt durch KA . . . . .			2 (3)
c) 51 Stunden p.m. . . . .		0	
3. Untersuchte Milzen . . . . .	10		
davon virushaltig			
a) etwa 1 Stunde p.m. (Mäusetest) . . . . .		1	
bestätigt durch KA . . . . .			1

Die folgenden Proben waren negativ, das Serum positiv, die dazugehörige Leber negativ.

4. Durchschnitts-ph von 64 Lebern und 10 Milzen

	Leber	Milz
a) etwa 1 Stunde p.m. . . . .	6,63	6,61
b) 27 Std. p.m., aufbewahrt bei 4°C	6,58	6,58
c) 51 Std. p.m., aufbewahrt bei 4°C	6,51	6,55

In einem Falle fanden wir in einer Leber 27 Stunden p.m. Virus, ohne daß dabei das Serum und die vorhergehende Leberprobe (1 Stunde p.m.) positiv ausfielen. Es muß sich hier um eine Verunreinigung gehandelt haben, denn alle andern positiven Befunde stimmten überein, das heißt: es war entweder nur das Serum infektiös oder Serum und erste Organprobe und eventuell zweite Organprobe.

Alle unsere positiven Befunde sind doppelt bestätigt: Einerseits durch die Testtiere, andererseits durch die Komplementablenkungsreaktion mit der Muskulatur des eingegangenen Testtieres als Antigen. Wie schon erwähnt wurde, kann die Komplementablenkungsreaktion, nur mit einem Tier ausgeführt, versagen. Mäusefamilien, in welchen nur einzelne Tiere leichtgradig erkrankten und sich wieder erholten oder in welchen nur ein einziges Tier einging und dessen Komplementablenkungsreaktion negativ ausfiel, zählten wir nicht als positiv, obwohl mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, daß es sich auch hier um eine MKS-Infektion handelte. Bakterielle Infektionen können wir ausschließen, da das Inokulat immer mit Anti-

biotika versehen worden war und sich bei wiederholten Prüfungen als steril erwies. Weiter hat Lebergewebe als solches mit Phosphatpuffer keine schädigende Wirkung auf juvenile Mäuse, wie in Vorversuchen abgeklärt wurde. Kontrolltiere erkrankten in unseren an über 2000 juvenilen Mäusen durchgeführten Untersuchungen nie. In unserer Arbeit ging es uns ja auch weniger um die Bestimmung eines Verhältnisses, sondern vielmehr um die reine Klärung der Frage: Kommt Virus in den Organen vor und wie lange überlebt es?

### Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse anführen

1. Die allermeist ungünstige ph-Lage der frisch dem Tiere entnommenen Leber und Milz spricht gegen ein Persistieren von Virus.
2. Im Blute  $O_2$ -infizierter und 22–23 Stunden p.i. geschlachteter Tiere konnten wir in etwa 21 % der Fälle Virus nachweisen.
3. 64 Lebern  $O_2$ -infizierter Tiere, aufbewahrt bei  $4^\circ C$ , prüften wir in folgenden Zeitabständen p.m. auf ihren Virusgehalt: etwa 1 Stunde p.m., 27 Stunden p.m. und 51 Stunden p.m.

Das Virus fand sich viermal in etwa einer Stunde p.m. untersuchten Lebern und zweimal nach 27 Stunden p.m. Die 51 Stunden p.m. untersuchten Proben waren alle negativ.

4. Zehn Milzen wurden in gleicher Weise untersucht. Wir fanden einmal Virus in einer 1 Stunde p.m. untersuchten Probe. Das Blut des betreffenden Tieres war infektiös, die Leber erwies sich als virusfrei.
5. Die virushaltigen Lebern wiesen folgende ph-Werte auf:

6,85	6,8	6,75	6,75	1 Stunde p.m.
und				
6,65	6,6			27 Stunden p.m.

ph-Werte zwischen 6,85 und 6,65 liegen über dem anhand von 64 Lebern ermittelten Durchschnitt, welcher eine Stunde p.m. 6,63 und 27 Stunden p.m. 6,58 betrug. Für ein Persistieren von Virus, wenn auch nur für ein kurzfristiges, ist somit mindestens ein ph-Wert von 6,6 erforderlich. Beim 51 Stunden p.m. erreichten Wert von 6,51 konnte nie Virus nachgewiesen werden.

6. Der Virusnachweis wurde erschwert, weil manche der infizierten Tiere MKS schon überstanden hatten oder vorher schutzgeimpft worden waren und aus diesen Gründen zum Teil erhebliche Antikörpertiter aufwiesen. Weiter befinden sich die 23 Stunden p.i. geschlachteten Tiere zum größeren Teil im Anfangsstadium der Virämie und weisen demzufolge noch unterinfektiöse Virustiter auf.
7. Selbst bei einem Tier, das auf dem Höchststadium der Infektion (44 Stunden p.i.) geschlachtet wurde und dessen Blut in diesem Zeitpunkt stark infektiös war, konnte in der Leber (1 Stunde p.m.) kein Virus nachgewiesen werden.

Wir sind uns bewußt, daß sich Tiere im Höchststadium der Infektion

besser für die Beantwortung unseres Problems geeignet hätten. Dies ging jedoch nicht an, weil sich in diesem Zeitpunkt fieberhafte Veränderungen am Fleische einstellen.

Weiter glauben wir, daß in Lebern, die den infizierten Tieren unmittelbar nach der Schlachtung und nicht, wie in unsern Versuchen 30–40 Minuten p. m. entnommen werden, in vermehrtem Maße Virus nachzuweisen gewesen wäre. Wir mußten uns jedoch verständlicherweise an den Arbeitsgang des Schlachthofes anpassen.

Das Rind kam für uns als Testtier nicht in Frage. Doch bietet die juvenile Maus für praktische Verhältnisse genügend Sicherheit.

### Schlußfolgerung

Lebern MKS-infizierter und etwa 23 Stunden p. i. geschlachteter Tiere, aufbewahrt bei 4° C, können das Virus über einen Tag lang in infektiöser Form enthalten. In der Milz solcher frischgeschlachteter Tiere konnte das Virus ebenfalls nachgewiesen werden. Es ist anzunehmen, daß es auch in diesem Organ persistieren kann. Diese Organe sind deshalb während einer Zeitspanne von mindestens einem Tage nach der Schlachtung als seuchengefährlich zu betrachten. Eine 48stündige Lagerung bei 4° C mit der damit verbundenen Säuerung genügt jedoch, um das Virus abzutöten.

Um allfällig an der Oberfläche der Organe im Verein mit Blut vorkommendes Virus zu vernichten, schlagen wir, analog dem Vorgehen beim Muskelfleisch, ein zweimaliges Abspritzen der Organe mit 2% Milchsäure vor.

Die Ergebnisse decken sich mit den von Girndt [14] über die Tenazität des Maul- und Klauenseuche-Virus im Herzmuskel des Rindes durchgeführten Untersuchungen, die uns erst nach Abschluß unserer Arbeiten zur Kenntnis gelangten (Inaugural-Dissertation der Justus Liebig-Hochschule, Gießen 1953). Girndt kommt zu folgendem Schluß: «In praktischer Hinsicht zeigt sich, daß die Inaktivierung des MKS-Virus im Herzmuskelgewebe zwischen der 40. und 45. Stunde post mortem erfolgt.

Der Nachweis geschah in einer Form, welche für die Übertragung dieser Erkenntnis auf praktische Verhältnisse ausreichende Sicherheit bietet. In theoretischer Hinsicht erweist sich der Inaktivierungsmechanismus des MKS-Virus nicht wie bisher häufig betont von einem einzelnen Faktor, nämlich dem pH-Wert, beherrscht, sondern von der Konstellation mehrerer Faktoren. Die Vielfalt dieser Möglichkeiten ergibt sich aus den Literaturstudien dieser Arbeit, so daß auch bei diesem besonderen Gegenstand es sich zeigt, daß die naturwissenschaftliche Forschung nicht nur die Einheitlichkeit, sondern auch die Vielfältigkeit des Naturgeschehens erweist.»

Aus den vorliegenden Untersuchungen dürfte zur Genüge hervorgehen, daß bei richtiger Behandlung Herzen, Lebern und Milzen von MKS-infizierten Tieren praktisch ebenso ungefährlich verwertet werden können wie das Muskelfleisch.

Nach Abschluß der Arbeit danke ich allen, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen.

Vorab danke ich Herrn Professor Dr. G. Flückiger für die Überlassung des Themas und für seine große Hilfe bei der Abfassung der Arbeit. Ganz speziellen Dank schulde ich auch Herrn Professor Dr. B. Ubertini für die großzügige Gastfreundschaft in seinem Institute in Brescia. Den Herren Professor Dr. L. Nardelli, Dr. G. Moosbrugger und Dr. G. Santero verdanke ich manch unentbehrlichen Rat. Fräulein Dr. V. Camisani bin ich zu Dank verpflichtet für die Ausführung der Komplementablenkungsreaktionen. An Herrn Dr. Bandera, Direktor des Schlachthofes Brescia, sowie an dessen Personal geht mein herzlicher Dank für ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft. Dem Personal der Institute in Brescia und in Basel danke ich für ihre Hilfe in allen technischen Belangen. Nicht zuletzt danke ich der Metzgerschaft von Brescia, welche mir bereitwillig Organproben überließ.

### Résumé

Les foies d'animaux aphteux et abattus environ 23 heures p. i., maintenus à 4° C, peuvent conserver le virus sous forme infectieuse plus d'un jour. On a également dépisté le virus dans la rate de ces animaux fraîchement abattus. Il y a lieu de croire que le virus peut aussi persister dans cet organe. Ces deux organes doivent donc être considérés comme épizootiquement dangereux pendant au moins 1 jour après l'abatage. Un entreposage de 48 heures à 4° C combiné à l'acidification suffit cependant à tuer le virus. Nous proposons néanmoins, pour détruire le virus mélangé au sang recouvrant les organes, d'arroser 2 fois ces organes d'acide lactique à 2% (même procédé que pour la musculature).

Le dépistage s'est effectué de telle sorte qu'il fournisse toute garantie pour son utilisation sur le plan pratique. Du point de vue théorique, le mécanisme de l'inactivation du virus aphteux n'est pas dominé par un seul facteur ainsi qu'on l'a souvent prétendu jusqu'à présent (le PH) mais bien par toute une constellation de facteurs. Cette variété de possibilités ressort des études précises de ce travail et nous révèle que dans le domaine qui nous occupe, la recherche scientifique ne démontre pas seulement l'unité mais aussi la multiplicité des problèmes naturels.

Le présent travail prouve de toute évidence que, traités rationnellement, les organes tels que le cœur, le foie et la rate provenant d'animaux aphteux peuvent pratiquement être utilisés au même titre que la viande, c'est-à-dire sans danger.

### Riassunto

Il fegato di animali aftosi e di quelli abbattuti circa 23 ore dopo l'infezione può contenere il rispettivo virus sotto forma infettiva per oltre un giorno. Detto virus è stato accertato anche nella milza di tali animali macellati di fresco: è da ammettere che esso può persistere allo stato infettivo anche in quest'organo. Tali organi vanno quindi considerati veicoli pericolosi di contagio per almeno un giorno dopo la macellazione. Un immagazzinamento a 4° C per 48 ore, insieme con l'acidificazione che ne risulta, basta però ad uccidere il virus. Per annientare quello che col sangue resta alla superficie degli organi, consigliamo, come si fa per la carne muscolare, di irrorare due volte gli organi con acido lattico al 2%.

La dimostrazione surriferita è sufficientemente sicura per adattarla alle circostanze pratiche. Sotto l'aspetto teorico il meccanismo di inattivazione del virus aftoso non dipende - come finora si è spesso accentuato - da un unico fattore e cioè dal valore

del pH, ma da una costellazione di parecchi fattori. La forma multipla di queste possibilità risulta dagli studi bibliografici di questo lavoro; anche a proposito di questo tema particolare l'indagine scientifica dimostra non solo l'uniformità ma anche la molteplicità nel modo di procedere della natura.

Dalle presenti indagini dovrebbe risultare a sufficienza che con questo trattamento il cuore, il fegato e la milza di animali infetti di afta possono essere sfruttati praticamente, come la carne muscolare, sotto forma non pericolosa.

### Summary

The livers of cattle, killed about 23 hours after infection with foot and mouth disease, kept at 4° C may contain active virus for more than 1 day. The same was the case with the spleen. These organs must be considered as dangerous for at least 1 day after slaughter. But after 48 hours at 4° C the virus is killed by acidity. In order to destroy the virus contained in the blood on the surface of the organs a twofold spouting with 2% lactic acid is recommended.

The proof was performed by a method, which gives sufficient security in practice. The inactivation of foot and mouth disease virus does not take place by acidity only, but by a combination of factors. The multiplicity of such possibilities was derived by the author from thorough study of the literature, and once more it was demonstrated, that natural scientific investigation proves not only the uniformity but also the manifoldness of natural processes.

The author's results demonstrate, that an appropriate treatment of heart, liver and spleen of animals infected with foot and mouth disease allows the use of these organs without any danger like that of muscle flesh.

### Literaturverzeichnis

- [1] American Journal of Veterinary Research. Vol. 12, No. 44, Juli 1951, pag. 187-190. - [2] American Journal of vet. Report. Vol. 11, No. 41, oct. 1950, pp. 371-373. - [3] Brooksby B.: Bull. off. int. Vol. 31, 1949. - [4] Brooksby and Ella Wardle: Journal of Hygiene Vol. 52, No. 1, March 1954. - [5] Christine E. Rice and Brooksby: Journal of Immunology, Vol. 71, Nr. 5, Nov. 1953. - [6] First Progress Report of the Foot and Mouth Disease Research Comitee Ministry of Agriculture and Fisheries. London 1925. - [7] Third Progress Report, London 1928. - [8] Fourth Progress Report, London 1931. - [9] Fifth Progress Report, London 1937. - [10] Flückiger G.: Kommentar zur eidg. Tierseuchengesetzgebung. - [11] Frei W.: Allgemeine Path. f. Tierärzte, 1955. - [12] Fornoni Q.: Sulla virulenza del sangue nell'aphta epizootica tesi di laurea Anno Academico 49/50, Milano. - [13] Fuhrmann H.: Schw. Archiv f. Tierheilkunde, Heft 7, 1954. - [14] Girndt L.: Über die Tenazität des Maul- und Klauenseuche-Virus im Herzmuskel des Rindes. Inaug.-Diss. Gießen, 1953. - [15] Henderson W. M. and Brooksby J. B.: The survival of foot and mouth disease virus in meat and offal from the journal of hygiene. Vol. 46, Nr. 4, Dec. 1948. - [16] Informe Tecnico. Asocion Argentina del Frio Buenos Aires, 1944. - [17] Koetsche W.: Arch. f. exp. Vet. Med., Band 7, 1953. - [18] Levaditi C., Lépine P. et Verge J.: Les Ultravirus des maladies animales, Paris, 1943. - [19] Moosbrugger G.: Tierärztliche Umschau Nr. 3/4, 1952. - [20] Müller J.: Komplementbindungsreaktion zur Typendiff. des MKS Virus. Inaug.-Diss. Hannover, 1951. - [21] Pyl G.: Ztr.bl. f. Bakt., Parasitenk. u. Inf.kr. 121 Bd, 1931. - [22] Pyl G.: Sonderabdruck aus Hope-Seylers Ztschr. f. phys. Chemie, Bd. 226, 1934. - [23] Pyl G.: Arch. f. Exp. Vet. Med. Bd. 7, 1953. - [24] Report of Foot and Mouth Disease Commission of the United States Department of Agriculture, June, 1928. - [25] Ubertini B.: Bulletin off. int. des épiz. Vol. 31, 1949. - [26] Traub E. und Hubert Moehlmann: Ztr.bl. f. Bakt., Parasitenk. u. Inf.kr. erste Abt. Originale, Heft 6, 1943. - [27] Waldmann O., Trautwein K. und Pyl G.: Ztr.bl. f. Bakt., Parasitenk. u. Inf.kr., Bd. 121, 1931. - [28] Wundram-Schönberg: Tierärztliche Lebensmittelüberwachung, 1953.
-