

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

**Band:** 123 (1981)

**Artikel:** Epidemiologie der Haemophilus somnus-Infektion beim Rind : Vergleich von Stämmen in der Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)

**Autor:** Corboz, L. / Wild, P.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-589848>

### **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:** 07.10.2024

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

Schweiz. Arch. Tierheilk. 123, 79–88, 1981

Aus dem Institut für Veterinärhygiene (Prof. Dr. E. Hess) und  
dem Veterinär-Anatomischen Institut (Prof. Dr. J. Frewein) der Universität Zürich

## **Epidemiologie der *Haemophilus somnus*-Infektion beim Rind: Vergleich von Stämmen in der Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)<sup>1</sup>**

von L. Corboz<sup>2</sup> und P. Wild

### **Einleitung**

*Haemophilus somnus* wurde zum ersten Mal im Jahre 1960 durch Kennedy et al. [16] in Kalifornien aus dem Gehirn eines am sogenannten *Sleeper syndrome* erkrankten Rindes isoliert. Seither wurde die aetiologische Rolle dieses Erregers sowohl in den USA als auch in Kanada und Europa bei einem breiten Krankheitsspektrum nachgewiesen, das neben der infektiösen septikämisch-thromboembolischen Meningoencephalitis (ISTEME) auch Infektionen des Atmungs-, Geschlechts- und Bewegungsapparates sowie Aborte einschliesst. Obwohl die eine oder andere Form dieser Krankheit [11, 24] nur in der Schweiz [4], in der Bundesrepublik Deutschland [28] und in Schottland [26] beschrieben wurde, dürften *H. somnus*-Infektionen auch in anderen europäischen Ländern wie Belgien, Frankreich, Italien und der DDR beobachtet worden sein (persönliche Mitteilungen). Obzwar Symptome und Organveränderungen je nach Krankheitsform sehr verschieden sind, konnten in vergleichenden Untersuchungen bisher keine grossen Unterschiede innerhalb der isolierten *H. somnus*-Stämme festgestellt werden [1, 4, 11, 13, 21]. Allerdings wurde die Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE), die seit einigen Jahren vermehrt zur Feindifferenzierung von Bakterien und Viren und als taxonomisches Hilfsmittel eingesetzt wird [2, 15, 17, 20, 22, 23, 27], für *H. somnus* noch nicht angewendet. Das Ziel dieser Arbeit liegt darin,

1. die Verbreitung der *H. somnus*-Infektion zu ermitteln,
2. *H. somnus*-Isolate aus verschiedenen Organen und Ausscheidungen morphologisch, kulturell, biochemisch und elektrophoretisch mit PAGE zu vergleichen und
3. die Epidemiologie der *H. somnus*-Infektion zu erörtern.

### **Material und Methode**

1. Das Untersuchungsmaterial erfasste eine erste Gruppe von 1482 Proben aus Organläsionen und aus pathologisch veränderten Ausscheidungen (vgl. Tabelle 1). Es handelte sich um Proben von Kälbern, die im Alter von einer Woche bis zu 12 Wochen infolge Meningo-Encephalitis, Bronchopneumonie oder chronischer Polyarthritiden verendet waren oder notgeschlachtet wurden. Ferner

<sup>1</sup> Mit finanzieller Unterstützung durch das Bundesamt für Veterinärwesen (Projekt 012.75.4)

<sup>2</sup> Adresse: Dr. L. Corboz, Winterthurerstrasse 270, CH-8057 Zürich

wurden Proben von Kühen mit chronischer Endometritis und von Stieren mit eiterhaltigem Ejakulat sowie Proben aus Abortmaterial entnommen. Eine zweite Gruppe von 233 Proben setzte sich aus unverändertem Ejakulat von Stieren sowie aus Nasen- und Vaginalschleim von klinisch gesunden Kälbern bzw. Kühen zusammen.

2. *Als Referenzstamm* von *H. somnus* wurde, wie in früheren Arbeiten [4, 5], der Stamm 8025, ein Hirnisolat aus den USA, verwendet.

3. *Nährmedien und Kulturverfahren* wurden schon früher beschrieben [4]. Auf die Koloniedissoziation wurde besonders geachtet [6].

4. *Die biochemische Untersuchungsmethodik* [4] wurde etwas modifiziert: für die Spaltung von Kohlehydraten und Alkoholen wurde als Grundmedium Phenol Red Broth Base (DIFCO) verwendet. Die beimpften Medien wurden eine Woche lang in 10%iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre bei 37 °C inkubiert und eine weitere Woche in normaler Atmosphäre bei 37 °C aufbewahrt, da in CO<sub>2</sub>-Atmosphäre eine spontane Ansäuerung des Grundmediums auftrat. Diese Reaktion war aber reversibel. Damit konnten falsch positive bzw. zweifelhafte Resultate beseitigt werden. Für die Indolproduktion wurden die Stämme in PPLO-Broth (DIFCO) mit Zusatz von 10% Schweineserum, 5% eines 25%igen Trockenhefenextraktes, pH 8.0 (Fleischmann's dry Yeast) und 0,2% DL-Tryptophan (Merck) angezüchtet und 24 bis 48 Stunden inkubiert. Der Indolnachweis erfolgte mit dem Indolreagens nach Ehrlich-Böhme.

5. *Für elektronenmikroskopische Untersuchungen* wurde eine 24 Stunden alte Kultur auf angereicherterem PPLO-Agar ohne Blutzusatz [4] mit Phosphat-Puffer (PBS), pH 7.4, abgeschwemmt und während 20 Minuten bei 11000 g/4 °C zentrifugiert. Der Bodensatz wurde in 2,5% Glutaraldehyd in 0,1 M Na-Cacodylat-Puffer, pH 7.4, resuspendiert und in Mikroröhrchen bei 500 g während 20 Minuten zentrifugiert. Das entstandene Pellet wurde für weitere 30 Minuten mit 2,5% Glutaraldehyd fixiert, anschliessend in 0,1 M s-Collidin-Puffer, pH 7.4, gewaschen und mit 1% Osmiumsäure in 0,1 M s-Collidin-Puffer, pH 7.4, nachfixiert, in aufsteigender Alkoholreihe dehydriert und in Epon 812 (Fluka) eingebettet. Nach der Polymerisation während 3 Tagen bei 60 °C wurden Ultradünnschnitte hergestellt (LKB Ultratom III), welche mit Magnesiumuranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und in einem Philips EM 201 untersucht wurden.

#### 6. Natrium-Dodecylsulfat (SDS)-Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)

a) *Gel-Vorbereitung*: Die PAGE wurde nach der Methode von *Laemmli* [17] in Flachgels (130 × 115 × 1,5 mm) durchgeführt. Dabei wurden 3%iges Startgel und 12,5%iges Separationsgel (Bio-Rad) mit Zusatz von 0,1% SDS und 30% Urea (Bio Rad) verwendet, was eine bedeutend schärfere Trennung der Proteinbänder ermöglichte. Die Gels wurden jedesmal frisch vorbereitet, wobei die verschiedenen Acrylamidgemische zwischen zwei Glasplatten gegossen und bei Zimmertemperatur polymerisiert wurden.

b) *Das Aufschlussreagens* bestand aus folgendem Gemisch: 30 ml einer wässrigen 6,1%igen Tris-Pufferlösung (Sigma) mit Zusatz von 0,4% SDS – pH auf 6.8 mit konz. HCl eingestellt – ; 1,5 ml einer 0,1%igen Lösung von Bromphenolblau in Aethanol; 15 ml Glycerin; 3,0 g SDS; H<sub>2</sub>O ad 100 ml. Unmittelbar vor dem Gebrauch wurde beta-Mercaptoäthanol (Serva) in einer Endkonzentration von 1% zugegeben.

c) *Zur Antigen-Vorbereitung* wurden einzeln oder gemischt die glatten (S) und intermediären (I) Kolonieformen der betreffenden Stämme ausgewählt, um Unterschiede in Proteinfractionen, die auf die Kolonie-Dissoziation zurückzuführen wären [6], auf ein Minimum zu reduzieren. Als Antigen wurde ein wässriger Kochextrakt verwendet: eine 18 Stunden- Kulturabschwemmung wurde während 15 Minuten im Wasserbad auf 100 °C erhitzt und anschliessend zentrifugiert [6]. Der Überstand, der nach der Bestimmungsmethode von *Lowry* [18] ca. 1 mg Protein/ml enthielt, stellte das Antigen dar. Es wurde im Verhältnis von 1:1 mit Aufschlussreagens gemischt und während 3 Minuten im Wasserbad auf 100 °C erhitzt. Das aufgeschlossene Antigen wurde in 500 µl-Mengen (25 bis 30 µg-Protein) in die vorgebildeten Kerben des Startgels aufgetragen.

d) *Die Elektrophorese* wurde mit einem Apparat von Biowerk (Biozentrum Basel) bei Zimmertemperatur unter einer konstanten Stromstärke von 30 mA während ca. 2½ Stunden oder von 4 mA über Nacht – bis sich das Bromphenolblauband 1 cm vor dem unteren Gelrand befand – durchge-

führt. Danach wurde das Gel kurz in destilliertem Wasser gewaschen und mit 0,25% Coomassie Brilliant Blue R (Merck) in einer 45%igen Methanol/9%igen Eisessig-Lösung während 40 Minuten bei 55 °C in einem Schüttelwasserbad gefärbt. Das Entfärben erfolgte in der gleichen Methanol/Eisessig-Lösung über Nacht bei Zimmertemperatur unter leichtem Schütteln. Danach wurde das Gel fotografiert und auf einem Gelrockner (Savant) zwischen 2 Cellophan-Folien (Celloclan Haushalt-Rolle) unter Vakuum (Wasserstrahlpumpe) bei 60 °C während mindestens 5 Stunden getrocknet und aufbewahrt. Anstatt das Gel zu trocknen, wurde es z. T. auch parallel zu der Laufrichtung in Streifen geschnitten, so dass die Extinktion der aufgetrennten Fraktionen in jedem Streifen bei 578 nm photometrisch (Beckmann Spectrophotometer ACTA CIII) gemessen und das Proteinbandmuster jedes Stammes als Densitogramm dargestellt werden konnte. Das Molekulargewicht (MG) der verschiedenen Proteinfractionen wurde durch den Vergleich mit Referenzmarkern bekannter Molekulargewichte (BDH-Chemicals) geschätzt.

### Resultate und Diskussion

Die Häufigkeit des Nachweises von *H. somnus* aus verschiedenem Untersuchungsmaterial ist in *Tabelle 1* dargestellt. Der grösste Prozentsatz der Isolate aus veränderten Organen und Ausscheidungen stammte aus Fällen von Pneumonie, Endometritis und eiterhaltigem Ejakulat. Die Isolierung aus Abortmaterial und aus Fällen von Arthritis und Meningo-Encephalitis gelang nur sporadisch oder gar nicht. Diese geringe Zahl der Isolierungen könnte durch antibiotische Behandlung und, insbesondere bei Arthritis, durch die Chronizität des Leidens bedingt sein. Jedoch weist das seltene Vorkommen von entsprechenden Läsionen darauf hin, dass diese drei letzten Verlaufsformen in der Schweiz – im Gegensatz zu anderen Ländern [10, 11, 24, 28] – selten sind. Bei klinisch gesunden Tieren war die Häufigkeit der Anzüchtungen aus Nasenschleimproben von Mastkälbern und aus Vaginalschleimproben von Kühen, im Gegensatz zu jener aus unverändertem Ejakulat, verhältnismässig gering. Aus diesen unterschiedlichen Befunden ist ersichtlich, dass *H. somnus* als Erreger von Pneumonien und von Endometritis von

Tabelle 1: Häufigkeit des Nachweises von *H. somnus* aus verschiedenem Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial	Anzahl Proben	<i>H. somnus</i>	
		Anzahl Isolate	%
a) Hirn	151	0*	0
Lunge	349	35	10,1
Gelenk	255	3	0,8
Uterus	566	36	6,4
Foetus/Placenta	130	2	1,5
Ejakulat	31	11	35,5
Total	1482	87	
b) Nasenschleim	77	2	2,5
Vaginalschleim	36	1	2,7
Ejakulat	120	34	28,5
Total	233	37	

a) = Organe bzw. Ausscheidungen mit pathologischen Veränderungen

b) = Ausscheidungen von klinisch gesunden Tieren

\* = 2 Fälle von ISTEME path.-anat. nachgewiesen, jedoch ohne Erregerisolierung

grosser Bedeutung ist. Hingegen ist die aetiologische Rolle von *H. somnus* im männlichen Geschlechtsapparat unklar, da Isolierungen etwa gleich häufig aus eiterhaltigem wie aus unverändertem Ejakulat gelangen. Es muss angenommen werden, dass *H. somnus* häufig im Präputium parasitieren kann, ohne dabei erfassbare Störungen oder Änderungen der Spermaqualität zu verursachen. Da die Isolierung von *H. somnus* aus Hoden bzw. akzessorischen Geschlechtsdrüsen bis jetzt nicht bekannt ist, scheint eine Infektion dieser Organe höchst selten zu sein. Die niedrige Isolierungsrate aus dem oberen Respirationstrakt von klinisch gesunden Mastkälbern entspricht den Befunden von anderen Autoren [7]. Hingegen weisen unsere wie andere [19] Befunde darauf hin, dass *H. somnus* aus Vaginalschleim gesunder Kühe in der Schweiz seltener als in anderen Ländern – bis über 6,5% [29] – isoliert wird. Dies könnte in Zusammenhang mit Unterschieden der Bestandesgrössen stehen.

Verschiedene Kriterien wurden angewendet um abzuklären, ob Isolate von Ausscheidungen klinisch gesunder Tiere von Stämmen aus pathologisch veränderten Organen und Ausscheidungen differenziert werden können. Kulturell waren die Stämme beider Gruppen nicht zu unterscheiden und ihre Eigenschaften entsprachen denjenigen früherer Beschreibungen [4, 6]. Bei Erstisolaten wurden in beiden Gruppen Kolonien von verschiedenen Dissoziationsformen nachgewiesen, wobei glatte (S)

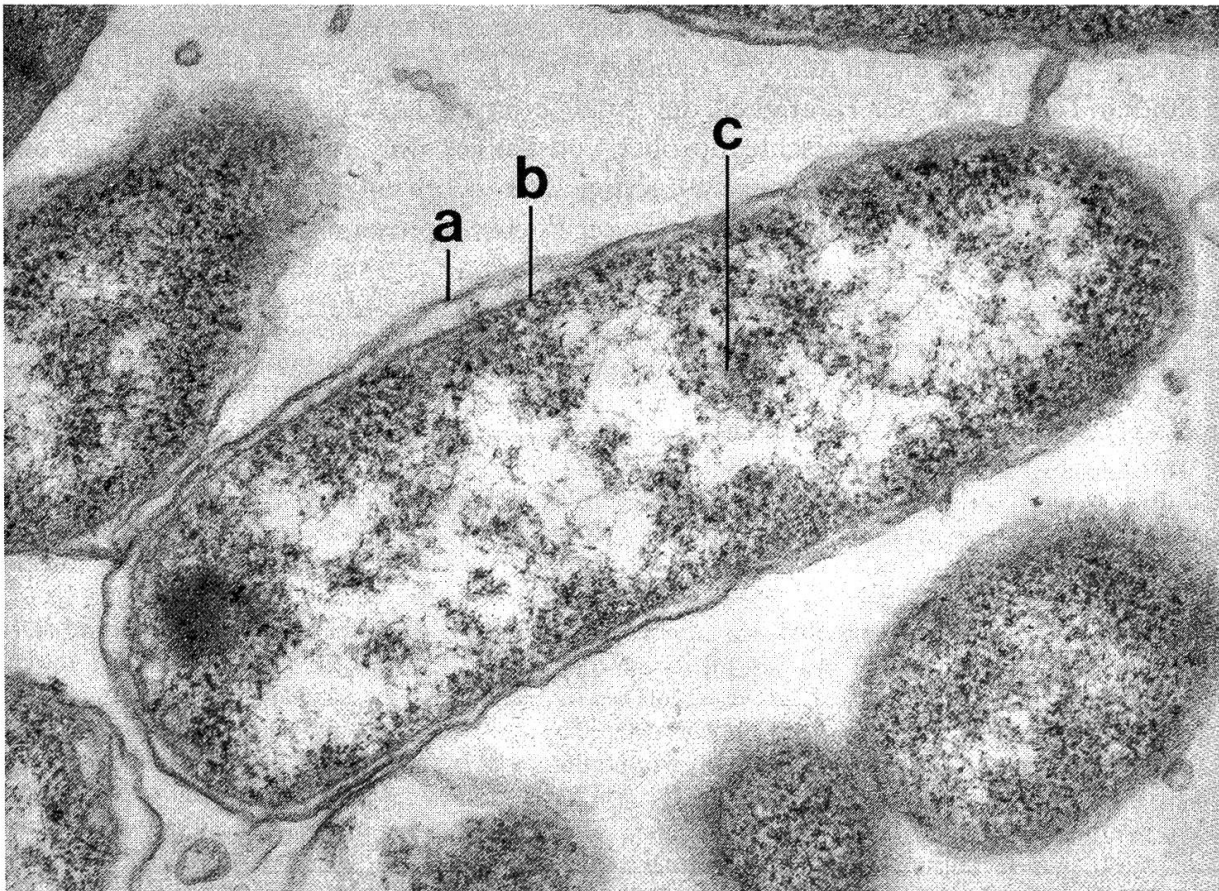


Abb. 1 EM-Aufnahme einer 24-Stunden-Kultur von *H. somnus* 8025. a = Zellwand; b = Zytoplasma-Membran; c = Zytoplasma. Vergrösserung:  $\times 56000$

und intermediäre (I) öfters als mukoide (M) Varianten beobachtet wurden. Rauhe Formen (R) waren verhältnismässig seltener und konnten bei Isolaten aus unveränderten Ausscheidungen nicht vermehrt festgestellt werden. Morphologisch liessen sich alle Isolate als mehr oder weniger pleomorphe, gramnegative Stäbchen erkennen [4], deren Ultrastruktur derjenigen von gramnegativen Bakterien entsprach [1], wie in *Abbildung 1* ersichtlich ist.

Die Resultate der biochemischen Untersuchungen sind in der *Tabelle 2* dargestellt. Kein wesentlicher Unterschied konnte zwischen beiden Gruppen von Isolaten nachgewiesen werden. Bei den variablen Reaktionen vermochte ein höherer Prozentsatz von Stämmen aus pathologisch veränderten Organen und Ausscheidungen Galactose, Trehalose und Sorbit zu spalten. In Abweichung zu eigenen früheren, negativen Ergebnissen bei der Indolproduktion [4] konnte bei ca.  $\frac{2}{3}$  der Stämme eine positive Indolreaktion festgestellt werden, was auf die bessere Untersuchungsmethode zurückzuführen ist. Die biochemischen Resultate entsprechen denjenigen anderer Autoren [1, 10, 13, 16], mit Ausnahme der Indolreaktion, die öfters als positiv sowie der Spaltung von Dulcitol und von Inositol, die allgemein als negativ beschrieben werden. Die Tatsache, dass in 10%iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre eine Ansäuerung des Mediums erfolgt, ist sicher eine der Hauptursachen von Fehlinterpretationen zweideutiger Reaktionen. Dies konnte aber durch eine nachträgliche Inkubation in normaler Atmosphäre fast vollständig beseitigt werden, da es sich um einen reversiblen Vorgang handelt.

Die Ergebnisse der Elektrophorese (SDS-PAGE) sind am Beispiel von 9 Stämmen in *Abbildung 2* dargestellt. Eine Proteinfraction, die für Stämme aus einem bestimmten Organ oder für Isolate aus pathologisch veränderten bzw. unveränderten

Tabelle 2: Biochemische Differenzierung von 125 *H. somnus*-Isolaten aus verschiedenem Untersuchungsmaterial

Test	Isolate aus		Test	Isolate aus	
	a	b		a	b
Oxidase	+	+	Galactose	v (87,5)	v (51,4)
Nitrat	+	+	Trehalose	v (77,2)	v (35,1)
Indol	v (69,3)	v (51,4)	Arabinose	v (13,6)	v (5,4)
Katalase	v (11,4)	v (10,8)	Saccharose	—	—
Urea	—	—	Lactose	—	—
H <sub>2</sub> S	—	—	Raffinose	—	—
Beweglichkeit	—	—	Rhamnose	—	—
VP-MR	—	—	Aesculin	—	—
X und V	—	—	Mannit	+	+
Glukose	+	+	Sorbit	v (95,5)	v (45,9)
Maltose	+	+	Dulcitol	v (44,3)	v (45,9)
Mannose	+	+	Inositol	v (87,5)	+
Xylose	v (93,2)	+	Salizin	—	—

a = 88 Isolate aus pathologisch veränderten Organen und Ausscheidungen

b = 37 Isolate aus Ausscheidungen klinisch gesunder Tiere

+ = positive Reaktion

— = negative Reaktion

v = variable Resultate

( ) = % positive Stämme

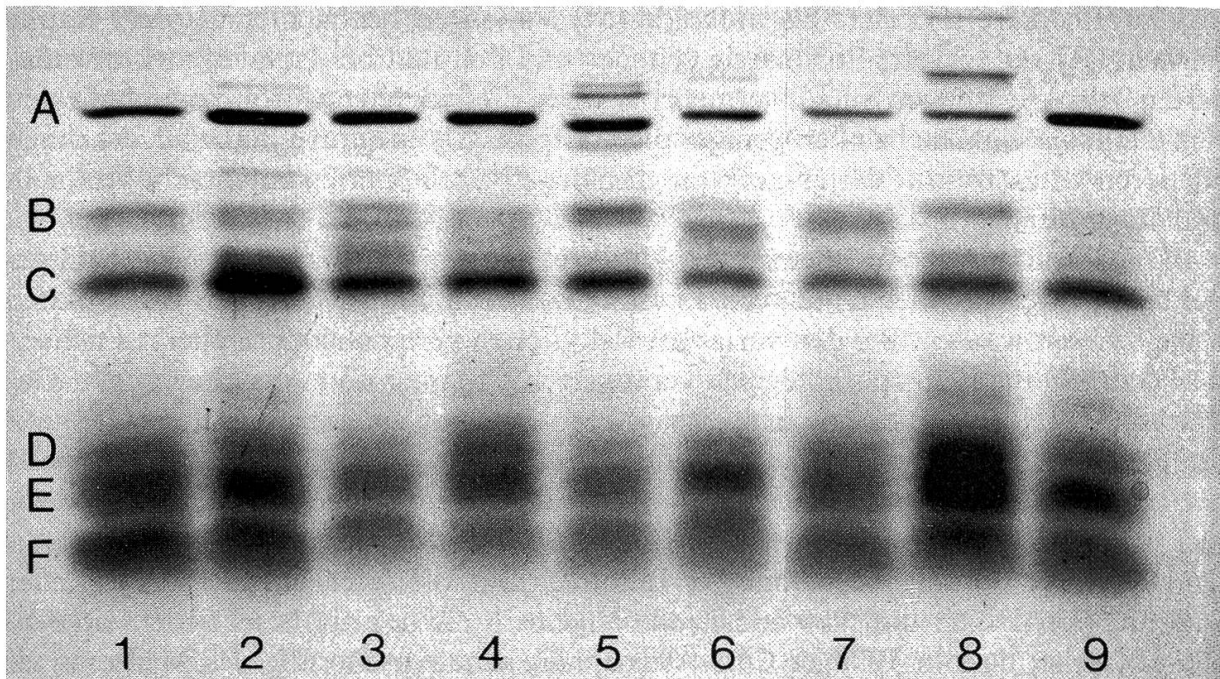


Abb. 2 SDS-PAGE von *H. somnus*-Isolaten (wässriger Kochextrakt) aus pathologisch veränderten Organen und Ausscheidungen (1 = Ejakulat 719; 2 = Hirn 8025; 3 = Lunge 606; 4 = Gelenk 679; 5 = Uterus 43; 6 = Foetus 540) bzw. aus Ausscheidungen klinisch gesunder Tiere (7 = Ejakulat 450; 8 = Nasenschleim 516; 9 = Vaginalschleim 375), nach Färbung des Gels mit Coomassie Brilliant Blue. Die Proteinfractionen A bis F entsprechen folgenden Molekulargewichten (Daltons): A = 53700, B = 36200, C = 25600, D = 16000, E = 14800, F = 11700

Organen und Ausscheidungen spezifisch gewesen wäre, wurde nicht nachgewiesen. Dies konnte objektiv durch den Vergleich der verschiedenen Densitogramme festgestellt werden. In *Abbildung 3* wird als Beispiel das Densitogramm von Stamm 606 gezeigt. Das MG der Fraktion A (ca. 53700 Daltons) wies je nach Stamm geringe Unterschiede auf, jedoch ohne Zusammenhang mit einem bestimmten Organ. Ausserdem wurde in früheren Arbeiten gezeigt [6], dass die Fraktion A, im Gegensatz zu den Fraktionen B bis F, nicht antigenetisch war. Während Fraktion B (MG von ca. 36200 Daltons) auch bei anderen Bakterienspezies nachgewiesen wurde, scheint Fraktion C (MG von ca. 25600 Daltons) spezifisch für *H. somnus* zu sein (eigene noch nicht veröffentlichte Resultate). Wie bereits beschrieben, können die MG der drei letzten Fraktionen D bis F je nach Dissoziationsform variieren [6]. Es ist deshalb wichtig, in vergleichenden Untersuchungen S- oder I-Kolonievarianten auszuwählen, die ein ähnliches Bandmuster mit MG von 16000 (D), 14800 (E) bzw. 11700 (F) Daltons aufweisen. Diese Untersuchungen haben die Tauglichkeit der PAGE als zusätzliches Kriterium beim Vergleich von *H. somnus*-Stämmen erwiesen, wobei jedoch Beziehungen zwischen Bandmuster und biologischen Eigenschaften nicht zu ermitteln waren, wie schon für andere Bakterienspezies festgestellt wurde [22].

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass *H. somnus*-Isolate aus Organläsionen und pathologisch veränderten Ausscheidungen, von Stämmen aus Ausscheidungen

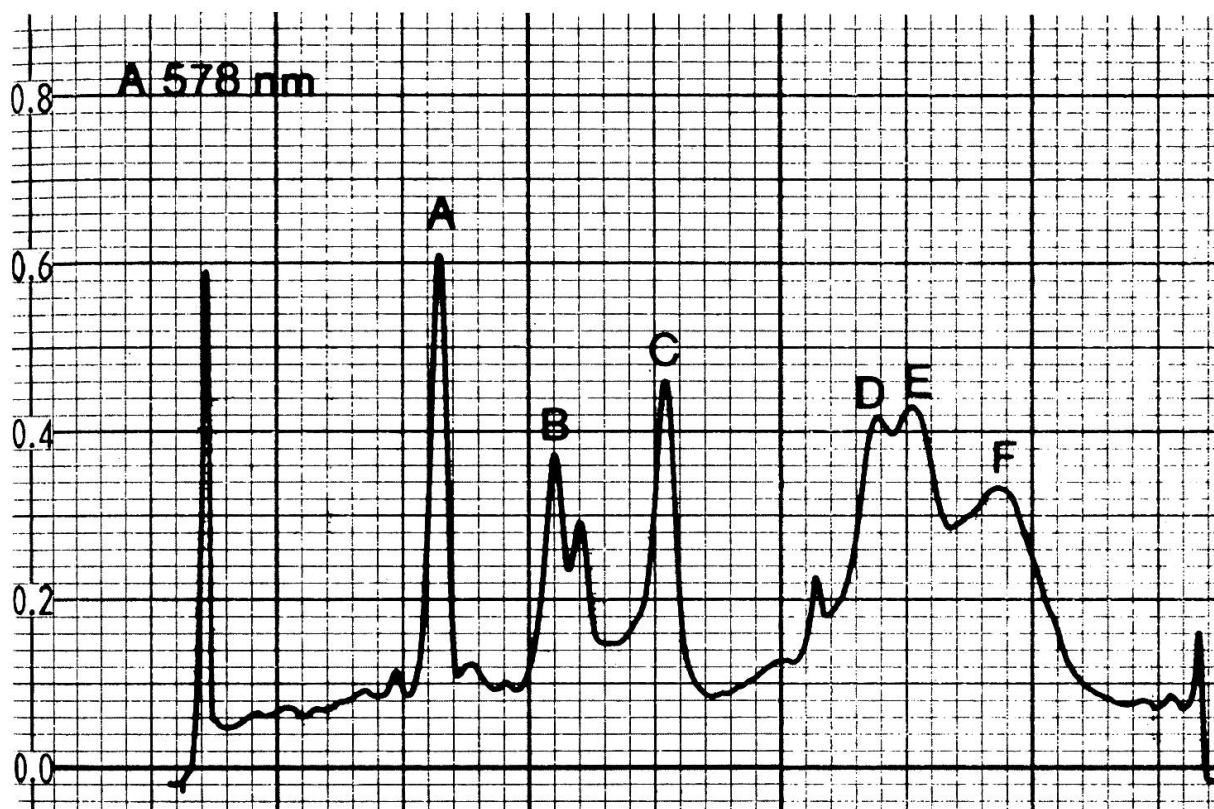


Abb. 3 Densitogramm nach SDS-PAGE von *H. somnus* 606 (wässriger Kochextrakt), isoliert aus Lungenläsion eines Kalbes. Die Extinktionsmaxima A bis F entsprechen den in Abb. 2 aufgenommenen Proteinfractionen.

klinisch gesunder Tiere weder morphologisch noch kulturell, biochemisch oder elektrophoretisch zu differenzieren sind. Zudem wurde in eigenen noch nicht publizierten Untersuchungen festgestellt, dass keine wesentlichen serologischen Unterschiede zwischen diesen Stämmen bestanden. All dies spricht gegen unsere frühere Hypothese, wonach Isolate aus unveränderten Ausscheidungen saprophytäre Stämme seien, die sich von pathogenen Stämmen unterscheiden liessen. Somit sind Isolate aus jeglichem Organ als pathogen zu betrachten, obwohl die Virulenz von Stamm zu Stamm – wie bereits beschrieben [5] – variieren kann. Demzufolge ist in Zuchtbeständen der Stier als eines der bedeutendsten Reservoirs von *H. somnus* zu betrachten, wobei der Erreger durch den Deckakt übertragen werden kann [11, 29]. Bei künstlicher Besamung wird allerdings diese Übertragungsgefahr durch die dem Ejakulat beigemischten Antibiotika beseitigt. Bei Kühen kann die Infektion ascendierend durch die Zervix oder hämatogen über die Plazenta erfolgen [11], wobei es zu einer intrauterinen Infektion der Foeten kommt [29], die zum Abort [3, 11] oder zur Geburt lebensschwacher Kälber und meist zur chronischen Endometritis führen kann [12, 29]. Da in eigenen Untersuchungen festgestellt wurde, dass Kühe mit chronischer Endometritis den Erreger z. T. über Wochen ausscheiden, ist ausserdem die Gefahr einer iatrogenen Infektionsübertragung innerhalb des Bestandes nicht zu unterschätzen, wenn



der behandelnde Tierarzt mehrere Tiere vaginal untersucht, ohne zwischen zwei Patienten seine Instrumente und Hände zu desinfizieren. In Mastbeständen sollen klinisch gesunde Kälber, die sich vermutlich schon im Herkunftsbestand infiziert haben [9], das Hauptreservoir von *H. somnus* darstellen und den Erreger über Monate [8, 9] mit dem Nasenschleim ausscheiden können. Die Ausscheidungsdauer wird durch antibiotische Behandlung nicht beeinflusst [7, 9] und durch Vakzination [14, 30] nur leicht reduziert. Kontakttiere werden in wenigen Tagen infiziert [8], besonders wenn sie zusätzlich an einer Virusinfektion – wie z. B. IBR – erkrankt sind [9], da diese zu einer Herabsetzung der bakteriziden Wirkung des Blutserums führt [25]. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass der jetzige Ausbruch von IBR in der Schweiz zu einer Verbreitung von *H. somnus*-Infektionen sowohl in Zucht- als auch in Mastbeständen führen wird.

### Zusammenfassung

Die Verbreitung von *H. somnus* beim Rind wurde durch den Erregernachweis ermittelt. Dabei liessen sich die Isolate zwei Gruppen zuordnen. Eine erste Gruppe von 87 Isolaten stammte aus Lungen und Gelenken von notgeschlachteten oder verendeten Kälbern mit Bronchopneumonie und chronischer Arthritis, ferner aus Uterusinhalt von Kühen mit chronischer Endometritis, aus Abortmaterial sowie aus eiterhaltigem Ejakulat von Stieren. Eine zweite Gruppe von 37 Stämmen wurde aus Nasen- und Vaginalschleim von klinisch gesunden Kälbern bzw. Kühen sowie aus unverändertem Ejakulat von Stieren isoliert. Die Rolle von *H. somnus* in der Aetiologie von Pneumonie bei Kälbern und von Endometritis bei Kühen wurde durch die Häufigkeit des Erregernachweises in beiden Gruppen belegt. Hingegen war die Bedeutung von Isolaten aus dem männlichen Geschlechtsapparat weniger klar, da Isolierungen etwa gleich häufig aus eiterhaltigem wie aus unverändertem Ejakulat gelangen. Es scheint, dass ein grosser Teil der Stämme die Praeputialschleimhaut besiedeln kann, ohne dabei erfassbare Störungen zu verursachen. Unter Beachtung der Koloniedissoziation in den Kulturen konnten die isolierten Stämme beider Gruppen weder morphologisch noch kulturell, biochemisch oder elektrophoretisch (PAGE) differenziert werden. Demzufolge sind Isolate aus beliebigen Organen als pathogen zu betrachten, wobei der Stier eines der Hauptreservoirs von *H. somnus* darstellt. Die Epidemiologie dieser Infektion wird erörtert.

### Résumé

L'importance de *H. somnus* chez le bovin a été établie par détermination culturelle de l'agent. Les souches obtenues ont été réparties en deux groupes, dont le premier en comptait 87, isolées soit de poumon et d'articulation de veaux périssés ou abattus d'urgence pour cause de bronchopneumonie ou d'arthrite chronique, soit de contenu utérin de vaches atteintes d'endométrite chronique, soit encore d'avortons ou d'arrière-faix ainsi que d'éjakulat purulent de taureaux. Un second groupe de 37 souches a été isolé de mucus nasal et vaginal de veaux et respectivement de vaches cliniquement saines, ainsi que d'éjakulat normal de taureaux. La comparaison de la fréquence des isolations dans les deux groupes permet d'établir l'importance de *H. somnus* comme agent de pneumonie du veau et d'endométrite de la vache. En revanche, le rôle étiologique des souches provenant de l'appareil génital mâle est moins évident, vu qu'à peu près le même pourcentage de souches fut isolé d'éjakulat normal et d'éjakulat purulent. Il semble qu'une grande partie des souches soient en mesure de coloniser la muqueuse du prépuce, sans pour autant provoquer de symptômes décelables. En tenant compte de la dissociation des colonies dans les cultures examinées, la comparaison des propriétés morphologiques, culturelles, biochimiques et électrophorétiques (PAGE) des souches ne permit pas de faire une distinction entre les deux groupes. C'est pourquoi, quelle qu'en soit la provenance, chaque souche doit être considérée comme pathogène, le taureau représentant ainsi l'un des principaux réservoirs de *H. somnus*. L'épidémiologie de cette infection est discutée.

### Riassunto

La diffusione di *H. somnus* nel bovino è stata definita per mezzo della dimostrazione del germe. I germi isolati potevano essere suddivisi in due gruppi. Un primo gruppo di 87 isolati proveniva da polmoni ed articolazioni di vitelli macellati d'urgenza o morti spontaneamente in seguito a broncopolmonite e ad artrite cronica, quindi dal contenuto uterino di vacche con endometrite cronica, da feti abortiti o da eiaculato purulento di tori. Un secondo gruppo di 37 ceppi è stato isolato dal muco nasale e vaginale di vitelli e vacche clinicamente sane e da eiaculato di tori. Il ruolo eziologico di *H. somnus* nella polmonite dei vitelli e nella endometrite delle vacche è stato documentato attraverso la frequenza dell'agente patogeno in entrambi i gruppi. Per contro il significato dell'isolamento dall'apparato genitale maschile è meno chiaro, perchè il germe è stato isolato con la stessa frequenza da eiaculato purulento e da eiaculato normale. Sembra che una grande parte di ceppi possa colonizzare sulla mucosa prepuziale, senza peraltro causarvi apprezzabili alterazioni. Prendendo in considerazione la dissociazione delle colonie nelle culture, i ceppi isolati non potevano essere differenziati nè da un punto di vista culturale nè morfologico nè biochimico nè elettroforetico. Perciò sono da considerarsi patogeni gli isolati da qualsivoglia organo, mentre il toro rappresenta una riserva particolarmente importante di *Haemophilus somnus*. Si discute la epidemiologia di questa infezione.

### Summary

The distribution of *H. somnus* in cattle was investigated by cultural isolation. Two groups of strains were recorded. A first group of 87 strains was isolated from lung and from joint of sick calves with bronchopneumonia and chronic arthritis, as well as from uterus content of cows with chronic endometritis, from aborted fetus and placenta, and from purulent ejaculate of bulls. A second group of 37 strains was isolated from nasal and vaginal mucus of clinically healthy calves and cows respectively, as well as from normal ejaculate of bulls. The great importance of *H. somnus* as an etiological agent of pneumonia in calves and of endometritis in cows was determined by comparing the frequency of the isolations. However, the etiological role of isolates from male genital tract is less evident, as almost the same percentage of strains was isolated from normal and from purulent ejaculate. It seems that a majority of strains are able to colonize the mucosa of the prepuce without producing any noticeable symptoms. Taking account of the colonial dissociation in the examined cultures, no difference could be revealed between strains of both groups using morphological, cultural, biochemical and electrophoretical (PAGE) criteria. For this reason, isolates from any organs have to be considered as pathogenic, whereby the bull represents one of the principal reservoirs of *H. somnus*. The epidemiology of this infection is discussed.

### Verdankungen

Wir danken: Dr. H. Lutz und R. Billeter für ihre wertvollen Kommentare bei der Durchführung und Interpretation der PAGE, Prof. Dr. E. Jenny für die Überlassung des Spectrofotometers und K. Zlinszky für ihre sorgfältige technische Arbeit.

### Literaturverzeichnis

[1] Baillie W. E.: Characterization of *Haemophilus somnus* (new species), a microorganism isolated from infectious thromboembolic meningo-encephalomyelitis of cattle; Ph. D. Dissertation, Kansas State University, Manhattan, Kansas (1969). – [2] Balke E., Weber A., Fronk B.: Differenzierung von Brucellen mit Hilfe der Acrylamidgel-Elektrophorese; Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. A 238, 80–85 (1977). – [3] Chladek D. W.: Bovine abortion associated with *Haemophilus somnus*; Am. J. Vet. Res. 36, 1041 (1975). – [4] Corboz L., Nicolet J.: Infektionen mit sogenanntem 'Haemophilus somnus' beim Rind: Isolierung und Charakterisierung von Stämmen aus Respirations- und Geschlechtsorganen; Schweiz. Arch. Tierheilk. 117, 493–502 (1975). – [5] Corboz L., Pohlenz J.: Experimentelle Infektionen mit sogenanntem *Haemophilus somnus* beim Kalb: Vergleich von Stämmen mit unterschiedlicher Virulenz; Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 429–440 (1976). – [6] Corboz L.: Epi-

demology of 'Haemophilus somnus' infection: colonial variants of strains isolated from various sources; Proceedings of Int. Symposium on HPA, Copenhagen, August 20–22, 1980 Academic Press, im Druck. – [7] *Corstvet R. E., Panciera R. J., Riniker H. B., Starks B. L., Howard Ch.*: Survey of tracheas of feedlot cattle for *Haemophilus somnus* and other selected bacteria; *J.A.V.M.A.* 163, 870–873 (1973). – [8] *Corstvet R. E., Panciera R. J., Vonderfecht S.*: *Haemophilus somnus* infection in cattle; Proceedings of the Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago, IL 60605, Nov. 29–30, p. 3 (1976). – [9] *Crandell R. A., Smith A. R., Kissil M.*: Colonization and transmission of *Haemophilus somnus* in cattle; *Am. J. Vet. Res.* 38, 1749–1751 (1977). – [10] *Van Dreumel A. A., Curtis R. A., Ruhnke H. L.*: Infectious thromboembolic meningoencephalitis in Ontario feedlot cattle; *Can. Vet. J.* 11, 125–130 (1970). – [11] *Van Dreumel A. A., Kierstead M.*: Abortion associated with *Haemophilus* infection in bovine fetus; *Can. Vet. J.* 16, 367–370 (1975). – [12] *Fischer W.*: Vergleichende Untersuchungen bei Rindern mit und ohne Endometritis unter besonderer Berücksichtigung von Schleimhautabstrichen; Inaugural-Dissertation, Zürich (1977). – [13] *Garcia-Delgado G. A., Little P. B., Barnum D. A.*: A comparison of various *Haemophilus somnus* strains; *Can. J. Comp. Med.* 41, 380–388 (1977). – [14] *Hall R. F., Williams J. M.*: Field evaluation of *Haemophilus somnus* bacterin; *VM/SAC* 72, 1368–1370 (1977). – [15] *Harry E. G., Brown J. R.*: Cell protein electrophoresis as a taxonomic aid, with special reference to *Pasteurella*; Proceedings of Int. Symposium on HPA, Copenhagen, August 20–22, 1980, Academic Press, im Druck. – [16] *Kennedy P. C., Biberstein E. L., Howart J. A., Fraizier L. M., Dungworth D. L.*: Infectious meningoencephalitis in cattle, caused by a *Haemophilus*-like organism; *Am. J. Vet. Res.* 21, 403–409 (1960). – [17] *Laemmli U. K.*: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>; *Nature* 227, 680–685 (1970). – [18] *Lowry O. H., Rosebrough M. J., Farr A. L., Randall R. J.*: Protein measurement with the folin phenol reagent; *J. Biol. Chem.* 193, 265–272 (1951). – [19] *Luginbühl A.*: Bakteriologische Befunde im Geschlechtsapparat von Kühen im Puerperium: Beziehung zu Geburt, Verlauf des Puerperiums und Fruchtbarkeit. Inaugural-Dissertation, Bern (1979). – [20] *Maizel J. V.*: *Methods in Virology*, Vol. 5, eds. K. Maramosch and H. Koprowski, Academic Press, London, 179–246 (1971). – [21] *Miller R. J., Renshaw H. W., Evans J. A.*: *Haemophilus somnus* complex. Antigenicity and specificity of fractions of *Haemophilus somnus*; *Am. J. Vet. Res.* 36, 1123–1127 (1975). – [22] *Neumann U., Hinz K. H.*: Elektrophoretische Auftrennung von *Haemophilus*-Proteinen im Polyacrylamid-Gel; *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A* 238, 244–250 (1977). – [23] *Noble R. C., Schell S. C.*: Acrylamide-gel-electrophoresis of *Neisseria gonorrhoeae* as an epidemiological Tool; *Infect. and Immunity* 19, 178–186 (1978). – [24] *Panciera R. J., Dahlgren R. R., Rinker H. B.*: Observation on septicemia of cattle caused by a *Haemophilus*-like Organism; *Path. Vet.* 5, 212–226 (1968). – [25] *Pennel J. R., Renshaw H. W.*: *Haemophilus somnus* complex: in vitro interactions of *Haemophilus somnus*, leucocytes, complement and antiserum produced from vaccination of cattle with fractions of the organism; *Am. J. Vet. Res.* 38, 759–769 (1977). – [26] *Pritchard D. G., Macleod N. S. M.*: The isolation of *Haemophilus somnus* following sudden deaths in suckler calves in Scotland; *Vet. Rec.* 100, 126–127 (1977). – [27] *Razin S., Rottem S.*: Identification of *Mycoplasma* and other microorganisms by Polyacrylamide-gel-electrophoresis of cell proteins; *J. Bacteriol.* 94, 1807–1810 (1967). – [28] *Stöber M., Pittermann D.*: Infektiöse septikämisch-thrombosierende Meningoenzephalitis in einem Mastbullen-Bestand; *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 82, 97–102 (1975). – [29] *Waldhalm D. G., Hall R. F., Meinersagen W. A., Card C. S., Frank F. W.*: *Haemophilus somnus* infection in the cow as possible contributing factor to weak calf syndrome: isolation and animal inoculation studies; *Am. J. Vet. Res.* 35, 1401–1403 (1974). – [30] *Williams J. M., Smith G. L., Murdock F. M.*: Immunogenicity of a *Haemophilus somnus* bacterin in cattle; *Am. J. Vet. Res.* 39, 1756–1762 (1978).