

Impfmüdigkeit und Nachweishürden – Herausforderungen bei der Staupe

Nadine Hagendorf, Denny Böttcher, Peter Wohlsein, Irene C. Böttcher

Die Staupe des Hundes tritt nach wie vor auf, wie ein Staupeausbruch bei einem Wurf Mischlingswelpen in Leipzig zeigt. Aufgrund des hohen Ansteckungspotenzials ist eine schnelle Diagnose wichtig, sie stellt jedoch wegen der oft unspezifischen Symptomatik und der schwierigen Differenzierbarkeit von Impfvirus und Feldvirus eine Herausforderung dar. Die quantitative Polymerase-Kettenreaktion (PCR) kann dabei hilfreich sein.

Hintergründe

Vor der Einführung eines geeigneten Impfstoffs um 1960 war die Staupe eine sehr verlustreiche Viruserkrankung des Hundes. Sie galt danach lange Zeit als zurückgedrängt. Eine gewisse **Impfmüdigkeit** und der **Import** von Hunden aus dem osteuropäischen Ausland sind Gründe für ein Wiederaufflammen der Infektionen seit den 80er Jahren [10].

Aktuell regen die hohen Fallzahlen an Masernerkrankungen, deren Erreger wie das Staupevirus auch zur Gattung Morbillivirus gehört, und die zugehörige Diskussion um die Impfpflicht in den Medien zum Nachdenken an. Eine Population gilt vor Epidemien als geschützt, wenn über 70% der Tiere, in diesem Fall besonders der empfänglichen Jungtiere, immun sind [4]. An anderer Stelle wird sogar eine notwendige Durchimpfungsrate von 95% beschrieben [7]. Eine schützende Immunität nach Impfung mit einem modifizierten Staupe-Lebendimpfstoff (MLV) wurde für mindestens 3 Jahre beschrieben [8], Auffrischungsimpfungen sollten daher nach einer Grundimmunisierung alle 3 Jahre erfolgen.

Symptomatik

Betroffene Tiere zeigen oft eine **gastrointestinale oder respiratorische Symptomatik**, wofür viele Differenzialdiagnosen infrage kommen. Das erste Symptom einer Staupeinfektion ist häufig eine milde seröse bis mukopurulente **Konjunktivitis** [6]. Besonders bei Jungtieren muss in diesen Fällen an eine Staupeerkrankung gedacht werden. Einen Überblick über die Symptome gibt ▶ **Tab. 1**.

Eventuelle Symptome des ZNS können sehr variabel ausfallen, lediglich der **Myoklonus** wird häufig als typisch für eine Staupeinfektion angesehen. Selten kann ein Myoklonus durch eine Enzephalitis oder Myelitis anderer Ursache entstehen [11] sowie das Symptom einer Vergiftung oder einer Myelinisierungsstörung sein. Ein intermittierender Myoklonus kann auch im Rahmen eines fokalen Anfalls auftreten [3]. Die neurologischen Symptome einer Staupe treten in der Regel 1–3 Wochen nach systemischer Erkrankung auf, selten auch Wochen bis Monate später [6]. Bei den im Folgenden vorgestellten Welpen entwickelten sich die ZNS-Symptome 5–7 Wochen nach den ersten gastrointestinalen Krankheitszeichen.

.konkret

Die klinischen Symptome der Staupe sind oft unspezifisch, sodass sich anhand der Klinik keine Diagnose stellen lässt.

Diagnostik

Die Diagnose gestaltet sich in der Praxis oftmals schwierig. Nicht selten sind endgültige Diagnosen **erst post mortem** möglich, da die Unterscheidung zwischen geimpften und erkrankten Tieren

problematisch ist. Hämatologische Veränderungen fehlen häufig oder sind unspezifisch [1].

Antikörpertiter

Niedrige Titer könnten durch die staupebedingte Immunsuppression hervorgerufen werden, hohe Titer können hingegen von einer Impfung oder vorherigen Infektion stammen [1].

.konkret

Die Bestimmung des Antikörpertiters im Serum hat keinen hohen diagnostischen Wert.

Eine **getrennte Untersuchung von IgG und IgM** in einem Titerpaar im Abstand von 14 Tagen wäre sinnvoll. Bei ungeimpften Hunden würden steigende IgG-Titer eine Staupeinfektion anzeigen. Eine Erhöhung um mehr als 4 Stufen würde die Erkrankung sogar bei kürzlich geimpften Tieren erkennen lassen [7]. Allerdings ist der getrennte Nachweis der Immunglobuline in den meisten kommerziellen Labors nicht möglich. Eine Antikörperbestimmung im Liquor eignet sich ebenfalls nicht, da sowohl eine Blutkontamination als auch eine gestörte Blut-Hirn-Schranke zu falsch-positiven Ergebnissen führen können [6].

Virusnachweis

Die endgültige Diagnosestellung erfolgt durch den Virusnachweis selbst. In vivo ist dies durch folgende Untersuchungen möglich:

- Virusisolierung in Zellkultur
- Antigennachweis mit direkter Immunfluoreszenz
- Nachweis virusspezifischer RNA mittels PCR [7]

Zu beachten ist dabei, dass das Virusantigen außerhalb des ZNS-Gewebes schwer nachweisbar ist, wenn keine systemische Symptomatik vorliegt [1]. Auch histopathologisch wird die Diagnose endgültig erst durch den Nachweis von Staupevirus-Antigen oder -RNA gestellt, da Demyelinisierung und Einschlusskörperchen auch bei anderen Krankheiten vorkommen können [8].

Die Virusisolierung mittels **Zellkultur** dauert wenige Tage bis 3 Wochen. Sie ist sehr anspruchsvoll [8] und zur Routinediagnostik ungeeignet.

Die **direkte Immunfluoreszenz** aus Abstrichen oder zytologischen Präparaten ist weit verbreitet, kann aber in subakuten oder chronischen Stadien falsch-negative Ergebnisse liefern [1]. Bei diesem Verfahren ist eine Unterscheidung von Vakzine- und Feldvirus nicht möglich, da nur ein einziger Staupevirus-Serotyp existiert [7]. Klassische Techniken mit polyklonalen Antikörpern können deshalb nicht genutzt werden.

.konkret

Die Reverse-Transkriptase-PCR (RT-PCR) ist das Mittel der Wahl für die In-vivo-Diagnostik [9].

Die **RT-PCR** ist eine schnelle, sensitive und spezifische Methode [1]. Die Verwendung mehrerer Substrate kann dabei wegen der unterschiedlichen Verteilung des Virus im Körper die Sensitivität des Tests steigern [5]. Ein negatives Ergebnis schließt eine Staupeinfektion aber leider nicht aus [5,7]. Anders als die direkte Immunfluoreszenz ist dieser Test auch für subakute und chronische Stadien geeignet [5].

Eine Unterscheidung des Impfvirus und Feldvirus wäre durch Sequenzanalyse des Hämagglutinin-Gens möglich, wird aber in den meisten kommerziellen Labors nicht durchgeführt [7]. Bei der Frage, wie lange die RNA des Impfvirus in diesem qualitativen Untersuchungsverfahren falsch-positive Ergebnisse liefern kann, finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Die Meinungen driften von falsch-positiven Ergebnissen

Tab. 1 Symptomatik der Staupe im Überblick.

Symptomatik	Lokalisation	Symptome	
neurologische Symptomatik	Großhirn	Anfälle (generalisiert/fokal)	
		Verhaltensänderungen	
		visuelle Defizite	
		Kreisbewegungen	
		Kopfpresen	
	Kleinhirn	Ataxie	
		Hypermetrie	
		Tremor	
	Vestibularorgan	Kopfschiefhaltung	
		Fallen	
		Kreisbewegungen	
		Nystagmus	
		vestibulärer Strabismus	
	Kopfnerven	Optikusneuritis	
Defizite anderer Kopfnerven			
Rückenmark	Parese		
	Paralyse		
	Ataxie		
sonstige	Myoklonus (generalisiert/fokal)		
systemische Symptomatik	allgemein	Fieber	
		Anorexie	
		Dehydratation	
	Verdauungstrakt	Tonsillitis	
		Erbrechen	
		Durchfall	
	Atmungstrakt	Husten	
		Niesen	
		Dyspnoe	
	Auge	muköser bis purulenter Nasenfluss	
		seröse bis mukopurulente (Kerato-)Konjunktivitis	
	Haut	Chorioretinitis	
		Hyperkeratose an Nasenspiegel und Zehenballen	
	Hämatologie	pustulöse Hautveränderungen	
		Lymphopenie	
		Leukopenie	
		Leukozytose mit Linksverschiebung	
	Spätschäden	ZNS	Anämie
			Anfälle (generalisiert/fokal)
Myoklonus (generalisiert/fokal)			
Augen		„old dog encephalitis“	
		Hornhautschädigung	
Haut		Erblindung	
Gebiss		Hyperkeratose	
	Zahnschmelzhypoplasie (bei Infektion und Schädigung der Adamantoblasten vor Zahnwechsel)		

für circa 3–4 Wochen nach der Impfung [7] bis hin zu keiner Beeinflussung [5] weit auseinander. Für den genannten Zeitraum von 3–4 Wochen bietet die **quantitative PCR** („real-time RT-PCR“) eine sehr gute Alternative, da der in Echtzeit ermittelte Viruskonzentrationsbereich eine Unterscheidung zwischen Vakzine-Interferenz und Wildtypinfektion möglich macht. Die Viruslast ist während einer Infektion exponentiell höher als bei einer kürzlich erfolgten Impfung. Im Anfangsstadium einer akuten Infektion kann die Viruslast allerdings noch so gering sein, dass sie als Vakzine-Interferenz fehlinterpretiert wird [12]. Bei einem der im Folgenden beschriebenen Welpen (Welpen 3) stellte sich z.B. erst durch die spätere Obduktion heraus, dass es sich nicht wie ursprünglich angenommen um eine Detektion des Impfvirus, sondern um eine systemische Infektion handelte.

Fallbeispiele

Im Herbst 2013 erkrankten in Leipzig 5 Hunde an Staupe. Es handelte sich um ungeimpfte Schäferhund-Mischlingswelpen aus einem Wurf, der 11 Welpen umfasste. Die Mutterhündin war im Besitz einer Obdachlosen, über ihren Antikörperstatus lagen keine Angaben vor. Die Infektionsquelle der Welpen ist unbekannt, sie erkrankten im Alter zwischen 3 und 6 Monaten.

.konkret

Welpen erkrankten häufig im Alter zwischen 3 und 6 Monaten, da dieser Zeitraum mit dem Verlust der maternalen Antikörper zusammenfällt [6].

Welpen 1, weiblich

Symptomatik

Im Alter von 12 Wochen:

- selbstlimitierendes Erbrechen
- Durchfall

Ab der 19. Woche:

- Myoklonus der Brust- und Bauchmuskulatur

Ab der 20. Woche:

- generalisierte Anfälle

- stuporöser und desorientierter Bewusstseinszustand
- mittel- bis hochgradig generalisierte Ataxie
- verminderte Korrekturreaktionen an allen 4 Gliedmaßen
- Faszikulationen im Gesichtsbereich
- arrhythmischer Myoklonus an der Atemmuskulatur und den Flexoren der linken Hintergliedmaße

Die Symptome deuteten auf eine **multifokale Läsion des ZNS** hin.

Weiterführende Diagnostik

Die laterolaterale Röntgenaufnahme des Thorax zeigte eine disseminierte bronchiale Lungenzeichnung. Bei der hämatologischen Untersuchung wurden eine geringgradige Neutrophilie, eine Thrombozytose und eine geringgradige regenerative Anämie festgestellt. Der **Virusneutralisationstest im Serum** zeigte einen Titer von 1/16 an (Vet Med Labor GmbH, Division of IDEXX Laboratories). Gegen Staupe wird ein Schutz durch Antikörper erst ab einem Titer von 1/100 (maternale Antikörper) und 1/20 (Impfantikörper) gewährleistet (Vet Med Labor GmbH, Division of IDEXX Laboratories). Im Abstrich von Rachen und Konjunktiven wurden mittels **quantitativer PCR** 163 241 CDV-RNA-Partikel (CDV: Canine Distemper Virus) pro Abstrich detektiert und als Nachweis einer Staupeinfektion gewertet (Vet Med Labor GmbH, Division of IDEXX Laboratories). Der Hund wurde im Alter von 22 Wochen euthanasiert. Eine Obduktion wurde nicht durchgeführt.

Welpen 2, weiblich

Symptomatik

Im Alter von 15 Wochen:

- Durchfall
- Erbrechen
- beidseitige eitrig Konjunktivitis
- Apathie
- Körpertemperatur: 39,2 °C

Unter symptomatischer Behandlung in Verbindung mit einer Entwurmung verschwanden die Symptome.

Im Alter von 17 Wochen:

- beidseitiger, eitrig Nasen- und Augenausfluss
- reduziertes Allgemeinbefinden

- deutliche inspiratorische Atemgeräusche
- produktiver Husten
- Körpertemperatur: 39,7 °C

Durch symptomatische Behandlung konnte nur eine kurzzeitige Besserung der Symptome erreicht werden.

Hinzu kamen 10 Tage später:

- Schmerzhaftigkeit im linken Ellbogen (besonders bei Rotationsbewegungen)
- mittelgradige Stützbeinlahmheit
- Myoklonus im distalen Bereich der linken Vordergliedmaße (weitere 12 Tage später)

Zu diesem Zeitpunkt bestanden immer noch Fieber (39,8 °C) und eine beidseitige eitrig Konjunktivitis. In den folgenden 2 Wochen verschlechterte sich der Allgemeinzustand stetig. Die myoklonalen Bewegungen erstreckten sich auf alle 4 Gliedmaßen, sodass der Hund sich selbst nicht mehr aufrichten konnte.

Obduktion

Im Alter von 22 Wochen wurde der Welpen euthanasiert und am Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig obduziert. Pathomorphologisch zeigten sich im Bereich der weißen Substanz des Groß- und Stammhirns neben einer arealweise deutlichen Vakuolisierung des Neuropils und Schwellung der Axone (Bildung sogenannter Sphaeroide) zahlreiche aktivierte Gliazellen. Mehrere intranukleäre eosinophile **Einschlusskörperchen in Gliazellen** (► **Abb. 1**) festigten die Verdachtsdiagnose Staupe. Im rechten Sehnerv zeigte sich ebenfalls eine Glizellaktivierung, wobei in den Gliazellen multifokal der Verdacht auf intranukleäre eosinophile Einschlusskörperchen bestand. Als mögliches Zeichen der pulmonalen Manifestation der Staupeinfektion konnte eine dezente bis geringgradige interstitielle gemischtzellige Pneumonie diagnostiziert werden. Die klinisch nachgewiesene Konjunktivitis wurde bestätigt. An beiden unteren Canini wurde eine Einkerbung im Zahnschmelz festgestellt, die am ehesten durch eine Schmelzhypoplasie zu erklären war, wie sie nach einer Staupeinfektion als Teil eines Staupegebisses bekannt ist. In einer Sammelprobe von Gehirn, Trachea, Lunge, Magen, Darm, Nierenbecken und Harn-

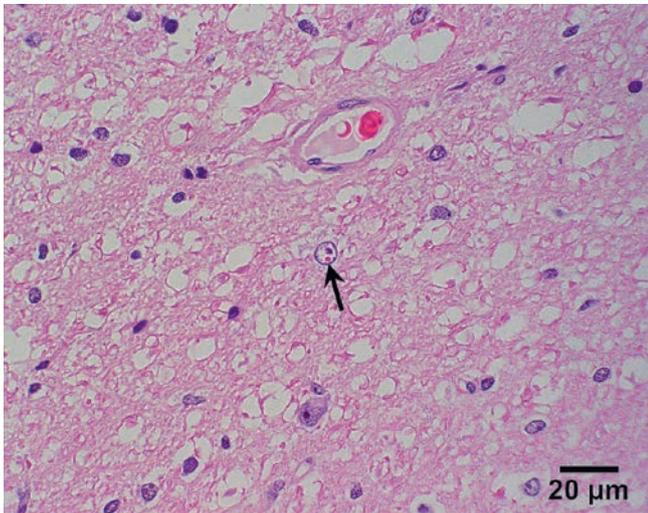


Abb. 1 Großhirnmark. Vakuolisierung des Neuropils, intranukleäres, eosinophiles Einschlusskörperchen in einer Gliazelle (Pfeil). Hämalaun-Eosin-Färbung. © D. Böttcher

blase wurde mittels RT-PCR Staupevirus-spezifische RNA nachgewiesen.

Ob die Schmerzhaftigkeit und Lahmheit der linken Vordergliedmaße ebenfalls auf die Staupeinfektion zurückzuführen waren, bleibt ungeklärt, denn diese Gliedmaße wurde nicht pathomorphologisch untersucht. Bisher wurde kein Zusammenhang zwischen Lahmheiten und natürlicher Staupeinfektion beschrieben, aber nach experimenteller Infektion konnte das Virus in Knochenläsionen nachgewiesen werden [2].

Welpen 3, männlich

Symptomatik

Dieser Welpe wurde ohne klinische Symptome im Alter von 15 Wochen im Tierheim Leipzig aufgenommen (► **Abb. 2**). Er erhielt zu diesem Zeitpunkt sowie im Abstand von 3 Wochen eine 6fach-Impfung (inkl. MLV gegen Staupe). 2 Tage nach der 1. Impfung trat eine beidseitige **eitrige Konjunktivitis** auf, die mit antibiotischen Augentropfen erfolgreich behandelt wurde. Eine Woche nach der Wiederholungsimpfung – ab einem Alter von fast 20 Wochen – fiel ein **Myoklonus** der linken Vordergliedmaße und der Atemmuskulatur auf. Ein Konjunktivalabstrich erbrachte 1049 CDV-RNA-Partikel pro

Abstrich, was jedoch noch im Bereich einer Vakzine-Interferenz lag (Vet Med Labor GmbH, Division of IDEXX Laboratories). Die myoklonalen Bewegungen breiteten sich auf die Vorder- und Hintergliedmaßen sowie den Rumpf aus (► **Video 1**). Im Alter von 22 Wochen wurden **Zahnschmelzhypoplasien** erkennbar (► **Abb. 3**).

Obduktion

Der Hund wurde im Alter von 29 Wochen euthanasiert und am Institut für Pathologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover obduziert. Das ZNS war bis auf eine unspezifische fokale, geringgradige Gliose im Bereich des Stammhirns unauffällig. Im Bereich der Konjunktiven wurde eine geringgradige folliculäre Entzündung diagnostiziert. Mandibular- und Mesenteriallymphknoten zeigten eine folliculäre Hyperplasie. Ausgeprägte Schmelzdefekte der Zähne mit multifokalen braunen Verfärbungen und eine hochgradige Schwellung der Tonsillen durch eine folliculäre Hyperplasie deuteten ebenso wie die mittelgradige diffuse, interstitielle, lymphohistiozytäre Pneumonie auf eine Staupeinfektion hin. Einschlusskörperchen wurden nicht gefunden. Die endgültige Diagnose konnte durch den **immunhistologischen Nachweis des Staupevirus-Antigens** im konjunktivalen Epithel und in den Ependymzellen gestellt werden.



Abb. 2 An Staupe erkrankter Mischlingswelpen. © N. Hagendorf



Abb. 3 Zahnschmelzdefekte als Kennzeichen eines Staupegebisses. © N. Hagendorf

Bei diesem Welpen muss eine seltene Staupeform, die **postvakzinale Staupeenzephalitis**, in Betracht gezogen werden. Möglicherweise löste die Impfung eine bereits latent bestehende Infektion aus [1]. Andere beschriebene Ursachen sind ungenügend attenuierte Impfstoffe sowie eine erhöhte Infektanfälligkeit des Tieres. Symptome des ZNS treten dabei 3–20 Tage nach einer Impfung auf [6]. In diesem Fall betrug diese Zeit 29 Tage. Unter Junghunden bis zu einem Alter von 6 Monaten tritt die postvakzinale Staupeenzephalitis am häufigsten auf. [1]. Das Alter des Tieres könnte für diese Staupeform sprechen, allerdings weisen die gleichzeitigen Infektionen der Wurfgeschwister auf eine vor der Impfung liegende Infektion hin. Obwohl die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung nicht dem klassischen Bild entsprachen, stellten die klinischen Befunde und der Antigennachweis im ZNS ausreichende Hinweise für die Diagnose einer Gehirnform der Staupe dar. Ob es sich um eine postvakzinale oder Wildtypinfektion handelte, kann nicht abschließend geklärt werden.

Welpen 4 und 5, männlich

Symptomatik

Diese Welpen wurden ebenfalls im Alter von 15 Wochen im Tierheim Leipzig aufgenommen. Nur einer von ihnen zeigte zu diesem Zeitpunkt klinische Symptome:

- beidseitige eitrige Konjunktivitis
- Durchfall
- Apathie
- Körpertemperatur von 39,6 °C

Dieser Welpen konnte nach **symptomatischer Behandlung**, der andere Welpen direkt nach Aufnahme und im Abstand von 3 Wochen mit einem 6fach-Impfstoff (inkl. MLV gegen Staupe) geimpft werden. Zwei Tage nach der 1. Impfung trat bei dem anfangs gesunden Welpen eine beidseitige eitrige Konjunktivitis auf, die mit antibiotischen Augentropfen erfolgreich behandelt wurde. Im Alter von 22 Wochen fielen auch bei diesen Tieren **Zahnschmelzhyoplasien** auf. Die Hunde entwickelten sich altersgerecht, wurden vermittelt und zeigen 1,5 Jahre später keine weiteren Krankheitszeichen.

Fazit

Gerade bei geimpften Tieren ist die Staupeidiagnostik eine große Herausforderung, da die Unterscheidung von Impf- und Feldvirus praktisch nicht möglich ist [8]. Mit Beachtung der beschriebenen Einschränkungen sind die qualitative und quantitative PCR als diagnostisches Mittel der Wahl bei der Hundestaupe zu betrachten. Die beschriebenen Fälle können impfmüden Patientenbesitzern als Beispiel dafür genannt werden, dass die Staupeimpfung auch in Deutschland immer noch sinnvoll ist.

Online zu finden unter

<http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1550140>

Literatur

Die Literatur ist in der Online-Version unter www.Thieme-connect.de/products einsehbar.

Nadine Hagendorf

Kleintierpraxis Leipzig-Schönefeld
Dr. Volker Jähnig
Dimpfelstraße 28
04347 Leipzig
kontakt@tierpraxis-leipzig.de

Dr. Denny Böttcher

Fachtierarzt für Pathologie
Institut für Veterinär-Pathologie
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 33
04103 Leipzig
denny.boettcher@vetmed.uni-leipzig.de

Dr. Peter Wohlsein

Dipl. ECVP
Institut für Pathologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17
30559 Hannover
peter.wohlsein@tiho-hannover.de

Dr. Irene Christine Böttcher

Dipl. ECVN
Klinik für Kleintiere
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 23
04103 Leipzig
i.c.boettcher@kleintierklinik.uni-leipzig.de

Literatur

- 1 Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF. The nervous form of canine distemper. *Vet e Zootec* 2006; 13 (2): 125–136
- 2 Baumgärtner W, Boyce RW, Weisbrode SE et al. Histologic and immunocytochemical characterization of canine distemper-associated metaphyseal bone lesions in young dogs following experimental infection. *Vet Pathol* 1995; 32: 702–709
- 3 de Lahunta A, Glass EN, Kent M. *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 4th ed. St. Louis: Saunders; 2014
- 4 EK-Kommonen C, Sihvonen L, Pekkanen K et al. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Vet Rec* 1997; 141 (15): 380–383
- 5 Frisk AL, König M, Moritz A et al. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (11): 3634–3643
- 6 Greene CE, Appel MJ. Canine distemper. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. St. Louis: Saunders; 2006: 25–41
- 7 Kapil S, Yeary TJ. Canine distemper spillover in domestic dogs from urban wildlife. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2011; 41 (6): 1069–1086
- 8 Martella V, Elia G, Buonavoglia C. Canine distemper virus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 787–797
- 9 Moritz A, Frisk AL, Baumgärtner W. The evaluation of diagnostic procedures for the detection of canine distemper virus infection. *Europ J Compan Anim Pract* 2000; 10: 37–47
- 10 Rockborn G, Klingeborn B. The situation of canine distemper vaccination in Sweden and Finland. *Kleintierprax* 1997; 42 (6): 469–476
- 11 Tipold A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: A retrospective study. *J Vet Int Med* 1995; 9 (5): 304–314
- 12 Wilkes RP, Sanchez E, Riley MC et al. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction method for detection of canine distemper virus modified live vaccine shedding for differentiation from infection with wild-type strains. *J Vet Diagn Invest* 2014; 26 (1): 27–34