

Abort beim Rind durch *Chlamydia psittaci*

A. Pospischil¹, R. Thoma², W. von Bomhard¹, K. Reitt¹, J. Cantieni³, D. Zimmermann⁴, A. Polkinghorne⁵

¹ Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich*, ² Graubündner Veterinär-bakteriologisches Labor, Chur, ³ Gemeinschaftspraxis Dres. J. Cantieni, E. Vincenz, M. Zinsli, Illanz, ⁴ Institut für Klinische Pathologie, Universität Zürich, ⁵ Centre for Molecular Biotechnology, School of Life Sciences, Queensland University of Technology, Brisbane, Australien

Zusammenfassung

Im Herbst 2001 konnte bei einem Abort eines Rindes *Chlamydia psittaci* als Erreger mittels Immunhistologie, PCR (16S rRNA, ompA) und Gensequenzierung erstmals in der Schweiz (Kanton Graubünden) diagnostiziert werden. Ein mögliches weiteres Auftreten derartiger Fälle muss durch Untersuchungen abgeklärt werden. Auf Grund der unterschiedlichen Sensitivität und Spezifität der zur Diagnose von Chlamydien verfügbaren Methoden wird vorgeschlagen die Diagnose Chlamydien-bedingter Rinderabort auf mindestens zwei anerkannte Verfahren abzustützen.

Schlüsselwörter: Abort – *Chlamydia psittaci* – Immunhistologie – PCR (16S rRNA, ompA) – Gensequenzierung (PCR-Produkt) – Rind

Abortion in the cow by *Chlamydia psittaci*

A case of bovine abortion was for the first time in Switzerland diagnosed by immunohistochemistry PCR (16S rRNA, ompA) and gene sequence analysis to be caused by *Chlamydia psittaci*. A possible occurrence of further cases has to be investigated. Based on the existence of several methods with very different sensitivity and specificity to diagnose chlamydia it is suggested that at least two verified diagnostic tools should be used to diagnose an involvement of chlamydia in bovine abortion.

Key words: abortion – *Chlamydia psittaci* – immunohistochemistry – PCR (16S rRNA, ompA) – gene sequencing (PCR product) – cow

Einleitung

Unter Abort versteht man einen unphysiologisch vorzeitigen Trächtigkeitsabbruch mit Ausstossung einer unreifen, nicht lebensfähigen Frucht. In Abhängigkeit vom Trächtigkeitsstadium wird der Abort unterteilt in a) Resorption der Frucht: Beendigung der Trächtigkeit durch Resorption der Frucht, b) Frühabort: Die Ausstossung der Frucht erfolgt in der ersten Trächtigkeitshälfte, c) Spätabort: Die Ausstossung der Frucht erfolgt in der zweiten Trächtigkeitshälfte. Beim Spätabort sind mehr Komplikationen während der Ausstossung und im Puerperium zu erwarten als beim Frühabort. Ca. 2 bis 4% aller trächtigen Kühe abortieren, das bedeutet für die Schweiz mit ca. 700 000 Kühen etwa 14 000 bis 28 000 Aborte pro Jahr. Ein Abort muss insbesondere bei infektiösen Ursachen zur Verhinderung der Ausbreitung, zum Schutz von Tierhalter und Tierarzt und aus forensischen Gründen (Schreckabort, Impfschaden) untersucht

werden. Aus dem Bestand sind dazu folgende Informationen notwendig: Anzahl der Aborte, Anzahl der tragenden Tiere, Ursachen früherer Aborte, Geburten toter, lebensschwacher oder missgebildeter Kälber und Fruchtbarkeit im Bestand. Beim betroffenen Muttertier ist folgende Information nötig: Alter, Milchleistung, Besamungsdatum, Datum der Trächtigkeitsuntersuchung, Zeitpunkt erster Abortanzeichen, Zeitpunkt des Abortes, Erkrankungen, Behandlungen, Impfungen und mögliche Stresssituationen. Artikel 129 der Tierseuchenverordnung des Bundes bestimmt, dass Tierhalter jeden Abort bei Rindern, die mehr als 3 Monate trächtig waren, melden müssen. Hat in einem Stall innerhalb von 4 Monaten mehr als ein Tier abortiert, so ist eine Untersuchung auf *Brucella abortus* und IBR-IPV (serologisch) vorzunehmen. Einzusenden sind abortierte Feten, Plazenta und eine Blutprobe. Zur Abklärung anderer nicht gesetzlich geregelter infektiöser Abortursachen ist es empfehlenswert folgende Materialien einzusenden: gesamter Fetus, Eihäute, Karunkel bzw. Plazentome, Fruchtwasser,

* Nationales Referenzzentrum für Chlamydien-abort bei Schafen und Ziegen des Bundesamtes für Veterinärwesen.

Tabelle 1: Infektiöse Ursachen des Abortes beim Rind

| | Bakterien | Viren | Pilze | Parasiten |
|------------|--|-------------------------------|---------------------------------|--|
| Enzootisch | <i>B. abortus</i> (BVET 2001) | IBR-IPV (BVET 2001) | | <i>Trichostrongylus axei</i> <i>Neospora caninum</i> (Sager et al. 2001) |
| Sporadisch | <i>L. monocytogenes</i> <i>A. pyogenes</i> Salmonellen Chlamydien Leptospiren Mykoplasmen <i>C. burnetti</i> | BVD-MD (Sager et al. 2001) | Aspergillen Mucor Candida | |

Lochien, Tupfer und Blutproben unmittelbar nach dem Abort und zwei Wochen danach. Im Idealfall sind folgende Untersuchungen zur Aufklärung der Abortursache vorzunehmen: pathologisch-anatomisch, histologisch, mikrobiologisch, serologisch, virologisch und endokrinologisch.

Die Schweiz ist seit 1980 frei von *B. abortus*, der letzte Einzelfall trat 1996 bei einer aus Frankreich importierten Kuh auf (BVET, 2001). Intensive Bekämpfungsmassnahmen in den 80er Jahren führten zu einer Eradikation von IBR-IPV in der Schweiz, diese Seuchenfreiheit wird durch regelmässige Stichprobenuntersuchungen überprüft (BVET, 2001). In einer kürzlich durchgeführten «case control» Studie wurden in der Schweiz die Prävalenz von *Neospora caninum* (84%), BVD-MD (7%) und Bakterien (4%) als Abortursache beim Rind festgestellt (Sager et al., 2001). *Coxiella burnetti* wurde in der Zeit von 1991 bis 2001 bei 594 Rindern, 26 Schafen und 22 Ziegen im Zusammenhang mit Aborten diagnostiziert, die Häufigkeit ist stark abnehmend (BVET, 2001)

Die Tatsache, dass Chlamydien (*C. psittaci*) neben Schaf, Ziege und Mensch auch beim Rind Abort auslösen können, ist seit dem ersten Bericht von Kennedy et al. (1960) bekannt. In der Folgezeit wurde in verschiedenen Ländern weltweit immer wieder über die Beteiligung von Chlamydien am Abortgeschehen beim Rind berichtet (Gerbermann 1991; Hässig et al., 1995; Holliman et al., 1994; Cox et al., 1998). Lange Zeit war ein direkter Erreger-Nachweis für Chlamydien auf die Anzüchtung in Zellkulturen bzw. in bebrütenden Hühnereiern beschränkt, und damit standen für den Nachweis serologische Methoden wie KBR im Vordergrund. Die Entwicklung von Modifikationen der KBR und von ELISA-Methoden verbesserten die Situation etwas (Perez-Martinez et al., 1986). Erst die molekularbiologischen Untersuchungen von Fukushi und Hirai (1992) führten zur Erkennung von *Chlamydia pecorum* als weiteres Mitglied der Familie Chlamydia. *C. pecorum* tritt vornehmlich im Darm von Säugetieren auf und kann alleine oder in Kombination mit anderen

Erregern zum Durchfall führen. Eine serologische Unterscheidung der verschiedenen Chlamydien-Spezies mit Hilfe von KBR ist nicht möglich. Damit können positive serologische Titer nicht zur ätiologischen Diagnose von Aborten herangezogen werden. Die bisher gültige Nomenklatur der Chlamydien wurde basierend auf einer phylogenetischen Analyse der 16S und 23S Gene geändert (Everett et al., 1999). Bisher enthielt die Ordnung *Chlamydiales* eine Familie (*Chlamydiaceae*) und diese ein Genus und vier Spezies (Herring, 1993). Neu enthält die Ordnung *Chlamydiales* 4 Familien (*Parachlamydia*, *Simkania*, *Chlamydiaceae*, *Waddlia*). Die Familie *Chlamydiaceae* enthält nun: *Chlamydia muridarum* (neu), *Chlamydia suis* (neu), *Chlamydia trachomatis* (wie bisher), *Chlamydomphila abortus* (Schafabort, bisher *Chlamydia psittacis serovar 1*), *Chlamydomphila caviae* (neu), *Chlamydomphila felis* (bisher *Chlamydia felis*), *Chlamydomphila pecorum* (bisher *Chlamydia pecorum*), *Chlamydomphila pneumoniae* (bisher *Chlamydia pneumoniae*) und *Chlamydomphila psittaci* (bisher *Chlamydia psittaci*). Aborte beim Rind wurden bisher in das Genus *Chlamydia psittaci* eingereiht, in dem sich auch der nicht identische Erreger des Schafabortes *Chlamydomphila abortus* (bisher *Chlamydia psittacis serovar 1*) befindet. Die Charakterisierung eines Laborstammes (WSU 86-1044) von Chlamydien, der 1986 aus einem abortierten Fetus isoliert wurde, konnte durch Analyse des 16S Gens in die Familie *Waddlia* eingereiht werden und heisst nun *Waddlia chondrophila* (Rurangirwa et al., 1999). Eine Charakterisierung von Feldstämmen aus aktuellen Fällen von Chlamydien-bedingtem Abort beim Rind steht jedoch noch aus.

Fallbeschreibung

Angaben zur Lage und Grösse des Betriebes finden sich in Tabelle 2. Auf dem betroffenen Hof konnte folgende Betriebsanamnese erhoben werden:

Bei Rindern trat in den Jahren 1995 bis 1998 jeweils ein Abortfall pro Jahr auf, in den Jahren 1999

Tabelle 2: Lage des Betriebs, Tierbestand und Haltung

| Lage des Betriebes | Bündner Oberland 1300 m ü.M. |
|--------------------|---|
| Tierbestand | 10 Kühe, 20 Rinder (1–2Jahre), 10 Kälber (teils Mast) ca. 30 Schafe, im gleichen Stall wie Rinder, jedoch kein direkter Kontakt |
| Haltung | Kühe in Anbindehaltung; Jungtiere in Laufstallung |

und 2000 wurden keine Fälle beobachtet. Die Fertilitätsrate der Rinder auf dem Betrieb war unauffällig. Die gleichzeitig gehaltenen Schafe wiesen keine Aborte auf.

Anamnese der abortierenden Mutterkuh

Alter 5 Jahre, Abort nach 8 Monaten Trächtigkeit am 20. September 2001. Nach dem Abort erfolgte eine Routinebehandlung mit antibiotischen Uteruseinlagen. Das Tier wurde Mitte Oktober 2001 nochmals einer Uterusspülung unterzogen und sollte absehbar wieder belegt werden können.

Laboruntersuchungen

Serologie

- serologische Untersuchung auf IBR/IPV (BVET 1997)
- serologische Untersuchung auf Brucellose (BVET 2000)

Histopathologie

Von der unfixierten Plazenta wurden Ausstriche hergestellt, luftgetrocknet und nach Stamp gefärbt. In Formalin fixierte Teile der Plazenta wurden nach Standardmethoden eingebettet, geschnitten und mit Hämatoxilin-Eosin (HE) gefärbt.

Immunhistologie

Gewebeschnitte wurden mit einem monoklonalen Antikörper gegen die Lipopolysaccharid (LPS) Komponente der Chlamydien Zellwand (ACL_P, Progen Biotechnik, Heidelberg, D) behandelt. Von diesem Antikörper werden Mitglieder der Familie Chlamydiaceae erkannt (Thoma et al. 1996; Guscetti et al. 1998). Zusätzlich wurde ein monoklonaler Antikörper (4/11, Moredun Research Institute, Edinburgh, Scotland) verwendet, der selektiv gegen ein Epitop eines Referenzstammes (S26/3) von *Chlamydia abortus* beim Schaf (ehemals *Chlamydia psittaci* serovar 1) gerichtet ist (Thoma et al., 1996, Guscetti et al., 1998).

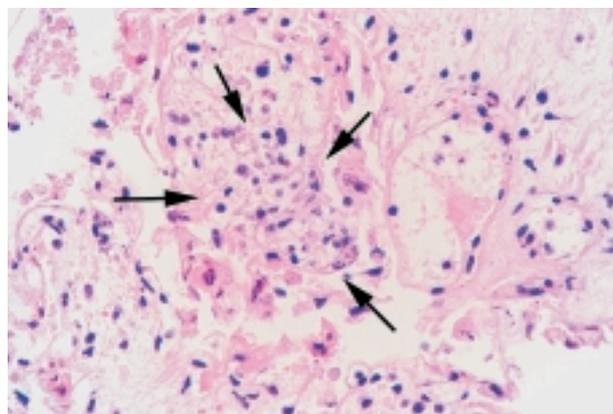


Abbildung 1: Nekrotisierende Plazentitis (Pfeile) beim Rind. Hämatoxilin-Eosin (HE), 250×.

PCR

Aus Formalin fixiertem und in Paraffin eingebetteten Gewebe wurde mit dem Dneasy Kit (Fa. Quiagen) DNA isoliert und mit einem «primer set» zur Charakterisierung eines 257 bp langen Abschnittes des ompA Gens der Ordnung *Chlamydiaceae* mittels einer «nested» PCR amplifiziert (Kaltenböck und Storz, 1992). Zusätzlich wurden Abschnitte eines weiteren Gens 16SrRNA amplifiziert (Everett et al., 1999). Anschliessend erfolgte in beiden Fällen eine Sequenzierung und eine Analyse des Produktes online mit der Software BLAST des NCBI, USA.

Ergebnisse

Die serologischen Untersuchungen auf IBR/IPV und auf Brucellose erbrachten ein negatives Ergebnis. In einem nach Stamp gefärbten Ausstrich der Plazenta konnten Chlamydien in grosser Menge nachgewiesen werden. Histologisch waren in der Plazenta grosse Bereiche von akutem Gewebsuntergang mit entzündlicher Reaktion zu erkennen (nekrotisierende Plazentitis, Abb. 1 und 2). Eine immunhistologische Untersuchung mit

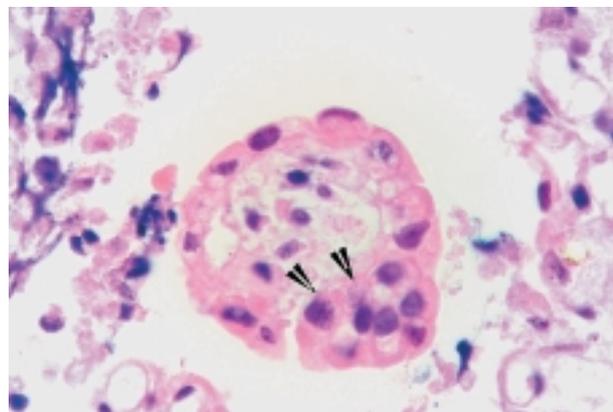


Abbildung 2: Vermehrung von Chlamydien (Pfeile) in Vakuolen (Einschlüsse) im Zytoplasma des Trophoblastepithels, 500×.

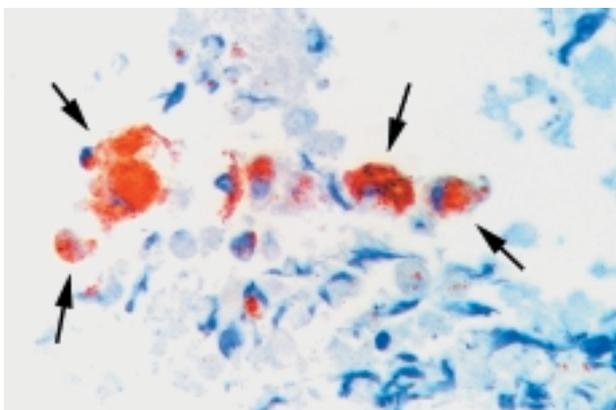


Abbildung 3: Immunhistologische Markierung von Chlamydien in Gebieten der Plazenta mit nekrotisierender Plazentitis mit einem Antikörper gegen LPS (Lipopolysaccharid) in der Zellwand der Erreger, 300×.

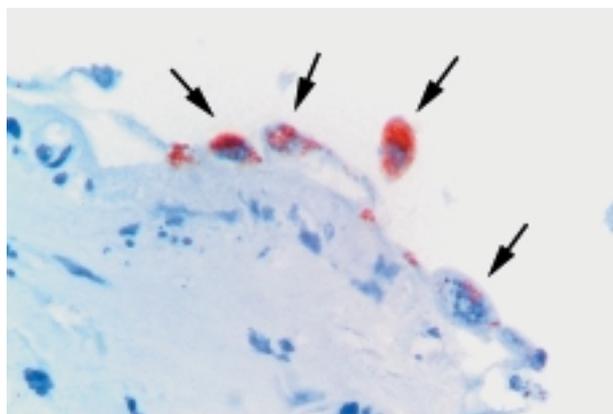


Abbildung 4: Immunhistologische Markierung von Chlamydien im Trophoblastepithel mit einem Antikörper gegen LPS (Lipopolysaccharid) in der Zellwand der Erreger, 400×.

einem Antikörper, der LPS von Chlamydien markiert, wies grosse Mengen von Chlamydien im Trophoblastepithel der Plazenta nach (Abb. 3 und Abb. 4). Negativ verlief die immunhistologische Differenzierung mit dem monoklonalen Antikörper 4/11 hinsichtlich *Chlamydothila abortus* (ehemals *C. psittaci* serovar 1). Eine Amplifikation des *ompA* Gens erbrachte eine grosse Menge an spezifischer DNA, die nach der Sequenzierung eine Identität von 100% mit dem entsprechenden DNA Abschnitt von *Chlamydia psittaci* erwies. Die Amplifikation des 16SrRNA Gens erbrachte eine ausreichende Menge an spezifischer DNA, die nach der Sequenzierung eine 97%-ige Übereinstimmung mit dem entsprechenden Genabschnitt von *Chlamydia psittaci* aufwies.

Diskussion

Die Tatsache, dass Chlamydien auch beim Rind in der Lage sind, Abort auszulösen ist seit den Berichten von Kennedy et al. aus dem Jahr 1960 bekannt. Grosse Unsicherheit herrscht weltweit über die Häufigkeit des Chlamydien-bedingten Abortes und über die Spezifität des Erregers. In der Schweiz wurde von Hässig et al., 1995 eine umfangreiche Untersuchung von Problembetrieben mit vermehrten Aborten bei Rindern publiziert, die eine Periode von mehreren Jahren umfasst. Dabei konnte nur ein einziger Fall von Chlamydien-bedingtem Abort nachgewiesen werden. In einer retrospektiven Untersuchung von Rinderaborten aus dem Untersuchungsgut des Institutes für Veterinärpathologie in Zürich konnte Reitt (persönliche Mitteilung) bei 500 Abortfällen aus 10 Jahren ebenfalls nur einen Chlamydien-bedingten Fall nachweisen, bei dem es sich um den von Hässig et al. (1995) bereits erwähnten Fall handelt. Die Diagnose in diesem Fall konnte mittels im-

munhistologischem Antigennachweis und PCR abgesichert werden. Im Gegensatz dazu publizieren Fritz und Dannuser (2001) in einem Bericht aus diagnostischen Laboratorien in der Schweiz 29 Chlamydien-bedingte Abortfälle beim Rind, die allein durch serologische Untersuchung (KBR) diagnostiziert wurden. Bei der Komplement-Bindungs-Reaktion (KBR) werden jedoch Antikörper gegen Chlamydien nachgewiesen, ohne dass die Spezies der die Antikörperantwort auslösenden Chlamydien zu erkennen ist. Nachdem Chlamydien in nicht zu unterschätzender Zahl auch im Darm und anderen Organen vorkommen, ist ein serologische Diagnose, insbesondere mittels KBR allein nicht ausreichend, um beim Vorliegen eines Abortes diesen auf Chlamydien zurückzuführen. Thoma berichtet 2001 (persönliche Mitteilung) von 39 Rinderabortfällen bei denen Chlamydien allein durch morphologische Methoden (Färbung von Ausstrichen der Plazenta nach Stamp) diagnostiziert wurden (bei einem Total von ca. 800 im Graubündner Veterinär-bakteriologisches Labor untersuchten Abortfällen). Epidemiologische Untersuchungen müssen diese Zusammenhänge weiter klären.

Diese Beispiele zeigen, dass jeweils sehr unterschiedliche Methoden mit grossen Unterschieden in Sensitivität und Spezifität des Nachweises (Anzüchtung des Erregers, morphologischer Nachweis des Erregers, Antigennachweis über Immunfluoreszenz bzw. Immunhistologie, Antikörpernachweis) verwendet werden. Erst in den letzten Jahren ist durch molekularbiologische Methoden möglich, einen eindeutige Erreger-Nachweis zu erarbeiten. Mit Hilfe einer PCR ist sicher ein hochspezifischer Nachweis von Chlamydien DNA möglich, ein eigentlicher Erregernachweis muss jedoch mit Hilfe von Antigennachweisen bzw. Erregerisolation erfolgen. Auf Grund der hohen Sensitivität sind jedoch Fragen der Kontamination

des Untersuchungsmaterials und die Präzision der Laborarbeit und der Erhaltungszustand des Untersuchungsmaterials wichtiger als bei anderen Nachweismethoden. Für die tägliche Laborpraxis ist daher folgende Konsequenz zu ziehen: Der molekularbiologische Nachweis mittels PCR muss über andere Nachweismethoden abgesichert werden.

Im vorliegenden Fall konnten Chlamydien durch immunhistologische Färbung und die Amplifikation von Abschnitten zweier Gene (16SrRNA, ompA) nachgewiesen werden.

Bei der Auswertung der nachgewiesenen Gensequenzen zeigt sich, dass im vorliegenden Fall der Abort durch *Chlamydia psittaci*, dem Erreger der Psittakose / Ornithose bei Psittaziden und dem Menschen ausgelöst wurde. Die ursprüngliche Arbeitshypothese, dass es sich bei den nachgewiesenen Chlamydien möglicherweise um *Chlamydo-phila abortus*, dem Erreger des Schafabortes handeln könnte, hat sich insbesondere durch die negative immunhistologische Reaktion mit dem für *Chlamydo-phila abortus* monoklonalen Antikörper (4/11) gezeigt. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit dem von Cox et al. (1998) berichteten Nach-

weis von *C. psittaci* bei einem Rinderabort. Sie stehen jedoch im Gegensatz zur Typisierung eines im Jahr 1986 aus einem Rinderabort in den USA isolierten Chlamydienstamms (WSU 86-1044) als *Waddlia chondrophila* (Rurangirwa et al., 1999). Dabei handelt es sich um den Vertreter einer der vier Familien der Ordnung *Chlamydiales*, die in der neuen Nomenklatur geschaffen wurde (Everett et al., 1999). Ob es sich um geographisch bedingte Unterschiede beim Chlamydien-bedingten Rinderabort handelt oder ob zwei verschiedene Chlamydien Spezies (*Chlamydia psittaci*, *Waddlia chondrophila*) in der Lage sind beim Rind Abort auszulösen müssen intensive Untersuchungen von neu auftretenden Aborten beim Rind zeigen.

Dank

Dank gilt den Labormitarbeiterinnen des Institutes für Veterinärpathologie für die Herstellung der zahlreichen histologischen und immunhistologischen Präparate.

Avortement chez une génisse dû à *Chlamydia psittaci*

En automne 2001, lors de l'avortement d'une génisse, *Chlamydia psittaci* a été identifié pour la première fois en Suisse (canton des Grisons) au moyen d'immunohistologie, PCR (16S rARN, ompA) et détermination de la séquence de gènes. Une manifestation possible d'autres cas semblables doit être mise en évidence par des examens supplémentaires. Dû à la sensibilité et à la spécificité différente des techniques utilisées pour le diagnostic d'avortement causé par des chlamydiae, il est recommandé d'utiliser au moins deux méthodes reconnues.

Aborto provocato da *Chlamydia psittaci* nel manzo

Nell'autunno del 2001 in un caso di aborto in un manzo è stato diagnosticato tramite immunologia, PCR (16S rRNA, ompA) e analisi della sequenza genetica per la prima volta in Svizzera (canton Grigioni) l'agente patogeno *Chlamydia psittaci*. Un'ulteriore comparsa di casi simili deve essere accertata tramite esami. In considerazione del fatto che i metodi a disposizione per la diagnosi di Chlamydie hanno sensibilità e specificità differenti, viene consigliato di basare la diagnosi di aborto dovuto a Chlamydie nel manzo almeno su due metodi riconosciuti.

Literatur

BVET: Meldepflichtige Tierseuchen. http://www.bvet.admin.ch/0_navigation-d/0_index-intern.html. 2001.

BVET: Technische Weisungen: Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf IBR/IPV http://www.bvet.admin.ch/tiergesundheits/d/weisung_richtl_kreisschreib/techn_weis/twuiibr.html. 1997.

BVET: Merkblatt Brucellosen: http://www.bvet.admin.ch/0_navigation-d/0_index-intern.html. 2000.

Cox H.U., Hoyt P.G., Poston R.P., Snider T.G. 3rd, Lemarchand T.X., O'Reilly K.L.: Isolation of an avian serovar from a case of bovine abortion. J. Vet. Diagn. Invest. 1998, 10: 280–282.

Everett K.D., Andersen, A.A.: Identification of nine species of the Chlamydiaceae using PCR-RFLP. Int. J. Syst. Bacteriol. 1999, 49:803–813.

Fritz H., Dammuser J.: Tierseuchen-Diagnostik: Berichte aus den Labors 2000. BVET Magazin. 2001, 5:20–23.

- Fukushi H., Hirai K.*: Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992, 42:306–308.
- Gerbermann H.*: Chlamydiose beim Rind und ihre Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 1991, 78:13–19.
- Guscetti F., Schiller I., Sydlert T., Corboz L., Pospischil A.*: Experimental *Chlamydia psittaci* serotype 1 enteric infection in gnotobiotic piglets: Histopathological, immunohistochemical and microbiological findings. *Vet. Microbiol.* 1998, 62:251–263.
- Hässig M., Waldvogel A., Corboz L., Strickler L., Zanoni R., Weiss M., Regi G., Peterhans E., Zerobin K., Rüsch P.*: Untersuchungen in Betrieben mit gehäuftem Verwerfen beim Rind Schweiz. *Arch. Tierheilk.* 1995, 137:445–453.
- Herring A.J.*: Typing *Chlamydia psittaci* – a review of methods and recent findings. *Brit. Vet. J.* 1993, 149:455–475.
- Holliman A., Daniel R.G., Parr J.G., Griffiths P.C., Bevan B.J., Martin T.C., Hewinson R.G., Dawson M., Munro R.*: Chlamydiosis and abortion in a dairy herd. *Vet. Rec.* 1994, 134:500–502.
- Kaltenboeck B., Storz J.*: Biological properties and genetic analysis of the *ompA* locus in chlamydiae isolated from swine. *Am. J. Vet. Res.* 1992, 53:1482–1487.
- Kennedy P.C., Olander H.J., Howarth J.A.*: Pathology of epizootic bovine abortion. *Cornell Veterinarian.* 1960, 50: 417–429.
- Perez-Martinez J.A., Schmeer N., Storz J.*: Bovine chlamydial abortion: serodiagnosis by modified complement-fixation and indirect inclusion fluorex'cence test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.* 1986, 47:1501–1506.
- Rurangirwa F.R., Dilbeck, P.M., Crawford, T.B., McGuire, T.C., McElwain, T.C.*: Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order Chlamydiales: proposal of *Waddlia* fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999, 49:577–581.
- Sager H., Fischer I., Furrer K., Strasser M., Waldvogel A., Boerlin P., Audige L., Gottstein B.*: A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet. Parasitol.* 2001, 102:1–15.
- Thoma R., Guscetti F., Schiller I., Pospischil A.*: Diagnostic Techniques for Porcine Chlamydial Infections: a short review. *Eur. J. Vet. Pathol.* 1996, 2:67–72.

Korrespondenzadresse

Andreas Pospischil, Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 268, CH-8057 Zürich, E-Mail: apos@vetpath.unizh.ch

Manuskripteingang: 8. März 2002

In vorliegender Form angenommen: 10. Mai 2002