

Aus dem Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun)

---

**Epidemiologische Untersuchungen über die Ansteckung von Rindern durch  
mit Border-Disease-Virus infizierte Schafe auf Alpweiden**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Rahel Büchi**

Tierärztin

aus Richterswil ZH

genehmigt auf Antrag von  
Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun, Referent  
Prof. Dr. E. Peterhans, Korreferent

Zürich, 2009  
Zentralstelle der Studentenschaft



Meiner lieben Familie



## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>4</b>
<b>2. SUMMARY</b>	<b>6</b>
<b>3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG</b>	<b>8</b>
<b>4. LITERATURÜBERSICHT</b>	<b>10</b>
4.1. Border-Disease	10
4.2. Border-Disease-Virus	10
4.2.1. Taxonomie	10
4.2.2. Struktur	12
4.2.3. Tenazität und Überlebensfähigkeit	12
4.2.4. Speziesspezifität und Interspeziesübertragung	12
4.3. Isolierung, Nachweis und Typisierung ruminanter Pestiviren	17
4.3.1. Isolierung ruminanter Pestiviren	17
4.3.2. Nachweis und Typisierung ruminanter Pestiviren	18
4.4. Epidemiologie der Border-Disease	19
4.4.1. Vorkommen und Verbreitung der Border-Disease	19
4.4.2. Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung von Pestiviren	19
4.5. Klinik und Pathogenese der Border-Disease	20
4.6. Pathologisch-anatomische Befunde bei der Border-Disease	22
4.7. Bedeutung der Alpung bei der Verbreitung ruminanter Pestiviren	22
4.8. Das schweizerische BVD-Bekämpfungsprogramm	22
<b>5. MATERIAL UND METHODIK</b>	<b>24</b>
5.1. Beschreibung der Alpen	24
5.1.1. Alp A (Alp Aberen)	24
5.1.2. Alp B (Arni-Hohmad)	25
5.1.3. Alp C (Hirteverwaltung Surenen/Blacken)	25
5.1.4. Alp D (Hirteverwaltung Matten)	26
5.2. Gesamtpopulation	27
5.2.1. Gesamtpopulation der Schafe	27
5.2.2. Gesamtpopulation der Rinder	27
5.2.2.1. Altersverteilung auf den einzelnen Alpen	27
5.2.2.2. Trächtige Rinder	28
5.3. Blutentnahmen	29

5.3.1. Blutentnahme bei den Schafen	29
5.3.2. Blutentnahme bei den Rindern	29
5.4. Blutuntersuchungen	30
5.4.1. Nachweis viraler RNA im Blut der Schafe	30
5.4.2. Serologische Untersuchung mittels ELISA	31
5.4.3. Serologische Untersuchung mittels Serumneutralisation	32
5.5. Statistik	33
5.6. Beteiligte Institutionen	34
<b>6. ERGEBNISSE</b>	<b>35</b>
6.1. Virusprävalenz bei den Schafen	35
6.2. Antikörperstatus der Rinder vor der Alpung	35
6.2.1. Übersicht	35
6.2.2. Seroprävalenz in Abhängigkeit vom Alter	36
6.2.3. Seroprävalenz bei den trächtigen Rindern	37
6.2.4. Herdenseroprävalenz	37
6.3. Antikörperstatus der Rinder nach der Alpung	37
6.3.1. ELISA	37
6.3.2. Serumneutralisationstest (SNT)	38
6.3.3. Serokonversionsrate (ELISA)	39
6.4. Verlauf der Trächtigkeit bei Rindern mit Serokonversion	39
6.5. Zeit von der ersten Probenentnahme bis zum Alpauftrieb	40
6.6. Zeit vom Alpabtrieb bis zur zweiten Probenentnahme	40
6.7. Alpdauer	41
6.8. Aborte und Totgeburten	41
6.9. Geburt persistent infizierter Kälber	42
6.10. Kontakte zu Schafen vor bzw. nach der Alpung	42
<b>7. DISKUSSION</b>	<b>44</b>
7.1. Bedeutung der Alpung in der Schweiz	44
7.2. Virusprävalenz der Schafe	44
7.3. Seroprävalenz der Rinder vor der Alpung	45
7.4. Serologische Untersuchungen	46
7.5. Serokonversionen	46
7.5.1. Übersicht	46
7.5.2. Nichterfassen persistent infizierter Rinder bzw. Schafe	47
7.5.3. Transient virämische Rinder bzw. Schafe	48

7.5.4. Ansteckungen vor dem Alpauftrieb	49
7.5.5. Ansteckungen nach dem Alpabtrieb	50
7.5.6. Frühgeburten, Geburten und Aborte virämischer Kälber auf der Alp	50
7.5.7. Infektionen durch Wildwiederkäuer	51
7.6. Bedeutung der einzelnen Infektionsquellen	51
7.7. Serokonversionsrate	52
7.8. Konsequenzen für die BVD-Bekämpfung in der Schweiz	53
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>55</b>
<b>9. LEBENSLAUF</b>	<b>63</b>
<b>10. DANKSAGUNG</b>	<b>64</b>
<b>11. ANHANG</b>	<b>66</b>

## **1. ZUSAMMENFASSUNG**

Das Ziel dieser Arbeit war es, abzuklären, ob das Border-Disease-Virus (BD-Virus, BDV) während der gemeinsamen Alpung von Schafen und Rindern auf das Rind übertragen werden kann und ob derart seronegative Rinder serokonvertieren. Dazu wurden die auf den 4 Alpen A, B, C und D zur Sömmierung angemeldeten 1170 Schafe mittels RT-PCR auf BD-Virus und die 923 Rinder serologisch auf Pestivirus-Antikörper untersucht. Die Schafe und Rinder wurden während durchschnittlich 88.1 Tagen gemeinsam geweidet. Bei 8 Schafen, die alle auf der Alp C gesömmert wurden, konnte in den Blutproben BD-Virus nachgewiesen werden; bei 5 davon handelte es sich aufgrund des hohen Virustiters vermutlich um persistent infizierte Schafe. Von den 923 untersuchten Rindern waren vor der Alpung 396 Rinder seronegativ getestet worden. Diese Tiere wurden nach der Alpung mittels ELISA erneut untersucht und bei 52 Rindern wurden dabei Pestivirus-Antikörper im Blut nachgewiesen, bei 47 Rindern lieferte der ELISA ein verdächtiges Resultat. Rinder, welche zusammen mit den pi-Schafen auf der Alp C gesömmert wurden, serokonvertierten signifikant häufiger. Die Serokonversionsrate (ELISA) betrug auf der Alp A 1.5 %, auf der Alp B 8.7 %, auf der Alp C 16.7 % und auf der Alp D 14.3 %. Insgesamt lag sie bei 13.1 %. Von den 99 im ELISA positiven oder verdächtigen Rindern konnte in 25 Fällen die Spezifität der Antikörper mittels SNT bestimmt werden. Aufgrund der SNT-Untersuchung galt eine Infektion mit dem BDV bei 10 Rindern als erwiesen und bei 8 Rindern wurde sie vermutet. Im Bezug auf BVDV wurde eine Infektion bei 4 Rindern nachgewiesen und bei 3 Rindern vermutet.

Bei 10 von 83 trächtigen, initial seronegativen Rindern kam es im Verlauf der Sömmierung zu einer Serokonversion. 7 Rinder brachten in der Folge gesunde, virusnegative Kälber zur Welt. Ein Rind, welches zu Beginn der Sömmierung weniger als 4 Monate trächtig war und im Verlauf der Sömmierung Antikörper gegenüber BVDV bildete, brachte ein viruspositives Kalb zur Welt und ein weiteres

Rind, welches zu Beginn der Sömmerung ebenfalls weniger als 4 Monate trächtig war, serokonvertierte gegenüber BDV und abortierte während der Sömmerungszeit. Es konnten keine persistent mit dem BDV infizierten Kälber gefunden werden.

Trotz der geringen Kontaktintensität und -dauer wiesen 18 vor der Alpung seronegative Rinder nach der gemeinsamen Sömmerung mit Schafen höhere Titer gegen BDV als gegen BVDV auf, was für eine Infektion mit dem BD Virus sprach. Dies zeigt, dass die gemeinsame Haltung und Sömmerung von Schafen und Rindern zumindest einen Einfluss auf die geplante serologische Überwachung der BVD-Freiheit im Rahmen des nationalen Eradikationsprogrammes haben könnte. Für einen langfristigen Erfolg der BVD-Eradikation ist es äusserst wichtig, abzuklären, ob sich das BD Virus wirklich in der Rinderpopulation etablieren (pi-Kälber) und Infektionsketten bilden kann.

## **2. SUMMARY**

The goal of this study was to determine whether Border disease virus (BDV) can be transmitted from sheep to cattle during communal pasturing and whether seroconversion occurs in seronegative cattle. Before the start of communal pasturing on four different alps (A, B, C and D), 1170 sheep were tested for pestivirus using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), and 923 cattle were tested for serum antibodies to pestiviruses. The sheep and cattle were pastured together for an average of 88.1 days. Before communal pasturing, BDV was detected in eight sheep on alp C; based on the high viral load five of these were assumed to be persistently-infected sheep. Of the 923 cattle tested before communal pasturing, 396 were seronegative for pestivirus. At the end of communal pasturing, ELISA testing of the previously negative cattle revealed 99 with antibodies to pestivirus. In cattle that had been in contact with BDV-infected sheep an alp C seroconversion occurred significantly more often. The overall incidence of seroconversion (ELISA) was 13.1 %; For alps A, B, C and D the incidences were 1.5 %, 8.7 %, 16.7 % and 14.3 %, respectively. In 25 of these, serum neutralisation testing was carried out to determine the specificity of the antibodies infection with BDV was confirmed in 10 cases and appeared very likely in 8 other. Confirmed BVDV infections occurred in four cases and appeared very likely in three others.

Of 83 pregnant and initially seronegative cattle, seroconversion occurred in 10 during communal pasturing. 7 of the 10 gave birth to healthy virus-negative calves. One cow, which was less than four months pregnant at the start of contact with the sheep and developed antibodies to BVDV during communal pasturing, gave birth to a virus-positive calf. Another cow, which was also less than four months pregnant at the start of the study, became seropositive to BDV and aborted during pasturing. There were no calves born persistently infected with BDV.

Although there was a short duration and low intensity of contact during communal pasturing, seroconversion to BDV occurred in 18 cattle. This means that commu-

nal pasturing of sheep and cattle may pose a risk to the eradication of BVDV in Switzerland.

### **3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG**

Pestiviren sind in der Wiederkäuerpopulation weit verbreitet. Beim Rind ist es das Bovine-Virus-Diarrhoe-Virus (BVD-Virus), beim Schaf das Border-Disease-Virus (BD-Virus). Es ist bekannt, dass Pestiviren die Speziesbarrieren durchbrechen können und dass es zu gegenseitigen Infektionen zwischen Rind und Schaf kommen kann (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELAK, 1994; CAMPELL et al., 1995; PATON et al., 1997). Die Interspeziesübertragung scheint unter natürlichen Bedingungen in Richtung vom Rind auf das Schaf besonders ausgeprägt zu sein (LØKEN, 1995a). Bis anhin ging man davon aus, dass persistent infizierte Rinder in vielen Gegenden das wichtigste Virusreservoir für Schafe darstellen. Es existieren nur wenige Hinweise, dass die Infektion auch in umgekehrter Richtung vom Schaf auf das Rind übertragen wird (PATON et al., 1997; KRAMETTER-FRÖTSCHER, 2008b; REICHLE, 2008). Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, dass das Border-Disease-Virus bei gemeinsamer Haltung von Rindern und persistent infizierten Schafen auch vom Schaf auf das Rind übertragen werden kann (KRAMETTER-FRÖTSCHER, 2008b; REICHLE, 2009). Im Jahr 2007 wurden in Grossbritannien erstmals drei Tiere der Rindergattung beschrieben, die persistent mit dem Border-Disease-Virus infiziert waren (CRANWELL et al., 2007). Da die Seroprävalenz von Border-Disease beim Schaf in der Schweiz beachtlich ist (20 % in Herdebuchbetrieben und 65 % in grossen, gemischten Herden; SCHALLER et al., 2000), ist davon auszugehen, dass auch pi-Tiere existieren, welche die Infektion weiterverbreiten. Da nun, wie 2008 initiiert, BVD in der Schweiz ausgerottet wird, gewinnt das Schaf als Pestivirus-Infektionsquelle möglicherweise an Bedeutung, vor allem dann, wenn Schafe, Ziegen und Rinder zusammen geweidet, gealpt oder im Stall gehalten werden. Es wird vermutet, dass die Alpung ähnlich wie bei der Verbreitung der BVD/MD eine Rolle bei der Übertragung des BD-Virus vom Schaf auf das Rind spielen könnte und dass es bei Infektion von seronegativen Rindern zum Abort oder zur Geburt von persistent mit

BD-Virus infizierten Kälbern kommen könnte. Die Bedeutung des Schafs bei der Übertragung von Pestiviren auf das Rind und die Ziege ist deshalb nicht nur von wissenschaftlichem Interesse, sondern auch von grosser praktischer Relevanz.

Das Ziel der Dissertation ist es, abzuklären, ob das BD-Virus unter natürlichen Bedingungen bei gemeinsamer Alpung von Schafen und Rindern auf das Rind übertragen werden kann und ob so infizierte seronegative Rinder persistent mit BD-Virus infizierte Kälber zur Welt bringen.

Die Dissertation soll insbesondere die folgenden Untersuchungen umfassen.

1. Abklärung des Pestivirus-Status von Schafen vor der Alpung durch virologische Untersuchung.
2. Abklärung des serologischen Status von Rindern in Bezug auf Pestivirus-Antikörper vor der Alpung. Mit dieser Abklärung soll untersucht werden, welche Rinder für BD-Virus tatsächlich empfänglich, d. h. seronegativ sind. Rinder, welche nicht bereits im Rahmen der BVD-Eradikation negativ getestet wurden, müssten zusätzlich auf Virus untersucht werden.
3. Serologische Untersuchung der gealpten Rinder nach der Alpung.
4. Serologische und virologische Untersuchung der nach der Alpung geborenen Kälber.
5. Erfassung der embryonalen Verluste.

## **4. LITERATURÜBERSICHT**

### **4.1. Border-Disease**

Die Border-Disease (BD) entsteht infolge einer kongenitalen Infektion von Schafen und gelegentlich auch von Ziegen mit dem Border-Disease-Virus (CARLSSON, 1991; THABTI et al., 2002). Ein erster Bericht über die Border-Disease stammt aus der Grenzregion ("border regions") zwischen England und Wales (HUGHES et al., 1959), was der Erkrankung und dem zugrundeliegenden Virus den Namen gab. Bald wurde erkannt, dass die Border-Disease auf der ganzen Welt auftritt. Mittlerweile wurde sie vielfach beschrieben und es existieren mehrere Übersichtsartikel, welche den neuesten Erkenntnisstand zusammenfassen (LØKEN, 1995a; BOSTEDT und DEDIÉ, 1996; NETTLETON et al., 1998; BRAUN et al., 2002). Da betroffene Lämmer oft tonisch-klonische Krämpfe aufweisen und das Vlies haarig gekräuselt ist, wird die Krankheit auch "Hairy Shaker Disease" genannt (SAWYER, 1992).

### **4.2. Border-Disease-Virus**

#### **4.2.1. Taxonomie**

Ursprünglich wurde das Border-Disease-Virus (BDV) der Familie der Togaviridae zugeteilt (SAWYER, 1992). Heute bildet es zusammen mit den Subtypen 1 und 2 des Bovinen Virusdiarrhoe Virus (BVDV) und dem Virus der klassischen bzw. europäischen Schweinepest (CSFV/ESPV) das Genus Pestivirus. Die Genera Pestivirus, Flavivirus und Hepatitis-C-Virus bilden die Familie der Flaviviridae (THABTI et al., 2002). In der Schweiz wurde das BDV erstmals 2001 isoliert und als CH"r1292"(01) bezeichnet (BRAUN et al., 2002).

Das BDV und das BVDV bilden die Gruppe der ruminanten Pestiviren. Diese sind wichtige Pathogene, welche die Wiederkäuerpopulation auf der ganzen Welt infizieren (NETTLETON und ENTRICAN, 1995) und zu massiven wirtschaftlichen Verlusten in der Landwirtschaft führen können.

Bei den ruminanten Pestiviren handelt es sich um genetisch sehr heterogene Viren (Abb. 1). Mehreren Autoren gelang es durch genetische Charakterisierung von Isolaten, die grosse Diversität ruminanter Pestiviren aufzuzeigen (VILČEK et al., 2004; STALDER et al., 2005; JACKOVA et al., 2008), wobei die Border Disease Viren zurzeit in bis zu 7 genetische Untergruppen unterteilt werden können (DUBOIS et al., 2008; OGUZOGLU et al., 2009). In der Schweiz wurden bisher BD-Viren der Gruppe BDV-3 und Swiss-BDV gefunden (STALDER et al., 2005; REICHERT, 2009).

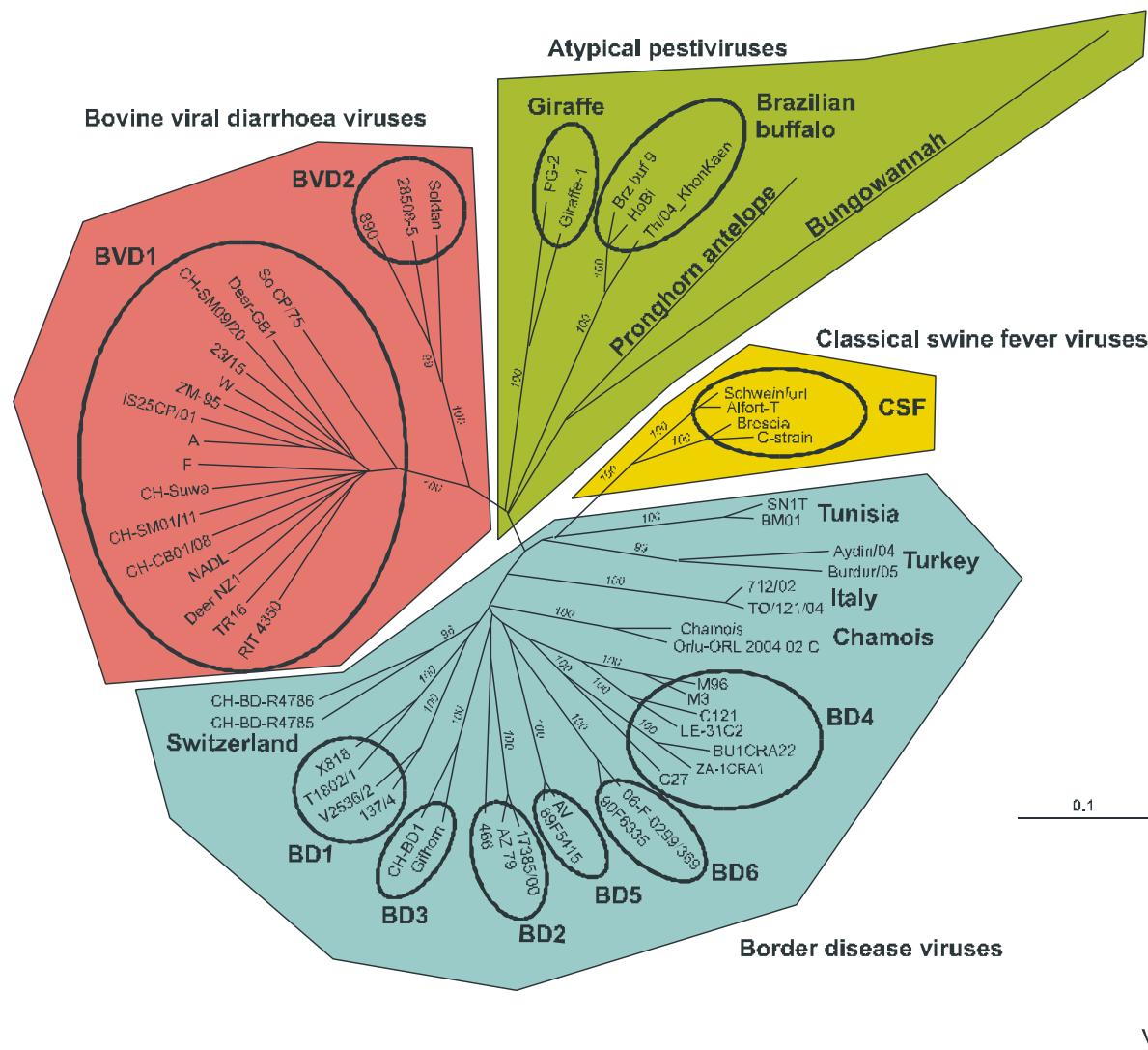


Abb. 1: Phylogenetische Analyse und Klassifikation der Pestiviren basierend auf der für das Virusprotein N<sup>pro</sup>-kodierenden Sequenz (PETERHANS et al., 2010).

#### **4.2.2. Struktur**

Auf die Struktur der ruminanten Pestiviren wurde bereits in der Dissertation von REICHERT (2009) ausführlich eingegangen.

#### **4.2.3. Tenazität und Überlebensfähigkeit**

Pestiviren weisen eine geringe Tenazität auf und werden bei Temperaturen von 37 °C innert vier Tagen sowie durch alle gängigen Desinfektionsmittel inaktiviert (WEISS et al., 1994).

#### **4.2.4. Speziesspezifität und Interspeziesübertragung**

Das Wirtsspektrum ruminanter Pestiviren ist sehr breit. Ursprünglich wurden die Pestiviren der Wiederkäuer, das BVDV Typ 1 und 2 sowie das BDV in Abhängigkeit von der Tierart klassifiziert, aus welcher sie isoliert werden konnten. Vom Schaf isolierte Pestiviren wurden demnach als Border-Disease-Virus angesprochen, solche aus Rinderisolaten als das Virus der Bovinen Virusdiarrhoe (CARLSSON, 1991; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007a). Mittels der heutigen Sequenzierungsmöglichkeiten konnte jedoch gezeigt werden, dass ruminante Pestiviren nicht wirtsspezifisch sind (PATON et al., 1997). So wurden nebst BDV auch BVDV-1 und -2 Viren aus Schafen isoliert (VILČEK et al., 1997). Natürliche Infektionen mit ruminanten Pestiviren sind bei einer grossen Anzahl von Spezies bekannt. Vor allem die BVD Viren scheinen die Speziesbarriere relativ leicht überschreiten zu können und es wurden bereits bei einer Vielzahl von domestizierten und wilden Paarhufern Antikörper und teilweise auch Virus nachgewiesen. Damit sich das Virus aber in einer Population etablieren und halten kann, müssen lebensfähige pi-Tiere generiert werden (LØKEN, 1995b).

#### **Übertragung ruminanter Pestiviren vom Rind auf den kleinen Wiederkäuer**

In mehreren Ausbrüchen von Border-Disease in Schafherden konnten persistent mit dem BVDV infizierte Rinder als Infektionsquelle ermittelt werden (CARLS-

SON, 1991; CAMPELL et al., 1995). Feldversuche bestätigten die Übertragung des BVDV von infizierten Rindern auf Schafe: Fünf trächtige, seronegative Auen, welche während elf Tagen engen Kontakt zu einem persistent infizierten Rind hatten, gebaren von Border-Disease betroffene, viruspositive Lämmer (CARLSSON, 1991). Da Rinder eine sehr viel höhere Prävalenz persistent infizierter Tiere aufweisen als kleine Wiederkäuer, ist es nicht verwunderlich, dass Ausbrüche von Border-Disease häufig durch bovine Pestiviren verursacht werden (NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Dies bestätigen seroepidemiologische Untersuchungen, welche insbesondere hohe Antikörpertiter gegenüber BVDV Typ 1 bei seropositiven Schafen aufzeigten (GRAHAM et al., 2001; SCHLEINER et al., 2006; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007a). Bei Schafen, die Kontakt zu Rindern hatten, wurden signifikant höhere Seroprävalenzen gefunden (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007a). Dies untermauert die Bedeutung des Rindes bei der Verbreitung der Border-Disease beim Schaf. BVD kann unter natürlichen Bedingungen auch von Rindern auf Ziegen übertragen werden (BROADDUS et al., 2007). Nach einer natürlichen Infektion trächtiger Ziegen mit dem BVDV kam es zu einem signifikanten Anstieg der Abortrate (BROADDUS et al., 2009). Von anderen Autoren (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008a) wurde eine persistent mit dem BVD-Virus infizierte Ziege beschrieben. Das Tier war bis zum Alter von 9 Monaten klinisch unauffällig, begann dann aber kontinuierlich an Gewicht zu verlieren und starb schliesslich an einer schweren Lungenentzündung. Die Inter-speziesübertragung ruminanter Pestiviren scheint in der Richtung vom Rind auf die kleinen Wiederkäuer besonders ausgeprägt zu sein. Persistent infizierte, klinisch unauffällige Tiere kommen am häufigsten beim Rind, weniger häufig beim Schaf und selten bei anderen Wiederkäuern vor (LØKEN, 1995b). Damit ist der Infektionsdruck von Seiten des Rindes auf die kleinen Wiederkäuer am grössten. Auch scheinen Rinder die effizienteren Virusüberträger zu sein als andere Wiederkäuer (LØKEN, 1995b). Aufgrund der gegenseitigen Übertragung ruminanter Pestiviren zwischen einzelnen Spezies wurde empfohlen, die gemeinsame Haltung

von trächtigen Schafen mit Rindern bzw. von trächtigen Rindern mit Schafen zu vermeiden (NETTLETON und ENTRICAN, 1995).

### **Übertragung ruminanter Pestiviren vom kleinen Wiederkäuer auf das Rind**

Persistent mit Pestiviren infizierte Lämmer stellen eine Infektionsquelle für Rinder dar (BARLOW et al., 1980). So hielten BARLOW et al. (1980) 2 Kälber während einem Monat gemeinsam mit 6 persistent infizierten Lämmern. Innert 14 Tagen kam es bei den beiden Kälbern zu einer Serokonversion. CARLSSON und BELAK (1994) hielten hochträchtige Rinder während drei Monaten gemeinsam mit persistent infizierten Schafen. Dies führte bei allen Rindern zur Serokonversion. Die danach geborenen Kälber, welche ebenfalls seropositiv waren, waren jedoch gesund, da die Infektion während der späten Trächtigkeit stattfand. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Virus in der Lage war, die bovine Plazenta zu überwinden. In einem anderen Fall (LØKEN et al., 1991) verursachte ein Border-Disease-Ausbruch bei Ziegen, der durch einen mit Pestiviren kontaminierten Lipengrind-Impfstoff ausgelöst worden war, erhebliche Fruchtbarkeitsprobleme. Bei den Rindern, die Kontakt zu den Ziegen hatten, kam es als Folge der Infektion bei allen Tieren zur Serokonversion und bei einer Kuh sogar zum Abort (LØKEN et al., 1991). In zahlreichen Feldstudien wurde gezeigt, dass die gemeinsame Haltung von Kälbern zusammen mit persistent mit dem BDV infizierten Schafen zu einer Serokonversion führte (BARLOW, 1980; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008b; REICHLE, 2009).

Ausbrüche von Border-Disease werden, wie bereits erwähnt, nicht nur durch persistent mit dem BVDV infizierte Rinder verursacht. Persistent mit dem BVDV infizierte Lämmer sind ebenfalls in der Lage, das BVDV wieder auf Tiere der Rindergattung zurück zu übertragen (PATON, 1997). Die von CARLSSON und BELÁK (1994) beschriebene Infektionskette nahm ihren Anfang bei einem persistent mit dem BVDV infizierten Kalb. Das Virus wurde durch das Kalb auf trächtige Schafe übertragen. Die, von diesen geborenen Lämmern waren persistent

virämisch und infizierten ihrerseits trächtige Rinder. In einer weiteren Untersuchung (PATON et al., 1995) stellte es sich heraus, dass die BVD-Viren mehr herden- als wirtsspezifisch sind und schnell zwischen Schafen und Rindern übertragen werden.

### **Nachweis des Border-Disease-Virus beim Rind**

Bisher gelang es bereits mehreren Autorengruppen das Border-Disease-Virus in bovinen Isolaten nachzuweisen (BECHER et al., 1997; CRANWELL et al., 2007; HORNBERG et al., 2009; STRONG et al., 2010; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2010). Eine phylogenetische Analyse auf molekulargenetischer Ebene ermöglichte den Nachweis des Border-Disease-Virus bei einem Rind in Australien (BECHER et al., 1997). Die genetische Analyse boviner Blutproben aus Österreich, gesammelt im Rahmen des BVD-Eradikationsprogrammes, ergab bei einem Rind die Infektion mit dem BDV-3. Es handelte sich dabei um ein Stierkalb, welches im Alter von 3 Monaten positiv auf Pestivirus-Antigen getestet und anschliessend geschlachtet wurde. Laut dem Besitzer war das Kalb gesund und zeigte keine klinischen Symptome (SCHÖPF, persönliche Mitteilung). Das Kalb wurde in der Nachbarschaft zu Schafen gehalten, und es wurde deshalb vermutet, dass die Übertragung des Virus vom Schaf auf das Rind in diesem Fall den wahrscheinlichsten Infektionsweg darstellte (HORNBERG et al., 2009). Bei der Untersuchung von 1400 Pestivirus-Antigen (ELISA) positiven Blutproben von Rindern aus England und Wales auf BVDV-1, BVDV-2 und BDV konnte in 5 Fällen BDV nachgewiesen werden (CRANWELL et al., 2007; STRONG et al., 2010). In den ersten beiden Fällen handelte es sich um zwei Rinder (13 Monate bzw. 2.5 Jahre alt), die beide an Durchfall erkrankt waren. Im dritten Fall war ein kleines und schwaches, neugeborenes Kalb, welches unmittelbar nach der Geburt einging, betroffen. Zwei weitere Rinder zeigten Durchfall und Kümmern. Kürzlich konnte das BDV aus einem 150 Tage alten Rinderfetus isoliert werden (VLA DISEASE SURVEILLANCE REPORT, 2009). Das Muttertier hatte keinen Kontakt zu Scha-

fen und es sollte abgeklärt werden, ob ein persistent mit dem BD-Virus infiziertes Rind in der Herde vorhanden war. Die gemeinsame Haltung von 8 frühträchtigen Rindern zusammen mit 9 persistent mit dem BDV infizierten Schafen führte bei 5 Rindern zu einem Abort, wobei in allen Aborten BD-Virus nachgewiesen werden konnte (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2010). Von den drei lebend geborenen Kälbern war eines während den ersten 2 Lebenswochen Virus-positiv und präkolostral Antikörper-negativ gewesen.

### **Ruminante Pestiviren bei Wildwiederkäuern und Neuweltkameliden**

Im Moment existieren noch keine Hinweise auf eine Ansteckung von Haustieren durch Wildtiere. Die hohen Prävalenzen persistent infizierter Tiere bei Haustieren scheinen eher eine Ansteckungsgefahr für Wildtierpopulationen darzustellen (VILČEK und NETTLETON, 2006). Es konnten jedoch bei 52 Wildwiederkäuerspezies Pestivirusinfektionen nachgewiesen werden. Aus diesem Grund kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass Wildwiederkäuer durch Rinder, Schafe oder Ziegen angesteckt werden können (NETTLETON, 1990). Epidemiologische Untersuchungen bei Wildwiederkäuern haben regional sehr unterschiedlich hohe Seroprävalenzen ergeben. Sehr niedrige Seroprävalenzen von unter 1 % gegenüber Pestiviren wurden in Österreich (KRAMETTER et al., 2004) und Dänemark (NIELSEN et al., 2000) gefunden. Die Autoren führten das vereinzelte Auftreten seropositiver Tiere auf den Kontakt zu domestizierten Wiederkäuern zurück. Bei Gämsen in den italienischen Alpen wurde eine Seroprävalenz von 25.5 % nachgewiesen (OLDE RIEKERINK et al., 2005). Auch beim norwegischen Rotwild (LILLEHAUG et al., 2003) und bei Gämsen in den spanischen Pyrenäen (MARCO et al., 2008) wurden hohe Seroprävalenzen von 12.3 % bzw. 71.9 % festgestellt. Die hohe Seroprävalenz lässt darauf schliessen, dass Pestiviren in diesen Wildwiederkäuerpopulationen endemisch sind. Auch in den französischen Pyrenäen kommt BDV seit 1995 endemisch vor (PIOZ et al., 2007). In diesem Gebiet betrug die Seroprävalenz 70.3 % und die Virusprävalenz 10.2 %. Die meisten

der untersuchten viruspositiven Tiere waren jünger als 2 Jahre und vermutlich persistent mit dem Virus infiziert. Ein schwerer Krankheitsausbruch bei Gämsen in den spanischen Pyrenäen im Jahr 2000/2001 wurde auf eine Infektion mit einem Pestivirus zurückgeführt (MARCO et al., 2007). Die Epizootie dezimierte die Gämspopulation um 42 %. Betroffene Tiere zeigten Kümmern, Fell- und Hautveränderungen sowie ZNS-Symptome. Bei 19 von 20 erkrankten Tieren gelang der Nachweis von Pestiviren. Als Infektionsquelle wurden Schafe vermutet, welche im Sommer Wiesen und Wasserstellen mit dem Wild teilten. Aufgrund der weiten Verbreitung ruminanter Pestiviren in diversen Wildtierpopulationen wurden auch bei diesen Virusreservoirs vermutet (LØKEN, 1995b). Es ist aber kaum etwas bekannt darüber, ob es auch beim Wild klinisch unauffällige Virusträger gibt. Da in der Regel nur Proben von erlegten oder verendeten Tieren untersucht wurden, kann meist nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich um transient oder persistent infizierte Tiere handelte. Bei der Untersuchung von 5597 Wildwiederkäuern, die während der Jagd erlegt wurden, wurde ein Pestivirus positiver, adulter Maultierhirsch (*Odocoileus hemionus*) gefunden, der aufgrund der immunhistochemischen Gewebe-Untersuchung mit hoher Wahrscheinlichkeit persistent infiziert war (DUNCAN et al., 2008). Die Tatsache, dass in dieser Studie erwachsene Tiere überrepräsentiert waren, könnte die tiefe Prävalenz viruspositiver Tiere erklären. Die Ergebnisse dieser Untersuchung weisen jedoch darauf hin, dass auch bei natürlichen Infektionen von Wildwiederkäuern persistent infizierte Tiere entstehen können.

### **4.3. Isolierung, Nachweis und Typisierung ruminanter Pestiviren**

#### **4.3.1. Isolierung ruminanter Pestiviren**

Die Möglichkeiten zur Isolierung ruminanter Pestiviren wurden in einer kürzlich erschienenen Dissertation (REICHERT, 2009) beschrieben.

#### **4.3.2. Nachweis und Typisierung ruminanter Pestiviren**

Die konventionelle Diagnosestellung der Infektion mit ruminanten Pestiviren basiert auf Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assays (ELISAs; WILLOUGHBY et al., 2006), mit denen Pestivirus-Antikörper oder -Antigene nachgewiesen werden, sowie auf molekularbiologischen Nachweismethoden (RT-PCR) und der Virusisolierung. Ziel der Virusisolierung ist es, infektiöse Pestiviren im Blut persistent und selten auch transient infizierter Tiere diagnostizieren zu können. Im Gegensatz zum RT-PCR-Nachweis können sowohl beim ELISA als auch bei der Virusisolierung kolostrale Antikörper die Anwesenheit persistent virusausscheidender Tiere maskieren.

Da keine routinediagnostischen Nachweismethoden für den spezifischen Nachweis von BDV existieren, werden in der Regel Diagnostika für den BVDV-Nachweis verwendet. Um das BDV und das BVDV sowie seine Typen 1 und 2 in ovinen bzw. bovinen Probensammlungen sicher nachweisen und zwischen ihnen differenzieren zu können, wurde ein real time RT-PCR-System mit spezifischen Primern und Sonden für den gezielten Nachweis der verschiedenen Pestivirus-Spezies entwickelt (WILLOUGHBY et al., 2006). Auch mittels Genomsequenzierung können die Viren sicher differenziert werden. Da auch der Antikörper-Nachweis mittels ELISA in der Regel nicht spezifisch für BDV-Antikörper ist, muss der aufwändiger Serumneutralisationstest zur Differenzierung der Antikörper herangezogen werden.

Um bei einem Virusnachweis im Blut transiente von persistenten Infektionen differenzieren zu können, sollte der Verdacht einer persistenten Virämie durch Wiederholung der Blutuntersuchung nach drei Wochen bestätigt bzw. verworfen werden (NETTLETON et al., 1998).

Zur Identifikation persistent infizierter Rinder wird heute routinemässig die immunhistochemische Untersuchung von Hautbiopsien angewendet. Diese Methode ist sehr zuverlässig, da Virus in Hautzellen nur bei persistent und nicht bei transient infizierten Tieren nachgewiesen werden kann (HILBE et al., 2007b).

## **4.4. Epidemiologie der Border-Disease**

### **4.4.1. Vorkommen und Verbreitung der Border-Disease**

Die Border-Disease kommt weltweit vor (NETTLETON und ENTRICAN, 1995). In einigen Regionen ist die Erkrankung endemisch. Die Übertragung ist sowohl vertikal vom Muttertier auf die Nachkommen als auch horizontal von Tier zu Tier möglich (BARLOW et al., 1980). Von grösster epidemiologischer Bedeutung für die Verbreitung des Virus sind persistent virämische, lebenslange Dauerausscheider. Sie stellen eine Infektionsquelle für die horizontale und die vertikale Übertragung dar. Ein persistent infiziertes Tier wird immer auch persistent infizierte Nachkommen zur Welt bringen (SAWYER, 1992). In schweizerischen Herdebuchbetrieben konnte eine individuelle Seroprävalenz von 20 % sowie eine Herdenseroprävalenz von 67 % ermittelt werden (SCHALLER et al., 2000). Die Seroprävalenz in grossen, z.T. gemischtrassigen Herden betrug im Durchschnitt 65 %.

### **4.4.2. Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung von Pestiviren**

Seroepidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass weltweit zwischen 19 und 89 % der Rinder Träger von Pestivirus-Antikörpern sind (HOUË, 1995). In der schweizerischen Rinderpopulation wurden Seroprävalenzen von 57.6 % (RÜFENACHT et al., 2000), 60 bis 80 % (STALDER et. al, 2005) und 83.7 % (BRAUN et al., 1997) nachgewiesen. Untersuchungen in Wildwiederkäuerpopulationen ergaben eine je nach Region unterschiedlich hohe Seroprävalenz von unter 1 % in Dänemark (NIELSEN et al. 2000) und Österreich (KRAMETTER et al. 2004), 12.3 % in Norwegen (LILLEHAUG et al., 2003), 25.5 % in Italien (OLDE RIEKERINK et al. 2005) und 71.9 % in Spanien (MARCO et al., 2007).

Seroprävalenzstudien in Schafpopulationen haben gezeigt, dass der Anteil an antikörperpositiven Tieren in den einzelnen Regionen Europas teilweise sehr hoch ist (SCHLEINER et al., 2006). Basierend auf Ergebnissen von Prävalenzstudien aus verschiedenen Ländern berichteten NETTLETON und WILLOUGHBY (2007)

über eine Seroprävalenz von 5 bis 50 %. Die Seroprävalenz betrug in Nordirland 5.3 % (GRAHAM et al., 2001), in England und Wales 10.8 % (SANDS und HARKNESS, 1978), in Deutschland 30.2 % (FROST et al., 1991), in der Schweiz zwischen 20 % und 65 % (SCHALLER et al., 2000) und in Spanien 83 % (VALDAZO-GONZÁLEZ et al., 2006). Eine aktuelle Untersuchung aus der Schweiz bei 5059 Schafen ergab eine individuelle Seroprävalenz von 16.1 % und eine Herdenseroprävalenz von 30.1 % (DANUSER et al., 2009). Bei der Differenzierung der Antikörper mittels Serumneutralisationstests (SNT) wurde festgestellt, dass 56.1 % der Schafe Antikörper gegen BDV und 12.9 % gegen BVDV aufwiesen. Bei 31.0 % konnte die Spezifität nicht genau bestimmt werden. Bei 503 Ziegen wurde eine Seroprävalenz von 25.4 % ermittelt, wobei 23.4 % der Tiere Antikörper gegen BDV und 10.2 % gegen BVDV aufwiesen. In einer österreichischen Untersuchung zur Verbreitung von Pestiviren wurde bei Schafen eine Herdenseroprävalenz von 62.9 % und eine individuelle Seroprävalenz von 29.4% nachgewiesen (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007a). Dabei ergaben sich die höchsten Titer für das BVDV-1, gefolgt von BDV und BVDV-2. Die Seroprävalenz bei Schafen war in Betrieben, in denen zusätzlich Rinder gehalten wurden, signifikant höher als in Betrieben ohne Rinder. Im Weiteren wurden regionale Unterschiede festgestellt. Die höchsten Prävalenzen wurden in Regionen gefunden, in denen die gemeinsame Alpung von Rindern, Schafen und Ziegen eine grosse Rolle spielt.

#### **4.5. Klinik und Pathogenese der Border-Disease**

In mehreren Experimenten wurde gezeigt, dass Pestiviren sehr leicht horizontal übertragen werden können (CARLSSON, 1991; McGOWAN et al., 1993). Dies geschieht natürlicherweise auf oronasalem Weg (NETTLETON et al., 1998). Bei nicht trächtigen Muttertieren verläuft eine Infektion klinisch inapparent; sie kann aber auch mit Unfruchtbarkeit einhergehen (BOSTEDT und DEDIÉ, 1996).

Bei einer Infektion trächtiger Schafe erfolgt über die Plazenta eine vertikale Virusübertragung auf den Fetus. Der Fetus ist für die Infektion zwischen dem 16. und 90. Tag der Gravidität empfänglich (SAWYER, 1992). Eine Infektion des Muttertiers in diesem Zeitraum kann zu embryonalem Fruchttod, Abort, Totgeburt oder zur Geburt lebensschwacher, persistent mit dem BDV infizierter Lämmern führen. Der Erfolg im Infektionsgeschehen von Pestiviren resultiert aus der Fähigkeit des Virus, die Plazenta zu passieren und im sich entwickelnden Fetus eine persistente Infektion hervorzurufen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Persistent infizierte Tiere sind virämisch, antikörpernegativ und scheiden permanent BD-Virus aus. Solche Tiere gelten als hauptsächliche Infektionsquelle und sind in epidemiologischer Hinsicht von grösster Bedeutung für die Virusverbreitung (NETTLETON et al., 1998). Bei persistent infizierten Tieren ist die Virämie jederzeit nachweisbar. In den ersten beiden Monaten kann jedoch die Anwesenheit kolostraler Antikörper die Sensitivität des Virusnachweises verringern und bei der Blutuntersuchung zu einem falsch-negativen Ergebnis führen. Von Border-Disease betroffene Lämmer zeigen ein weites Spektrum an Symptomen wie haariges Vlies, klonische Muskelkrämpfe, Ataxie bis hin zur Unfähigkeit zu stehen, verzögertes Wachstum, skelettale Missbildungen und Kümmern (SAWYER et al., 1991). Persistent infizierte Schafe können aber auch über lange Zeit klinisch unauffällig sein (TERPSTRA, 1981; WOLDEHIWET und NETTLETON, 1991; WOLF und BÜTTNER, 1994). Die Überlebensraten solcher Neugeborener wurden als gering eingeschätzt (GARCÍA-PÉREZ et al., 2009); es wurden aber persistent infizierte Schafe beschrieben, die bis zu 66 Monate alt wurden (NETTLETON et al., 1992).

Gesunde, neugeborene und adulte Tiere, welche mit dem BDV in Kontakt kommen, zeigen nur milde oder keine klinischen Symptome (NETTLETON et al., 1998).

Weitere Ausführungen zur Klinik und Pathogenese der Border-Disease können der Dissertation von REICHERT (2009) entnommen werden.

#### **4.6. Pathologisch-anatomische Befunde bei der Border-Disease**

Die pathologisch-anatomischen Befunde von persistent infizierten Tieren mit Border-Disease wurden vor kurzem beschrieben (REICHERT, 2009).

#### **4.7. Bedeutung der Alpung bei der Verbreitung ruminanter Pestiviren**

Die gemeinsame Sömmerung von Wiederkäuern stellt einen wichtigen Teil der schweizerischen Nutztierhaltung dar. Dabei verbringen Rinder, Schafe und Ziegen unterschiedlicher Herkunft den Sommer auf voralpinen und alpinen Gemeinschaftsweiden. Das Zusammentreffen einer grossen Anzahl von Tieren erhöht die Wahrscheinlichkeit der Anwesenheit von persistent mit Pestiviren infizierten Tieren. Bei Rindern, welche zusammen mit persistent mit dem BVD-Virus infizierten Rindern gesömmert wurden, kam es zu einem signifikanten Ansteigen der Seroprävalenz (SCHÖNMANN, 1997). Die Prävalenz an persistent infizierten Kälbern war ebenfalls signifikant höher, wenn deren Mütter im vorangehenden Sommer gealpt worden waren (SIEGWART et al., 2006). Die zentrale Rolle der Alpung bei der Verbreitung von Pestiviren konnte auch auf österreichischen Schafalpen belegt werden (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007b). Die Seroprävalenz stieg während der Alpung signifikant von 67.6 auf 83 % an. Die Prävalenz persistent infizierter Schafe betrug in dieser Studie 0.83 %. Bei seroepidemiologischen Untersuchungen zur Verbreitung von Pestiviren in Österreich wiesen gealpte Schafe im Vergleich zu nicht gealpten sowohl auf Einzeltier- als auch auf Herdenbasis signifikant höhere Seroprävalenzen auf (SCHLEINER et al., 2006; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007a).

#### **4.8. Das schweizerische BVD-Bekämpfungsprogramm**

Seit dem Herbst 2007 gilt die Bovine Virus Diarrhoe in der Schweiz als auszurotende Seuche. Das schweizerische BVD-Eradikationsprogramm sieht vor, das BVD-Virus innert weniger Jahre aus der Rindviehpopulation zu eliminieren. Die gewählte Strategie basiert auf einer direkten Identifikation und Elimination der

persistent infizierten Tiere. Da die Sömmierung als zentraler Risikofaktor bei der Entstehung von persistent infizierten Tieren gilt, begann das Ausrottungsprogramm mit der Sömmerungsphase 2008. Allen noch nicht gekalbten Rindern wurde mittels einer Ohrstanze eine Hautprobe entnommen. Der Virusnachweis in den Hautproben erfolgte mittels Antigen-ELISA oder RT-PCR (ZIMMERLI et al., 2009). Rinder, die noch nie gekalbt hatten, durften nur gesömmert werden, wenn sie negativ auf das BVD-Virus getestet worden waren. Viele Kantone, darunter auch die Kantone Schwyz, Uri und Obwalden testeten freiwillig alle zur Sömmierung gebrachten Tiere, inklusive bereits gekalbter Rinder. Die nachfolgende Initialphase startete im Oktober 2008 und dauerte 3 Monate. Jedes in der Sömmerungsphase noch nicht untersuchte Tier der Rindergattung wurde individuell einem Virusnachweis unterzogen. Persistent infizierte Tiere mussten unmittelbar nach ihrer Identifikation ausgemerzt werden. Zudem bestand zwischen bereits getesteten und noch nicht getesteten Betrieben eine Verbringungssperre. In der bis ins Jahr 2011 laufenden Sekundärphase soll allen Kälbern innert 5 Tagen nach der Geburt mittels Ohrstanze eine Hautprobe entnommen und auf BVD-Virus untersucht werden. Viruspositive Kälber müssen euthanasiert werden. Alle trächtigen Rinder des betroffenen Betriebs sind bis zur Abkalbung für den Tierverkehr gesperrt. Ab 2011 soll die Seuchenfreiheit durch einen negativen Antikörper-Nachweis in der Milch erstlaktierender Kühe oder im Serum von Junggrindern dokumentiert werden. Da das Risiko einer Verbreitung des BDV durch kleine Wiederkäuer auf das Rind vom Bundesamt für Veterinärwesen als gering eingeschätzt wird ([www.bvet.admin.ch](http://www.bvet.admin.ch), Häufige Fragen zu BVD), sind kleine Wiederkäuer nicht in das nationale Bekämpfungsprogramm aufgenommen worden. Weitere Informationen können der Internetseite [www.bvet.admin.ch](http://www.bvet.admin.ch) entnommen werden.

## **5. MATERIAL UND METHODIK**

### **5.1. Beschreibung der Alpen**

Die Untersuchungen wurden auf 4 Alpen (A, B, C, D) in den Kantonen Schwyz, Uri und Obwalden während der Alpsaison 2008 durchgeführt (Tab. 1). Die Alpen lagen auf 1500 bis 2200 Meter über Meer (m. ü. M.). Die Grösse der Alpen A, B, C und D betrug 250, 200, 800 und 350 ha und die Bestossungsdauer betrug 95, 104, 90 und 86 Tage. Auf allen Alpen wurden Rinder und Schafe gemeinsam geweidet. Wildsichtungen durch die Alphirten fanden ebenfalls auf allen Alpen statt.

#### **5.1.1. Alp A (Alp Aberen)**

Die Alp A (Alp Aberen) lag am südlichen Ende des Wägitalersees im Kanton Schwyz und war im Besitz der Alpgenossenschaft Aberen-Oberalp. Die Weidefläche umfasste 250 ha. Die Alp war zwischen 1000 und 1900 m. ü. M. gelegen und gestaffelt. Gestaffelte Alpen bestehen aus mehreren Staffeln (=Alpgebäude und umgebende Weiden) auf unterschiedlichen Höhenlagen, meist 2 bis 3 Staffel. Zu Beginn der Alpsaison werden zuerst die Wiesen des untersten Staffels beweidet, Mitte Saison wird das Vieh in höhere Lagen gebracht um dann in den letzten Wochen der Alpsaison nochmals die untersten Lagen beweiden zu können. Im Jahr 2008 schickten 14 Landwirte 165 Rinder im Alter von 5 bis 104 Monaten sowie 126 Schafe zur Sömmerung. Die Schafe und Rinder hatten insbesondere während den ersten 3 Wochen der Alpung viel Kontakt, als sie sich die kleineren Weideflächen des unteren Staffels teilten. Danach fanden nur noch vereinzelte Kontakte zwischen den Schafen und Rindern statt. In der Alpsaison 2008 mussten aussergewöhnlich viele Rinder (60 Tiere) wegen Panaritium behandelt werden. Zwei Rinder stürzten im felsigen Gelände zu Tode. Ein Rind musste kurz nach Beginn der Alpung aufgrund einer Verletzung nach Hause geschickt werden. Die Alpung dauerte von 17. Juni bis zum 20. September (95 Tage). Die Landwirte konnten

ihre Rinder (meist hochträchtige) jedoch auch schon vor dem offiziellen Alpende nach Hause holen.

### **5.1.2. Alp B (Arni-Hohmad)**

Die Alp B (Arni-Hohmad) lag im Kanton Obwalden auf einer Höhe von 1500 bis 2000 m. ü. M. und war im Besitz der Korporation Giswil. Sie wies eine Fläche von 200 ha auf und war gestaffelt. Im Jahr 2008 wurde die Alp von 91 Rindern und 70 Schafen, welche 12 Landwirten gehörten, bestossen. Die Rinder waren zwischen 8 und 165 Monaten alt. Zwischen den Rindern und Schafen bestanden nur während 3 Wochen vereinzelte Kontakte; während der meisten Zeit waren die Schafe durch Zäune von den Rindern abgetrennt. Die Alpung dauerte vom 12. Juni bis zum 24. September (104 Tage). Nur ein Rind musste verletzungsbedingt bereits im Juli in den Heimbetrieb verstellt werden.

### **5.1.3. Alp C (Hirteverwaltung Surenen/Blacken)**

Die Alp C (Hirteverwaltung Surenen/Blacken) gehörte zu den grössten Rinderalpen der Schweiz und war auf 1200 bis 2300 m. ü. M. gelegen. Die Alp war Eigentum der Korporation Uri und befand sich auf dem Gebiet der Gemeinde Attinghausen (Kanton Uri). Die Fläche der Alp betrug 800 ha. Im Jahr 2008 wurden von 62 Landwirten 514 Rinder und 671 Schafe gesömmert. Die Rinder waren zwischen 5 und 164 Monaten alt. Generell hatten die Rinder und Schafe, die in den jeweiligen Bereichen der Alp geweidet wurden, während der gesamten Alpperiode vereinzelt bis viel Kontakt zueinander. Drei Rinder stürzten während des Sommers zu Tode, eines wurde vom Blitz erschlagen. Die Alpung dauerte vom 19. Juni bis zum 17. September. Es stand den Landwirten frei, einzelne Rinder bereits früher nach Hause zu nehmen.

#### 5.1.4. Alp D (Hirteverwaltung Matten)

Die Alp D (Hirteverwaltung Matten) war im Besitz der Korporation Uri und wurde von der Gemeinde Bürglen (Kanton Uri) bewirtschaftet. Die Alp lag auf einer Höhe von 1400 bis 2200 m. ü. M. Die Weidefläche betrug 350 ha. Im Jahr 2008 wurden von 33 Landwirten 153 Rinder im Alter von 8 bis 107 Monaten sowie 303 Schafe gesömmert. Während des Alpsommers kam es ständig zu vereinzelten Kontakten zwischen Schafen und Rindern. Die Alpung dauerte vom 26. Juni bis zum 20. September (86 Tage).

Tab. 1: Kennzahlen der Alpen A, B, C und D

Parameter	Alpen			
	A	B	C	D
	Aberen	Arni-Hohmad	Surenen/Blacken	Matten
Grösse (in Hektaren)	250	200	800	350
Dauer der Alpung (in Tagen)	95	104	90	86
Lage (m. ü. M.)	1000 – 1900	1500 – 2000	1200 – 2300	1400 – 2200
Anzahl Rinder	165	91	514	153
Anzahl Schafe	126	70	671	303
Anzahl Tierbesitzer	14	12	62	33
Kontaktmöglichkeiten zwischen Rindern und Schafen	Viel Kontakt während den ersten drei Wochen, vereinzelter Kontakt immer möglich	Vereinzelter Kontakt während drei Wochen	Vereinzelter bis viel Kontakt immer möglich	Vereinzelter Kontakt immer möglich

## **5.2. Gesamtpopulation**

### **5.2.1. Gesamtpopulation der Schafe**

Insgesamt wurden auf den 4 Alpen von 29 Landwirten 1170 Schafe gesömmert. Die Anzahl der von den einzelnen Landwirten zur Alpung geschickten Schafe variierte von 7 bis 300 Tiere mit einer durchschnittlichen Herdengrösse von 40.3 Schafen. Nur zwei Landwirte schickten sowohl Schafe als auch Rinder auf die betreffenden Alpen. Die Schafe gehörten überwiegend der Rasse Weisses Alpenschaf an. Die untersuchten Schafe entstammten allen Altersklassen.

### **5.2.2. Gesamtpopulation der Rinder**

Die 4 Alpherden umfassten insgesamt 923 Rinder von 94 Landwirten. 825 Rinder (89.4 %) gehörten der Schweizerischen Braunviehrasse, die restlichen 98 Rinder anderen Rassen an (43 Gebrauchskreuzungen, 23 Fleckvieh, 14 Limousin, 8 Charolais, 3 Angus und je 1 Aubrac, Grauvieh, Schottisches Hochlandrind und Holstein Friesian). Das Alter lag zwischen 5 und 165 Monaten ( $29.1 \pm 21.18$  Monate) und betrug bei 107 Rindern (12 %) weniger als 1 Jahr, bei 340 Rindern (37 %) 1 bis 2 Jahre, bei 333 Rindern (36 %) 2 bis 3 Jahre, bei 66 Rindern (7 %) 3 bis 4 Jahre und bei 77 Rindern (8 %) mehr als 4 Jahre.

Alle gealpten Rinder waren im Rahmen des schweizerischen BVD-Eradikationsprogrammes negativ auf Pestivirus-Antigen getestet worden (RT-PCR oder Antigen-ELISA aus Hautbiopsien).

#### **5.2.2.1. Altersverteilung auf den einzelnen Alpen**

Das durchschnittliche Alter der Rinder auf der Alp B war mit 37.9 Monaten signifikant höher ( $P < 0.05$ , Bonferroni/Dunn) als dasjenige der Rinder auf den übrigen Alpen, welches zwischen 23.4 und 29.6 Monaten variierte (Tab. 2). Der Anteil an unter 2 Jahre alten Rindern lag zwischen 35.2 % und 53.9 % und war auf der Alp B signifikant kleiner als auf den Alpen A und D. Das höhere Durchschnittsalter der Rinder auf der Alp B ist dadurch begründet, dass der Alphirte der Alp B sei-

nen gesamten Kuhbestand mitgenommen hat (ca. 40 Rinder), darunter auch viele ältere Tiere.

Tab. 2: Altersverteilung der Rinder auf den Alpen A, B, C und D

Alp	Durchschnittliches Alter in Monaten	Anzahl Tiere unter 2 Jahren
A (Aberen) (n = 165)	23.4 ± 12.38	89 (53.9 %)
B (Arni-Hohmad) (n = 91)	37.9 ± 30.73	32 (35.2 %)
C (Surenen/Blacken) (n = 514)	29.6 ± 22.00	245 (47.7 %)
D (Matten) (n = 153)	28.2 ± 16.70	81 (52.9 %)

### 5.2.2.2. Trächtige Rinder

Die Trächtigkeiten wurden vor der Alpung anamnestisch erfasst. Zum Zeitpunkt des Alpauftriebs wurden 373 Rinder für trächtig gehalten, was 40.4 % der gealpten Population entsprach. Bei 17 Rindern war der Trächtigkeitsstatus unbekannt. 64 der 373 trächtigen Rinder wurden auf der Alp A, 39 auf der Alp B, 216 auf der Alp C und 54 auf der Alp D gesömmert. Von den Rindern mit unbekanntem Trächtigkeitsstatus wurden 4 auf der Alp A, eines auf der Alp B und 12 auf der Alp C gesömmert. Die prozentuale Verteilung der trächtigen und unbekannt trächtigen Rinder auf den einzelnen Alpen unterschied sich nicht.

Die trächtigen Rinder waren zu Beginn der Alpung durchschnittlich 42.2 Monate (22 - 165 Monate) alt, die Rinder mit unbekanntem Trächtigkeitsstatus 38.5 Monate (24 - 90 Monate) und die nicht trächtigen 19.6 Monate (5 - 129 Monate). Trächtige Rinder waren signifikant älter als nicht trächtige ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn). Die Trächtigkeitsdauer zu Beginn der Alpung lag zwischen 0.5 und 8 Monaten und betrug im Durchschnitt 5 Monate. 271 Tiere (72.7 %) waren zu Beginn der Alpung mehr als 120 Tage trächtig.

### **5.3. Blutentnahmen**

Die Blutproben wurden bei den Schafen aus der V. jugularis und bei den Rindern aus der V. coccyea entnommen. Die Blutentnahme erfolgte mittels eines sterilen Vacutainersystems (Vacuette, Fa. Greiner Bio-One GmbH, A-Kremsmünster). Pro Entnahme wurden 6 ml EDTA-Blut bzw. Vollblut entnommen. Die Blutproben wurden gekühlt gelagert und dann zur Antigen- bzw. Antikörperbestimmung per Post an das Institut für Veterinär-Virologie der Universität Bern gesandt.

#### **5.3.1. Blutentnahme bei den Schafen**

Das Ziel der Blutentnahme bei den Schafen war es, den Border-Disease-Antigen-Status der Tiere zu erfassen. Jedem Schaf wurden 6 ml EDTA-Blut entnommen. Die Beprobung erfolgte 0 bis 31 Tage ( $14.6 \pm 9.58$  Tage) vor der Alpung.

#### **5.3.2. Blutentnahme bei den Rindern**

##### **Erste Blutentnahme**

Das Ziel der ersten Blutentnahme war es, den Pestivirus-Antikörperstatus der Tiere vor der Alpung zu erfassen. Jedem Rind wurden 6 ml Vollblut entnommen. Bei 498 Rindern (54 %) wurde in den letzten 10 Tagen, bei 267 Rindern (29 %) 11 bis 21 Tage, bei 154 Rindern (16.5 %) 21 bis 31 Tage und bei 4 Rindern (0.5 %) 31 bis 40 Tage vor dem Alpauftrieb Blut entnommen.

##### **Zweite Blutentnahme**

Das Ziel der zweiten Blutentnahme im Anschluss an die Alpung war es, jene Rinder erneut auf Pestivirus-Antikörper zu untersuchen, welche bei der ersten Untersuchung vor dem Alpauftrieb seronegativ waren. Die Blutprobe diente der Erfassung einer eventuellen Serokonversion während der Alpsaison und wurde innert 0 bis 82 Tagen nach Ende der Alpung bei 396 Rindern entnommen. Bei 276 Rindern (69.7 %) wurde innert 10 Tagen, bei 22 Rindern (5.5 %) innert 11 bis 41 Tagen und bei 82 Rindern (20.7 %) mehr als 40 Tage nach dem Alpabtrieb Blut ent-

nommen. Einige Rinder waren aufgrund einer Verletzung oder einer fortgeschrittenen Trächtigkeit bereits vor dem offiziellen Alpabfahrtstermin in den Heimbetrieb verstellt worden und konnten deshalb nicht unmittelbar nach Ende der Alpaison beprobt werden. Bei 16 (4.1 %) Rindern war eine zweite Blutentnahme aufgrund von Schlachtung, Verkauf oder Todesfall nicht möglich.

## **5.4. Blutuntersuchungen**

### **5.4.1. Nachweis viraler RNA im Blut der Schafe**

Die virologische Untersuchung erfolgte im Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät Universität Bern. Da es sich um eine sehr grosse Anzahl Schafproben handelte, wurden die ovinen Proben initial gepoolt, d. h. jeweils 5 Proben zusammen untersucht. Bei positivem Virusnachweis in einem Pool wurden die Proben einzeln untersucht.

Der Nachweis viraler RNA im EDTA-Blut erfolgte mittels quantitativer RT-PCR. Für die vorgängige RNA-Isolation aus antikoaguliertem Vollblut wurden das Bio-Robot-Universal-System und der QIAamp-Virus-BioRobot-MDx-Kit, beide von QIAGEN (QIAGEN AG, CH 8694 Hombrechtikon), verwendet. Anschliessend wurde die RNA entsprechend dem Protokoll des Cador BVDV-RT-PCR-Kits (QIAGEN AG, CH-8694 Hombrechtikon) mit dem Master-Mix, der alle Reagenzien und Enzyme für die Reversetranskription und die spezifische Amplifikation enthielt, und der internen Kontrolle, welche eine Hemmung der RT-PCR durch möglicherweise in der Probe vorhandene Inhibitoren anzeigen, gemischt. Die im Master-Mix enthaltenen Primer und Proben erkennen eine bei Pestiviren konserveierte Genom-Sequenz (Panpesti) und können darum auch für die Detektion von Border-Disease-Virus verwendet werden. Als Kontrolle wurde virale RNA des BDV-Stamms „Moredun“ mitgeführt. Für die Reaktion wurde der Thermocycler ABI 7300 verwendet (Applied Biosystems, CH-6943 Rotkreuz). Nach Auswertung der Rohdaten wurde die in der Probe vorhandene virale RNA-Menge in CT-Werten ausgedrückt, wobei ein CT-Wert < 45 als positiv galt. Proben mit CT-

Werten zwischen 30 und 45 wurden als schwach positiv bezeichnet. Proben, welche ein positives Resultat ergaben, wurden nach Abschluss aller initialen Untersuchungen noch einmal getestet, um den Befund zu bestätigen. Die RNA-Isolation und die RT-PCR-Präparation wurden in speziell dafür vorgesehenen und räumlich getrennten Labors durchgeführt.

#### **5.4.2. Serologische Untersuchung mittels ELISA**

Für die Antikörper-Untersuchung der Rinderseren wurde der am Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät Universität Bern entwickelte In-house-Antikörper-ELISA verwendet. Für diesen Test wurden Mikrotiterplatten (Maxisorp, A/S Nunc, Kamstrup, Dänemark) kolonnenweise, alternierend mit je 100 µl/Delle Virusantigen (mit dem cp BVD-1a Virus A1138/69 infizierte, Tween20 behandelte Zellkulturen) respektive negativem Kontrollantigen (nicht infizierte Zellkulturen) in einer definierten Verdünnung mit Beschichtungspuffer (0.1 M Natriumcarbonat-Bicarbonat, pH 9.6) beschichtet und während 16 Stunden bei 4 °C in einer feuchten Kammer inkubiert. Die beschichteten Platten wurden anschliessend dreimal mit Waschpuffer (0.5 M NaCl; 0.02 M Tris; 0.005 % Tween20, pH 8.0) gewaschen. Die Vollblutproben (nicht antikoaguliert) wurden während 10 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert, wodurch sich das Serum vom Blutkoagulum abtrennte und abpipettiert werden konnte. Die Serumproben wurden 1:10 in 1 % Milchpuffer (Bio-Magermilchpulver gelöst in Waschpuffer) verdünnt und in die Platten verteilt (100 µl/Delle). Nach einer einstündigen Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Platten dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Für den Nachweis der gebundenen Antikörper wurde an Peroxidase gekoppeltes Ziegen-anti-Rinder IgG (Microtec Produkte AG, CH-8423 Embrach) für Rinderseren oder Peroxidase gekoppeltes Protein G (Zymed Laboratories, San Francisco, USA) für Schafseren in jede Delle pipettiert und während 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen mit Waschpuffer wurde zur Sichtbarmachung der konjugierten Antikörper die Chromogenlösung

ABTS (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) zugegeben und die Färbung mittels eines ELISA-Platten-Lesers gemessen (Extinktion bei  $\lambda = 405$  nm).

#### **5.4.3. Serologische Untersuchung mittels Serumneutralisation**

Um herauszufinden, gegen welches Pestivirus etwaige Antikörper gerichtet waren, wurden alle Blutproben der Rinder, welche nach der Alpung im Antikörper-ELISA verdächtig oder positiv reagierten, mittels Serumneutralisationstests (SNT) untersucht. Das zu untersuchende Serum wurde dazu in 2-er Stufen verdünnt und die Verdünnungen wurden mit gleichen Mengen BDV und BVDV gemischt und inkubiert. Anschliessend wurde mittels Zellkultur-Inokulation überprüft, welches Virus das Serum besser zu neutralisieren vermochte. Der neutralisierende Antikörper-Titer wurde als reziproker Wert derjenigen Serum-Verdünnung ausgedrückt, bei welcher die Antikörper in 50 % der infizierten Zellen eine Infektion verhindern konnten (REED und MUENCH, 1938). Aufgrund der grossen Probenzahlen konnte der genaue Titer nicht für jede Probe bestimmt werden. Die ungefähren Antikörpertiter wurden „screening“-artig eruiert. In Abhängigkeit der Höhe des ELISA-Resultats wurden die Seren in einem ersten Neutralisationstest 1:100 oder 1:200 mit Zellkulturmedium verdünnt. Die eine Hälfte des Volumens der Verdünnungen wurde mit einer festgelegten Menge (100TCID50/Delle) BDV (CH-BD4, isoliert aus Leukozyten des pi-Schafs 1196.5820), die andere mit BVDV (CH-04-01b, BACHOFEN et al., 2008) gemischt. Die Virus-Serum-Mischungen wurden 60 Minuten bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert, damit die Antikörper an die Viren binden konnten. Anschliessend wurde jede Verdünnung in 6 Dellen (100µl/Delle) einer 96-er Mikrotiterplatte verteilt, deren Boden mit embryonalen Kälbernasen-Epithelzellen (EkaNaEp) für den BVDV- und LSM-Zellen für den BDV-Nachweis beschichtet war. Die Platten wurden während 5 Tagen bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Danach wurden die mit Pestivirus infizierten Zellen (= keine Neutralisation des Virus durch die Antikörper) mittels polyklonaler Immunperoxidase (IPO)-Färbung sichtbar gemacht (ADLER et al., 1994). Abhängig

von den Resultaten des ersten Neutralisationstests wurden die Seren in einem zweiten Test bei höheren oder tieferen Verdünnungen untersucht (1:20, 40, 50, 100, 200, 400, 500 oder 2000). In einem dritten SNT wurden alle Seren, die noch immer keine Neutralisation zeigten, bei einer Verdünnung von 1:8 untersucht. Werte unter 1:8 galten als negativ.

Aufgrund der genetischen Verwandtschaft von BVD und BD Viren kommt es immer zu einer gewissen Kreuzneutralisation der Seren. Es wurden darum nur Rinder, deren Titer gegen BDV mindestens doppelt so hoch waren wie jene gegen BVDV, als sicher mit dem BDV infiziert beurteilt. Titer, die zwar klar höher, aber nicht doppelt so hoch waren, wurden als „BDV-Infektion vermutet“ beurteilt. Fälle, in denen ein Titer nicht mit Sicherheit höher war als der andere oder bei denen eine Titration nicht beurteilbar war, wurden als „nicht differenzierbar“ eingestuft.

## 5.5. Statistik

Die Daten wurden mit Hilfe des Programms FileMaker Pro7 erfasst. Die statistische Untersuchung erfolgte mit Hilfe des Programms StatView 5.1 (SAS Institut, CH-8602 Wangen). Die Mittelwerte, Standardabweichungen und Häufigkeitsverteilungen der verschiedenen Parameter wurden berechnet und mittels Varianzanalyse (ANOVA) auf signifikante Unterschiede geprüft. Bei signifikanten Unterschieden wurden die entsprechenden Werte mittels Bonferroni/Dunn-Test verglichen. Bei Normalverteilung wurden die Werte als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung, bei schiefer Verteilung als Mittelwerte, kleinster und grösster Wert angegeben. Die Prüfung auf das Vorliegen einer Normalverteilung erfolgte mit dem Normality-Test nach Wilk Shapiro.

## **5.6. Beteiligte Institutionen**

Am Zustandekommen der vorliegenden Arbeit waren die folgenden Institutionen beteiligt:

- Klinik für Wiederkäuer der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich (Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun).
- Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern (Prof. Dr. E. Peterhans): Durchführung der virologischen und serologischen Untersuchungen durch Frau Dr. C. Bachofen.
- Veterinäramt der Urkantone (Kantonstierarzt Dr. J. Risi).
- Abteilung für Bestandesmedizin der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich (Prof. Dr. M. Hässig): Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

## **6. ERGEBNISSE**

### **6.1. Virusprävalenz bei den Schafen**

Bei 8 von 1170 untersuchten Schafen wurde im Blut BD-Virus nachgewiesen. Davon wiesen 5 Schafe einen sehr hohen Virusgehalt im Blut auf, während 3 Schafe nur schwach viruspositiv waren. Bei den stark viruspositiven Schafen handelt es sich vermutlich um persistent infizierte Schafe, was jedoch aufgrund des Fehlens einer zweiten Blutprobe nicht eindeutig bestätigt werden konnte. Die 3 anderen Schafe wurden aufgrund des geringen Virusgehalts als transient infiziert, vermutlich aufgrund des Kontakts zu den persistent infizierten Schafen, angesehen. Die Virusprävalenz betrug 0.68 %. Die 8 viruspositiven Schafe, welche aus zwei Betrieben stammten und klinisch unauffällig waren, waren alle auf der Alp C gesömmert worden. Auf den anderen drei Alpen konnten keine infizierten Schafe gefunden werden. Eine Charakterisierung der isolierten BD-Stämme mittels PCR gelang nur bei den 5 stark viruspositiven Schafen. Bei 4 Schafen wurden Viren der Swiss-BDV-Untergruppe (REICHERT, 2009; PETERHANS et al., 2010) und bei einem Schaf ein BD-3-Virus nachgewiesen.

### **6.2. Antikörperstatus der Rinder vor der Alpung**

#### **6.2.1. Übersicht**

Von den 923 untersuchten Rindern wiesen 527 Rinder Pestivirus-Antikörper auf. Dies entsprach einer Seroprävalenz von 57.1 %. Die Seroprävalenz der auf den 4 Alpen zu sömmernden Rinder lag zwischen 45.1 und 74.7 % (Tab. 3). Auf der Alp B wurden mit 74.7 % signifikant mehr seropositive Rinder gesömmert als auf der Alp D mit 45.1 % ( $P < 0.01$ , Chi<sup>2</sup>-Test).

Tab. 3: Seroprävalenz von 923 Rindern vor der Alpung

Alp	Name	Anzahl untersuchter Tiere	Anzahl seropositiver Tiere	Seroprävalenz in Prozent
A	Aberen	165	98	59.4 %
B	Arni-Hohmad	91	68	74.7 % *
C	Surenen/Blacken	514	292	56.8 %
D	Matten	153	69	45.1 % *

\* =  $P < 0.01$ , Chi<sup>2</sup>-Test

### 6.2.2. Seroprävalenz in Abhängigkeit vom Alter

Die Seroprävalenz der Rinder war im Alter von 0.4 bis 1 und 1 bis 2 Jahren mit 35.5 % und 38.8 % relativ niedrig (Abb. 2). Bei den 2- bis 3-jährigen Rindern lag sie bei 68.8 %, bei den 3- bis 4-jährigen bei 90.1 % und bei den über 4-jährigen bei 88.3 %.

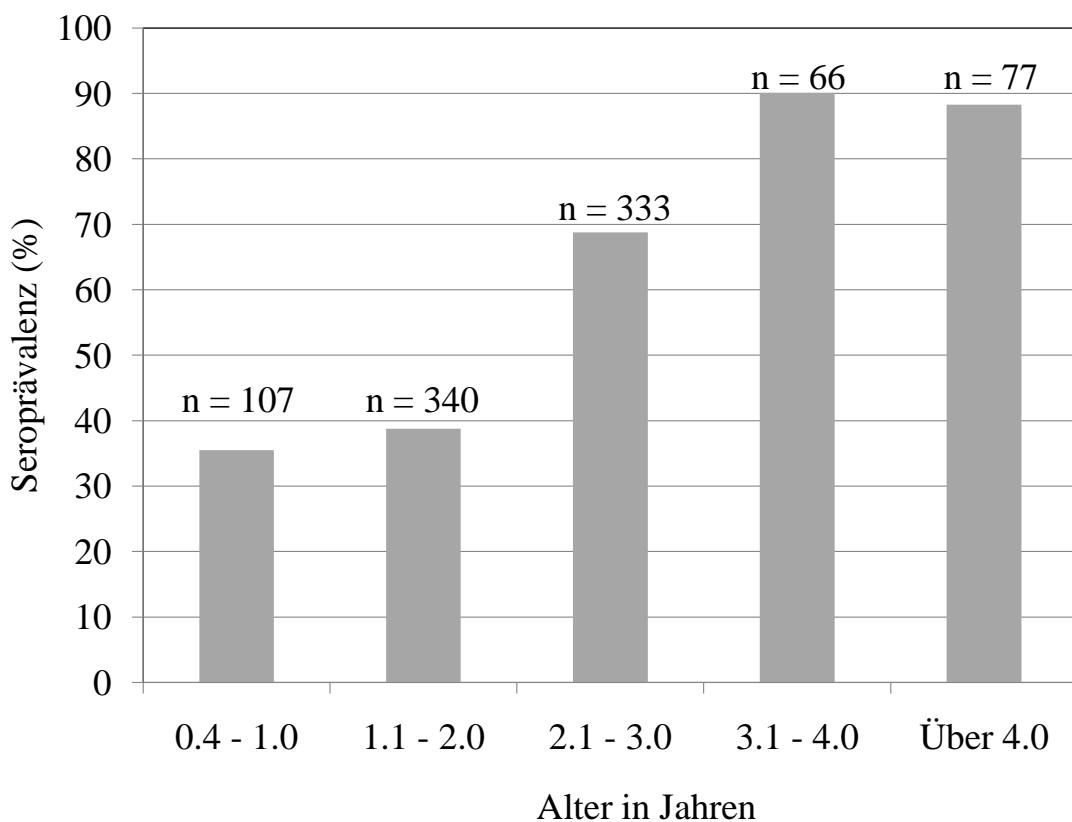


Abb. 2: Seroprävalenz von 923 Rindern in Abhängigkeit vom Alter

Seronegative Rinder waren mit einem durchschnittlichen Alter von 21.7 Monaten (8, 165 Monate) signifikant ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn) jünger als seropositive Rinder mit einem durchschnittlichen Alter von 34.6 Monaten (5, 164 Monate).

### **6.2.3. Seroprävalenz bei den trächtigen Rindern**

Von den 373 trächtigen Rindern waren 290 vor der Alpung seropositiv, was einer Seroprävalenz von 77.7 % entsprach. Von den 533 nicht trächtigen Rindern waren 222 (41.7 %) seropositiv. Trächtige Rinder waren vor der Alpung signifikant häufiger seropositiv als nicht trächtige ( $P < 0.01$ , Chi<sup>2</sup>-Test). Von den 17 Rindern mit unbekanntem Trächtigkeitsstatus waren zu Beginn der Alpung 15 Rinder seropositiv (Seroprävalenz 88.2 %).

### **6.2.4. Herdenseroprävalenz**

In 86 von 94 Betrieben wurden seropositive Rinder gefunden, was einer Herdenseroprävalenz von 91.5 % entsprach. Die höchste Herdenseroprävalenz wiesen mit 100 % die Betriebe der Alp B auf. Die Herdenseroprävalenzen der Alpen A, C und D lagen bei 91.7, 94.2 und 82.6 %.

## **6.3. Antikörperstatus der Rinder nach der Alpung**

### **6.3.1. ELISA**

Bei 380 von 396 vor der Alpung seronegativen Rindern konnten nach der Alpung erneut Blutproben entnommen und mittels ELISA auf Antikörper untersucht werden. 281 Rinder (71.0 %) waren erneut seronegativ, 52 Rinder (13.1 %) seropositiv und 47 Rinder (11.9 %) verdächtig (Tab. 4). Von den 52 positiv getesteten Rindern waren 37 auf der Alp C, 12 auf der Alp D, 2 auf der Alp B sowie 1 Rind auf der Alp A gesömmert worden. In einer ähnlichen Größenordnung lagen die Verhältnisse bei den Rindern mit verdächtigem Ergebnis. Auf der Alp C, auf der die BD-pi-Schafe waren, haben prozentual signifikant mehr und auf der Alp A signifikant weniger Rinder serokonvertiert als auf den anderen Alpen.

Tab. 4: Serologische Befunde (ELISA) bei 396 Rindern nach der Alpung

Alpen	ELISA-Ergebnis				Total
	Negativ	Positiv	Verdächtig	Nicht untersucht	
A	58 (86.6 %)	1 (1.5 %)*	5 (7.5 %)	3 (4.5 %)	67
B	18 (78.3 %)	2 (8.7 %)	1 (4.3 %)	2 (8.7 %)	23
C	145 (65.3 %)	37 (16.6 %)*	33 (14.9 %)*	7 (3.2 %)	222
D	60 (71.4 %)	12 (14.3 %)	8 (9.5 %)	4 (4.8 %)	84
Total	281 (71.0 %)	52 (13.1 %)	47 (11.9 %)	16 (4.0 %)	396

\* P < 0.01, Chi<sup>2</sup>-Test

### 6.3.2. Serumneutralisationstest (SNT)

Die 99 im ELISA positiven oder verdächtigen Proben wurden einem SNT unterzogen. Eine Differenzierung der Antikörper gelang in 25 Fällen (Tab. 5). Bei 10 Rindern war der Antikörper-Titer gegen BDV mindestens doppelt so hoch wie gegen BVDV, weshalb diese Rinder als sicher mit dem BDV infiziert angesehen wurden. Acht Rinder wiesen einen klar höheren (aber nicht doppelt so hohen) Antikörper-Titer gegen BDV als gegen BVDV auf und eine BDV-Infektion konnte vermutet werden. Vier Rinder hatten sich mit dem BVDV infiziert (BVDV-Antikörper-Titer mindestens doppelt so hoch wie gegen BDV) und bei weiteren 3 Rindern wurde eine Infektion mit dem BVDV vermutet (BVDV-Antikörper-Titer klar höher als gegen BDV).

Tab. 5: Beurteilung der Resultate des SNT bei 99 Rindern nach der Alpung

Beurteilung der Resultate des SNT	Anzahl Rinder
BDV Kontakt sicher	10
BDV Kontakt vermutet	8
BVDV Kontakt sicher	4
BVDV Kontakt vermutet	3
Antikörper nicht differenzierbar	47
Negativ	27
Total	99

Von den mit dem BDV infizierten 10 Rindern waren 7 auf der Alp C und 3 auf der Alp D gesömmert worden (Tab. 6). Von den 8 Rindern mit vermuteter BDV Infektion waren 6 auf der Alp C und 3 auf der Alp D gesömmert worden. Mit dem BVDV hatten sich je 2 Rinder der Alpen C und D infiziert; vermutet werden konnte eine BVDV Infektion bei 2 Rindern der Alp C und einem Rind der Alp D.

Tab. 6: Resultate des SNT auf den einzelnen Alpen

Beurteilung der Resultate des SNT	Alpen				Total
	A (n = 6)	B (n = 3)	C (n = 70)	D (n = 20)	
BDV Kontakt sicher	0	0	7	3	10
BDV Kontakt vermutet	0	0	6	2	8
BVDV Kontakt sicher	0	0	2	2	4
BVDV Kontakt vermutet	0	0	2	1	3
Antikörper nicht differenzierbar	3	0	36	8	47
Negativ	3	3	17	4	27

### 6.3.3. Serokonversionsrate (ELISA)

Bei 52 von 396 anfänglich seronegativen Rindern kam es im Verlauf der Alpung zu einer Serokonversion. Die Serokonversionsrate betrug damit 13.1 % (Tab. 7). Am höchsten war die Serokonversionsrate auf der Alp C mit 16.7 %, gefolgt von den Alpen D mit 14.3 %, B mit 8.7 % und A mit 1.5 % (Tab. 4).

## 6.4. Verlauf der Trächtigkeit bei Rindern mit Serokonversion

Zu Beginn der Sömmerung waren 83 der trächtigen Rinder seronegativ. Nach der Alpung konnten im ELISA bei 10 Rindern Antikörper nachgewiesen werden und 6 Rinder waren verdächtig für das Vorhandensein von Antikörpern. Eine Differenzierung der Antikörper mittels SNT gelang in 6 Fällen.

Von den 10 trächtigen Rindern, die während der Sömmerung serokonvertierten brachten 7 Tiere gesunde und negativ auf Pestivirus untersuchte Kälber zur Welt. Ein 24 Monate altes Braunviehrind, welches zum Zeitpunkt des Alpauftriebs 1.5

Monate trächtig war und auf der Alp C, auf der auch die pi-Schafe waren, gesömmert wurde, abortierte im Verlauf der Sömmerung. Der Abort konnte leider nicht weiter untersucht werden. Die Differenzierung der Antikörper mittels SNT liess eine BDV-Infektion während der Alpung vermuten.

Ein weiteres, auf der Alp C gesömmertes, 33 Monate altes Rind gebar nach der Alpung ein persistent mit Pestiviren infiziertes Kalb. Das Rind war zu Beginn der Alpung 3.5 Monate trächtig gewesen. Aufgrund des SNT-Resultats wurde eine Infektion mit dem BVDV bei diesem Tier als gesichert angesehen.

Ein drittes Rind brachte ein totes Kalb zur Welt, welches nicht auf Pestivirus untersucht wurde.

Detaillierte Angaben zu den zu Beginn der Alpung seronegativen, trächtigen Rindern finden sich im Anhang (11.2. Zusammenstellung der trächtigen Kühle, die während der Alpung serokonvertierten).

## **6.5. Zeit von der ersten Probenentnahme bis zum Alpauftrieb**

Zwischen der ersten Probenentnahme und dem Alpauftrieb vergingen im Durchschnitt 11.7 (0, 31) Tage. Den Rindern der Alp A wurde 6.6 (1, 12) Tage, denen der Alp B 7.6 (7, 9) Tage, der Alp C 10.5 (0, 22) Tage und der Alp D 23.5 (9, 31) Tage vor dem Alpauftrieb Blut entnommen. Die Anzahl dieser Tage war auf der Alp D signifikant ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn) grösser als auf den Alpen A, B und C. Die Rinder der Alp C wurden signifikant ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn) vor denen der Alpen A und B getestet. Signifikant am kleinsten war die Anzahl der Tage zwischen Probenentnahme und Alpauftrieb auf den Alpen A und B, wobei sich die Anzahl Tage bei diesen beiden Alpen nicht signifikant unterschied.

## **6.6. Zeit vom Alpabtrieb bis zur zweiten Probenentnahme**

Die Anzahl Tage vom Alpabtrieb bis zur zweiten Probenentnahme betrug durchschnittlich 6.4 (0, 82) Tage und unterschied sich zwischen den einzelnen Alpen nicht signifikant. Rinder, die während der Sömmerung serokonvertierten (ELISA),

wurden signifikant ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn) später nach Alpabtrieb untersucht. So vergingen zwischen Alpabtrieb und zweiter Probenentnahme bei Rindern, die serokonvertierten, 26.1 Tage, bei Rindern, die nicht serokonvertierten nur 13.7 Tage. Rinder, welche im ELISA verdächtig reagierten, wurden durchschnittlich 15.8 Tage nach Alpabtrieb untersucht.

## **6.7. Alpdauer**

Die Sömmierung 2008 dauerte auf den untersuchten Alpen durchschnittlich 88.1 (12, 105) Tage. Ihre Dauer unterschied sich auf den vier Alpen signifikant ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn). Am längsten wurden die Rinder mit 99.9 (26, 105) Tagen auf der Alp B gesömmert. Auf der Alp A betrug die durchschnittliche Alpdauer 93.2 (12, 104), auf der Alp C 86.2 (27, 102) und auf der Alp D 82.3 (39, 90) Tage. Zwischen der Seroprävalenz und der Alpdauer bestand ein signifikanter Zusammenhang ( $P < 0.01$ , Bonferroni/Dunn). Seronegative Rinder wurden mit einer durchschnittlichen Alpdauer von 86.6 Tagen im Mittel 2.7 Tage weniger lang gesömmert als seropositive Rinder (Alpdauer 89.3 Tage).

Rinder, die serokonvertierten (ELISA), wurden während durchschnittlich 85.4 Tagen gesömmert. Die durchschnittliche Alpdauer bei Rindern ohne Serokonversion, verdächtigem Resultat im ELISA und bei Rindern, die nach der Sömmierung nicht mehr untersucht werden konnten, betrug 86.8, 87.9 bzw. 82.8 Tage. Die Unterschiede waren nicht signifikant.

## **6.8. Aborte und Totgeburten**

Drei (0.8 %) der 373 trächtigen Rinder abortierten im Lauf der Sömmierung. Zwei waren auf der Alp D und eines auf der Alp C gesömmert worden. Die drei Rinder waren vor der Alpung alle seronegativ getestet worden. Das Rind, welches auf der Alp C gesömmert wurde, hatte im Verlauf der Alpung serokonvertiert (ELISA: positiv; SNT: BDV Infektion vermutet), bei den anderen beiden Rindern war eine Serokonversion ausgeblieben. Beim serokonvertierenden Rind handelte es sich um

ein zweijähriges Braunviehrind, welches zu Beginn der Alpung 44 Tage trächtig war. Zum Zeitpunkt der zweiten Probenentnahme 14 Tage nach Alpabtrieb zeigte das Rind noch eitigen Vaginalausfluss. Der Fetus wurde nicht gefunden.

Bei 13 der 373 trächtigen Rinder kam es (nach normaler Trächtigkeitsdauer) zu einer Totgeburt. Drei dieser Rinder waren auf der Alp A, 9 auf der Alp C und eines auf der Alp D gesömmert worden. Zwei der Rinder waren vor der Alpung seronegativ getestet worden, eines hatte während der Sömmerung serokonvertiert (ELISA: positiv; SNT: Antikörper nicht differenzierbar). Dieses Rind war zu Beginn der Alpung 6 Monate trächtig gewesen und auf der Alp C gesömmert worden.

Keines der Rinder, welche abortierten oder tote Kälber gebaren, wies nach der Alpung Antikörper gegen BVDV auf. Bei Rindern, die vor der Alpung keine Antikörper gegen Pestiviren aufwiesen, kam es nicht häufiger zu Aborten oder Totgeburten als bei bereits seropositiven Rindern.

## **6.9. Geburt persistent infizierter Kälber**

Nach der Alpsaison 2008 wurden drei persistent mit Pestiviren infizierte Kälber geboren. Die Mütter von zwei der Kälber waren zum Zeitpunkt des Alpauftriebs 6.0 bzw. 6.5 Monate trächtig und im ELISA seropositive gewesen. Die Mutter des dritten Kalbes, welche beim Alpbeginn 3.5 Monate trächtig war, serokonvertierte während der Sömmerung. Eine Infektion mit dem BVDV konnte aufgrund des Resultats des SNT als gesichert angesehen werden. Die Abklärungen ergaben, dass das Rind kurz vor der Alpung Kontakt zu Rindern aus anderen Beständen mit unklarem Antigenstatus gehabt hatte.

## **6.10. Kontakte zu Schafen vor bzw. nach der Alpung**

24 Rinder aus 2 Betrieben hatten vor und nach der Alpung Kontakt zu Schafen. Die Schafe entstammten jeweils denselben Betrieben wie die Rinder und wurden auf denselben Alpen, je 12 Rinder auf der Alp B und der Alp D, gesömmert. Die

betreffenden Schafe waren negativ auf Pestivirus-Antigen getestet worden. Zu Beginn der Sömmerung waren 10 der 24 Rinder seronegativ. Im Verlauf der Alpung serokonvertierten 3 Rinder (ELISA) und eines war verdächtig. Bei einem der im ELISA positiven Rinder konnte eine BVDV-Infektion auf Grund des SNT vermutet werden, bei den anderen 3 Rindern gelang die Differenzierung der Antikörper mittels ELISA nicht.

## **7. DISKUSSION**

### **7.1. Bedeutung der Alpung in der Schweiz**

Die Sömmierung von Schafen, Ziegen und Rindern ist in der Schweiz von grosser wirtschaftlicher, ökologischer und auch gesellschaftlicher Bedeutung. Die Alpweiden dienen einerseits als Futterbasis für die Landwirtschaft und andererseits als Produktionsstätte für qualitativ hochwertige Produkte wie Milch und Alpkäse. Zudem sind sie Bestandteil einer ökologisch wertvollen Kulturlandschaft und stellen einen Erholungsraum für Gäste dar. Zur Gewährleistung der Bewirtschaftung und Pflege der ca. 530'000 ha Sömmerungsweiden werden die Landwirte vom Bund durch Sömmerungsbeiträge, die pro Normalstoss ausbezahlt werden, unterstützt (Bundesamt für Landwirtschaft). Der Bund zahlte im Jahr 2007 92.1 Millionen SFr. an Sömmerungsbeiträgen aus. Im Sommer 2007 wurden gesamtschweizerisch 371'650 Rinder (23.6 % des Gesamtbestands) und 187'373 Schafe (41.5 % des Gesamtbestands) gesömmert (Bundesamt für Statistik, Schweizerischer Bauernverband).

### **7.2. Virusprävalenz der Schafe**

Die 8 Schafe, bei denen BDV nachgewiesen werden konnte, stammten aus zwei grösseren Handelsbetrieben, welche laut eigenen Angaben in den vergangenen Jahren keine Probleme mit Aborten oder lebensschwachen Lämmern verzeichneten. Beiden Betriebsinhabern war auch die Krankheit Border-Disease gänzlich unbekannt. Die Beobachtung, dass die viruspositiven Schafe keine klinischen Anzeichen der Erkrankung aufwiesen, deckt sich mit den Ergebnissen diverser Studien, in denen persistent infizierte Lämmer klinisch gesund waren (BARLOW et al., 1980; BONNIWELL et al., 1987; NETTLETON et al., 1992). In der Schweiz wurde festgestellt, dass die Infektion viel verbreiteter ist als die Krankheit selbst, wobei die oftmals geringen klinischen Symptome die Entdeckung infizierter Lämmer erschweren und eine allfällige Abklärung aus wirtschaftlichen Gründen

meist nicht vorgenommen wird (BRAUN et al., 2002). Obwohl die Erkrankung bei Schweizer Schafhaltern nahezu unbekannt ist, wurde das endemische Vorkommen der Krankheit in unserem Land belegt (SCHALLER et al., 2002). Andere Untersucher fanden mit 0.3 bis 0.6 % ähnliche Virusprävalenzen wie in der vorliegenden Untersuchung (VALDAZO-GONZÁLEZ et al., 2006, 2008). In einer mehrjährigen Untersuchung in spanischen Schlachtlokalen wurde nachgewiesen, dass die Virusprävalenz über Jahre hinweg konstant blieb (VALDAZO-GONZÁLEZ et al., 2008). Unter der Annahme, dass die Border-Disease in der Schweiz endemisch vorkommt (SCHALLER et al., 2002; BRAUN et al., 2002), ist davon auszugehen, dass die Virusprävalenz bei Schafen auch bei uns konstant ist.

In einer Untersuchung zur Herden-Virusprävalenz in Spanien wurden in 5 von 21 stichprobenartig getesteten Herden viruspositive Schafe nachgewiesen (Herdenprävalenz 23.8 %; VALDAZO-GONZÁLEZ et al., 2006). Damit lag die Herdenprävalenz deutlich höher als in der vorliegenden Untersuchung, wo sie 7.41 % betrug. Eine mögliche Erklärung liegt darin, dass in unserer Untersuchung der grösste Teil der getesteten Schafe aus WAS-Zuchtbetrieben stammte. Zuchtbetriebe sind aufgrund des geringeren Tierverkehrs deutlich weniger durchseucht als Handelsbetriebe (SCHALLER et al., 2002).

### **7.3. Seroprävalenz der Rinder vor der Alpung**

Zu Beginn der Alpung betrug die Seroprävalenz für Pestivirusantikörper 57.1 % und lag somit im Bereich der für die Schweiz beschriebenen 57.6 % (RÜFENACHT et al., 2000). Die Schwankungen der Seroprävalenzen auf den einzelnen Alpen von 45.1 bis 74.7 % lassen sich mit den jeweiligen Altersverteilungen erklären. Die Alp B wies mit einer Seroprävalenz von 74.7 % den kleinsten Anteil an unter 2-jährigen Rindern auf. Wie bereits früher festgestellt wurde (SCHÖNMANN, 1997), wiesen junge Rinder deutlich niedrigere Seroprävalenzen auf als ältere. Dies liegt daran, dass jüngere Rinder noch nicht so viele Kontakt-

möglichkeiten mit anderen Rindern hatten und so die Wahrscheinlichkeit des Kontakts mit dem BVDV geringer war.

#### **7.4. Serologische Untersuchungen**

Obschon 99 initial seronegative Rinder nach der Alpung im ELISA positiv reagierten, gelang die Bestimmung der Spezifität der Antikörper mittels SNT nur in 25 Fällen (25.3 %). In 47 Proben (47.4 %) konnten die Antikörper nicht differenziert und in 27 Proben (27.3 %) nicht nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung für die grosse Anzahl nicht differenzierbarer und negativer SNT-Resultate ist die Qualität der Seren: Viele Proben waren zum Zeitpunkt der Durchführung des SNT bereits älter und zum Teil auch hämolytisch. Hinzu kam, dass die zum Nachweis der BDV-Antikörper verwendeten GSM (goat synovial membrane)-Zellen, bei der zu hohen Serumkonzentration abstarben und so die Resultate bei tiefen Verdünnungen nicht beurteilbar waren. Es besteht auch die Möglichkeit, dass das für die Neutralisation verwendete Virus nicht exakt dem entsprach, welches die jeweilige Serokonversion bei den Rindern induzierte, mit der Folge, dass es bei geringen Verdünnungen nicht zu einer Inhibition des Viruswachstums kam.

#### **7.5. Serokonversionen**

##### **7.5.1. Übersicht**

Als Pestivirus-Infektionsquellen stehen persistent mit dem Virus infizierte Tiere im Vordergrund. So haben auf der Alp C, auf der die persistent mit dem BDV infizierten Schafe gesömmert wurden, signifikant mehr Rinder serokonvertiert als auf den anderen Alpen. Auch wurden 7 der 10 Rinder, bei denen eine Infektion mit dem BDV aufgrund des SNT-Resultats als sicher angesehen werden konnte, auf der Alp C gesömmert. Für die Serokonversionen auf den anderen Alpen kommen andere Infektionsquellen in Frage. Ebenso für Rinder, bei welchen mittels SNT eine BVDV Infektion als sicher gelten konnte. Dies, da auf den 4 Alpen nur Rinder mit BVDV-negativem Status zugelassen waren. Mögliche Ursachen, die

diese Serokonversionen erklären könnten, sind falsch-negativ auf Virus getestete Rinder und Schafe, transient virämische Rinder und Schafe, Frühgeburten, Geburten oder Aborte virämischer Kälber bzw. Lämmer auf der Alp, Infektionen unmittelbar vor bzw. nach der Sömmerung sowie Infektionen durch Wildwiederkäuer. Indirekte Infektionen durch belebte und unbelebte Vektoren sind ebenfalls möglich; die praktische Bedeutung dieser Übertragungswege ist jedoch schwierig zu belegen (HOUÉ, 1995).

### **7.5.2. Nichterfassen persistent infizierter Rinder bzw. Schafe**

Während der ersten Phase des schweizerischen BVD-Eradikationsprogramms im Hinblick auf die Sömmerung 2008 wurden insgesamt 595'230 Rinder auf BVDV untersucht. Die beiden zur Untersuchung verwendeten Methoden, der Antigen-ELISA und die RT-PCR in Hautbiopsien, sind sehr spezifisch und sensitiv und das Ergebnis wird weder durch transiente Infektionen noch durch maternale Antikörper beeinflusst (HILBE et al., 2007a). Bei 13 von ZIMMERLI et al. (2009) im Frühjahr 2008 untersuchten Rindern wurde trotz initial negativer Untersuchung bei einer zweiten Beprobung Virus nachgewiesen. Es besteht deshalb auch in der vorliegenden Untersuchung die äusserst geringe Möglichkeit, dass falsch negativ getestete Rinder gesömmert wurden. Diese Möglichkeit ist allerdings praktisch mit grosser Wahrscheinlichkeit auszuschliessen, da bei der Anwesenheit eines pi-Rindes auf einer der Alpen aufgrund der schnellen Infektionsverbreitung durch pi-Rinder deutlich mehr Serokonversionen zu erwarten gewesen wären, wie es in einer früheren Alpstudie mit Rindern beschrieben worden ist (SCHÖNMANN, 1997).

Die RT-PCR, mit welcher die viruspositiven Schafe identifiziert wurden, verfügte über eine hohe Sensitivität (100 %) und Spezifität (99 %) und der Antigennachweis liess sich durch eventuell vorhandene maternale Antikörper nicht beeinflussen (HILBE et al., 2007a). Dies war insofern von Bedeutung, als dass Schafe aller

Altersklassen untersucht wurden. Die Wahrscheinlichkeit, dass unter den getesteten Schafen falsch negative Tiere waren, ist sehr gering.

Da für Schafe, im Gegensatz zu Rindern, keine Tierverkehrsdatenbank existiert, und nicht jedes Schaf mit Ohrmarkennummer auf der Alp gemeldet sein musste, bestand keine Möglichkeit, die zur Sömmierung gebrachten Schafe einzeln zu kontrollieren. Dies bedeutete, dass die Schafhalter durchaus Tiere zur Alpung bringen konnten, die im Vorfeld nicht untersucht worden waren. Unmittelbar vor der Alpung erkrankte oder eingegangene Schafe wurden zum Teil durch andere Schafe, meist aus dem eigenen Bestand, ersetzt, um die angemeldete Tierzahl sömmern zu können. Die Wahrscheinlichkeit, dass im Vorfeld nicht untersuchte, evtl. viruspositive Schafe gesömmert wurden, muss als relativ gross angesehen werden. Bei der hohen Anzahl von Serokonversionen auf der Alp D besteht deshalb der Verdacht, dass auch dort infizierte Schafe geweidet wurden.

### **7.5.3. Transient virämische Rinder bzw. Schafe**

Die Möglichkeit, dass sich Rinder noch kurz vor Alpbeginn auf dem Heimbetrieb mit dem BVD-Virus infizierten und als transient virämische Tiere in die Sömmierung starteten, kann nicht ausgeschlossen werden. Bei der Virusverbreitung stehen aber die persistent infizierten Tiere im Zentrum (LINDBERG, 2003). Durch transient infizierte Rinder wird die Infektion nur in einem sehr geringen Masse übertragen und transient infizierte Rinder spielen deshalb in der Krankheitsverbreitung eine untergeordnete Rolle (LINDBERG, 2003; NISKANEN et al., 2000). Trotzdem sind auch transient virämische Rinder in der Lage, BVD-Virusinfektionen zu übertragen, was bei den infizierten Rindern zur Serokonversion führt. Dies kann besonders an Orten, wo viele Tiere aus verschiedenen Beständen zusammenkommen, von Bedeutung sein (MEYLING et al., 1990).

Auch bei den Schafen stellen die persistent infizierten Tiere die Hauptinfektionsquelle für andere dar. Virusübertragungen durch transient infizierte Schafe sind unüblich, aber nicht ausgeschlossen (LØKEN 1995a).

#### **7.5.4. Ansteckungen vor dem Alpauftrieb**

Bis nach einer Infektion mit dem BVD-Virus neutralisierende Antikörper im Blut nachweisbar sind, dauert es 2 bis 3 Wochen (NISKANEN et al., 2000). Falls die erste Blutprobenentnahme zwischen der Ansteckung z. B. auf dem Heimbetrieb und dem möglichen Nachweis von Antikörpern stattfand, waren die Rinder zu Beginn der Alpung noch seronegativ und nach der Alpung seropositiv. Die Serokonversion täuschte in diesen Fällen eine Infektion während der Alpung vor, die aber schon vorher erfolgt war. Das Risiko für ein solches Ereignis besteht unabhängig vom Zeitpunkt der ersten Probenentnahme in Bezug zum Beginn der Alpung. Es liesse sich lediglich durch eine mehrwöchige Quarantäne eindämmen.

Ein Rind, welches zu Beginn der Alpung 3.5 Monate trächtig war, und im folgenden Herbst ein persistent infiziertes Kalb gebar, wurde in der ersten Blutprobe negativ und in der zweiten Probe positiv auf Pestiviren getestet. Die Tatsache, dass ein infiziertes Kalb geboren wurde, ermöglichte, den Zeitpunkt der Infektion bei diesem Rind einzugrenzen: Diese muss ungefähr zwischen dem 2. und 4. Trächtigkeitsmonat stattgefunden haben (HOUË, 1995). Der Kontakt zu anderen Rindern vor der Alpung sowie die Trächtigkeitsdauer von 3.5 Monaten bei Alpungsbeginn legte in diesem Fall den Verdacht nahe, dass die Ansteckung mit dem Pestivirus unmittelbar vor der Alpung stattgefunden hatte, obschon die erste Blutprobe vom Tag der Alpauffahrt seronegativ war. Eine weitere Ansteckungsmöglichkeit bei diesem Rind wäre der Kontakt zu transient infizierten Tieren während den ersten Tagen der Sömmerung gewesen.

Nur in zwei Betrieben wiesen die Rinder vor bzw. nach der Sömmerung Kontakt zu Schafen auf. Die Schafe dieser Betriebe wurden auf denselben Alpen wie die Rinder gesömmert und sie waren alle negativ auf Pestiviren getestet worden. Ansteckungen an infizierten Schafen vor oder nach der Sömmerung waren deshalb praktisch auszuschliessen.

### **7.5.5. Ansteckungen nach dem Alpabtrieb**

Bei 30 % der Rinder fand die zweite Untersuchung nicht innerhalb von 3 Wochen nach dem Alpabtrieb statt. Gründe dafür waren, dass hochträchtige Rinder bereits bis zu einem Monat vor dem offiziellen Alpende in den Heimbetrieb verstellt wurden. Auch wurden einige Rinder direkt nach Alpende verkauft. Manche Rinder kamen nach der Alpung noch auf kleinere Privatalpen und wurden erst nach ein bis 2 Monaten aufgestallt. Die Gefahr einer Ansteckung im Anschluss an die Alpung muss bei diesen Rindern als relativ hoch angesehen werden. Dieser Verdacht wird dadurch erhärtet, dass Rinder, welche nach der Alpung Antikörper-positiv waren, signifikant später nach Alpende beprobt worden waren als Rinder, die seronegativ blieben. Von 3 Rindern ist bekannt, dass sie unmittelbar nach Ende der Alpung auf dem Heimbetrieb Kontakt zu einem dort geborenen, persistent infizierten Kalb hatten und danach serokonvertierten. Auch bei den anderen Rindern konnte eine Infektion nach Alpende nicht ausgeschlossen werden.

### **7.5.6. Frühgeburten, Geburten und Aborte virämischer Kälber auf der Alp**

Während der Alpsaison wurden von 7 Kühen 7 gesunde Kälber geboren, welche sich bei der Untersuchung auf Pestivirus-Antigen als negativ erwiesen und deshalb als Infektionsquelle nicht in Frage kamen. Vereinzelt kam es auch zu Aborten, die nicht weiter untersucht wurden. Ein persistent infizierter Fetus und die Infektion von seronegativen Rindern mit infiziertem Fruchtwasser und Lochialsekret konnte deshalb nicht ausgeschlossen werden. Eine Infektionsgefahr besteht allerdings nur während den ersten 24 Stunden und nimmt danach massiv ab (LINDBERG et al., 2004). Die Wahrscheinlichkeit, dass in dieser Studie einzelne Serokonversionen auf den Kontakt mit Frühgeburten, Geburten oder Aborten virämischer Kälber bzw. deren Geburtsprodukten zurückzuführen waren, ist aufgrund der Tatsache, dass während der Sömmerung keine virämischen Kälber geboren wurden und dass nur sehr wenig Aborte auftraten, als gering einzuschätzen. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass während der Alpung persistent infizierte Lämmer gebo-

ren wurden. Denn die Schafzucht in der Schweiz unterliegt keiner vorgegebenen Saisonalität und es liegen für diese Untersuchung keine Daten über Geburten und Aborte während der Sömmierung vor.

#### **7.5.7. Infektionen durch Wildwiederkäuer**

Auf allen Alpen wurden Wildwiederkäuer gesichtet und es wurde über Kontaktmöglichkeiten zum gesömmerten Vieh berichtet. Die Bedeutung der Wildwiederkäuer als Infektionsquelle für Rinder, Schafe und Ziegen ist nach wie vor nicht abschliessend untersucht (BECHER et al., 1997; KRAMETTER et al., 2004; VILČEK und NETTLETON, 2006). Obwohl in einigen Ländern bzw. Regionen hohe Seroprävalenzen bei Wildwiederkäuern nachgewiesen wurden (LILLEHAUG et al., 2003; OLDE RIEKERICK et al., 2005) und deshalb davon auszugehen ist, dass Pestiviren in der Lage sind, in den untersuchten Populationen zu zirkulieren, existieren noch keine Beweise für eine mögliche Übertragung auf domestizierte Rinder (VILČEK und NETTLETON, 2006). In der Schweiz existieren zurzeit zu wenige Daten, um die Gefahr einer Infektion durch Wildwiederkäuer abzuschätzen.

### **7.6. Bedeutung der einzelnen Infektionsquellen**

Ansteckungen mit dem BVD-Virus waren in dieser Untersuchung mit grösster Wahrscheinlichkeit auf den Kontakt zu infizierten Rindern vor oder nach der Alpung zurückzuführen (Tab. 7). Die bedeutendsten Ursachen für Infektionen mit dem BDV stellten der Kontakt zu den persistent infizierten Schafen sowie das Nichterfassen persistenter infizierter Schafe dar.

Tab. 7: Bedeutung der einzelnen Infektionsquellen in Bezug auf eine Ansteckung mit dem BVD- oder dem BD-Virus

Mögliche Infektionsquellen	Bedeutung in Bezug auf	
	BVD-Virus	BDV-Virus
Kontakt zu persistent infizierten Rindern bzw. Schafen während der Sömmierung	Sehr gering	Sehr gross
Nichterfassen persistent infizierter Tiere	Sehr gering	Sehr gross
Transient virämische Tiere	Gering	Gering
Ansteckung vor oder nach der Sömmierung	Sehr gross	Sehr gering
Frühgeburten, Geburten oder Aborte virämischer Tiere auf der Alp	Sehr gering	Gross
Infektionen durch Wildwiederkäuer	Gering	Gering

## 7.7. Serokonversionsrate

Beim Vergleich der Anzahl Serokonversionen während der Alpung mit einer früheren Untersuchung auf Rinderalpen (SCHÖNMANN, 1997) fällt auf, dass die Inzidenz in dieser Untersuchung deutlich geringer war. In der Untersuchung von SCHÖNMANN (1997) wurde auf Alpen ohne pi-Rinder eine Inzidenz von 10.9 % und auf solchen mit pi-Rindern eine solche von 60.4 % festgestellt. Als mögliche Gründe für die tiefe Inzidenz trotz der Anwesenheit von infizierten Schafen sind die geringere Effizienz von Schafen bei der Infektionsverbreitung im Vergleich zu Rindern (LØKEN, 1992) sowie die relativ kurze Kontaktzeit und die geringe Kontaktintensität zwischen Schafen und Rindern zu nennen. Es ist anzunehmen, dass bei engerem und längerem Kontakt mit den infizierten Schafen mehr Rinder serokonvertiert hätten. Zudem ist die Virusverbreitung während der Weidezeit nicht annähernd so effektiv wie während der Stallhaltung (BRAUN et al., 2004). Denn während der Stallhaltung ist die Wahrscheinlichkeit, dass Rinder mit infektiösem Nasensekret und Speichel, welche die potentesten Infektionsquellen darstellen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995), in Kontakt kommen, deutlich höher.

her. Die gemeinsame Stallhaltung von 2 pi-Schafen mit 9 Kälbern führte innert 72 Tagen bei 6 Kälbern zu einer Serokonversion (Serokonversionsrate 66.7 %; REICHLE, 2009). In einer anderen Untersuchung serokonvertierten alle 4 Kälber, die gemeinsam mit 6 pi-Schafen gehalten wurden innert 51 Tagen (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008b).

## **7.8. Konsequenzen für die BVD-Bekämpfung in der Schweiz**

Insgesamt bildeten während der Sömmerung 18 (4.5 %) von 396 empfänglichen Rindern Antikörper gegen das BD-Virus. Dies zeigt deutlich, dass die Schafe auch unter schweizerischen Bedingungen durchaus als Infektionsquelle für Rinder in Betracht gezogen werden müssen. Die Frage, ob sich das BDV in der schweizerischen Rinderpopulation halten kann, indem persistent mit dem BD-Virus infizierte Kälber geboren werden, konnte in dieser Untersuchung nicht geklärt werden, da keines der initial seronegativen trächtigen Rinder, bei denen ein positiver BDV-Antikörpertiter nachgewiesen werden konnte, ein persistent mit dem BD-Virus infiziertes Kalb gebar. Fest steht aber, dass es durch den Kontakt zu den infizierten Schafen bei den Rindern zu transienten Infektionen mit der Folge einer Serokonversion gekommen ist. Vom BVD-Virus ist bekannt, dass es sich auch ohne Anwesenheit von pi-Tieren in der Herde unter den Rindern während längerer Zeit durch transient infizierte Rinder langsam verbreiten kann (HOUË, 1995). Diese Verbreitungsmöglichkeit muss auch für das BD-Virus in Betracht gezogen werden und wird insbesondere in Zukunft von Bedeutung sein, wenn die Empfänglichkeit der Schweizer Rinderpopulation gegenüber Pestiviren aufgrund des nationalen Eradikationsprogrammes stetig zunimmt. Zudem sieht das Bekämpfungsprogramm vor, die BVD-Seuchenfreiheit ab 2011 mittels der serologischen Untersuchung der Milch erstlaktierender Rinder nachzuweisen. Die Tatsache, dass vor allem Jungrinder gesömmert werden und somit einer grösseren Infektionsgefahr ausgesetzt sind als ältere Rinder, könnte den Nachweis der Seuchenfreiheit in Zukunft erschweren.

Bei den Schweizer Schafhaltern ist die Border-Disease nahezu unbekannt, obwohl die Seroprävalenz hoch ist. Das hängt damit zusammen, dass persistent infizierte Schafe in einer Herde schwierig zu erkennen sind, da sie durchaus klinisch unauffällig sein können (SAWYER et al., 1991; WOLF und BÜTTNER, 1994). Es wäre wichtig, die Schafhalter mit den klinischen Symptomen von BD bei Lämmern vertraut zu machen, damit solche Lämmer möglichst umgehend aus der Herde eliminiert werden. Darüber hinaus muss überlegt werden, ob Schafe und Rinder auch in Zukunft gemeinsam gehalten werden können, wenn nur die Rinder auf Pestiviren getestet werden.

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

ADLER, H., B. FRECH, P. MEIER, T. W. JUNGI and E. PETERHANS (1994): Noncytopathic strains of bovine viral diarrhea virus prime bovine bone marrow-derived macrophages for enhanced generation of nitric oxide. Biochem. Biophys. Res. Commun. 202, 1562-1568.

BARLOW, R. M., J. T. VANTSIS, A. C. GARDINER, J. C. RENNIE, J. A. HERRING and F. M. M. SCOTT (1980): Mechanisms of natural transmission of border disease. J. Comp. Pathol. 90, 57-65.

BACHOFEN, C., H. STALDER, U. BRAUN, M. HILBE, F. EHRENSPERGER and E. PETERHANS (2008): Co-existence of genetically and antigenically diverse bovine viral diarrhoea viruses in an endemic situation. Vet. Microbiol. 131, 93-102.

BECHER, P., M. ORLICH, A. D. SHANNON, G. HORNER, M. KÖNIG and H. J. THIEL (1997): Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. J. Gen. Virol. 78, 1357-1366.

BONNIWELL, M. A., P. F. NETTLETON, A. C. GARDINER, R. M. BARLOW and J. S. GILMOUR (1987): Border disease without nervous signs or fleece changes. Vet. Rec. 120, 246-249.

BOSTEDT, H. und K. DEDIÉ (1996): Border-Krankheit. In: Schaf- und Ziegenkrankheiten, Hrsg. H. Bostedt und K. Dedié. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 487-491.

BRAUN, U., G. LANDOLT, D. BRUNNER und T. GIGER (1997): Epidemiologische Untersuchungen über das Vorkommen von BVD/MD bei 2892 Rindern in 95 Milchviehbetrieben. Schweiz. Arch. Tierheilk. 139, 172-176.

BRAUN, U., M. HILBE, F. EHRENSPERGER, F. SALIS, P. ALTHER, M. STRASSER, H. P. STALDER und E. PETERHANS (2002): Border Disease in einem Schafbetrieb. Schweiz. Arch. Tierheilk. 144, 419-426.

BRAUN, U., F. SALIS und M. HILBE (2004): Kontaktinfektion von Lämmern bei gemeinsamer Haltung mit einem persistent mit Border-Disease-Virus infizierten Lamm. Tierärztl. Umschau 59, 371-373.

BROADDUS, C. C., G. R. HOLYOAK, L. DAWSON, D. L. STEP, R. A. FUNK and S. KAPIL (2007): Transmission of bovine viral diarrhea virus to adult goats from persistently infected cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 19, 545-548.

BROADDUS, C. C., C. G. LAMM, S. KAPIL, L. DAWSON and G. R. HOLYOK (2009): Bovine viral diarrhea virus abortion in goats housed with persistently infected cattle. *Vet. Pathol.* 46, 45-53.

CAMPELL, J. R., O. M. RADOSTITS, J. T. WOLFE and E. D. JANZEN (1995): An outbreak of border disease in a sheep flock. *Can. Vet. J.* 36, 307-309.

CARLSSON, U. (1991): Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 128, 145-147.

CARLSSON, U. and K. BELÁK (1994): Border disease virus transmitted to sheep and cattle by a persistently infected ewe: epidemiology and control. *Acta Vet. Scand.* 35, 79-88.

CRANWELL, M. P., A. OTTER, J. ERRINGTON, R. A. HOGG, P. WAKELEY and T. SANDVIK (2007): Detection of border disease virus in cattle. *Vet. Rec.* 161, 211-212.

DANUSER, R., H. R. VOGT, T. KAUFMANN, E. PETERHANS and R. ZANONI (2009): Seroprevalence and characterization of pestivirus infections in small ruminants and new world camelids in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 151, 109-117.

DUBOIS, E., P. RUSSO, M. PRIGENT and R. THIÉRY (2008): Genetic characterization of ovine pestiviruses isolated in France, between 1985 and 2006. *Vet. Microbiol.* 130, 69-79.

DUNCAN, C., H. VAN CAMPEN, S. SOTO, I. K. LEVAN, L. A. BAETEN and M. W. MILLER (2008): Persistent bovine viral diarrhea virus infection in wild cervids of Colorado. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20, 650-653.

FROST, J. W., I. WESTPHÄLING und H. KRAUSS (1991): Seroepidemiologische Untersuchungen bei Schafen in Süd- und Mittelhessen zur Verbreitung von Antikörpern gegen Border-Disease/BVD-Virus. *Tierärztl. Umschau* 42, 533-536.

GARCÍA-PÉREZ, A. L., E. MINGUIÓN, L. ESTÉVEZ, J. F. BARANDIKA, G. ADURIZ, R. A. JUSTE and A. HURTADO (2009): Clinical and laboratorial findings in pregnant ewes and their progeny infected with border disease virus (BDV-4 genotype). *Res. Vet. Sci.* 86, 345-352.

GRAHAM, D. A., V. CALVERT, A. GERMAN and S. J. McCULLOUGH (2001): Pestiviral infections in sheep and pigs in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 148, 69-72.

HILBE, M., H. STALDER, E. PETERHANS, M. HÄSSIG, M. NUSSBAUMER, C. EGLI, C. SCHELP, K. ZLINSZKY and F. EHRENSPERGER (2007a): Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhea virus infection in calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19, 28-34.

HILBE, M., A. ARQUINT, P. SCHALLER, K. ZLINSZKY, U. BRAUN, E. PETERHANS and F. EHRENSPERGER (2007b): Immunohistochemical diagnosis of persistent infection with bovine viral diarrhea virus (BVDV) on skin biopsies. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 149, 337-344.

HORNBERG, A., S. R. FERNANDEZ, C. VOGL, S. VILČEK, M. MATT, M. FINK, J. KÖFER and K. SCHÖPF (2009): Genetic diversity of pestivirus isolates in cattle from Western Austria. *Vet. Microbiol.* 135, 205-213.

HOUE, H. (1995): Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North. Am. (Food Anim. Pract.)* 11, 521-547.

HUGHES, L. E., G. F. KERSHAW and I. G. SHAW (1959): "B" or border disease. An undescribed disease of sheep. *Vet. Rec.* 71, 313-317.

JACKOVA, A., M. NOVACKOVA, C. PELLETIER, C. AUDEVAL, E. GUENEAU, A. HAFFAR, E. PETIT, L. REHBY and S. VILČEK (2008): The extended genetic diversity of BVDV-1: Typing of BVDV isolates from France. *Vet. Res. Commun.* 32, 7-11.

KRAMETTER, R., S. S. NIELSEN, A. LOITSCH, W. FRÖTSCHER, V. BENETKA, K. MÖSTL and W. BAUMGARTNER (2004): Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria. *J. Wildl. Dis.* 40, 791-795.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., A. LOITSCH, H. KOHLER, A. SCHLEINER, P. SCHIEFER, K. MÖSTL, F. GOLJA and W. BAUMGARTNER (2007a): Serological survey for antibodies against pestiviruses in sheep in Austria. *Vet. Rec.* 160, 726-730.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., H. KOHLER, V. BENETKA, K. MÖSTL, F. GOLJA, S. VILČEK and W. BAUMGARTNER (2007b): Influence of communal alpine pasturing on the spread of pestiviruses among sheep and goats in Austria: first identification of border disease virus in Austria. *Zoonoses Public Health* 54, 209-213.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., V. BENETKA, M. DUENSER, Z. BAGÓ, A. THEINER, B. PREYLER, K. MÖSTL, S. VILČEK and W. BAUMGARTNER (2008a): Descriptive study of a pestivirus infection in an Austrian goat. *Vet. Rec.* 163, 192-194.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., V. BENETKA, K. MÖSTL and W. BAUMGARTNER (2008b): Transmission of border disease virus from sheep to calves – a possible risk factor for the Austrian BVD eradication programme in cattle? *Wien. Tierärztl. Mschr.* 95, 200-203.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., V. BENETKA, J. RÖTZEL, N. MASON, Z. BAGO, K. MÖSTL und W. BAUMGARTNER (2010): Auswirkungen einer BDV-Infektion auf das trächtige Rind. Proceedings 7. Internationale Buiatrik-Tagung, Oberschleissheim (bei München).

LILLEHAUG, A., T. VIKØREN, I. L. LARSEN, J. ÅKERSTEDT, J. THARALDSEN and K. HANDELAND (2003): Antibodies to ruminant alpha-herpesviruses and pestiviruses in Norwegian cervids. *J. Wildl. Dis.* 39, 779-786.

LINDBERG, A. (2003): Bovine viral diarrhoea virus infections and its control. A review. *Vet. Q.* 25, 1-16.

LINDBERG, A., M. STOKSTAD, T. LØKEN, S. ALENIUS and R. NISKANEN (2004): Indirect transmission of bovine viral diarrhoea virus at calving and during the postparturient period. *Vet. Rec.* 154, 463-467.

LØKEN, T., J. KROGSRUD and I. BJERKÅS (1991): Outbreaks of border disease in goats induced by a pestivirus-contaminated orf vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. *J. Comp. Pathol.* 104, 195-209.

LØKEN, T. (1992): Pestivirus infections in ruminants in Norway. *Rev. Sci. Tech.* 11, 895-899.

LØKEN, T. (1995a): Border disease in sheep. *Vet. Clin. North Am. (Food Anim. Pract.)* 11, 579-595.

LØKEN, T. (1995b): Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep. *Vet. Clin. North Am. (Food Anim. Pract.)* 11, 597-614.

MARCO, I., J. R. LOPEZ-OLVERA, R. ROSELL, E. VIDAL, A. HURTADO, R. JUSTE, M. PUMAROLA and S. LAVIN (2007): Severe outbreak of disease in the southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) associated with border disease virus infection. *Vet. Microbiol.* 120, 33-41.

MARCO, I., R. ROSELL, O. CABEZÓN, G. MENTABERRE, E. CASAS, R. VELARDE, J. R. LÓPEZ-OLVERA, A. HURTADO and S. LAVÍN (2008): Epidemiological study of border disease virus infection in Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) after an outbreak of disease in the Pyrenees (NE Spain). *Vet. Microbiol.* 127, 29-38.

McGOWAN, M. R., P. D. KIRKLAND, S. G. RICHARDS and I. R. LITTLE-JOHNS (1993): Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Vet. Rec.* 133, 39-43.

MEYLING, A., H. HOUE and A. M. JENSEN (1990): Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. *Rev. Sci. Tech.* 9, 75-93.

NETTLETON, P. F. (1990): Pestivirus infections in ruminants other than cattle. *Rev. Sci. Tech.* 9, 131-150.

NETTLETON, P. F., J. S. GILMOUR, J. A. HERRING and J. A. SINCLAIR (1992): The production and survival of lambs persistently infected with border disease virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 179-188.

NETTLETON, P. F. and G. ENTRICAN (1995): Ruminant pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151, 615-642.

NETTLETON, P. F., J. A. GILRAY, P. RUSSO and E. DLISSI (1998): Border disease of sheep and goats. *Vet. Res.* 29, 327-340.

NETTLETON, P. F. and K. WILLOUGHBY (2007): Border disease. In: *Diseases of Sheep*, Ed. I. D. Aitken. Blackwell Science, Oxford, 119-126.

NIELSEN, S. S., L. ROENSHOLT and V. BITSCH (2000): Bovine virus diarrhea virus in free-living deer from Denmark. *J. Wildl. Dis.* 36, 584-587.

NISKANEN, R., A. LINDBERG, B. LARSSON and S. ALENIUS (2000): Lack of virus transmission from bovine viral diarrhoea virus infected calves to susceptible peers. *Acta Vet. Scand.* 41, 93-99.

OGUZOGLU, T. C., M. T. TAN, N. TOPLU, A. B. DEMIR, S. BILGE-DAGALP, T. KARAOGLU, A. OZKUL, F. ALKAN, I. BURGU, L. HAAS and I. GREISER-WILKE (2009): Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: A new BDV subgroup? *Vet. Microbiol.* 135, 374-379.

OLDE RIEKERINK, R. G. M., A. DOMINICI, H. W. BARKEMA and A. J. DE SMIT (2005): Seroprevalence of pestivirus in four species of alpine wild ungulates in the High Valley of Susa, Italy. *Vet. Microbiol.* 108, 297-303.

PATON, D. J., U. CARLSSON, J. P. LOWINGS, J. J. SANDS, S. VILČEK and S. ALENIUS (1995): Identification of herd-specific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep. *Vet. Microbiol.* 43, 283-294.

PATON, D., M. GUNN, J. SANDS, F. YAPP, T. DREW, S. VILČEK and S. EDWARDS (1997): Establishment of serial persistent infections with bovine viral diarrhoea virus in cattle and sheep and changes in epitope expression related to host species. *Arch. Virol.* 142, 929-938.

PETERHANS, E., C. BACHOFEN, H. STALDER and M. SCHWEIZER (2010): Cytopathic bovine viral diarrhea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. *Vet. Res.* 11-12, 41(6):44.

PIOZ, M., A. LOISON, P. GIBERT, D. DUBRAY, P. MENAUT, B. LE TALLEC, M. ARTOIS and E. GILOT-FROMONT (2007): Transmission of a pestivirus infection in a population of Pyrenean chamois. *Vet. Microbiol.* 119, 19-30.

REED, L. J. and H. MUENCH (1938): A simple method for estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27, 493-497.

REICHERT, C. (2009): Infektion von Kälbern, Schafen und Ziegen mit Border-Disease-Virus. Dissertation, Universität Zürich.

REICHLE, S. F. (2009): Untersuchungen bei Kälbern, die mit Border-Disease infizierten Lämmern zusammengehalten werden. Dissertation, Universität Zürich.

RÜFENACHT, J., P. SCHALLER, L. AUDIGÉ, M. STRASSER and E. PETERHANS (2000): Prevalence of cattle infected with bovine viral diarrhoea virus in Switzerland. *Vet. Rec.* 147, 413-417.

SANDS, J. J. and J. W. HARKNESS (1978): The distribution of antibodies to border disease virus among sheep in England and Wales. *Res. Vet. Sci.* 25, 241-242.

SAWYER, M. M., C. E. SCHORE and B. I. OSBURN (1991): Border disease of sheep - aspects for diagnostic and epidemiologic consideration. *Arch. Virol. Suppl.* 3, 97-100.

SAWYER, M. M. (1992): Border disease of sheep: the disease in the newborn, adolescent and adult. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 171-177.

SCHALLER, P., H. R. VOGT, M. STRASSER, P. F. NETTLETON, E. PETERHANS und R. ZANONI (2000): Seroprävalenz von Maedi-Visna und Border Disease in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 142, 145-153.

SCHLEINER, A., R. KRAMETTER-FRÖTSCHER, P. SCHIEFER, A. LOITSCH, F. GOLJA, K. MÖSTL und W. BAUMGARTNER (2006): Seroepidemiologische Untersuchung bei Schafen in Kärnten zur Verbreitung von ruminanten Pestiviren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 119, 203-208.

SCHÖNMANN, M. (1997): Epidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung der BVD-Virusinfektion auf schweizerischen Rinderalpen. Dissertation, Universität Zürich.

SIEGWART, N., M. HILBE, M. HÄSSIG and U. BRAUN (2006): Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. *Vet. J.* 172, 386-388.

STALDER, H. P., P. MEIER, G. PFAFFEN, C. WAGECK-CANAL, J. RÜFENACHT, P. SCHALLER, C. BACHOFEN, S. MARTI, H. R. VOGT and E. PETERHANS (2005): Genetic heterogeneity of pestiviruses of ruminants in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 72, 37-41.

STRONG, R., S. A. LaROCCA, G. IBATA and T. SANDVIK (2010): Antigenic and genetic characterisation of border disease viruses isolated from UK cattle. *Vet. Microbiol.* 141, 208-215.

TERPSTRA, C. (1981): Border disease: virus persistence, antibody response and transmission studies. *Res. Vet. Sci.* 30, 185-191.

THABTI, F., L. FRONZAROLI, E. DLISSI, J. GUIBERT, S. HAMMAMI, M. PEPIN and P. RUSSO (2002): Experimental model of border disease virus infection in lambs: comparative pathogenicity of pestiviruses isolated in France and Tunisia. *Vet. Res.* 33, 35-45.

VALDAZO-GONZÁLEZ, B., M. ALVAREZ-MARTINEZ and I. GREISER-WILKE (2006): Genetic typing and prevalence of border disease virus (BDV) in small ruminant flocks in Spain. *Vet. Microbiol.* 117, 141-153.

VALDAZO-GONZÁLEZ, B., M. ALVAREZ and T. SANDVIK (2008): Prevalence of border disease virus in Spanish lambs. *Vet. Microbiol.* 128, 269-278.

VILČEK, S., P. F. NETTLETON, D. J. PATON and S. BELÁK (1997): Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J. Gen. Virol.* 78, 725-735.

VILČEK, S., B. ĎURKOVIČ, M. KOLESÁROVÁ, I. GREISER-WILKE and D. PATON (2004): Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group. *Vet. Res.* 35, 609-615.

VILČEK, S. and P. F. NETTLETON (2006): Pestiviruses in wild animals. *Vet. Microbiol.* 116, 1-12.

VLA DISEASE SURVEILLANCE REPORT (2009): Border disease virus isolated from a bovine fetus. *Vet. Rec.* 164, 515-518.

WEISS, M., C. HERTIG, M. STRASSEN, H. R. VOGT und E. PETERHANS (1994): Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease: eine Übersicht. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 136, 173-185.

WILLOUGHBY, K., B. VALDAZO-GONZÁLEZ, M. MALEY, J. GILRAY and P. F. NETTLETON (2006): Development of a real time RT-PCR to detect and type ovine pestiviruses. *J. Virol. Methods* 132, 187-194.

WOLDEHIWET, Z. and P. F. NETTLETON (1991): Progeny of sheep persistently infected with border disease virus. *Arch. Virol. Suppl.* 3, 267-271.

WOLF, G. und M. BÜTTNER (1994): Klinik und Diagnostik der Border Disease. *Tierärztl. Prax.* 22, 35-38.

ZIMMERLI, U., P. PRESI und D. HEIM (2009): BVD-Eradikationsprogramm in der Schweiz: Erste Zwischenbilanz und Ausblick. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 151, 5-11.

## **9. LEBENSLAUF**

### **Rahel Büchi**

8. März 1984	Geboren in Richterswil ZH
1990 – 1996	Primarschule in Samstagern
1996 – 1998	Sekundarschule in Richterswil
1998 – 2002	Mathematisch-Naturwissenschaftliches Gymnasium Rämibühl Zürich
2002 – 2007	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich mit Staatsexamen
2007 – 2009	Assistentin und Doktorandin am Departement für Nutztiere der Universität Zürich
Seit Dez. 2009	Assistentin in der Gemischpraxis Dres. M. und K. Walser, Zizers.

## **10. DANKSAGUNG**

An dieser Stelle möchte ich allen ganz herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. U. Braun für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referats, ebenso für die Unterstützung während der Untersuchung und die Korrektur der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. E. Peterhans für die Übernahme des Korreferats und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Veterinär-Virologie der Universität Bern für die virologischen und serologischen Untersuchungen der verschiedenen Proben.

Frau Dr. C. Bachofen für die geduldige und kompetente Beantwortung fachlicher Fragen und für ihre unentbehrliche Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. M. Hässig für die Hilfe bei den statistischen Analysen.

Herrn Dr. J. Risi, Kantonstierarzt, und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Veterinäramts der Urkantone für die Hilfe bei den Vorbereitungen zur Probenentnahme.

Carolin Baruffol, Adrian Baruffol, Silvana Manzanell, Renate Büchi, Yasmine Piening Schuler, Tomas Häggvik, Käthi Kempf, Hansueli Bürgler, Marcella von Salis-Soglio, Hanspeter Bürgler und Gian-Carlo Ghisletti für ihren Einsatz bei den Probenentnahmen.

Frau Dr. Dagmar Kemper, Simona Sigrist und Marlis Blatter für die Übernahme meiner Arbeit in der Ambulanz während der Probenentnahme.

Christine Beckmann, Frau PD Dr. Gabi Knubben-Schweizer und Dr. Andreas Tschuor für die fachliche und vor allem moralische Unterstützung.

Herr Dr. S. Quaile und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Veterinäramts des Kantons Zürich für die Bereitstellung der Resultate des BVDV-Antigen-Nachweises der Kälber.

Den Herren Martin Truttmann, Richard Ziegler, Josef von Ah und Franz Furrer für die Besitzerlisten der einzelnen Alpen.

Den Alphirten Josef von Ah, Karl Muheim, Tony Arnold und Werner Schmalz für das Wissen über Alpwesen, Weideverhältnisse sowie einzelne Rinder und Schafe, das sie bereitwillig an mich weiter gegeben haben.

Allen Landwirten, die mir ihre Rinder und Schafe sowie ihre Zeit für die Blutprobenentnahmen zur Verfügung gestellt und mir die Arbeit mit interessanten und amüsanten Geschichten versüsst haben.

Den Sekretärinnen des Departements für Nutztiere, B. Gäble, S. Windler und M. Simonyi für die Hilfe bei diversen administrativen Aufgaben.

Meinen lieben Eltern Werner und Renate Büchi, meinen lieben Geschwistern Vera, Judith und Christian Büchi und meinem Liebsten Gian-Carlo Ghisletti für die Geduld und Unterstützung.

## 11. ANHANG

### 11.1. SNT-Ergebnisse von 72 Rindern mit verdächtigem oder positivem AK-

#### Titer gegenüber BVDV und/oder BDV

Tier	Proben-nummer	Alter in Monaten	Alp	ELISA-Ergebnis	Antikörpertiter im SNT	
					Gegen BVDV	Gegen BDV
1	C 2.15	11	C	Verdächtig	< 8	~ 20
2	C 38.2	11	C	Positiv	< 200	> 400
3	C 38.8	10	C	Positiv	< 100	~ 200
4	C 71.10	24	C	Verdächtig	< 50	~ 100
5	CC 27	22	C	Verdächtig	< 8	~ 20
6	C 15.8	21	C	Positiv	< 8	~ 40
7	C 15.2	24	C	Positiv	< 8	~ 40
8	E 10.18	18	D	Verdächtig	< 8	~ 20
9	E 4.11	22	D	Positiv	< 8	~ 40
10	E 14.7	29	D	Verdächtig	< 8	~ 20
11	C 41.7	14	C	Verdächtig	< 8	8 < x > 20
12	C 6.14	23	C	Verdächtig	< 8	8 < x > 20
13	C 29.6	24	C	Positiv	< 8	8 < x > 40
14	C 6.3	21	C	Verdächtig	< 8	8 < x > 20
15	C 15.12	23	C	Positiv	< 8	8 < x > 200
16	C 40.5	10	C	Verdächtig	< 8	8 < x > 40
17	E 22.2	12	D	Positiv	< 8	8 < x > 40
18	E 10.16	23	D	Positiv	< 40	40 < x > 200
19	E 4.20	24	D	Verdächtig	~ 8	8 < x > 20
20	E 14.9	23	D	Verdächtig	~ 20	20 < x > 100
21	E 23.10	39	D	Positiv	< 8	8 < x > 40
22	A 13.3	12	A	Verdächtig	< 8	~ 8
23	A 14.2	12	A	Positiv	< 8	~ 8
24	C 53.14	22	C	Positiv	< 8	~ 8
25	C 31.18	24	C	Verdächtig	< 8	~ 8
26	C 31.22	23	C	Verdächtig	< 8	~ 8
27	C 6.7	24	C	Positiv	< 8	~ 8
28	C 5.1	8	C	Positiv	< 8	~ 8
29	C 5.2	12	C	Positiv	< 8	~ 8
30	C 11.6	23	C	Positiv	< 8	~ 8
31	C 11.9	21	C	Verdächtig	< 8	~ 8
32	C 15.9	22	C	Positiv	< 8	~ 8
33	C 15.14	22	C	Verdächtig	< 8	~ 8
34	C 15.6	22	C	Positiv	< 8	~ 8
35	C 40.17	22	C	Verdächtig	< 8	~ 8

Fortsetzung Anhang 11.1.

Tier	Proben-nummer	Alter in Monaten	Alp	ELISA-Ergebnis	Antikörpertiter im SNT	
					Gegen BVDV	Gegen BDV
36	E 1.1	33	D	Verdächtig	< 8	~ 8
37	E 12.6	19	D	Positiv	< 8	~ 8
38	E 14.2	25	D	Positiv	< 8	~ 8
39	C 1.4	19	C	Verdächtig	~ 20	n. b., < 20
40	C 31.14	28	C	Positiv	> 2000	~ 1000
41	C 10.5	33	C	Positiv	~ 2000	< 1000
42	E 18.1	23	D	Positiv	~ 1000	< 500
43	E 18.6	18	D	Positiv	~ 1000	< 500
44	A 12.16	15	A	Verdächtig	~ 100	50 < x > 100
45	C 64.17	22	C	Verdächtig	~ 20	n. b., < 20
46	C 5.4	20	C	Positiv	200 < x > 1000	< 200
47	E 18.7	23	D	Positiv	200 < x > 1000	< 200
48	C 59.3	10	C	Verdächtig	~ 20	~ 8
49	C 59.27	11	C	Positiv	~ 8	< 8
50	C 10.3	24	C	Positiv	~ 500	~ 500
51	C 54.2	28	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
52	C 2.5	20	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
53	C 64.6	20	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
54	C 38.15	24	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
55	C 30.1	35	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
56	C 35.1	23	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
57	C 30.6	20	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
58	C 50.2	10	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
59	C 50.1	22	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
60	C 51.10	10	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
61	C 51.8	21	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
62	C 25.15	23	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
63	C 25.14	23	C	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
64	C 28.6	35	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
65	CC 01	20	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
66	C 21.6	24	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
67	C 31.13	27	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
68	C 31.16	26	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
69	C 6.4	34	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
70	C 29.2	13	C	Positiv	< 8	n. b., < 20
71	E 12.10	23	D	Verdächtig	< 8	n. b., < 20
72	E 9.6	23	D	Verdächtig	< 8	n. b., < 20

Legende und Erläuterungen siehe nächste Seite.

Legende:

- ~ 40: Bei einer Serumverdünnung von 1:40 wurde das Viruswachstum teilweise inhibiert, der Titer lag um die 1:40
- 8 < x > 20: Bei einer Serumverdünnung von 1:8 wurde das Viruswachstum inhibiert, bei einer solchen von 1:20 nicht, der Titer lag zwischen 1:8 und 1:20
- n. b., < 20: Der Antikörpertiter lag bei maximal 1:20, bei einer Serumverdünnung von 1:8 war das Resultat nicht beurteilbar, da die GSM (goat synovial membrane)-Zellen, die für die BDV-Vermehrung verwendet wurden, bei der zu hohen Serumkonzentration abstarben.

Erläuterungen:

Beurteilung der Resultate des SNT's:

Tiere 1-10:	BDV-Kontakt sicher
Tiere 11-17, 21:	BDV-Kontakt vermutet
Tiere 40-43:	BVDV-Kontakt sicher
Tiere 45-47:	BVDV-Kontakt vermutet
Tiere 18-20, 22-39, 44, 48-72:	Antikörper nicht differenzierbar

## 11.2. Befunde bei 16 trächtigen Rindern, die während der Alpung serokonvertierten

Tier	Proben-nummer	Alter in Monaten	Alp	Trächtig-keitsstadium in Monaten	Abort	Resultat des ELISA's	Beurteilung des SNT-Resultats	Pestivirusantigen-Status des Kalbes
1	C 29.6	24	C	1.5	Ja	Positiv	BDV Kontakt vermutet	Nicht untersucht
2	C 10.5	33	C	3.5	Nein	Positiv	BVDV Kontakt sicher	Positiv
3	C 6.4	34	C	6.0	Nein	Positiv	Antikörper nicht differenziert	Nicht untersucht (Totgeburt)
4	E 23.10	39	D	6.0	Nein	Positiv	BDV Kontakt vermutet	Negativ
5	E 18.7	23	D	4.0	Nein	Positiv	BVDV Kontakt vermutet	Negativ
6	C 31.14	28	C	3.5	Nein	Positiv	BVDV Kontakt sicher	Negativ
7	C 54.2	28	C	3.5	Nein	Verdächtig	Antikörper nicht differenziert	Negativ
8	C 30.1	35	C	5.5	Nein	Verdächtig	Antikörper nicht differenziert	Negativ
9	C 28.6	35	C	6.0	Nein	Positiv	Antikörper nicht differenziert	Negativ
10	E 1.1	33	D	5.0	Nein	Verdächtig	Antikörper nicht differenziert	Negativ
11	C 31.3	25	C	0.5	Nein	Verdächtig	Negativ	Negativ
12	C 41.4	31	C	5.5	Nein	Verdächtig	Negativ	Negativ
13	B 1.8	79	B	2.5	Nein	Verdächtig	Negativ	Negativ
14	E 5.4	31	D	5.0	Nein	Positiv	Negativ	Negativ
15	E 3.3	31	D	5.5	Nein	Positiv	Negativ	Negativ
16	C 20.2	35	C	6.0	Nein	Positiv	Negativ	Negativ