

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer¹, A. Wallner¹, M. Haidegger¹, M. Dünser¹

¹Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Innsbruck, Austria

Zusammenfassung

Nach der erfolgreichen Eradikation des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus (BVDV) beim Rind in Österreich besteht weiterhin das Risiko zu Infektionen mit dem Border-Disease-Virus (BDV). Beide Viren gehören zur Gattung der Pestiviren. BDV-Infektionen führen bei der BVDV-Überwachung zu falsch-positiven Ergebnissen. Dies lässt sich auf Einträge aus der kleinen Wiederkäuerpopulation zurückführen. Insbesondere die gemeinsame Haltung von Rindern mit Schafen bzw. Ziegen in einem Betrieb sowie die Alpfung sind bedeutende Risikofaktoren für Infektionen. Zwischen 2015 und 2022 konnte in Österreich bei 15 Rindern BDV Typ 3 nachgewiesen werden. Bei diesen Tieren handelte es sich fast ausschließlich um persistent infizierte Kälber. Findet man jedoch bei positivem Antikörper-Ergebnis bzgl. Pestiviren in einem Betrieb keinen aktiven Virusausscheider, kann das zu einer äusserst zeit- und kostenintensiven und zudem nicht immer erfolgreichen Suche nach der Infektionsquelle führen.

In dieser Studie werden Möglichkeiten aufgezeigt, wie mit überschaubarem Arbeits- und Kostenaufwand der kleine Wiederkäuer zusätzlich in die Pestiviren-Überwachung eingebunden werden kann. Dazu wurden 23 406 bereits vorhandene Schaf- und Ziegenproben aus zwei Brucellose-Überwachungsprogrammen beim kleinen Wiederkäuer herangezogen. Diese Blutproben wurden mittels einer Pestivirus-Real-Time-Pool RT-PCR (qPCR) untersucht. Dabei gelang bei 40 Schafen aus fünf verschiedenen Bundesländern ein direkter Virusnachweis von BDV-3. Über den gesamten Untersuchungszeitraum von 2015–2022 fanden sich ausserhalb dieser Studie in ganz Österreich weitere 37 Nachweise von BDV-3 bei Rindern, Schafen und Ziegen. Demnach entfallen 52 % aller Border-Disease-Nachweise von 2015 bis 2022 auf diese Studie. Mittels Einbeziehung der kleinen Wiederkäuer in die Pestiviren-Überwachung kann zukünftig der Störfaktor BDV und das Risiko der Einschleppung in Rinderbestände deutlich minimiert werden.

Schlüsselwörter: Alpfung, Border-Disease-Virus, Bovines Virusdiarrhoe-Virus, Pestivirus, Rind, Wiederkäuer

Pestiviruses in sheep and goats in Austria: Options for integration into the bovine viral diarrhoea (BVDV) monitoring program

After the successful eradication of the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle in Austria, the risk of infections with the border disease virus (BDV) remains. Both viruses belong to the pestivirus genus. BDV infections lead to false-positive results in BVDV surveillance. This can be attributed to the contact to small ruminant populations. In particular, keeping cattle together with sheep or goats on a farm or alpine pasture are significant risk factors. Between 2015 and 2022, BDV type 3 was detected in 15 cattles in Austria. These animals were almost exclusively persistently infected calves. However, a positive antibody result for pestiviruses can lead to an extremely time-consuming and costly, and not always successful search for the source of the infection if no active virus excretor is found.

This study documents how small ruminants can be integrated into pestivirus monitoring with a manageable amount of work and costs. 23 406 sheep and goat samples from two brucellosis surveillance programs in small ruminants were analyzed retrospectively. Blood samples were examined using pestivirus real-time pool RT-PCR (qPCR). Direct virus detection of BDV-3 was achieved in 40 sheep from five different federal states. Over the entire investigation period a further 37 detections of BDV-3 were found in cattle, sheep and goats outside of this study throughout Austria. This study accounts for 52 % of all border disease detections from 2015 to 2022. By including small ruminants in pestivirus monitoring, the disruptive factor BDV and the risk of its introduction into cattle herds can be significantly minimized in the future.

Keywords: alpine pasture, border disease virus, bovine viral diarrhoea virus, pestivirus, cattle, ruminants

<https://doi.org/10.17236/sat00413>

Eingereicht: 12.06.2023
Angenommen: 25.10.2023

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Einleitung

Das Bovine Virusdiarrhoe-Virus (BVDV) ist für eine der wirtschaftlich bedeutendsten und interessantesten Infektionskrankheiten von Rindern und anderen Wiederkäuern weltweit verantwortlich.¹¹ In den meisten Fällen führt eine Infektion bei Rindern zu einem transienten oder akuten klinischen Verlauf und ist mit respiratorischen sowie gastrointestinalen Symptomen, Aborten und einem Rückgang der Milchproduktion verbunden. Die Mehrzahl der transient infizierten Tiere (TI) zeigt einen milden klinischen Verlauf und eine bis zu zwei bis drei Wochen andauernde Virämie.⁹ Nach einer akuten Infektion entwickeln die Tiere eine Immunität.²¹ Infektionen, die den Fortpflanzungsstrakt betreffen, können Aborten, Totgeburten, angeborene Defekte oder die Geburt persistent infizierter (PI) Kälber verursachen. Immuntolerante PI-Kälber resultieren aus der Exposition einer immunologisch naiven Kalbin oder Kuh mit einem nicht zytopathogenen BVD-Virus während der frühen Trächtigkeitsphase.¹⁵ Diese PI-Tiere bleiben lebenslang infiziert, sind Quellen ständiger massiver Virusausscheidung und können die tödliche Mucosal Disease (MD) entwickeln. Für die Verbreitung der Infektion in den Herden sind primär PI-Tiere verantwortlich, obwohl neben PI-Tieren auch TI-Tiere das Virus ausscheiden und eine horizontale Übertragung induzieren können.^{2,9} Allein über transiente Infektionen ist es jedoch, bei den üblichen Herdengrößen im alpinen Raum, nicht möglich die Viruszirkulation über einen längeren Zeitraum aufrecht zu erhalten.¹⁹ BVDV gehört, zusammen mit dem Erreger der klassischen Schweinepest und dem Border-Disease-Virus, innerhalb der Familie der *Flaviviridae* zur Gattung der Pestiviren.

Nach einer Metaanalyse der weltweiten Prävalenz von BVDV beim Rind von 1961–2016 liegt die Prävalenz von BVDV-PI-Tieren in Nordamerika, Europa und Australien bei $\leq 0,8\%$.¹⁷ Das Border-Disease-Virus (BDV) hingegen

verursacht hauptsächlich Infektionen bei Schafen und Ziegen. Die Übertragung zwischen den einzelnen Wiederkäuerarten scheint sowohl in Richtung von Rindern zu Schafen als auch umgekehrt aufzutreten.¹⁴ Durch den Erfolg der BVDV-Bekämpfungsprogramme und dem gleichzeitigen Verbot einer Impfung sinkt die Herdenimmunität bzgl. Pestiviren, wodurch mehr Rinder empfänglich für BDV werden. Da die Übertragung von Rind zu Rind im Falle von BDV selten auftritt, ist der direkte Kontakt zu Schafen als größtes Infektionsrisiko anzusehen.¹² So stellt BDV ein diagnostisches Problem für die BVDV-Bekämpfung dar, denn eine Unterscheidung, ob Antikörper gegen BVDV oder BDV gerichtet sind, ist nicht Bestandteil der Routine-Diagnostik.³

In den Jahren 2009–2014 konnte in Westösterreich bei 219 Kälbern BVDV nachgewiesen werden.¹⁸ In den folgenden drei Jahren wurden österreichweit noch 18 mit BVDV infizierte PI-Tiere nachgewiesen. Seit 2018 liegt kein Virus-Nachweis von BVDV vor.¹ Ein analoger Rückgang ist bei Border Disease nicht festzustellen. Schoepf et al. berichteten zwischen 2009 und 2014 von 13 PI-Kälbern mit BDV-3-Infektion in Westösterreich.¹⁸ Von 2015 bis 2022 konnte in Gesamtösterreich bei ebenfalls 15 Rindern BDV-3 molekularbiologisch nachgewiesen werden (AGES, unpubl. data). Ein Grossteil dieser Rinder (sieben von 15) wurde aufgrund des flächendeckenden Einsatzes von Ohrgewebsproben aller neugeborenen Kälbern im Bundesland Tirol nachgewiesen.

Da seit 2017 keine Gewebe-Ohrmarken mehr flächendeckend zur Tierkennzeichnung ausgegeben wurden, liegen von der überwiegenden Mehrheit der seither nachgeborenen Kälber keine Antigen-Ergebnisse bzgl. Pestiviren vor (Abbildung 1). Die Überwachung findet daher über Antikörper-Untersuchungen statt. Dazu werden je nach Gegebenheit Tankmilchproben, Blutproben des BLI-Stichprobenplans (BLI = Bang-Leukose-IBR) und des BVD-Jungtier-Monitorings untersucht.

Bei einer neu auftretenden Serokonversion wird der gesamte Rinderbestand, im Optimalfall auch Schafe und Ziegen, auf Pestivirus-Antikörper und -Antigen untersucht. Der Antigen-Nachweis erfolgt bei Rinderproben über einen Antigen-ELISA (BVDV Ag/Serum Plus Test der Fa. IDEXX, Hoofddorp, Niederlande) und im positiven Falle einer Pestivirus-Real-Time RT-PCR (qPCR). Schaf und Ziegenproben werden sofort mittels PCR analysiert. Wird so ein aktiver Virusausscheider gefunden, kann mittels Sequenzierung der Erreger einem BVDV- bzw. BDV-Stamm zugeordnet werden. Ohne aktive Infektion im Bestand können Antikörper positive Proben ausschliesslich mittels Serum-Neutralisationstest (SNT) einer BVDV- oder BDV-Infektion zugeordnet werden. Mit den in der Routine verwendeten ELISA-Tests ist diese Unterscheidung nicht möglich. Um eine aktive Infektionsquelle zu finden, muss dann das weitere Umfeld des betroffenen Betriebes (Kontaktbetriebe,

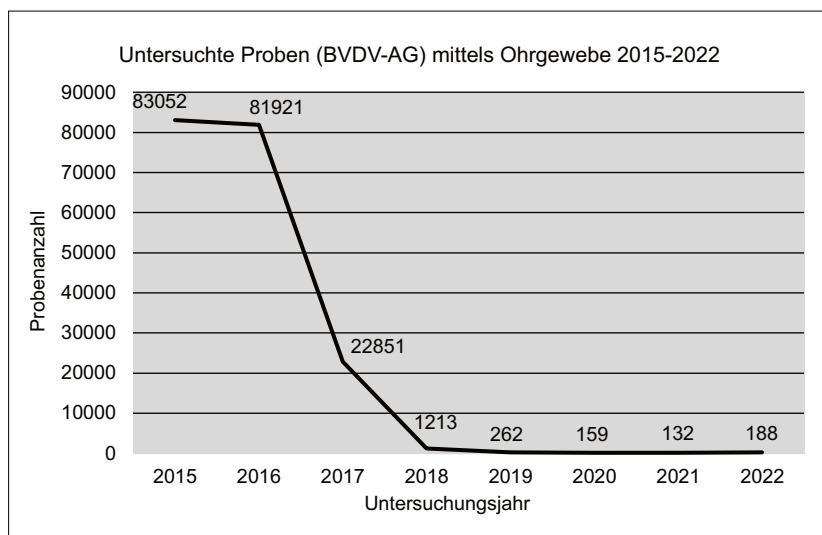


Abbildung 1: BVDV-AG Untersuchungen mittels Ohrgewebe in Westösterreich.

Almen, etc.) in die Untersuchung eingebunden werden. Die Abklärung eines Eintrages von Pestiviren in die Rinderpopulation ist somit sehr arbeits- und kostenintensiv.

Wie schon erwähnt, liegt für Österreich seit mehreren Jahren kein Nachweis für BVDV mehr vor. Aus diesem Grund setzt die aktuelle Studie den Fokus auf den möglichen Eintrag von BDV in Rinderbestände ausgehend von Schafen und Ziegen. Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen fanden von 2015 bis 2022 in engem Austausch mit den Veterinärbehörden statt. So konnten die jährlichen Ergebnisse noch vor der Almsaison an die zuständigen Stellen übermittelt werden. Die hier vorliegende Zusammenfassung dieser Untersuchungen soll Möglichkeiten aufzeigen, wie im Rahmen anderer Bekämpfungsprogramme Schafe und Ziegen mit einer BDV-Infektion detektiert werden können.

Material und Methoden

Probenumfang

Im Rahmen dieser Studie wurden 23 406 Schaf- und Ziegenproben mittels einer Pestivirus-Real-Time-Pool RT-PCR (qPCR) untersucht. Die Gesamtsumme der Proben bestand

Tabelle 1: Anzahl PCR-Untersuchungen aus dem *Brucella ovis*-Überwachungsprogramm.

Jahr	Anzahl	PCR pos (Schafe)	PCR pos (%)
2015	2635	10	0,38
2016	–	–	–
2017	2474	4	0,16
2018	2403	7	0,29
2019	2409	6	0,25
2020	2311	5	0,22
2021	2410	4	0,17
2022	2382	3	0,13
Gesamt	17024	39	0,23

aus asservierten Proben zweier Überwachungsprogramme gegen Brucellose, wobei gemäss Verordnung nur Tiere im Alter von über sechs Monaten beprobt wurden.

Zum einen werden in Tirol zur Bekämpfung von *Brucella ovis* jährlich zwischen 2300 und 2700 Schafböcke beprobt. Diese Serumproben wurden für die weitere Untersuchung bzgl. Pestiviren (BVDV / BDV) bei -20 °C gelagert. Von 2015 bis 2022 waren es insgesamt 17 024 Proben (siehe Tabelle 1). Im Untersuchungsjahr 2016 wurden keine Proben eingefroren, da nach der Pilotstudie 2015 unklar war, ob diese Studie weiterverfolgt wird.

Zusätzlich wurden aus dem österreichischen *Brucella melitensis*-Überwachungsprogramm 2018 insgesamt 6382 Schaf- und Ziegenproben hinzugezogen (siehe Tabelle 2). Die Auswahl der Proben bezog sich auf 522 Betriebe, die sowohl kleine Wiederkäuer als auch Rinder halten.

Molekularbiologische und serologische Analyse

Die Proben wurden in Pools von maximal 20 Proben zusammengefasst und die RNA-Extraktion erfolgte anschließend mittels Nucleospin Virus Core Kit (Fa. Macherey-Nagel, Düren, BRD). Die qPCR wurde mit dem VetMAX-Gold BVDV Detection Kit (Fa. Thermofisher Scientific, Germing, BRD) durchgeführt. Positive Pools wurden aufgelöst und die jeweiligen Einzelproben erneut analysiert, sodass die positive Einzelprobe detektiert werden konnte. Aufgrund der teils geringen asservierten Probenmenge wurde bei diesen Proben auf eine Antikörper-Untersuchung verzichtet und stattdessen das Probenmaterial für die Sequenzierung verwendet. Zur genetischen Typisierung wurden die positiven Proben anhand der 5'-UTR RT-PCR nach dem Protokoll von Vilček et al. weiter analysiert und folglich sequenziert.²² Die Sequenzen wurden mit den Daten des NCBI verglichen und phylogenetisch mit anderen österreichischen Pestiviren Sequenzen (Bionumerics Software) ausgewertet.¹⁰

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Tabelle 2: Ergebnisse der Proben aus *Brucella melitensis*-Überwachungsprogramm 2018.

Bundesland	Schafe	PCR pos (Schafe)	Serokonversion in pos Betrieb	Ziegen	PCR pos (Ziegen)	Gesamt (Tiere)
Burgenland	39	–	–	6	–	45
Kärnten	733	1	95% der Tiere	237	–	970
Niederösterreich	624	–	–	168	–	792
Oberösterreich	467	–	–	350	–	817
Salzburg	551	1	80% der Tiere	139	–	690
Steiermark	374	1	93% der Tiere	147	–	521
Tirol	1585	4 (2 Betriebe)	86% der Tiere 89% der Tiere	603	–	2188
Vorarlberg	176	1	91% der Tiere	183	–	359
Wien	–	–	–	–	–	–
Gesamt	4549	8 (6 Betriebe)	Ø 89% der Tiere	1833	–	6382

Tabelle 3: Untersuchungsergebnisse der Pestiviren-positiven Schafe (B.o. = *Brucella ovis*-Programm; B.mel. = *Brucella melitensis*-Überwachung).

Nr.	Jahr	Tierart	Sex	Probenherkunft	Bundesland	Cq-Wert	Sequenzierung	AK ELISA	Nachuntersuchung	Infektion
1	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	25,9	BDV-3		keine	
2	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	36,3	BDV-3		keine	
3	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,8	BDV-3		keine	
4	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	34,0	nicht durchführbar		negativ	transient
5	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	37,7	BDV-3		negativ	transient
6	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	25,2	BDV-3		keine	
7	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	34,6	BDV-3		keine	
8	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	34,4	BDV-3		negativ	transient
9	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	24,7	BDV-3		keine	
10	2015	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,3	BDV-3		negativ	transient
11	2017	Schaf	m	B. o.	Tirol	32,8	nicht durchführbar		keine	
12	2017	Schaf	m	B. o.	Tirol	22,1	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
13	2017	Schaf	m	B. o.	Tirol	22,9	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
14	2017	Schaf	m	B. o.	Tirol	19,7	BDV-3		keine	
15	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	27,8	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
16	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	27,6	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
17	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	24,1	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
18	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	24,3	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
19	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	34,7	BDV-3		negativ (Ak pos)	transient
20	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	37,2	nicht durchführbar		negativ	
21	2018	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,5	BDV-3		negativ	transient
22	2018	Schaf	w	B. mel.	Kärnten	24,4	BDV-3	negativ	keine	
23	2018	Schaf	w	B. mel.	Vorarlberg	24,6	BDV-3	negativ	keine	
24	2018	Schaf	w	B. mel.	Tirol	36,4	BDV-3	negativ	keine	
25	2018	Schaf	w	B. mel.	Tirol	26,0	BDV-3	negativ	keine	
26	2018	Schaf	w	B. mel.	Tirol	37,2	nicht durchführbar	positiv	keine	
27	2018	Schaf	w	B. mel.	Tirol	24,9	BDV-3	negativ	keine	
28	2018	Schaf	w	B. mel.	Steiermark	25,8	BDV-3	negativ	keine	
29	2018	Schaf	m	B. mel.	Salzburg	35,6	BDV-3	fraglich	keine	
30	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	31,0	nicht durchführbar		negativ (Ak pos)	transient
31	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,2	BDV-3		negativ (Ak pos)	transient
32	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	31,1	nicht durchführbar		negativ (Ak pos)	transient
33	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	24,8	BDV-3		keine	
34	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,8	nicht durchführbar		negativ (Ak pos)	transient
35	2019	Schaf	m	B. o.	Tirol	22,5	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
36	2020	Schaf	m	B. o.	Tirol	30,4	BDV-3		negativ (Ak pos)	transient
37	2020	Schaf	m	B. o.	Tirol	25,4	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
38	2020	Schaf	m	B. o.	Tirol	23,0	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
39	2020	Schaf	m	B. o.	Tirol	35,0	BDV-3		negativ (Ak pos)	transient
40	2020	Schaf	m	B. o.	Tirol	35,6	BDV-3		negativ (Ak neg)	?
41	2021	Schaf	m	B. o.	Tirol	33,3	BDV-3		keine	
42	2021	Schaf	m	B. o.	Tirol	26,2	BDV-3		keine	
43	2021	Schaf	m	B. o.	Tirol	31,6	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
44	2021	Schaf	m	B. o.	Tirol	30,1	BDV-3		positiv (Ak neg)	persistent
45	2022	Schaf	m	B. o.	Tirol	27,9	BDV-3		keine	
46	2022	Schaf	m	B. o.	Tirol	39,5	BDV-3		negativ (Ak pos)	transient
47	2022	Schaf	m	B. o.	Tirol	35,2	BDV-3		keine	

Bei allen positiv untersuchten Tieren aus dem *B. ovis*-Bekämpfungsprogramm wurde um eine erneute Probeneinsendung gebeten. Diese Neueinsendungen wurden dann mittels BDV-Antikörper-ELISA (SVANOVIR® BDV-Ab, Svanova, Uppsala, Schweden bzw. ID Screen® BVD p80 Antibody Competition, Innovative Diagnostics, Grebels, Frankreich) und oben erwähnter qPCR untersucht.

Für BDV-positive Tiere aus dem *B. melitensis*-Überwachungsprogramm 2018 war eine erneute Beprobung aus logistischen Gründen ausgeschlossen. Stattdessen wurden alle Proben aus den Betrieben mit BDV-positiven Tieren zusätzlich auf BDV-Antikörper untersucht.

Ergebnisse

Proben aus dem *Brucella ovis*-Bekämpfungsprogramm Tirol

Die mittels Pan-Pesti-Real-Time Pool-RT-PCR (qPCR) untersuchten 17024 Schafbockseren aus dem *Brucella ovis*-Bekämpfungsprogramm der Jahre 2015 und 2017–2022 ergaben in Summe 39 Pestivirus-positive Tiere (siehe Tabelle 1). Bei 33 Proben konnte eine Infektion mit BDV-3 per Sequenzierung nachgewiesen werden (siehe Tabelle 3). Für sechs Proben war wegen zu geringer Viruslast bzw. zu wenig Probenmaterial keine Sequenzierung möglich. Die Folgeuntersuchung konnte nur bei 26 der 39 Tiere durchgeführt werden. Bei 15 Tieren war bei neuerlicher Einsendung der Nachweis auf BDV-Antigen negativ und teilweise konnten Antikörper detektiert werden. Als gesicherte PI-Fälle seit 2015 gelten somit 11 Tiere. Diese wiesen sowohl einen niedrigen Cq-Wert in der Erst- und in der Nachuntersuchung auf, zugleich aber keine Antikörper. In 13 Fällen war eine Nachuntersuchung nicht mehr möglich, weil es insbesondere durch Verkauf, Verenden, Kümmern oder Schlachtung zu einem vorzeitigen Ausscheiden der auffälligen Böcke gekommen ist. Somit war in diesen Fällen keine eindeutige Aussage über die Art der Infektion (persistent oder transient) zu treffen. Jedoch wiesen sieben dieser Tiere einen Cq-Wert <28 auf.

Der Anteil an PCR-positiven Tieren lag über die Jahre zwischen 0,38 und 0,13 Prozent.

Proben aus dem österreichischen *Brucella melitensis*-Überwachungsprogramm

Von den 6382 Proben (4549 Schafe und 1833 Ziegen) aus dem österreichischen *Brucella melitensis*-Überwachungsprogramm 2018 wurden acht Schafe aus sechs verschiedenen Betrieben mittels Pool-PCR als Pestivirus-positiv detektiert. Es waren vier Tiere aus Tirol und jeweils ein Tier aus Vorarlberg, Kärnten, der Steiermark und Salzburg betroffen (Tabelle 2). Bei fünf dieser acht Proben gibt es Hinweise, dass es sich um eine persistente Infektion handeln könnte (Cq-Wert <31, AK ELISA-Test negativ; siehe Tabelle 3). In zwei

Tiroler Betrieben wurde jeweils ein transient infiziertes Tier mit einem Cq-Wert >36 gefunden. Eines dieser Tiere hatte zusätzlich einen positiven Antikörper-Titer. Die Virus-Typisierung konnte hier aufgrund des geringeren Virustiters nicht erfolgreich durchgeführt werden. Bei 80–95 % der Tiere, die in denselben Betrieben wie die Pestivirus-positiven Schafe gehalten wurden, konnten Antikörper nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Sequenzierung zeigen, dass es sich in allen Fällen um BDV vom Typ 3 (BDV-3) handelt (Tabelle 3). Demnach konnte bei 1,15 % der 522 Betriebe mit Gemeinschaftshaltung von Rindern und kleinen Wiederkäuern ein direkter Virusnachweis von BDV-3 erfolgen.

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Diskussion

Vergleicht man die Ergebnisse mit Proben, die im selben Zeitraum ausserhalb der Studie auf Pestiviren getestet wurden, stellt man fest, dass aus den Proben des *B. ovis*-Bekämpfungsprogramms über die Jahre am meisten BDV-positive Tiere detektiert wurden (Abbildung 2). Von diesen 33 positiven Schafen konnten 11 Tiere mittels Nachuntersuchung sicher als PI-Tiere bestätigt werden. Die tatsächliche Zahl an PI-Tieren dürfte allerdings noch höher liegen. Ein klarer

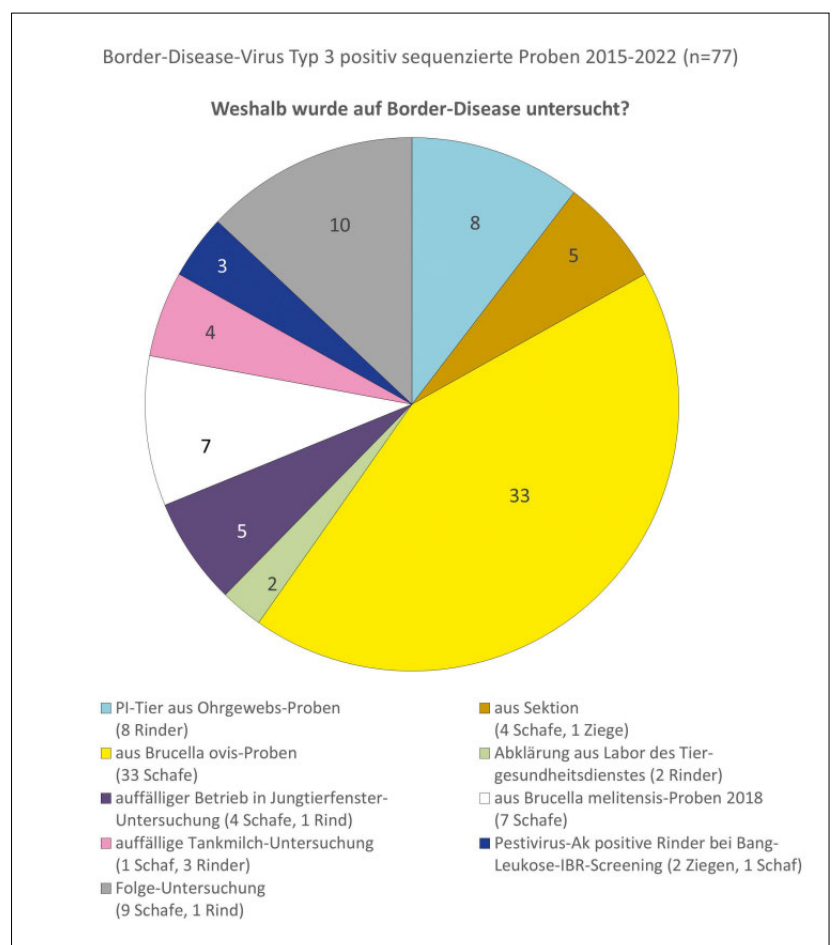


Abbildung 2: BDV-Positive Untersuchungen mit Untersuchungsgrund.

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Hinweis dafür sind die entsprechend niedrigen Cq-Werte (<28) einiger Tiere. Ein weiterer Vorteil der Proben aus dem *B. ovis*-Programm ist, dass Schafböcke meist in unterschiedlichen Betrieben zum Decken eingesetzt werden. Indirekt werden so alle Kontaktbetriebe des Bockes überwacht und die Viruszirkulation unterbrochen. Zudem sollten alle gehandelten Schafe auf die Präsenz viraler Pesti-RNA oder auf BVDV/BDV-Antigen mittels ELISA gescreent werden.¹⁶

Bei der Stichprobe aus dem *B. melitensis*-Überwachungsprogramm konnte festgestellt werden, dass in fünf von acht untersuchten Bundesländern Österreichs BDV-positive Schafe auftraten. Der hohe Prozentsatz von 80–95 % Antikörper-positiven Kontakttieren in den sechs BDV-positiven Betrieben liefert, zu den teilweise sehr niedrigen Cq-Werten, ein zusätzliches Indiz auf das Vorhandensein eines PI-Tieres. Insofern ist das Risiko der Übertragung von BDV des Schafes auf die im selben Betrieb gehaltenen Rinder eindeutig vorhanden. In den betroffenen Betrieben aus Tirol und Vorarlberg sind immer wieder Rinder mit neuem positiven Antikörperstatus aufgefallen, ohne dass ein Antigen-positives Rind gefunden werden konnte. Für die anderen Bundesländer liegen uns dazu keine Daten vor.

Bei allen 2018 untersuchten Ziegen aus dem *B. melitensis*-Stichprobenplan konnte kein Virus-Antigen nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass Ziegen bei der Übertragung von BDV keine bedeutende Rolle spielen. Bisher wurde noch kein Fall beschrieben, in dem BDV von Ziegen auf Rinder übertragen wurde.⁴ Ein uns aktuell vorliegender Fallbericht aus Tirol deutet jedoch stark auf diesen Umstand hin (AGES, unpubl. data). Ausserhalb dieser Studie konnten bei drei weiteren Ziegen BDV-3 erfolgreich sequenziert werden (Abbildung 2). Mindestens zwei dieser Ziegen standen in Kontakt mit Pestivirus-Antikörper posi-

tiven Rindern, die in Folge eines erweiterten Bang-Leukose-IBR-Screenings detektiert wurden. Die Rolle der Ziegen bei der Verbreitung von Pestiviren scheint daher noch nicht endgültig geklärt. Unsere Daten unterstützen jedoch den aktuellen Wissensstand, wonach Ziegen ein geringeres Infektionsrisiko für Rinder darstellen als Schafe.⁴ In seltenen Fällen können auch Schweine, die gemeinsam mit kleinen Wiederkäuern gehalten werden, eine PI-Infektion mit BDV entwickeln.⁶ Persistente infizierte Tiere sollten so schnell wie möglich detektiert und aus dem Bestand entfernt werden, um den Infektionsdruck zu reduzieren.²⁰

BVDV-PI-Tiere waren, trotz ihrem prozentuell geringen Anteil, die Hauptverursacher der BVDV-Infektionen beim Rind. Bis 2017 konnten jene Kälber über die Beprobung durch Gewebe-Ohrmarken nach der Geburt detektiert werden. Im Rahmen von BVD-Bekämpfungsverfahren stellt die Umstellung von der flächendeckenden Antigen-Untersuchung auf eine rein serologische Überwachung eine kritische Phase dar.⁷ Erst nach zwei bis drei Jahren mit guter und stabiler Situation besteht die Möglichkeit für eine Lockerung der Überwachung allerdings immer unter der Voraussetzung einer lückenlosen und raschen Vollziehung aller Massnahmen.⁷

Nach einer erfolgreichen Bekämpfung und Überwachung beim Rind rückt nun in vielen Regionen der kleine Wiederkäuer vermehrt in den Fokus. In einer Seroprävalenzuntersuchung bei kleinen Wiederkäuern in der Schweiz wurden bei 16,1 % der Schafe und 25,4 % der Ziegen Antikörper gegen Pestiviren gefunden. Dabei konnten die meisten Infektionen einem BDV-Genotyp zugeordnet werden (9 % aller Schafe und 6 % aller Ziegen).⁵ Wie hoch die Prävalenz von BDV beim Rind ist, wurde in einer schweizerischen Arbeit mittels Cross-Serum-Neutralisationstests untersucht.¹³ Bei 6,7 % der 1.555 seropositiven Rinder war ein

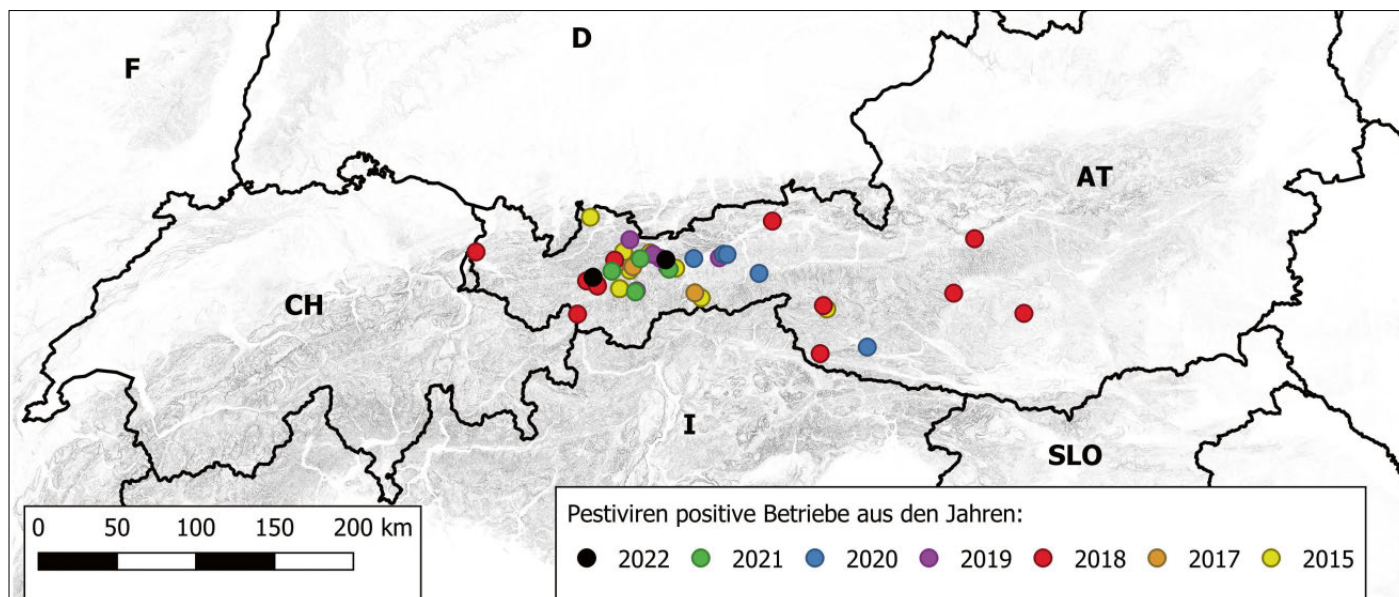


Abbildung 3: Geografische Verteilung der Pestiviren positiven Betriebe.

signifikant höherer Titer gegenüber BDV-Serum als bei BVDV-Serum festzustellen, wobei der Trend ansteigend ist.

Schafe und Ziegen müssen als Reservoir für Pestiviren berücksichtigt werden, speziell PI-Tiere. Diese können ansonsten zu vermehrten Infektionen auch in der Rinderpopulation führen. Damit einhergehend kommt es zu einem Antikörper-Anstieg, welcher die BVDV-Überwachung erschwert. Insbesondere bei gemeinsamer Haltung bzw. bei der Alpfung kann eine Übertragung von Pestiviren vom kleinen auf den «grossen» Wiederkäuer stattfinden. Deshalb ist es wichtig, jede Infektionsquelle von Pestiviren zu identifizieren, um dadurch deren Vorkommen zu verringern und folglich einen nachhaltigen Vorteil für Rinder-, Schaf- und Ziegenbetriebe zu erhalten.⁸

Schlussfolgerung

Der wirtschaftliche Schaden, der auch durch BDV in der Rinderpopulation entstehen kann, sollte auch in Zukunft weiterhin die nötige Beachtung finden. Gefahr besteht vor allem bei gemeinsamer Haltung von Rindern und kleinen Wiederkäuern und, wie anhand der geografischen Verteilung (Abbildung 3) zu sehen ist, im Zuge der Alpfung (Abbildung 4). Auf Grund der Ergebnisse sollte man in Betracht ziehen, auch die kleinen Wiederkäuer zumindest im alpinen Bereich in die BVDV-Überwachungsprogramme mit ein-

zubeziehen, um weiterhin erfolgreich zu bleiben. Um eine Pestiviren-Überwachung bei Schafen und Ziegen wirtschaftlich und logistisch möglich zu machen, können wie hier beschrieben, Proben aus anderen Untersuchungsprogrammen, wie Brucellose, CAE, Maedi Visna oder Pseudotuberkulose, genutzt werden. Bei Abklärungsuntersuchungen bzgl. BVDV ist es notwendig, neben den Rindern auch alle im gleichen Betrieb gehaltenen Schafe in die Untersuchung mit einzubeziehen. Da Ziegen in Mischbetrieben häufig die geringste Stückzahl ausmachen, ist es trotz ihres geringeren Einflusses auf das Infektionsgeschehen sinnvoll, diese bei Bestandsuntersuchungen mit einzubeziehen. Auch eine routinemässige Untersuchung aller in der Pathologie untersuchten kleinen Wiederkäuer bis zum Alter von zwei Jahren mittels PanPestiPCR, könnte mit überschaubaren Kosten die BVDV-Überwachung weiter unterstützen. Insbesondere bei gehäuften Aborten sollte auch eine Untersuchung auf Pestiviren erfolgen.

Danksagung

Die Untersuchung der *Brucella ovis*-Proben auf Pestiviren mittels Pool-PCR wird seit 2017 durch die Landesveterinärdirektion des Landes Tirol finanziert. Die Publikation der Untersuchungsergebnisse erfolgt mit deren Einverständnis. Danke für die Ermöglichung dieses laufenden Projektes und die gute Zusammenarbeit.

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser



Abbildung 4: Gemeinsame Alpfung von Kälbern und Ziegenbock.

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Die molekularbiologische Nachuntersuchung ausgewählter Schwerpunktproben aus dem österreichweiten *Brucella melitensis*-Stichprobenplan konnte aus Eigenmitteln des Geschäftsfeldes Tiergesundheit unter Mitarbeit einer FEM-Tech-Praktikantin durchgeführt werden.

Herzliches Danke auch an die Kolleginnen und Kollegen der AGES vom Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik für das Herausfiltern aller Rinderbetriebe mit gemeinsamer Haltung kleiner Wiederkäuer.

Es gibt keinerlei finanzielle und sonstige Interessenskonflikte.

Pestivirus chez les ovins et les caprins en Autriche: possibilités d'intégration dans le programme de surveillance de la diarrhée virale bovine (BVDV)

Après l'éradication réussie du virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) chez les bovins en Autriche, le risque d'infections par le virus de la Border Disease (BDV) demeure. Ces deux virus appartiennent au genre des pestivirus. Les infections par le BDV entraînent des résultats faussement positifs dans la surveillance du BVDV. Ce phénomène peut être attribué aux contacts avec les populations de petits ruminants. En particulier, la détention de bovins avec des moutons ou des chèvres sur une exploitation ainsi que les pâturages alpins sont des facteurs de risque importants pour les infections. Entre 2015 et 2022, le BDV de type 3 a été détecté chez 15 bovins en Autriche. Ces animaux étaient presque exclusivement des veaux infectés de manière persistante. Cependant, un résultat positif aux anticorps contre les pestivirus peut conduire à une recherche extrêmement longue et coûteuse et pas toujours fructueuse de la source de l'infection si aucun excréteur de virus actif n'est trouvé. Cette étude montre comment les petits ruminants peuvent être intégrés dans la surveillance des pestivirus avec une quantité de travail et des coûts gérables. À cette fin, 23 460 échantillons d'ovins et de caprins provenant de deux programmes de surveillance de la brucellose chez les petits ruminants ont été utilisés de façon rétrospective. Les échantillons de sang ont été examinés à l'aide de la RT-PCR en temps réel des pestivirus (qPCR). La détection directe du virus BDV-3 a été réalisée chez 40 moutons provenant de cinq Länder différents. Sur l'ensemble de la période d'investigation (2015–2022), 37 autres détections de BDV-3 ont été effectuées chez des bovins, des ovins et des caprins en dehors de cette étude, dans toute l'Autriche. Cette étude représente 52 % de toutes les détections de Border Disease entre 2015 et 2022. En incluant les petits ruminants dans la surveillance des pestivirus, le facteur de perturbation qu'est le BDV et le risque de son introduction dans les troupeaux de bovins peuvent être considérablement minimisés à l'avenir.

Mots clés: alpage, virus de la Border Disease, virus de la diarrhée virale bovine, pestivirus, bovins, ruminants

Pestivirus negli ovini e nei caprini in Austria: possibilità di inclusione nella sorveglianza della diarrea virale del bovino (BVD)

In Dopo l'eradicazione riuscita del virus della diarrea virale del bovino (BVDV) nei bovini in Austria, sussiste tuttora un rischio di infezioni con il Border Disease virus (BDV). Entrambi i virus appartengono al genere pestivirus. Le infezioni da BDV portano a risultati falsi positivi nella sorveglianza del BVDV. Ciò può essere attribuito al contatto con la popolazione di piccoli ruminanti. In particolare, la tenuta dei bovini insieme a pecore o capre in una azienda, così come sui pascoli alpini, sono fattori di rischio significativi per le infezioni. Tra il 2015 e il 2022, è stato rilevato il BDV di tipo 3 in 15 capi di bestiame in Austria. Questi animali erano quasi esclusivamente vitelli infetti in modo persistente. Tuttavia, un risultato anticorpale positivo per i pestivirus in un'azienda può portare a una ricerca estremamente dispendiosa e costosa, e non sempre riuscita, della fonte dell'infezione se non si trova un escretore attivo del virus. In questo studio si documenta come i piccoli ruminanti possono essere integrati nel monitoraggio dei pestivirus con una quantità di lavoro e costi gestibile. A questo scopo, sono stati utilizzati retrospettivamente 23 406 campioni di sangue di pecore e capre provenienti da due programmi di sorveglianza della brucellosi nei piccoli ruminanti. I campioni di sangue sono stati esaminati utilizzando la Real-Time-Pool RT-PCR (qPCR) per i pestivirus. La rilevazione diretta del virus BDV-3 è stata ottenuta in 40 pecore provenienti da cinque diversi stati federati austriaci. Nel corso del periodo di indagine dal 2015 al 2022, sono state trovate ulteriori 37 rilevazioni di BDV-3 in bovini, pecore e capre al di fuori di questo studio in tutta l'Austria. Questo studio rappresenta il 52 % di tutte le rilevazioni della Border Disease (BD) dal 2015 al 2022. Includendo i piccoli ruminanti nel monitoraggio dei pestivirus, il fattore disturbante BDV e il rischio della sua introduzione nelle mandrie di bovini possono essere significativamente minimizzati in futuro.

Parole chiave: pascoli alpini, Border Disease virus, virus della diarrea virale del bovino, pestivirus, bovini, ruminanti

Literaturnachweis

- ¹ AGES – Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH: Veterinärjahresbericht 2018. Wien, Austria. 2019. https://verbrauchergesundheit.gv.at/tiere/publikationen/Veterinaerjahresbericht_2018_1t_Din-A4_BF.pdf?94wuv0
- ² Baker J: The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 1995; 11: 425–445.
- ³ Braun U, Reichle SF, Reichert C, Hässig M, Stalder HP, Bachofen C, Peterhans E: Sheep persistently infected with Border disease readily transmit virus to calves seronegative to BVD-Virus. *Vet. Microbiol.* 2014; 168: 98–104.
- ⁴ Braun U, Hilbe M, Peterhans E, Schweizer M: Border disease in cattle. *Vet. J.* 2019; 246: 12–20.
- ⁵ Danuser R, Vogt HR, Kaufmann T, Peterhans E, Zanoni R: Seroprevalence and characterization of pestivirus infections in small ruminants and new world camelids in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 2009; 151(3): 109–117.
- ⁶ Dastjerdi A, Strong R, La Rocca SA, Wessels M, Wessels J, Whitaker K, Strugnell B, Williamson S: Investigation into an outbreak of Border disease virus in pigs in England. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(4): 1698–1706.
- ⁷ Di Labio E: Am Ende der BVD-Ausrottung rasch handeln! Konferenzbeitrag, 11. Stendaler Symposium, Stendal, Germany, 2019. https://verbraucherschutz.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MS/LAV_Verbraucherschutz/veterinaermedizin/veranstaltungen/symposium_fb4/elftes/12_Di_Labio_-_BVD_Schweiz_Am_Ende_der_Ausrottung_rasch_handeln.pdf
- ⁸ Evans CA, Reichel MP: Non-bovine species and the risk to effective control of Bovine Viral Diarrhoea (BVD) in Cattle. *Pathogens* 2021; 10(10): 1263.
- ⁹ Hanon JB, Van der Stede Y, Antonissen A, Mullender C, Tignon M, van den Berg T, Caij B: Distinction between persistent and transient infection in a bovine viral diarrhoea (BVD) control programme: appropriate interpretation of real-time RT-PCR and antigen-ELISA test results. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012; 61: 156–162.
- ¹⁰ Hornberg A, Revilla-Fernández S, Vogl C, Vilcek S, Matt M, Fink M, Köfer J, Schöpf K: Genetic diversity of pestivirus isolates in cattle from Western Austria. *Vet. Microbiol.* 2009; 135: 205–213.
- ¹¹ Houe H: Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 1999; 64: 89–107.
- ¹² Huser AF, Schär JG, Bachofen C, De Martin E, Portmann J, Stalder H, Schweizer M: Benefit of bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in cattle on pestivirus seroprevalence in sheep. *Frontiers in veterinary science* 2021; 8: 681559.
- ¹³ Kaiser V, Nebel L, Schüpbach-Regula G, Zanoni RG, Schweizer M: Influence of border disease virus (BDV) on serological surveillance within the bovine virus diarrhoea (BVD) eradication program in Switzerland. *BMC Vet. Res.* 2016; 13(1): 21.
- ¹⁴ Krametter-Frötscher R, Benetka V, Möstl K, Baumgartner W: Transmission of Border Disease Virus from sheep to calves – a possible risk factor for the Austrian BVD eradication programme in cattle? *Wien. Tierärztl. Monatsschr.* 2008; 95: 200–203.
- ¹⁵ McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR: Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Can. J. Comp. Med.* 1984; 48: 156–161.
- ¹⁶ Piras IM, Dei Giudici S, Fadda M, Anfossi AG, Oggiano A, Pittau M, Chessa B: Distribution and Genetic Characterization of Border Disease Virus Circulating in Sardinian Ovine Flocks. *Pathogens* 2020; 9(5): 360.
- ¹⁷ Scharnböck B, Roch FF, Richter V, Funke C, Firth CL, Obritzhauser W, Baumgartner W, Käsbohrer A, Piniör B: A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 14420.
- ¹⁸ Schoepf K, Revilla-Fernández S, Steinrigl A, Fuchs R, Sailer A, Weikel J, Schmoll F: Retrospective epidemiological evaluation of molecular and animal husbandry data within the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) control programme in Western Austria during 2009–2014. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 2016; 129: 196–201.
- ¹⁹ Schweizer M, Stalder H, Haslebacher A, Grisiger M, Schwermer H, Di Labio E: Eradication of bovine viral diarrhoea (BVD) in cattle in Switzerland: Lessons taught by the complex biology of the virus. *Frontiers in veterinary science* 2021; 8: 702730.
- ²⁰ Tavella A, Zambotto P, Stifter E, Lombardo D, Rabini M, Robatscher E, Brem G: Retrospektive Auswertung von Daten über fünf Jahre BVDV-Bekämpfungsprogramm mittels Ohrgewebeprobe in der Autonomen Provinz Bozen (Italien). *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 2012; 125: 326–331.
- ²¹ Viet AF, Fourichon C, Seegers H: Review and critical discussion of assumptions and modelling options to study the spread of the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) within a cattle herd. *Epidemiol. Infect.* 2007; 135: 706–721.
- ²² Vilček Š, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ: Pestivirus isolated from pig, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.* 1994; 136: 309–23.

Pestiviren bei Schafen und Ziegen in Österreich: Möglichkeiten zur Einbindung in die BVDV-Überwachung

A. Sailer, A. Wallner, M. Haidegger, M. Dünser

Korrespondenzadresse

Frau Dr. Alice Wallner
AGES Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen
Innsbruck
Technikerstrasse 70
6020 Innsbruck
Telefon: +43 50 555-71180
E-Mail: alice.wallner@ages.at