

Border Disease in einem Schafbetrieb

¹U. Braun, ²M. Hilbe, ²F. Ehrensperger, ¹F. Salis, ¹P. Alther, ³M. Strasser, ³H.P. Stalder, ³E. Peterhans

¹Departement für Nutztiere und ²Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich, ³Institut für Veterinär-Virologie der Universität Bern

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird ein Fall von Border Disease in einem Schafbestand beschrieben. Drei von 30 Mutterschafen hatten im Frühjahr Lämmer zur Welt gebracht, welche zitterten und ein gewelltes Vlies aufwiesen. Eines der Lämmer, weiblich und 3 Wochen alt, wurde deshalb zur weiteren Abklärung in die Klinik eingeliefert. Bei der Untersuchung war das Tier sehr nervös und blökte andauernd. Es zitterte am ganzen Körper, insbesondere am Kopf. Weiter zeigte das Lamm eine Nachhandataxie. Die Ab- und Adduktion sowie das Überkreuzen der Hintergliedmassen wurden verzögert korrigiert. Zur weiteren Abklärung wurden im Abstand von 6 Wochen Blutproben für den Nachweis von Pestivirus-Antikörpern und zur Virusisolierung entnommen. Zudem wurde eine Hautbiopsie immunhistochemisch auf Pestivirus-Antigen untersucht. Die erste serologische Untersuchung auf Pestivirus-Antikörper war verdächtig, die zweite war negativ. Bei der Virusisolierung wurde in der Zellkultur ein Pestivirus nachgewiesen, und auch die Hautbiopsie erwies sich als Antigen-positiv.

Um das Vorhandensein der Border Disease in der Herde nachzuweisen, wurden bei allen Mutterschafen, den Jungtieren und dem Bock Blutproben für den Pestivirus-Antikörper-Nachweis und die Virusisolierung entnommen. 31 Schafe waren serologisch positiv, bei sechs Tieren lag der Antikörpertiter im Grenzbereich zwischen positiv und negativ, und vier Tiere waren serologisch negativ. Von acht Tieren wurden Pestiviren isoliert (inkl. Lamm). Drei der Virus-positiven Tiere waren serologisch negativ, drei wiesen ein Resultat im Grenzbereich auf, und zwei Tiere waren serologisch positiv. Sechs der insgesamt acht Viren, welche von den Tieren dieser Herde in Zellkultur isoliert wurden, konnten zusätzlich mittels Retrotranskription, Polymerase-Kettenreaktion und anschliessender Sequenzierung genetisch charakterisiert werden. Die phylogenetische Analyse ergab, dass es sich um Border-Disease-Viren handelte. Damit wurde in der Schweiz das Border-Disease-Virus erstmals isoliert.

Border disease in a flock of sheep

This report describes border disease in a flock of sheep in Switzerland. In April 2001, three ewes in a flock of 41 sheep gave birth to lambs that had generalized tremors and excessively hairy fleece. One of these, a three-week-old female lamb, was referred to our clinic for further diagnostic work-up. The lamb was very nervous, bleated constantly and had generalized muscle tremors, which were more pronounced in the head region. Hind end ataxia was observed, and the lamb was slow to correct its posture when the hind limbs were abducted, adducted or crossed. Blood samples were collected every six weeks to determine antibody titres to pestivirus and for virus isolation via cell culture. A skin biopsy sample was also collected and examined immunohistochemically for pestivirus antigen. Antibody titres in the first tests were suspicious and those of the second were negative. Pestivirus was identified in cell culture, and the skin biopsy sample was positive for pestivirus antigen. Blood samples were collected from all of the ewes and lambs and the buck for virus isolation via cell culture and determination of pestivirus antibody titres. Thirty-one animals were seropositive, six had borderline antibody titres and four were seronegative. Pestivirus was isolated from eight animals, which included the lamb described in this report. Of the virus-positive animals, three were seronegative, three others had borderline titres and two were seropositive. Six of the eight viruses isolated from cell culture were further characterized genetically via retrotranscription and polymerase chain reaction and subsequent sequencing. The phylogenetic analysis revealed that the causative agent was border disease virus. This is the first time that border disease virus has been isolated in Switzerland. The lamb referred to our clinic was observed for three months; it was then euthanised and a postmortem examination was performed. Immunohistochemical examination of numerous organs revealed pestivirus antigen. The source of infection was thought to be infected sheep from another flock, which shared a pasture. All antigen-positive animals were slaughtered.

Das an die Klinik eingelieferte Lamm wurde nach 3-monatiger Beobachtung euthanasiert und sezziert. In zahlreichen immunhistologisch untersuchten Organen wurde Pestivirusantigen nachgewiesen.

Aufgrund der weiteren Abklärungen bestand der Verdacht, dass sich die Schafe beim gemeinsamen Weidegang mit infizierten Tieren eines anderen Betriebes angesteckt hatten. Alle Antigen-positiven Tiere wurden geschlachtet.

Schlüsselwörter: Schaf – Border Disease – Virusnachweis

Key words: sheep – pestivirus – Border disease – virus detection

Einleitung

Ein erster Bericht über die Border Disease stammt aus den Grenzregionen («border regions») zwischen England und Wales (Hughes et al., 1959). Mittlerweile wurde die Krankheit vielfach beschrieben, und es existieren mehrere Übersichtsartikel, welche den neuesten Erkenntnisstand zusammenfassen (Løken, 1995; Bostedt und Dedié, 1996; Nettleton et al., 1998; Radostits et al., 2000). Ein aktueller Bericht über den Nachweis von Border Disease in einem Schafzuchtbestand mit 400 Mutterschafen kommt aus Deutschland (Schaarschmidt et al., 2000). Aus der Schweiz liegen ein Bericht über 4 Einzelfälle bei Schafen (Cravero et al., 1975) und eine Seroprävalenzstudie an über 4000 Schafen aus mehr als 200 Betrieben vor (Schaller et al., 2000). In einer Studie über die Beteiligung von Pestiviren an Aborten und perinatalen Todesfällen bei Rindern und Schafen in der Schweiz zwischen 1992 und 1994 wurden bei einem abortierten Schaffetus und drei neonatal gestorbenen Lämmern immunhistochemisch Pestiviren nachgewiesen, wobei es sich vermutlich um Border Disease-Viren handelte (Thür et al., 1997, 1998). Die Border Disease wird durch ein Pestivirus, das antigenetisch eng mit dem BVD-Virus des Rindes und dem Virus der europäischen Schweinepest verwandt ist, verursacht. Ihre Pathogenese ist sehr ähnlich wie diejenige der Bovinen Virusdiarrhoe bzw. der Mucosal Disease beim Rind. Das Virus wird nach fast symptomloser Infektion eines seronegativen Mutterschafes auf den Fetus übertragen (Bostedt und Dedié, 1996). Das Schicksal des Fetus hängt vom Zeitpunkt der Infektion ab. Bei einer Infektion vor dem 60. Trächtigkeitstag stirbt der Fetus ab und wird resorbiert oder abortiert. Zwischen dem 60. und 70. Tag der Gravidität kann sich das Virus ungehindert im Fetus vermehren. Die danach geborenen Lämmer

zeigen oft das Krankheitsbild der Border Disease. Solche Lämmer können sich jedoch auch normal entwickeln und das Virus auf ihre Nachkommen übertragen, da sie persistent infiziert sind (Carlsson und Belák, 1994). Eine Infektion zwischen dem 60. und 85. Trächtigkeitstag führt meist zu schweren Gehirnveränderungen und/oder Skelettmissbildungen. Bei einer Infektion nach dem 85. Tag bildet der Fetus eigene Antikörper und wird lebend geboren.

Die klinischen Symptome von Lämmern mit Border Disease sind sehr variabel (Nettleton et al., 1998). Befallene Lämmer sind oft klein und schwach, viele können nicht stehen. Oft sind zentralnervöse Symptome wie Nachhandataxie vorhanden, und die Tiere zeigen Tremor. Der Tremor kann variieren von heftigen rhythmischen Kontraktionen der Muskeln der Hintergliedmassen und des Rückens bis hin zu kaum feststellbarem Muskelzittern an Kopf, Ohren und Schwanz. Vlies-Veränderungen sind vor allem bei glatthaarigen Rassen sichtbar. Betroffene Lämmer zeigen oft ein verzögertes Wachstum und gehen vor oder während der Absetzphase an Begleitkrankheiten wie Bronchopneumonie oder parasitären Infektionen ein. Bei gutem Management können die Tiere oft auch erfolgreich aufgezogen werden, und die klinischen Symptome verschwinden bis zu einem Alter von 3 bis 6 Monaten allmählich (Nettleton et al., 1998).

Da das Vorkommen und das Krankheitsbild der Border Disease in der Schweiz kaum bekannt sind, war das Ziel der vorliegenden Arbeit, einen Fall von Border Disease bei einem 3 Wochen alten Lamm der Rasse Weisses Alpenschaf zu beschreiben. Von diesem Lamm und von sieben weiteren Tieren derselben Herde konnte in Zellkultur erstmals in der Schweiz das Border Disease-Virus isoliert werden.

Vorbericht

Das Lamm stammte aus einem Ostschweizer Betrieb mit 30 Mutterschafen der Rasse Weisses Alpenschaf, deren Lämmern und einem Bock. Die Tiere wurden im Winter im Stall gehalten. Die Fütterung bestand aus Heu und Grassilage. Drei der Mutterschafe hatten im Frühjahr Lämmer zur Welt gebracht, welche zitterten und ein gewelltes Vlies aufwiesen. Der Besitzer informierte sich darauf in einem Schafbuch und fand die von ihm beobachteten Symptome unter der Krankheit Border Disease beschrieben. Er lieferte darauf eines der genannten Lämmer, weiblich und 3 Wochen alt, mit der Verdachtsdiagnose Border Disease zur weiteren Abklärung in die Klinik ein.

Klinische Befunde

Das Allgemeinbefinden des Lammes war ungestört, und der Nährzustand war gut. Das Tier war sehr nervös und blökte andauernd. Es zitterte am ganzen Körper, insbesondere am Kopf. Zudem fiel eine leichte Vorwölbung des Schädeldaches auf. Weiter zeigte das Lamm eine Nachhandataxie. Die Ab- und Adduktion sowie das Überkreuzen der Hintergliedmassen wurden verzögert korrigiert. Die Temperatur betrug 39,5 °C, die Herzfrequenz 160 und die Atemfrequenz 60 pro Minute. Der Pansen war normal gefüllt und geschichtet. Der Pansensaft und der Kot waren unauffällig.

Laboranalysen

Zur weiteren Abklärung wurden hämatologische und biochemische Blutuntersuchungen durchgeführt. Diese ergaben keine abnormen Befunde. Darüber hinaus wurden im Abstand von 6 Wochen zwei Blutproben für den Nachweis von Pestivirus-Antikörpern (Schaller et al., 2000) und Pestivirus-Antigen entnommen. Die erste serologische Untersuchung ergab Resultate im Grenzbereich zwischen negativ und positiv, die zweite war negativ. Auf Ziegen-Synovialkulturen konnte ein Virus mit antigenetischen Eigenschaften eines Pestivirus isoliert werden.

Zusätzlich wurden Hautbiopsien entnommen und immunhistochemisch an Kryostatschnitten, unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern, auf Pestivirus-Antigen untersucht (Thür et al., 1996). Diese waren mit dem C16-Antikörper deutlich positiv und mit dem Ca3/34/42-Antikörper negativ (Bezugsquelle der Antikörper: Dr. Bommeli, Bern). C16 weist ein stark konserviertes Protein innerhalb des Genus Pestiviren nach (Donis, 1995),

die monoklonalen Antikörper Ca3, CA34 und C42 erkennen hingegen nur BVDV-spezifische Epitope (gp 53 bzw. gp 48).

Table 1: BVD-Antigen- und Antikörpernachweis im Blut von 41 Schafen.

Virusisolierung	BVD-Antikörper-Nachweis		
	Positiv	Negativ	Grenzbereich
Positiv (n = 8)	2	3	3
Negativ (n = 33)	29	1	3

Abklärungen im Bestand

In der Folge wurden von allen Tieren der Herde Blutproben zur serologischen und virologischen Untersuchung entnommen. Von 41 Tieren (inklusive von dem eingewiesenen Lamm) liegen die vollständigen Ergebnisse dieser Untersuchungen vor (Tab. 1). Von 8 Tieren wurden in Zellkultur Pestiviren isoliert. Zwei dieser Tiere waren serologisch positiv, drei negativ und drei wiesen einen Antikörpertiter im Grenzbereich zwischen positiv und negativ auf. Von den 33 Virus-negativen Schafen wiesen 29 Antikörper gegen Pestiviren auf; ein Tier war serologisch negativ, und drei waren im Grenzbereich. Sechs der von den Tieren dieser Herde in Zellkultur isolierten Viren konnten zusätzlich mittels Retrotranskription, Polymerase-Kettenreaktion und anschliessender Sequenzierung genetisch charakterisiert werden. Die zur Amplifizierung der Pestivirus-spezifischen Sequenzen verwendeten Primerpaare waren komplementär zu einem Abschnitt im 5' untranslatierten Teil des Genoms, welcher eine Zuteilung zu den verschiedenen Untergruppen der Pestiviren ermöglichte. Die phylogenetische Analyse ergab, dass es sich bei dem aus dem Lamm isolierten Virus eindeutig um ein Border-Disease-Virus handelte. Die übrigen sechs Isolate erwiesen sich im untersuchten Abschnitt des Genoms als identisch mit dem Virus aus dem Lamm (in Abb. 1 als «Schweizer Isolat aus Schafen» angegeben).

Aus antikoaguliertem Blut wurden die Leukozyten isoliert und auf Ziegen-Synovial-Zellkulturen inokuliert. Nach siebentägiger Inkubation wurden die Zellkulturüberstände passagiert. Infizierte Zellen wurden mittels Immunperoxidase-Färbung auf Pestivirus-Antigen angefärbt (Meyling, 1984). Virus-haltige Zellkulturüberstände wurden mit der Methode von Wirz et al. (1993) aufgearbeitet. Die reverse Transkription und Amplifizierung der DNA erfolgte wie früher beschrieben (Stalder et al., 1996). Die PCR-Produkte wurden auf einem 1,5% Agarosegel aufgetrennt (SeaKem GTG Agarose, FMC Bio Products, Rockland, ME, USA),

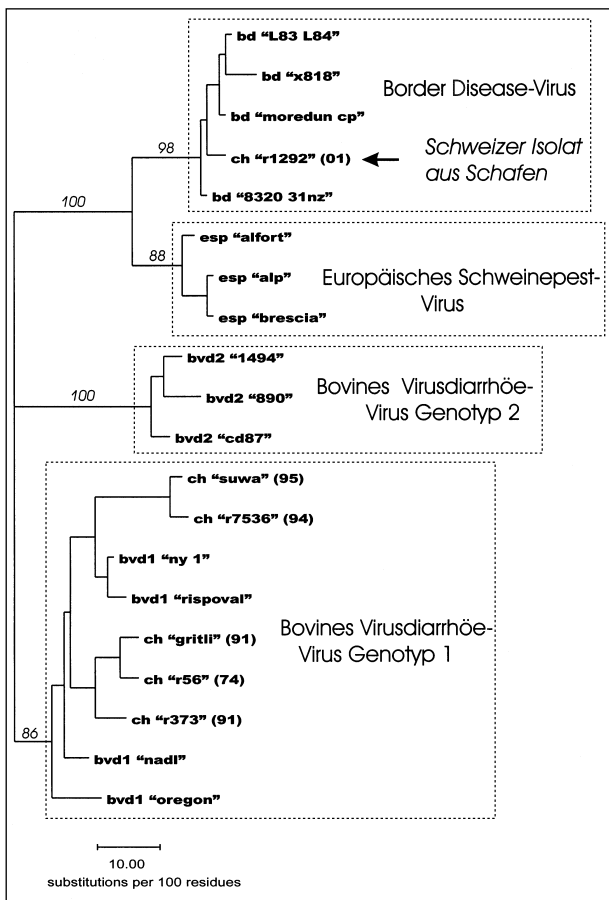


Abb. 1: Phylogenetische Analyse des isolierten Virus. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass es sich bei dem vom Lamm isolierten Virus um ein Border Disease-Virus handelt. Wie aus den sog. «Bootstrap-Werten» (über den Achsen angegebene Zahlen) ersichtlich ist, erfolgt die Zuordnung zuverlässig; je näher dieser Wert der Zahl 100 liegt, umso eindeutiger werden die Viren der Gruppe zugeordnet. BVD-Viren werden in zwei Genotypen (1 und 2) eingeteilt, wobei alle bisher in der Schweiz isolierten und analysierten Viren zum Genotyp 1 gehören (in der Abbildung mit «ch» markiert.)

und anschliessend wurden die DNA-Banden ausgeschnitten und die DNA mit dem Nucleotrap Extraction Kit (Macherey-Nagel AG, Oensingen, Schweiz) aus dem Gel isoliert. Für die Sequenzierung benutzten wir das ABI PRISM® dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit und einen ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Die phylogenetische Analyse der DNA-Sequenz wurde mit dem Wisconsin Package Version 10.1 der Genetics Computer Group (GCG) Madison, Wisc., USA durchgeführt.

Diagnose

Aufgrund der klinischen, immunhistochemischen und virologischen Befunde wurde die Diagnose Border Disease als Bestandesproblem gestellt.

Krankheitsverlauf beim eingelieferten Lamm

Das an die Klinik eingelieferte Lamm wurde während 3 Monaten beobachtet und täglich klinisch untersucht. Das Allgemeinbefinden war stets ungestört, die Sauglust und Futteraufnahme, der Kot- und Harnabsatz waren normal. Der Nährzustand war gut. Die rektale Temperatur schwankte zwischen 39.2 und 40.0 °C. Der Tremor und die Nachhandataxie verschwanden nach kurzer Zeit. Wenn sich das Tier jedoch aufregte, zum Beispiel bei einer Blutentnahme, trat vorübergehend Tremor auf. Die Kräuselung der Wolle blieb bis zum Schluss bestehen. Als auch die zweite Blutprobe einen positiven Antigennachweis ergab, wurde das Lamm euthanasiert und sezziert.

Sektion und pathologisch-anatomische Befunde

Bei der Sektion wurden keine Organveränderungen festgestellt. Die breit angelegte histologische Untersuchung ergab keine Läsionen. Auch mittels Spezialfärbung (Luxol Fast Blue) und Vergleich mit Gehirn- und Rückenmarksschnitten von Kontrolltieren konnten keine Myelinisationsstörungen, wie sie für Border Disease beschrieben wurden, festgestellt werden. Hingegen wurde immunhistochemisch in einer Vielzahl von Geweben Pestivirus-Antigen nachgewiesen: Zunge und Schilddrüse wurden anhand von Kryostatschnitten, die weiteren Organe wie Gehirn, Aorta, Vormägen, Ganglion trigeminale, Rückenmark, Uterus, Ovar, Auge und Knochen anhand von Paraffinschnitten untersucht, alle mit positivem Resultat. Wiederum erwiesen sich nur die «panpestiviruspezifischen» Antikörper C16 bzw. 15c5 (Dr. Edward J. Dubovi, Ithaca, N.Y.) als positiv. Der Antikörper C42 (gp 48, Dr. Bommeli AG), der routinemässig in Paraffinschnitten zur immunhistochemischen Detektion von BVD-Viren eingesetzt wird, ergab im vorliegenden Fall ein negatives Resultat.

Weiteres Vorgehen im Bestand

Eine Erweiterung des Vorberichts ergab, dass die Schafe im Vorjahr gemeinsam mit denen eines anderen Züchters geweidet und bei diesem Züchter bereits vor einem Jahr Lämmer mit den gleichen klinischen Symptomen geboren worden waren, die allerdings nicht weiter untersucht wurden. Im Weiteren wurde von diesem Züchter ein trächtiges Mutterschaf gekauft. Als dieses lammt, zeigten beide Lämmer die Symptome der Border Disease,

und von beiden wurde Virus isoliert. In dem von uns betreuten Betrieb wurden die Antigen-positiven Tiere geschlachtet. Darüber hinaus wurde dem Besitzer empfohlen, in der nächsten Ablamperiode die Lämmer der 2 serologisch negativen und der 3 serologisch verdächtigen Tiere möglichst bald nach der Geburt mittels Hautbiopsie auf Pestivirus-Antigen untersuchen zu lassen.

Diskussion

Der vorliegende Fall von Border Disease war für uns besonders interessant, weil wir einen solchen bis anhin nie diagnostiziert hatten. Die Frage ist, ob es keine solchen Fälle gab oder ob sie einfach übersehen wurden. Das Zweite ist vermutlich eher der Fall. Die Untersuchungen von Schaller et al. (2000) zeigen nämlich, dass die Seroprävalenz von Border Disease in der Schweiz beachtlich ist: Von 3866 untersuchten Schafen aus 226 Herdebuchbetrieben reagierten durchschnittlich 20% positiv, und in 67% dieser Betriebe fanden sich seropositive Schafe. Bei der Untersuchung von 1218 Schafen aus 15 grossen Schafbeständen waren sogar durchschnittlich 65% der untersuchten Schafe serologisch positiv, und in allen Betrieben wurden serologisch positive Schafe gefunden. Offenbar ist also die Durchseuchung der schweizerischen Schafbestände sehr gross, wobei grosse Betriebe, vermutlich als Folge eines grösseren Tierverkehrs, eine viel höhere Seroprävalenz als Herdebuchbetriebe aufweisen. Trotz dieser hohen Seroprävalenz werden Fälle von Border Disease nicht oder kaum diagnostiziert. Eine Erklärung dafür könnte darin liegen, dass die Verhältnisse in Bezug auf das Virus und die Pathogenese sehr ähnlich wie bei der BVD des Rindes sind. Auch bei der BVD ist eine hohe Seroprävalenz mit einem niedrigen Prozentsatz persistenter infizierter Tiere korreliert (Braun et al., 1998). Im Gegensatz zur Mucosal Disease sind die Symptome der Border Disease weniger stark ausgeprägt, und wirtschaftliche Überlegungen behindern eine Abklärung erkrankter Tiere. Im vorliegenden Fall handelte es sich um einen sehr engagierten Züchter, der sich anhand der Literatur selbst informierte und die Verdachtsdiagnose stellte. Beim Vorkommen von Tremor, gewelltem Vlies und/oder zentralnervösen Symptomen neugeborener Lämmer muss ein Tierbesitzer unbedingt an Border Disease denken. Weitere Symptome, welche auf Border Disease hinweisen können, sind anscheinende Unfruchtbarkeit vieler Schafe (infolge embryonalem Fruchttod), Aborte und Totgeburten sowie lebensschwache Lämmer (Bostedt und Dedié, 1996; Thür et al., 1997, 1998). Auch wenn Lämmer sich schlecht entwickeln und

vor Erreichen des Absetzalters trotz gutem Management an parasitärer Gastroenteritis, Pneumonie und anderen Begleitkrankheiten eingehen, können dies Hinweise für Border Disease sein.

Die Interpretation der Serologie- und Virusbefunde erfolgt gleich wie diejenige bei BVD. Tiere mit Border Disease sind persistent virämisch, weisen aber als Folge der spezifischen Immuntoleranz keine Antikörper auf. Die bei 2 der 8 virämischen Lämmer gemessenen Antikörper gehen mit grösster Wahrscheinlichkeit auf die Aufnahme von kolostralen Antikörpern zurück. Dieselbe Feststellung kann auch bezüglich 3 grenztitrigen Virus-positiven Lämmern gemacht werden. Unterstützt wird diese Erklärung auch durch den Umstand, dass bei dem ersten Lamm eine erste Blutprobe im Grenzbereich zwischen positiv und negativ lag, die zweite Probe nach sechs Wochen hingegen negativ war. Ähnlich wie bei Rinderherden mit persistent infizierten Tieren (Rüfenacht et al., 2000) waren die meisten Virus-negativen Schafe serologisch positiv (29/33: 88%). Dies unterstreicht die epidemiologische Bedeutung der persistent infizierten Tiere als Infektionsquelle.

Mit Hilfe der für die Hautbiopsie und der für die Anfärbung der infizierten Zellkulturen verwendeten monoklonalen Antikörper konnten die Virusisolate lediglich den Pestiviren zugeordnet werden. Die erwähnten Unterschiede im Reaktionsmuster mit den in der Immunhistochemie verwendeten Antikörpern im Vergleich zu BVDV wurden schon früher als Hinweis auf das Vorliegen von Border Disease-Viren gedeutet (Waldvogel et al., 1995). Eine eindeutige Identifikation als Border Disease-Viren ermöglichte erst die genetische Untersuchung mittels Sequenzierung. Interessanterweise wiesen alle Viren aus der Herde im untersuchten Abschnitt eine identische Nukleotidsequenz auf. Bei BVD-Viren ist bekannt, dass dies auf eine einheitliche Infektionsquelle hindeutet. Da aber über die Heterogenität von Border Disease-Viren wesentlich weniger bekannt ist als über diejenige der BVD-Viren, muss die Bedeutung dieses Befundes gegenwärtig noch offen bleiben. Erste Ergebnisse der Untersuchung weiterer Genabschnitte deuten darauf hin, dass sich die im Bestand isolierten Viren von ausländischen Border Disease-Virusisolaten unterscheiden. Gleich wie bei BVD sollten Virus-positive Tiere, vor allem wenn sie keine klinischen Symptome aufweisen, wie dies bei einem der Lämmer der Fall war, nachuntersucht werden, um persistent infizierte von transient infizierten Tieren unterscheiden zu können.

Die Einschleppung der Border Disease in den Bestand erfolgte mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit durch das gemeinsame Weiden der

frühträchtigen Mutterschafe im vorangehenden Sommer und Herbst mit Schafen eines Betriebes, in welchem bereits Lämmer mit Border Disease geboren wurden. Rinder waren aber an der Infektion vermutlich nicht beteiligt, da kein direkter Kontakt zu Rindern bestand. Es ist aber bekannt, dass sich Schafe durch Kontakt mit persistent BVD-infizierten Rindern anstecken können (Carlsson, 1991) und dass das BVD-Virus auch vom Schaf auf das Rind übertragen werden kann (Paton et al., 1997). Vom Rind ist zudem bekannt, dass die Alpung bei der Verbreitung der BVD eine bedeutende Rolle spielt (Braun et al., 1999).

Die Bekämpfung von Border Disease in einem Betrieb erfolgt am wirkungsvollsten durch die Identifikation und anschließende Schlachtung der

persistent infizierten Tiere. Im Anschluss an diese Massnahme sollten die in der laufenden und folgenden Saison geborenen Lämmer, sofern sie zur Aufzucht bestimmt sind, ebenfalls auf Pestivirus-Antigen untersucht werden. Zur Mast bestimmte Lämmer, bei denen sich der Aufwand für die Abklärung nicht lohnt, sind mit ihren Müttern separat von frühträchtigen Schafen zu halten, um die Infektion von deren Feten zu verhindern. Frisch zugekaufte Tiere und deren Lämmer sollten auf Pestivirus-Disease-Antigen untersucht werden, bevor sie in die Herde verbracht werden. Von Mutterschafen, die gealpt werden, sollten die während oder nach der Alpung geborenen Lämmer untersucht werden, um die Einschleppung einer auf der Alp erworbenen Infektion zu vermeiden.

Border disease dans un troupeau de moutons

Un cas de border disease dans un troupeau de moutons est décrit dans ce travail. Trois parmi trente brebis ont mis bas au printemps des agneaux qui tremblaient et qui avaient une toison ondulée. Une des agnelles âgée de trois semaines a été présentée à la clinique pour préciser le diagnostic. Au cours de l'examen, l'animal était nerveux et bêlait constamment. Tout le corps tremblait, en particulier la tête. De plus, une ataxie des membres postérieurs était présente. L'abduction et l'adduction ainsi que le croisement des membres postérieurs étaient corrigés plus lentement que normal. Des échantillons de sang ont été prélevés avant et après un intervalle de 6 semaines pour démontrer la présence d'anticorps contre les Pestivirus et pour isoler le virus. De plus, une biopsie de la peau a été examinée au moyen d'immunohistochimie afin de détecter l'antigène du Pestivirus. Le résultat du premier examen sérologique pour les anticorps contre le Pestivirus était douteux alors que le deuxième s'est avéré négatif. Un Pestivirus a été isolé au moyen d'une culture de cellules et la biopsie de la peau était positive pour l'antigène.

Afin de démontrer la présence de border disease au sein du troupeau, des échantillons de sang ont été prélevés chez les brebis, les jeunes animaux et le bélier pour démontrer la présence d'anticorps contre le Pestivirus ainsi que pour l'isolation de virus. 31 moutons étaient sérologiquement positifs alors que chez 6 animaux le titre des anticorps se trouvait dans la zone limite

Border disease in un'azienda di pecore

In questo studio viene descritto un caso di Border disease in una mandria di pecore. In primavera tre pecore madri su 30 avevano partorito agnelli colpiti da tremore e con vello ondulato. Uno degli agnelli, una femmina di 3 settimane, è stato ricoverato in clinica per gli accertamenti del caso. Durante la visita veterinaria l'animale era nervoso e belava in continuazione. Tutto il corpo, e specialmente la testa, tremava. Inoltre nell'agnello è stata riscontrata un'ataxia del treno posteriore. L'abduzione e l'adduzione come pure l'incrociare delle zampe posteriori venivano corretti con ritardo. Per accertare la presenza di anticorpi contro il Pestivirus e per isolare il virus stesso sono stati prelevati a distanza di 6 settimane dei campioni di sangue. Il primo esame serologico riguardante la ricerca di anticorpi contro il Pestivirus è risultato sospetto, il secondo negativo. L'isolazione del virus ha dimostrato la presenza di Pestivirus nella coltura cellulare, ed anche la biopsia della pelle è risultata positiva all'antigene. Per provare la presenza del Border disease nella mandria, sono stati eseguiti dei prelievi di sangue per l'accertamento degli anticorpi contro il Pestivirus e per l'isolazione del virus in tutte le pecore madri, negli animali giovani e nel montone. Trentuno pecore sono risultate serologicamente positive, in sei animali il tasso di anticorpi era al limite tra negativo e positivo, e quattro animali sono risultati serologicamente negativi. In otto animali (compresi gli agnelli) il Pestivirus è stato isolato. Tre degli animali nei quali il Pestivirus è stato

positive/négative et que quatre animaux avaient un titre négatif. Des Pestivirus ont été isolés de huit animaux (y compris les agneaux). Trois des animaux porteurs du virus avaient un titre négatif, trois avaient un résultat dans la zone limite et deux avaient un titre positif. Six des huit virus qui ont été isolés des animaux par culture de cellules ont pu être caractérisés génétiquement par rétrotranscription, réaction en chaîne de la polymérase et ensuite par analyse de séquence. L'analyse phylogénétique a démontré qu'il s'agissait de virus du border disease. Ainsi le virus du border disease a été isolé pour la première fois en Suisse.

L'agneau présenté à la clinique a été euthanasié et autopsié après trois mois d'observation. Des antigènes du Pestivirus ont été détectés dans de nombreux organes.

Sur la base d'observations supplémentaires, il a été soupçonné que les moutons ont été infectés en pâture commune avec des animaux porteurs d'une autre exploitation. Tous les animaux séropositifs ont été abattus.

isolato erano serologicamente negativi, altri tre erano al limite, e due erano positivi. Il Pestivirus di sei degli otto animali nei quali il virus è stato isolato tramite coltura cellulare ha potuto essere caratterizzato geneticamente tramite retroscrittione, reazione a catena polimerasi e la sequenza del virus ha potuto essere eseguita. Dall'analisi filogenetica è risultato che si trattava del virus responsabile del Border disease. Quindi è la prima volta che in Svizzera è stato isolato il virus del Border disease. L'agnello ricoverato in clinica è stato addormentato dopo tre mesi di osservazione e sezionato. In diversi organi esaminati immunostologicamente è stata accertata la presenza di antigeni di Pestivirus. Chiarificazioni seguenti hanno fatto nascere il sospetto che le pecore fossero state infettate da animali infetti di un'altra azienda durante il pascolo in comune. Tutti gli animali positivi all'antigene sono stati macellati.

Literatur

- Bostedt, H., Dedié, K.: Border-Krankheit. In: Schaf- und Ziegenkrankheiten, Hrsg. H. Bostedt, K. Dedié. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 1996, 487–491.
- Braun, U., Schönmann M., Ehrensperger, F., Hilbe, M., Brunner, D., Stärk, K. D. C., Giger, T.: Epidemiology of bovine virus diarrhoea in cattle on communal alpine pastures in Switzerland. *J. Vet. Med. A* 1998, 45: 445–452.
- Braun, U., Schönmann, M., Ehrensperger, F., Hilbe, M., Strasser, M.: Intrauterine infection with bovine viral diarrhoea virus on alpine communal pastures in Switzerland. *J. Vet. Med. A* 1999, 46:13–17.
- Carlsson, U.: Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 1991, 128:145–147.
- Carlsson, U., Belák, K.: Border disease virus transmitted to sheep and cattle by a persistently infected ewe: Epidemiology and control. *Acta vet. scand.* 1994, 35: 79–88.
- Cravero, G. C., Fatzer, R., Fankhauser, R.: Border-Krankheit (Hypomyelinogenesis congenita) bei Lämmern in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1975, 117: 119–121.
- Donis, R. O.: Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1995, 11:393–423.
- Hughes, L. E., Kershaw, G. F., Shaw, I. G.: «B» or Border disease. An undescribed disease of sheep. *Vet. Rec.* 1959, 71: 313–317.
- Løken, T.: Border Disease in sheep. *Vet. Clin. North Am. (Food Anim. Pract.)* 1995, 11: 579–595.
- Meyling, A.: Detection of BVD virus in viraemic cattle by an immunoperoxidase technique. In: *Recent Advances in Virus Diagnostic*. Eds. M.S. McNulty and J.B. McFerran. Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 1984.
- Nettleton, P. F., Gilray, J. A., Russo, P., Dliissi, E.: Border disease of sheep and goats. *Vet. Res.* 1998, 29:327–340.
- Paton, D., Gunn, M., Sands, J., Yapp, F., Drew, T., Vilcek, S., Edwards, S.: 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.* 1997, 142:929–938.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., Hinchliff, K. W.: Border disease (Hairy shaker disease of lambs, hairy shakers, hypomyelinogenesis congenita). In: *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. W. B. Saunders, London, 2000, 1238–1242.
- Rüfenacht, J., Schaller, P., Audigé, L., Strasser, M., Peterhans, E.: Prevalence of cattle infected with bovine viral diarrhoea virus in Switzerland. *Vet. Rec.* 2000, 147: 413–417.
- Schaarschmidt, U., Schirrmeier, H., Strebelow, G., Wolf, G.: Nachweis von Border Disease Virus in einem Schafbestand in Sachsen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 2000, 113:284–288.
- Schaller, P., Vogt, H.-R., Strasser, M., Nettleton, P. F., Peterhans, E., Zanoni, R.: Seroprävalenz von Maedi-

Visna und Border Disease in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. 2000, 142:145–153.

Stalder, H. P., Strasser, M., Meier, Ph., Tontis, A., Hofmann, M., Ruggli, N., Peterhans, E.: PCR: Ein Blick hinter die Kulisse der Bovinen Virusdiarrhoe-Viren. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1996, 138:63–66.

Thür, B., Zlinszky, K., Ehrensperger, F.: Immunohistochemical detection of bovine viral diarrhea virus in skin biopsies: A reliable and fast diagnostic tool. J. Vet. Med. B 1996, 43: 163–166.

Thür, B., Hilbe, M., Strasser, M., Ehrensperger, F.: Immunohistochemical diagnosis of pestivirus infection associated with bovine and ovine abortion and perinatal death. Am. J. Vet. Res. 1997, 58: 1371–1375.

Thür, B., Caplazi, P., Hilbe, M., Zlinszky, K., Strasser, M., Corboz, L., Ehrensperger, F.: Ursächliche Beteiligung von Pestiviren an Aborten und perinatalen Todesfällen bei Rindern und Schafen in der Schweiz. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1998, 105:145–148.

Waldvogel, A. S., Ehrensperger, F., Straub, O. C., Pospischil, A.: An immunohistochemical study of the distribution of Border disease virus in persistently infected sheep. J. Comp. Path. 1995, 113: 191–200.

Wirz, B., Tratschin J. D., Müller H. K., Mitchell D. B.: Detection of hog cholera virus and differentiation from other pestiviruses by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 1993, 31: 1148–1154.

Korrespondenzadresse

Ueli Braun, Departement für Nutztiere, Universität Zürich,
Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich, Fax 01-6358904
E-Mail: ubraun@vetclinics.unizh.ch

Manuskripteingang: 3. Dezember 2001

In vorliegender Form angenommen: 22. Januar 2002