# Erfahrungen mit einer BVD-freien Alpung im Sommer 2006

M. Bodmer<sup>1</sup>, A. Michel<sup>1</sup>, M. Brechbühl<sup>1</sup>, R. Zanoni<sup>2</sup>, E. Peterhans<sup>2</sup>, A. Steiner<sup>1</sup>, T. Kaufmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wiederkäuerklinik und <sup>2</sup>Institut für Veterinärvirologie der Universität Bern

#### Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu überprüfen, wie sich der Ausschluss von persistent BVD Virus infizierten Tieren (PI-Tiere) auf die Neuinfektion mit diesem Virus während der Alpung auswirkt. Allfällige Schwachstellen in der Prävention von Neuinfektionen sollen auch im Hinblick auf die landesweite Eradikation im Jahr 2008 identifiziert werden. Eine erste Blutprobe (A) wurde allen Tieren auf dem Herkunftsbetrieb bis 1 Woche vor Alpauffahrt entnommen (n = 190) und mittels real-time RT-PCR oder Antigen-ELISA auf Virus und ELISA auf Antikörper untersucht. Ein PI-Tier wurde identifiziert und eliminiert. Bei der Alpauffahrt (B) wurden Blutproben von allen Tieren serologisch untersucht, welche bei Probe A einen negativen oder unbekannten Antikörperstatus (n = 93) aufwiesen. Bei der Alpabfahrt (C) wurden die bei Probe B seronegativen Tiere erneut auf Antikörper untersucht (n = 65). Die Fallinzidenzen/ Tierjahr bis Probe A betrugen 37.1% und von Probe A bis Probe B 41.8% (4 Serokonversionen). Während der Sömmerung wurden 4 Serokonversionen diagnostiziert gleichbedeutend einer Fallinzidenz von 17.8% pro Tierjahr. Durch eine PI-Tier freie Alpung konnte eine Infektion mit BVDV nicht vollständig verhindert, aber die Neuansteckungsrate deutlich gesenkt werden. Die wahrscheinlichste Ursache für die Neuinfektionen stellt der Abort von PI-Tieren dar.

# BVD-free transhumance in the summer of 2006

The aim of this paper was to examine the effect of eliminating persistently infected (PI) animals on BVDV infection during transhumance and to identify possible weak points in the prevention of new infection. An initial blood sample (A) was taken from all the animals until one week before the date of transhumance (n = 190) and examined for virus by means of real-time RT-PCR or antigen-ELISA and for antibodies by means of ELISA. One PI animal was identified and eliminated. On the day of transhumance (B), serology was performed of the blood samples of all animals that had had a negative or unknown antibody status (n = 93) when blood sample A had been examined. At the end of the transhumance season (C) those animals that had tested seronegative in sample B were re-examined for antibodies (n = 65). The case incidence per animal year amounted to 37.1% up to sample A, 41.8% between sample A and sample B (4 seroconversions). Four cases of seroconversion were diagnosed during the transhumance season, which equalled a case incidence of 17.8% per animal year. A season of transhumance free of PI animals failed to completely prevent BVDV infection, but the new infection rate was significantly diminished. The most possible explanation for new infections are abortions of PI-animals.

Schlüsselwörter: BVD-Virus, PI-Tier, Alpung, Serokonversion, Fallinzidenz

Keywords: BVD virus, PI-animal, transhumance, seroconversion, case incidence

### **Einleitung**

Die BVD Infektion ist in der Schweiz mit einer durchschnittlichen Seroprävalenz von 57.6% (22.9% bei Rinder 7-12 Monate, 84.9% bei Tieren > 60 Monate alt) und einer Prävalenz an persistent infizierten (PI) Tieren von 0.64% (Rüfenacht et al., 2000) eine weit verbreitete Krankheit. Sie kann in betroffenen Betrieben grossen wirtschaftlichen Schaden verursachen. Bei der Verbreitung der Krankheit spielen klinisch gesunde PI-Tiere die Hauptrolle. Insbesondere Situationen mit intensiven Tier-Tier Kontakten zwischen Tieren aus verschiedenen Betrieben (gemeinsame Alpung, Märkte, Ausstellungen) fördern die Verbreitung der Krankheit in der Population. Bei der gemeinsamen Alpung von Jungtieren müssen 2 Faktoren speziell in Erwägung gezogen werden. Da die Jungtiere eine niedrigere Seroprävalenz aufweisen (Rüfenacht et al., 2000) sind in dieser Altersgruppe mehr Tiere empfänglich für das Virus als in der Gruppe der älteren Tiere. Im Frühling vor dem Alpsommer werden die Rinder in der Regel belegt und sie befinden sich beim Alpaufzug in einem frühen Trächtigkeitsstadium. Dies sind ideale Voraussetzungen für eine fetale Infektion und die Entstehung eines PI-Kalbes, welches dann im Herbst auf dem Heimbetrieb geboren wird (Braun et al., 1998; Braun et al., 1999; Rossmanith et al., 2005; Siegwart et al., 2006).

Auf Wunsch einzelner Landwirte, die nach BVD-Bestandesproblemen ihren Betrieb sanierten, beschloss ihre Alpgenossenschaft im Sommer 2006 eine BVD-PI-freie Alpung durchzuführen. Dabei waren nur Tiere zur Alpung zugelassen, die untersucht und BVD-Virus negativ waren.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Effizienz der Massnahme "PI-freie Alpung» in Bezug auf Neuinfektionen durch das BVD-Virus mittels gepaarter Serumproben zu kontrollieren und mögliche Schwachpunkte der gewählten Vorgehensweise zu identifizieren. Es sollten auch Rückschlüsse für die in der Schweiz im Jahr 2008 beginnende Eradikation von BVD gezogen werden, da vor der eigentlichen Sanierung alle Tiere der Rindergattung, welche noch nie abkalbten und zur Sömmerung auf Gemeinschaftsweiden vorgesehen sind, auf BVD-Virus untersucht werden sollen. Positive Tiere werden von der Sömmerung ausgeschlossen.

### Tiere, Material und Methoden

Insgesamt 190 Tiere aus 29 Betrieben (2–18 Tiere pro Betrieb) wurden zur Alpung angemeldet. Bei allen Tieren wurde die erste Blutprobe (Probe A) durch den Betriebstierarzt auf dem Herkunftsbetrieb bis spätestens 1 Woche vor Alpaufzug entnommen. Bei der kontrollierten Alpauffahrt wurde von allen Tieren, die einen negativen oder unbekannten Antikörperstaus bei Probe A aufwiesen auf der Alp selber erneut eine Blutprobe (Probe B)

entnommen. Tiere mit unbekanntem Antikörperstatus stammten aus den vorgängig sanierten Betrieben, wo nur auf Virus untersucht worden war. Nach der Sömmerung wurden alle bei Probe B seronegativen Tiere, die noch auf der Alp verblieben waren vor der Alpabfahrt erneut beprobt (Probe C). Tiere jünger als 6 Monate wurden bei Probe A mittels real-time RT-PCR (Hertig et al., 1991) untersucht, Tiere älter als 6 Monate wurden entweder mit real-time RT-PCR, Antigen-ELISA (Strasser M., 1994; Idexx GmBH, Ludwigsburg, D) oder Antikörper-ELISA (Canal et al., 1998) getestet. Seropositive Tiere wurden als Virus-negativ interpretiert.

Um die Neuinfektionsraten in den drei Zeiträumen Geburt bis Probe A, Probe A bis Alpaufzug (Probe B) und Alpaufzug bis Alpabzug (Probe C) miteinander vergleichen zu können, wurde jeweils die Fallinzidenz pro Tierjahr berechnet. Alle beim Start der Zeitperiode seronegativen Tiere bildeten die jeweilige Population oder Tiere «at risk». Eine Serokonversion bedeutete 1 Fall. Es wurde angenommen, dass alle Tiere seronegativ geboren wurden.

Bei Feststellung von Aborten während der Sömmerung müssen abortierende Tiere gemäss Tierseuchenverordnung Art.129 (Tierseuchenverordnung TSV, 1995) abgesondert werden. Die betroffenen Tiere müssen von einem Tierarzt untersucht und das Abortmaterial zur weiteren Untersuchung eingesandt werden. Dieselbe Vorgehensweise wurde auch bei eventuellen Geburten während der Sömmerung mit der Betreuungsperson vereinbart.

### **Ergebnisse**

Von den 190 Proben A der angemeldeten Tiere zeigte ein Tier (0.53%) ein Antigen-positives Resultat. Es war am Tag der Probeentnahme bereits 831 Tage alt. Die Resultate der Antikörperuntersuchung sind in Tabelle 1 dargestellt. In der Population der gealpten Tiere konnte eine Seroprävalenz von 54.9% (95% Vertrauensintervsall: 47.2–62.4%) berechnet werden. Die Fallinzidenz für den Zeitraum Geburt bis Probe A betrug 37.1%/Tierjahr (Tab. 2). Bezüglich der Alterstruktur konnte ein Unterschied festgestellt werden. So war die Gruppe der seropositiven Tiere im Durchschnitt älter (Median 579, Streuung: 218–4179d) als die Gruppe der seronegativen Tiere (Median 483, Streuung: 237–1043 d). Die grosse Streuung bei den seropositiven Tieren war bedingt durch zwei alte Kühe des Alphirten, die als Ausreisser figurieren.

Im Zeitraum zwischen Probe A und Probe B hatten 4 von 79 Tieren «at risk» (5.1%) serokonvertiert, was einer Fallinzidenz von 41.8%/Tierjahr entsprach (Tab. 2). Es handelte sich dabei um echte Serokonversionen, d.h. die Tiere zeigten bei Untersuchung A einen klar negativen Wert hingegen bei Untersuchung B einen klar positiven Wert. Von den 86 bei Probe B seronegativen Tieren konnten bei Alpabfahrt (C) nur noch 65 Stück (76%) beprobt werden, weil die anderen Tiere die Alp bereits verlassen

Tabelle 1: Serologische Resultate (ohne PI-Tier) bei der kontrolliert BVD-PI-freien Alpung.

	Anzahl	Fragliches Resultat	Auswertbare Resultate	positiv	negativ
Probe A1	177	$2^4$	175	96	79
Probe B <sup>2</sup>	93	0	93	7	86
Probe C <sup>3</sup>	65	0	65	4	61

- <sup>1</sup>Probeentnahme durch Bestandestierärzte spätestens 1 Woche vor Alpauffuhr;
- <sup>2</sup>Probeentnahme bei Alpauffuhr von Tieren mit unbekannten oder negativen Antikörperstatus bei Probe A;
- <sup>3</sup> Probeentnahme bei Alpabfahrt bei Tieren mit negativen Antikörperstatus bei Probe B
- <sup>4</sup>Antikörper-ELISA ist nicht eindeutig positiv (Probe vermutlich während des Titeranstiegs kurz nach Erstinfektion entnommen)

Tabelle 2: Serokonversion und Fallinzidenz bei der kontrolliert BVD-PI freien Alpung.

Zeitperiode	Tiere «at risk»	Dauer (Tage, Mw.)	Anzahl Serokonversion	Fallinzidenz pro Tierjahr
Geburt bis Probe A <sup>1</sup>	175	539.5	96	37.1%
Probe A1 bis Probe B2	79	44.2	4	41.8%
Probe B <sup>2</sup> bis Probe C <sup>3</sup>	65	126	4	17.8%

- <sup>1</sup>Probeentnahme durch Bestandestierärzte spätestens 1 Woche vor Alpauffuhr;
- <sup>2</sup> Probeentnahme bei Alpauffuhr von Tieren mit unbekannten oder negativen Antikörperstatus bei Probe A;
- <sup>3</sup> Probeentnahme bei Alpabfahrt bei Tieren mit negativen Antikörperstatus bei Probe B; Mw=Mittelwert

hatten. Bei 4 Tieren (6%) wurde eine Serokonversion während den 126 Tagen der Sömmerung diagnostiziert. Dies entspricht einer Fallinzidenz von 17.8%/Tierjahr (Tab. 2).

Zwei während der Sömmerung beobachtete Aborte wurden nicht fristgerecht gemeldet und konnten somit nicht untersucht werden. Die betroffenen Tiere, bereits seropositiv bei der Alpauffahrt, waren vom Bestandestierarzt behandelt, aber nicht von den übrigen Tieren isoliert worden.

#### Diskussion

Die hohe Seroprävalenz in der Schweizer Rindviehpopulation (Braun et al., 1998; Rüfenacht et al., 2000) konnte mit dieser Arbeit bestätigt werden. Die Fallinzidenzen waren zwischen Geburt und Probe A, respektive zwischen Probe A bis Alpaufzug deutlich höher als während der Alpzeit. Daher kann die Massnahme des Ausschlusses von PI-Tieren von der Alpung als Erfolg gewertet werden. Das Ansteckungsrisiko konnte während der Sömmerung stark reduziert werden. Es mussten aber trotz dieser Massnahme während der Alpzeit 4 Neuinfektionen festgestellt werden. Die Fallinzidenz während dieser Zeit ist ähnlich den Resultaten aus der Studie von Braun et al. (1998) bei Alpung ohne Anwesenheit eines PI-Tieres (6.0–22.2% Serokonversion während Alpzeit). In der gleichen Studie wurde aufgezeigt, dass bei Alpung mit einem PI-Tier die Inzidenz einer Serokonversion während der Alpzeit bei 32.7% bis 100% lag. Auch Moen et al. (2005) hatten nach Entfernung eines PI-Tieres aus einem geschlossenen Betrieb Fallinzidenzen gefunden, die mit denjenigen der vorliegenden Arbeit vergleichbar sind. Als Quelle der Neuinfektionen kommen verschiedene Möglichkeiten in

Frage. Eine Ansteckung durch Wildtiere erachten wir als unwahrscheinlich, obwohl schon BVD-Virus bei Wildtieren nachgewiesen wurde (Valle et al., 1999; Nielsen et al., 2000). Eine Ansteckung durch transient infizierte Tiere (Moen et al., 2005), durch Kontakt mit Tieren auf einer benachbarten Alpweide (Valle et al., 1999), sowie eine Verschleppung des Virus durch behandelnde Tierärzte (Niskanen und Lindberg, 2003) oder unerlaubte Transporte können nicht ausgeschlossen werden. In erster Linie kommen der Abort eines PI-Foeten oder die Geburt eines PI-Tieres in Frage (Lindberg et al., 2004). Eine Geburt wurde im vorliegenden Fall nicht registriert. Zwei Aborte wurden uns nachträglich gemeldet. Es besteht die Möglichkeit, dass zumindest einer der abortierten Feten ein PI-Tier war, da beide Muttertiere bei Alpaufzug seropositiv diagnostiziert wurden. Dabei ist nicht nur der Fetus selbst infektiös, sondern das Muttertier scheidet mit den Lochien eine sehr grosse Menge Virusmaterial aus. Die Tatsache, dass diese Ausscheidung – im Gegensatz zur Anwesenheit eines PI-Tieres - zeitlich begrenzt ist, macht es verständlich, dass nur wenige Tiere angesteckt wurden. Unglücklicherweise konnte das Abortmaterial nicht untersucht werden. Grundsätzlich muss davon ausgegangen werden, dass in einem extensiven Haltungssystem wie der Alpung mehr Aborte vorkommen, als beobachtet werden.

Bis anhin fehlt leider ein diagnostischer Test mit dem man ein Tier, welches einen persistent infizierten Feten trägt, identifizieren kann. Solche Tiere stellen im Falle eines Abortes oder einer Geburt ein grosses Infektionsrisiko für ihre trächtigen Weidegenossinen dar, und es wäre deshalb wünschenswert diese bereits während der Trächtigkeit identifizieren zu können.

Die einzelnen Vorgaben zum Projekt «PI-freie-Alpung» konnten nicht in jedem Falle umgesetzt werden. Die Beprobung der angemeldeten Tiere durch die Bestandstierärzte funktionierte gut und zeitgerecht. Es musste kein Tier bei der Alpauffuhr zurückgewiesen werden. Die Isolation von abortierenden Tieren erwies sich als problematisch. Die Abortfälle wurden nicht gemeldet und dementsprechend nicht untersucht. Zur Zeit der Alpabfuhr waren viele Tiere nicht mehr vorhanden. Es musste also am Ende der Alpzeit reger Tierverkehr geherrscht haben, der aber von untergeordneter Bedeutung ist, falls bei diesen Transporten kein PI-Tier auch nur vorübergehend auf die Alp geführt wurde.

## Schlussfolgerungen

Durch eine kontrolliert PI-Tier freie Alpung kann eine Ansteckung nicht vollständig verhindert, aber die Neuinfektionsrate deutlich gesenkt werden. Es darf somit bei der vorgezogenen Untersuchung der Sömmerungstiere vor der eigentlichen Eradikation im Herbst 2008 nicht davon ausgegangen werden, dass keine PI-Tiere während der Sömmerung entstehen. Es kann jedoch erwartet werden, dass im Herbst 2008 deutlich weniger PI-Tiere zur

# Expériences avec un estivage indemne de BVD durant l'été 2006

Le but du présent travail était de contrôler dans quelle mesure l'exclusion d'animaux porteurs persistants du virus de la BVD (animaux PI) avait un effet sur les nouvelles infections durant l'estivage. Des faiblesses quant à la prévention de nouvelles infections doivent être identifiées dans l'optique de l'éradication en 2008. Un premier échantillon sanguin (A) a été prélevé sur tous les animaux de l'exploitation d'origine jusqu'à une semaine avant la montée à l'alpage (N = 190) et testé au moyen d'une PCR en temps réel ou d'un test ELISA quant au virus ainsi que d'un test ELISA quant aux anticorps. Un animal PI a été identifié et éliminé. Lors de la montée à l'alpage (B), les échantillons ont été examinés sérologiquement pour tous les animaux chez lesquels les échantillons A avaient montrés un statut d'anticorps négatif ou inconnu. A la désalpe (C), les animaux séronégatifs à l'échantillon B ont été à nouveau examinés. L'incidence par année représentaient 37,1 % jusqu'à l'échantillon A et 41,8 % de l'échantillon A à l'échantillon B (4 séroconversions). Durant l'estivage, 4 séroconversions ont été diagnostiquées, représentant une incidence de cas de 17,8 % par année. La mise à l'alpage d'un troupeau libre d'animaux PI n'a pas pu empêcher complètement une infection avec le virus de la BVD mais il a pu diminuer significativement le taux de nouvelles contaminations. La cause la plus vraisemblable de ces nouvelles contaminations et l'avortement d'animaux PI.

Welt kommen werden und dadurch auch weniger Sperren ausgesprochen werden müssen. Ein wichtiger Nachteil in der Verhinderung von Neuinfektionen mit BVD-Virus während der Alpung besteht darin, dass mit den bisherigen diagnostischen Möglichkeiten zwar persistent infizierte Tiere, nicht aber mit persistent infizierte Feten trächtiger Tiere erkannt werden können. Da abortierende Tiere während der Alpung nicht zuverlässig abgesondert werden können, besteht das Risiko, dass andere Tiere durch virushaltige Lochien oder fetale Gewebe infiziert werden können. Die Absonderung abortierender Tiere und Tiere unter Geburt sollte eine weitere Verbesserung bewirken. Die Sorgfalt der Alphirten ist entscheidend für den Erfolg der beschriebenen Massnahmen. Eine diesbezügliche Sensibilisierung und Ausbildung der verantwortlichen Personen erscheint deshalb wichtig. Während der Phase 2 des Eradikationsprogramms (Überwachung durch Untersuchung aller neugeborenen Kälber) sollte ebenfalls in Betracht gezogen werden, dass Aborte eines PI-Feten stattfinden können. Abortierende Tiere sollten daher auch auf dem Heimbetrieb während einiger Tage abgesondert und Fet oder Lochien untersucht werden.

# Esperienza su un alpeggio libero da BVD nell'estate 2006

Scopo del presente lavoro era di controllare come l'esclusione di animali infetti da virus BVD persistente influisce su una nuova infezione durante l'alpeggio. Eventuali punti deboli nella prevenzione di nuove infezioni devono essere identificati in previsione dell'eradicazione nel 2008 in tutta la Svizzera. Un primo campione di sangue (A) è stato prelevato su tutti gli animali dell'azienda di provenienza fino ad 1 settimana prima della transumanza (n = 190) e analizzati per il virus con realtime RT-PCR o con ELISA antigene e gli anticorpi con ELISA. Un animale con infezione persistente è stato identificato ed eliminato. Durante la transumanza (B) sono stati analizzati serologicamente campioni di sangue di tutti gli animali, i quali avevano mostrato nel campione A uno stato di anticorpi negativo o sconosciuto (n = 93). Durante la transumanza (C) gli anticorpi degli animali risultati negativi nel campione B sono stati di nuovo esaminati (n = 65). Fino al campione A, le incidenze dei casi/età dell'animale, comportava il 37.1% e dal campione A al B il 41.8% (4 seroconversioni). Durante l'estivazione sono state diagnosticate 4 seroconversioni che equivalgono ad un incidenza per caso del 17.8% per età dell'animale. Non si è potuto evitare completamente una infezione da BVDV per un animale con infezione persistente durante l'alpeggio libero ma la percentuale di nuovi contagi è diminuita chiaramente. La causa più probabile per una nuova infezione è l'aborto di animali con infezione persistente.

#### Literatur

Braun U., Schönmann M., Ehrensperger F., Hilbe M., Brunner D., Stark K. D., 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 virus diarrhoea virus on alpine communal pastures in Switzerland. J. Vet. Med. A. 1999, 46: 13–17.

Canal C. W., Strasser M., Hertig C., Masuda A., Peterhans E.: Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. Vet. Microbiol. 1998, 63: 85–97.

*Hertig C., Pauli U., Zanoni R., Peterhans E.:* Detection of bovine viral diarrhea (BVD) virus using the polymerase chain reaction. Vet. Microbiol. 1991, 26: 65–76.

*Lindberg A., Stokstad M., Loken T., Alenius S., Niskanen R.:* Indirect transmission of bovine viral diarrhoea virus at calving and during the postparturient period. Vet. Rec. 2004, 154: 463–467.

*Moen A., Sol J., Sampimon O.:* Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals. Prev. Vet. Med. 2005, 72: 93–98.

Nielsen S. S., Roensholt L., Bitsch V.: Bovine virus diarrhea virus in free-living deer from Denmark. J. Wildl. Dis. 2000, 36: 584–587.

*Niskanen R., Lindberg A.:* Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. Vet. J. 2003, 165: 125–130.

Rossmanith W., Janacek R., Wilhelm E.: Control of BVDV-infection on common grassland--the key for successful BVDV-eradication in Lower Austria. Prev. Vet. Med. 2005, 72: 133–137.

Rüfenacht J., Schaller P., Audige L., Strasser M., Peterhans E.: Prevalence of cattle infected with bovine viral diarrhoea virus in Switzerland. Vet. Rec. 2000, 147: 413–417.

Siegwart N., Hilbe M., Hassig M., Braun U.: Increased risk of BVDV infection of calves from pregnant dams on communal Alpine pastures in Switzerland. Vet. J. 2006, 172: 386–388.

Strasser M. V. H.-R., Pfister H., Gerber H., Peterhans E.: 1994. Detection of bovine virus diarrhea virus (BVDV) in peripheral blood, cell cultures and tissue using a monoclonal antigen-capture ELISA. 3<sup>rd</sup> Congress of the European Society for Veterinary Virology, Interlaken, Switzerland, 311–316.

*Tierseuchenverordnung TSV*: 1995. http://www.admin.ch/ch/d/sr/c916\_401.html

*Valle P. S., Martin S. W., Tremblay R., Bateman K.:* Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea (BVD) seropositive dairy herd in the More and Romsdal County of Norway. Prev. Vet. Med. 1999, 40: 165–177.

#### Korrespondenzadresse

Michèle Bodmer Dr. med. vet. Wiederkäuerklinik, Vetsuisse Fakultät Universität Bern Bremgartenstrasse 109 a Postfach CH-3001 Bern. E-Mail: michele.bodmer@knp.unibe.ch Tel: 031 631 23 40 Fax: 031 631 26 31

Manuskripteingang: 14. November 2007 Angenommen: 12. Januar 2008